

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Tijana B. Radović

ZNAČAJ PRIMENE NEINVAZIVNIH
NAPREDNIH TEHNIKA MAGNETNE
REZONANCE U EVALUACIJI FUNKCIJE
BUBREŽNOG ALOGRAFTA

doktorska disertacija

Beograd, 2022

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Tijana B. Radović

THE SIGNIFICANCE OF NON-INVASIVE
ADVANCED MRI TECHNIQUES IN
EVALUATION OF RENAL ALLOGRAFT
FUNCTION

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2022

Mentor **Prof. dr Ruža Stević**
Redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Komentor: **Prof. dr Mirjana Kostić**
Redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Komisija: **Prof. dr Dragan Mašulović, predsednik**
Redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Doc. dr Brankica Spasojević-Dimitrijeva, član
Docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Doc. dr Polina Pavićević, član
Docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Milica M. Janković, član
Vanredni profesor Elektrotehničkog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Olivera Nikolić, član
Redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu

*„Nije bitno koliko se sporo krećeš,
sve dok ne staješ.“*

Konfucije

Rad posvećujem mojoj porodici neustrašivih životnih moreplovaca
bez kojih bi ovaj brod odavno potonuo.

ZAHVALNICA

Zahvaljujem se svojoj mentorki, prof. dr Ruži Stević na bezrezervnoj podršci, usmeravanju i konstruktivnim komentarima tokom formiranja ideje i izrade disertacije.

Neizmerno hvala komentorki, prof.dr Mirjani Kostić na nesebičnom deljenju znanja, praktičnim savetima i inspirativnim razgovorima.

Zahvaljujem se prof. dr Draganu Mašuloviću, doc. dr Brankici Spasojević, doc. dr Polini Pavićević, prof. dr Milici Janković i prof. dr Oliveri Nikolić što su mi učinili čast da budu članovi Komisije za ocenu i odbranu disertacije.

Posebno se želim zahvaliti prof dr. Milici Janković sa katedre za Biomedicinsku tehniku Elektrotehničkog fakulteta Univerziteta u Beogradu na strpljenju, razumevanju, konstantnoj podršci u realizaciji celokupne studije i divnom prijateljstvu koje meni predstavlja najvažniji rezultat naše nesebične saradnje.

Želim da se zahvalim Svetlani Gavrilović, diplomiranoj fizikohemičarki iz Centra za Magnetnu rezonancu Kliničkog Centar Srbije koja je bila glavna spona dva sveta- lekara i inženjera, koja je sa puno entuzijazma podržavala ideju, verovala u njenu uspešnost i uvek nalazila ključne reči podrške u trenucima kada su se rezultati kotrljali nizbrdo.

Hvala mojoj načelnici, doc. dr Polini Pavićević na sjajnoj profesionalnoj saradnji i stručnoj podršci tokom svakodnevnog rada.

Hvala svim mojim dragim kolegama lekarima i tehničarima sa odeljenja radiologije Univerzitetske dečije klinike na ohrabivanju, pozitivnoj energiji i prijateljstvu, velika mi je čast što sa njima svakodnevno saradujem.

Hvala svim kolegama lekarima i medicinskim tehničarima sa odeljenja nefrologije, dijalize i transplantacije, pravim profesionalcima i entuzijastima, na uloženom trudu, izvanrednoj saradnji i nesebičnoj pomoći da ova ideja ugleda svetlost dana.

Zahvaljujem se svim pacijentima i zdravim volonterima koji su nesebično učestvovali u ovom istraživanju i „dali krv“ (čak i bukvalno) za nauku.

Zahvaljujem se dr Željku Smoljaniću uz koga sam napravila prve korake u svojoj stručnoj karijeri, od koga sam naučila da nije važno biti samo dobar doktor, već i dobar čovek.

Hvala prijateljima koji su zajedno sa mnom proživljavali sve faze ove studije i izrade teze.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici, koja je sav moj svet.

ZNAČAJ PRIMENE NEINVAZIVNIH NAPREDNIH TEHNIKA MAGNETNE REZONANCE U EVALUACIJI FUNKCIJE BUBREŽNOG ALOGRAFTA

Uvod: Perfuzija predstavlja protok krvi u kapilarnom koritu koji određuje dopremanje nutrijenata i kiseonika tkivu, a u bubrezima reguliše stepen glomerulske filtracije (GFR) kao centralnu meru bubrežne funkcije. Razvoj neinvazivne i pouzdane metode za merenje bubrežne perfuzije koja bi oslikavala GFR bi značajno unapredila pravovremeno otkrivanje oštećenja alografta.

Cilj: Utvrđivanje kod kojih pedijatrijskih pacijenata alograft ima oštećenu funkciju merenjem kortikalne bubrežne perfuzije (cRBF), uz upoređivanje sa perfuzijom zdravih kontrola korišćenjem tehnike obeležavanja spinova u arterijskoj krvi magnetnom rezonancom (ASL-MRI).

Metodologija: Kod 20 pacijenata sa alograftom i 20 zdravih kontrola je izveden ASL-MRI u cilju kvantifikacije cRBF na parametarskim mapama. cRBF je korelirana sa izračunatim GFR kod alografta i upoređivana među grupama pacijenata sa očuvanom ($GFR \geq 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$) i oštećenom ($GFR < 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$) funkcijom, a zatim i sa zdravim kontrolama.

Rezultati: cRBF kod pacijenata sa alograftom je bila u rasponu između 85 i 335ml/100gr/min (prosečno $190.05 \pm 67.62 \text{ mL/100 g/min}$). Prosečna cRBF kod pacijenata sa dobrom funkcijom je bila značajno viša nego kod pacijenata sa lošom ($225.91 \pm 64.38 \text{ mL/min/100g}$ vs. $146.22 \pm 41.84 \text{ mL/min/100g}$, $p=0.005$), uz značajnu korelaciju sa GFR kod svih pacijenata ($r=0.64$, $p=0.002$). Kod zdravih se prosečan cRBF razlikovao u odnosu na pacijente sa oštećenom funkcijom (322.00 ± 121.36 vs. $146.22 \pm 41.84 \text{ mL/100gr/min}$, $p=0.002$) dok se nije razlikovao u odnosu na pacijente sa stabilnom funkcijom (322.00 ± 121.36 vs. $225.91 \pm 64.38 \text{ mL/100gr/min}$, $p=0.056$).

Zaključak: Neinvazivno izmerena kortikalna bubrežna perfuzija ASL-MRI metodom se razlikuje između pacijenata sa očuvanom i oštećenom funkcijom alografta, sa kojom značajno korelira.

Ključne reči: transplantacija bubrega; magnetna rezonanca; arterial spin labeling (ASL); bubrežni protok; kvantifikacija kortikalne bubrežne perfuzije.

Naučna oblast: Medicina

Naučna podoblast: Radiologija i nuklearna medicina

UDK broj:

THE SIGNIFICANCE OF NON-INVASIVE ADVANCED MRI TECHNIQUES IN EVALUATION OF RENAL ALLOGRAFT FUNCTION

Background: Perfusion represents a blood flow at the level of the tissue capillary bed and determines the delivery of nutrients and oxygen, while in kidneys regulates glomerular filtration rate (GFR), as a central measure of renal function. The development of a non-invasive and reliable method for renal perfusion estimation that would reflect GFR would significantly improve on-time identification of potential allograft injury.

Aim: Discrimination of renal allografts with impaired function by measuring cortical renal blood flow (cRBF) in pediatric patients, as well as a comparison with cRBF values of healthy controls using magnetic resonance imaging arterial spin labelling (ASL-MRI).

Methods: We performed ASL-MRI in 20 allograft patients and 20 healthy controls to calculate cRBF on parameter maps. It was correlated to calculated GFR in allografts and compared between patient groups with good ($GFR \geq 60$ mL/min/1.73m²) and impaired allograft function ($GFR < 60$ mL/min/1.73m²) as well as with healthy controls.

Results: cRBF in patient group ranged between 85 and 335 mL/100 g/min (mean 190.05 ± 67.62 mL/100 g/min). Mean cRBF in patients with good allograft function was significantly higher than in patients with impaired function (225.91 ± 64.38 vs. 146.22 ± 41.84 mL/min/100g, $p=0.005$), showing a highly significant correlation with GFR in all subjects ($r=0.64$, $p=0.002$). In healthy controls mean cRBF was significantly higher than in patients with poor allograft function (322.00 ± 121.36 vs. 146.22 ± 41.84 ml/100gr/min, $p=0.002$) and showed no difference to patients with stable function (322.00 ± 121.36 vs. 225.91 ± 64.38 ml/100gr/min, $p=0.056$).

Conclusion: Cortical perfusion as non-invasively measured by ASL-MRI differs between patients with good and impaired allograft function and correlates significantly with its function.

Key words: kidney transplantation; Magnetic Resonance Imaging, Arterial Spin Labeling, renal blood flow, cortical renal perfusion quantification

Scientific field: Medicine

Specific scientific field: Radiology and Nuclear Medicine

UDK number:

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. BUBREŽNA INSUFICIJENCIJA.....	1
1.2. ZAMENA BUBREŽNE FUNKCIJE	3
1.2.1. Dijaliza	4
1.2.1.1. Hemodijaliza	6
1.2.1.2. Peritonealna dijaliza	7
1.2.2. Transplantacija	8
1.2.2.1. Hirurška tehnika uzimanja organa	9
1.2.2.2. Osnovna priprema primaoca	11
1.2.2.3. Hirurška tehnika usađivanja organa	12
1.2.2.4. Akutna disfunkcija grafta	14
1.2.2.5. Uzroci i praćenje hronične disfunkcije grafta	16
1.3. NEINVAZIVNA RADIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA ALOGRAFTA	18
1.3.1. Ultrazvučna dijagnostika	18
1.3.1.1. Praćenje alografta u različitim postoperativnim fazama	20
1.3.1.1.1. Neposredne postoperativne komplikacije	20
1.3.1.1.2. Prva do četvrta postoperativna nedelja	22
1.3.1.1.3. Period od 1 do 6 meseci od transplantacije	26
1.3.1.1.4. Kasne promene posle 6 meseci	27
1.3.2. Magnetna rezonanca	29
1.3.2.1. Arterial Spin Labelling (ASL)	31
1.3.2.1.1. Osnovni fizički principi obeležavanja spinova protona	31
1.3.2.1.2. Faze akvizicije ASL-a	32
1.3.2.1.2.1. Faza obeležavanja- podela tipova obeležavanja	34
1.3.2.1.2.1.1. Kontinuirani i pseudokontinuirani ASL	34
1.3.2.1.2.1.2. Pulsni ASL	37
1.3.2.1.2.1.3. ASL sa selekcijom brzine protoka	39
1.3.2.1.2.2. Supresija signala okolnog tkiva	40
1.3.2.1.2.3. Faza očitavanja signala	41
1.3.2.1.2.4. Ostali detalji	41
1.3.2.1.3. Faze nakon akvizicije ASL-a	42

1.3.2.1.3.1. Prethodna obrada podataka	42
1.3.2.1.3.2. Kvantifikacija perfuzije	42
1.3.2.1.3.3. ASL kod transplantiranih bubrega	43
1.3.2.2. Difuzijom otežana MRI (DWI-MRI)	44
1.3.2.2.1. Modeli DWI	46
1.3.2.2.1.1. Monoeksponencijalni model	46
1.3.2.2.1.2. Intravokselno nekoherentno kretanje (IVIM)	47
1.3.2.2.1.3. Difuzioni tenzor imidžing (DTI)	47
1.3.2.2.1.4. DWI kod različitih kliničkih stanja	48
2. CILJEVI	50
3. METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA	52
3.1. VREME I MESTO ISTRAŽIVANJA	52
3.2. ISPITANICI	52
3.2.1. Inkluzioni kriterijumi za grupu transplantiranih pacijenata	52
3.2.2. Inkluzioni kriterijum za grupu zdravih kontrola	52
3.3. STUDIJSKA MERENJA	53
3.3.1. Klinički parametri	53
3.3.2. Dijagnostička merenja	53
3.3.2.1. Ultrazvučna dijagnostika	53
3.3.2.2. Magnetna rezonanca	54
3.4. VALIDACIJA ASL METODE DOPUNSKOM GRUPOM ISPITANIKA	60
3.5. OBRADA DOBIJENIH MRI PODATAKA	60
3.6. STATISTIČKA ANALIZA	62
4. REZULTATI	64
4.1. VALIDACIJA ASL METODE	64
4.2. TRANSPLANTIRANI PACIJENTI	70
4.3. ZDRAVE KONTROLE I UPOREĐIVANJE DVE GRUPE	82
5. DISKUSIJA	87
6. ZAKLJUČCI	99
7. LITERATURA	101

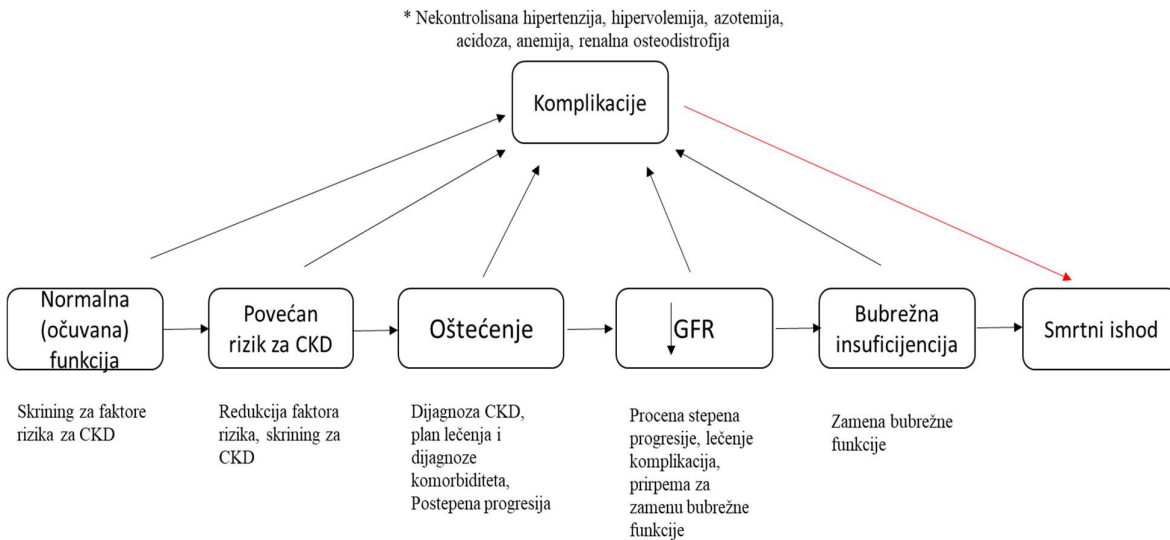
1. UVOD

Transplantacija bubrega predstavlja zlatni standard u lečenju pacijenata sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom koja omogućava pacijentima bolji kvalitet života, psihosocijalne rezultate i sveukupnu prognozu u odnosu na dijalizu, a kod pedijatrijskih pacijenata ima za cilj da omogući pravilan rast i razvoj.¹ Intenzivni posttransplantacioni monitoring funkcije alografta je presudan za dugovečnost i grafta i pacijenta u cilju sprečavanja brojnih posttransplantacionih komplikacija, bilo u ranoj postoperativnoj, bilo u kasnijim fazama. Razumevanje patofizioloških mehanizama koji dovode do oštećenja funkcije bubrežnog alografta i njihovo pravovremeno dijagnostikovanje su ključni faktori u prevenciji ireverzibilnog oštećenja osnovnih jedinica funkcije bubrega- nefrona i insuficijencije grafta.²

1.1. BUBREŽNA INSUFICIJENCIJA

Bubrežna insuficijencija je zdravstveni problem prisutan širom sveta čije su incidenca i prevalenca u stalnom porastu. Može se manifestovati akutno, kada predstavlja iznenadni gubitak bubrežne funkcije koji se ogleda u porastu serumskog kreatinina ili u smanjenu do gubitku izlučivanja urina, kao i hronično kada se definiše kao smanjenje stepena glomerulske filtracije (GFR) ispod 60ml/min/1.73m² tokom 3 meseca i duže, bez obzira na uzrok.^{3,4} Akutna bubrežna insuficijencija se klinički ispoljava brzo i dramatično, zahteva urgentnu zamenu bubrežne funkcije dok se uzrok bolesti ne razreši i retko kada vodi u terminalnu bubrežnu insuficijenciju. S druge strane, hronična bubrežna insuficijencija (chronic kidney disease-CKD) se postepeno i često prikriveno razvija. Osnovna bolest koja prouzrokuje CKD se razlikuje od jedne do druge starosne, odnosno uzrasne kategorije. Kod mlađe dece su urođene anomalije poput veziko-ureteralnog refluksa, valvule zadnje uretre, renalne displazije/hipoplazije ili policistične bolesti najčešći prouzrokovatori, a kod adolescenata i mlađih adulta primarne i sekundarne glomerulske bolesti.⁵ Kada su u pitanju stariji od 65 godina, najvažnija oboljenja su dijabetesna nefropatija, renovaskularna bolest, hipertenzivna nefropatija, ili prostatična subvezikalna opstrukcija.⁶ Nažalost, CKD prouzrokovana većinom bolesti može dugo vremena ostati klinički nema i značajno uznapredovati, pre nego što pacijenti shvate da imaju problem i jave se lekaru.⁷ U poslednje vreme je zabeležen porast prevalencije pacijenata u ranijim stadijumima CKD koji razvijaju ozbiljne neželjene događaje, čak i prevremenu smrtnost.^{4,7} Teret CKD je izuzetno veliki u zdravstvenim sistemima širom sveta, a dostupnost dijagnostike i lečenja u velikoj meri varira u različitim regionima. Stoga se primenjuju razne strategije da bi se povećala svest populacije o bubrežnim bolestima i faktorima rizika koji do nje dovode.⁸ Postoje dva osnovna ishoda CKD koji

se razvijaju tokom vremena, a to su progresivni gubitak bubrežne funkcije i razvoj i progresija kardiovaskularnih komplikacija.⁹ Na grafikonu 1-1. je prikazan osnovni koncept razvoja CKD.



Grafikon 1-1. Uobičajeni klinički tok u razvoju hronične bubrežne insuficijencije (CKD) sa odgovarajućim pristupom u svakoj fazi (National Kidney Foundation 2017)⁹

U svim ilustrovanim fazama se mogu definisati faktori rizika koji imaju svoju ulogu u razvoju i progresiji CKD, na koje treba obratiti pažnju, posebno prilikom rane identifikacije pacijenata koji pokazuju sklonost ka bubrežnoj insuficijenciji.^{4,9} Tu se najčešće izdvajaju pozitivna porodična anamneza, mala porođajna masa, hereditarne bolesti, progresivno smanjenje volumena bubrega i pojedina rasna i etnička pripadnost.⁶ Kada su u pitanju faktori koji direktno oštećuju funkciju bubrega, najpre se ističu dijabetes, hipertenzija, sistemske infekcije, autoimunska oboljenja, urinarne infekcije, urolitijaza, opstrukcija donjeg urinarnog trakta, toksičnost lekova i brojna hereditarna stanja.^{4,6-9} U fazi kada je već došlo do oštećenja funkcije bubrega i njenog postepenog opadanja, mogu se identifikovati brojni prognostički faktori koji oslikavaju brzinu njenog propadanja i tu spadaju visok nivo proteinurije, izražena hipertenzija, loša kontrola glikemije kod dijabetesa, dislipidemija i konzumiranje cigareta.⁴⁻⁹ Nažalost, kada dođe do terminalne faze, faktori koji ukazuju na povišen rizik od morbiditeta i mortaliteta su niža doza dijalize (Kt/V), privremeni vaskularni pristup, anemija, nizak serumski albumin, visok serumski fosfor i kasno javljanje lekaru za dijagnozu i lečenje.⁹

Cilj lečenja i praćenja pacijenata sa CKD je da se kontroliše i uspori osnovna bolest koja je dovela do bubrežne insuficijencije i da se redukuju komplikacije CKD koje mogu imati i fatalni ishod.¹⁰ Od svih navedenih prognostičkih faktora koji prouzrokuju rapidnu progresiju CKD i zahtevaju intenzivan tretman, najznačajniji su nekontrolisana hipertenzija i proteinurija.¹¹⁻¹³ Osim kardiovaskularnih bolesti, u lečenju CKD se treba nositi i sa komplikacijama u vidu hipervolemije, acidoze, anemije i

renalne osteodistrofije, dok je kod dece jedan od osnovnih problema i zaostatak u psihofizičkom razvoju.¹⁴ Bez obzira na uzrok i trajanje oštećenja bubrežne funkcije, postoje kriterijumi na osnovu kojih je neophodno zameniti njenu funkciju. Zamena bubrežne funkcije je opšti pojam koji se odnosi na raspon modaliteta lečenja pacijenata sa akutnom bubrežnom insuficijencijom gradus 3 i hroničnom bubrežnom insuficijencijom gradus 5.^{3,4} Ova metoda lečenja podrazumeva nekoliko formi dijalize (hemodijaliza, hemodijafiltracija i peritonealna dijaliza) i bubrežnu transplantaciju.

1.2 ZAMENA BUBREŽNE FUNKCIJE

Zamena bubrežne funkcije se može primenjivati intervalno ili kontinuirano primenom ekstrakorporalnih (hemodijaliza) ili parakorporalnih (peritonealna dijaliza) metoda.¹⁵ U idealnom scenariju bi pacijenti sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom mogli da biraju oblik zamene bubrežne funkcije, no u praksi ekonomski i socijalni faktori, nedostatak donora organa i brojne predrasude u velikoj meri diktiraju oblik lečenja. S obzirom da su dužina i kvalitet života mnogo veći nakon transplantacije, ovaj vid zamene bubrežne funkcije se preferira kod pacijenata kod kojih se očekuje dužina preživljavanja bar 5 godina (mladi adulti i pedijatrijski pacijenti), kao i kod pacijenata koji imaju dostupnog živog donora, srodnog ili ne.⁶ U ostalim slučajevima se kao inicijalna zamena funkcije primenjuje neki od metoda dijalize.

Tabela 1-1. Klasifikacija stadijuma hronične bubrežne insuficijencije (Levey et al.2005) ⁴

Stadijum	Opis	Klasifikacija		
		GFR (mil/min/1.73m2)	Pridruženi faktori	Klasifikacija tretmana
1	Oštećenje bubrega sa normalnom ili ↑ GFR	≥90	Albuminurija, proteinurija, hematurija	
2	Oštećenje bubrega sa blagim ↓GFR	60-89	Albuminurija, proteinurija, hematurija	
3	Umeren ↓ GFR	30-59	CKD, rana bubrežna insuficijencija	T ili D
4	Težak ↓ GFR	15-29	CKD,teška preterminalna faza	
5	Gubitak funkcije bubrega	<15	Uremija, terminalna bubrežna insuficijencija	

*GFR- stepen glomerulske filtracije; CKD- hronična bubrežna insuficijencija; T- transplantacija; D- dijaliza

1.2.1. Dijaliza

Cilj svake dijalize je da očuva homeostazu elektrolita, acido-baznog statusa i da otkloni azotne metaboličke produkte koji se akumuliraju kod akutne, ili hronične bubrežne insuficijencije visokog gradusa.⁶ Koliko je dijaliza dobra, određuje klirens uree, bez obzira što je urea samo jedan od azotnih jedinjenja koji se akumuliraju kod CKD gradus 5.¹⁶ Nacionalna Kooperativna Studija Dijalize sprovedena u SAD je pokazala da se prilikom uklanjanja minimalne količine uree pacijenti mogu vratiti u relativnu ravnotežu.¹⁷ Da bi se klirens uree mogao standardizovati za sve pacijente, odnosno njihovu telesnu konstituciju, napravljena je formula koja glasi Kt/V_{urea} , gde je kod hemodijalize K klirens uree dijalizatorom, a kod peritonealne dijalize predstavlja kombinaciju urinarnog i peritonealnog klirensa, t predstavlja vreme, a V_{urea} volumen u kojem se urea distribuira u telu.^{18,19} Za hemodijalizu se odnos Kt/V_{urea} računa po jednoj sesiji, dok je kod peritonealne dijalize izražen na nedeljnom nivou. Međutim, treba imati na umu da ono što se smatra adekvatnom dijalizom predstavlja ekvivalent od oko 6-10ml/min stepena glomerulske filtracije.⁶⁻¹⁹ Postavlja se pitanje šta ustvari čini CKD devastirajućom bolešću? Postoje mnoge druge komplikacije CKD koje dijaliza ne rešava u velikoj meri, a koje značajno narušavaju zdravlje i skraćuju životni vek pacijenata, bili oni na dijalizi ili ne. **Hipertenzija** je česta komplikacija CKD koja se javlja pre započinjanja ili tokom lečenja zamenom bubrežne funkcije i obično je prouzrokovana povećanom količinom tečnosti u ekstracelularnom odeljku zbog zadržavanja natrijuma i vode.^{6,12-14} Dijalizom se uklanja mala količina natrijuma tako da su dijetetski režimi izuzetno važni. S druge strane, hiperkalemija utiče na srčani rad prouzrokujući aritmije i na skeletne mišiće izazivajući slabost i potencijalnu paralizu. **Eritropoeza** je redukovana kod pacijenata sa CKD, koji pride imaju i veće potrebe za gvožđem od standardne populacije zbog porasta hepcidina koji redukuje crevnu resorpciju gvožđa i njegovo oslobađanje iz retikulo-endotelne sistema. Referentne vrednosti hemoglobina u krvi kod pacijenata sa CKD su od skoro spuštene na niže vrednosti (www.kdigo.org), u rasponu od 10.0 to 12.0 g/dL. Kao razlozi se navode povećan rizik od moždanog udara i tromboze vaskularnog puta za dijalizu ukoliko imaju povećan hematokrit.¹⁹ Problem anemije se može značajno rešiti korišćenjem odgovarajućih stimulišućih faktora (eritropoetin stimulišući faktor). Pacijenti koji ne odgovoraju adekvatno na stimulišuće faktore obično imaju značajan deficit gvožđa, okultno krvarenje ili fokus infekcije/inflamacije, te se često primenjuju i suplementi gvožđa, najčešće intravenski.¹⁹ **Infekcije** predstavljaju drugi po redu uzrok smrtnosti pacijenata sa CKD gradus 5.²⁰⁻²² Čelijski imunitet je suprimiran u bubrežnoj insuficijenciji, te su česte infekcije hepatitisom B, viši je rizik od tuberkuloze, pneumokokne sepse i infekcije varicella-zoster virusom, kao i slabije reakcije na vakcinaciju.⁶ Kod dece su značajne još i infekcije citomegalovirusom i Epstein Barr virusom koji može izazvati ozbiljne

probleme u posttransplantacionom periodu u vidu prosttransplantacione limfoproliferativne bolesti (PTLD).²⁰ **Renalna osteodistrofija** je još jedan od komplikacija CKD. Poremećena homeostaza kalcijuma i fosfata se razvija u ranoj fazi progresije CKD, usled smanjenog klirensa fosfata.²³ Njihova retencija i relativni deficit aktivne forme vitamina D (1,25-dihidroksiholecalciferol) mogu dovesti do pojačanog lučenja parathormona (PTH) od strane paratiroidnih žlezda koje vremenom hipertrofišu i prouzrokuju sekundarni hiperparatiroidizam.^{24,25} Iako porast PTH stimuliše ekskreciju fosfata, dodatno pojačava metabolizam kosti, narušavajući balans između osteoblasta i osteoklasta. Ovaj proces vodi u oštećenje koštane strukture, mikrofrakture i stvaranje Luzerovih zona osteopenije. Stoga većina pacijenata sa CKD zahteva suplementaciju vitaminom D u cilju kontrole hiperparatiroidizma.²³⁻²⁶ **Pothranjenost** je čest problem pacijenata na dijalizi, pogotovo kod dece.²⁶⁻²⁹ Kod dece sa pojačanim katabolizmom proteina dolazi do pada u antropometrijskim merama čak dve standardne devijacije za očekivanu telesnu masu i visinu za uzrast.³⁰ Malnutricija može nastati zbog neadekvatnog dijetetskog režima, redukcije hormona gladi kao što je acil-grelin, sa porastom antagonista kao što su desacil grelin, leptin, obestatin, usled acidoze, a kod odraslih i usled povećane insulinske rezistencije.^{6,23-30} Appetit dalje može biti redukovan kod pacijenata na peritonealnoj dijalizi usled gastroezofagealnog refluksa, opstipacije i resorpcije glukoze iz dijalizata. Teži oblici malnutricije vode u gubitak mišićne mase i hipoalbuminemiju. **Svrab** kože je čest simptom pacijenata na dijalizi koji je prouzrokovan smanjenom funkcijom znojnih žlezda, toplotom i stresom.⁶ Dodatno ga može pogoršati i taloženje kristala kalcijum fosfata ili demijelinizacija senzornih perifernih nerava. Jedna od vrlo teških komplikacija bubrežne insuficijencije je **uremijska encefalopatija**.³¹ Ona se najčešće manifestuje kao blago opadanje kognitivnih veština i često je razlog intenziviranja dijalize. Uremijska koma i epileptični napadi su retki, osim kod pacijenata koji ne dolaze na redovno lečenje.³² Distalna polineuropatija je česta i manifestuje se disestezijama- bockanjem, mravinjanjem, žarenjem ili ređe padom stopala ili sindromom nemirnih nogu, potovo noću.³³ Čest je i sindrom karpalnog tunela kao uremijska mononeuropatija usled amiloidoze, najčešće na ruci gde je fistula za dijalizu. Mogu se javiti brojni **endokrinološki poremećaji**. Najupadljiviji je poremećaj u osovini vitamina D i PTH i eritropoetina usled gubitka bubrežne funkcije, ali i tiroidnih hormona, hormona rasta, prolaktina i polnih hormona.²⁵⁻³⁰ Međutim, mnogi od ovih endokrinih poremećaja se rešavaju češćim i dužim hemodijalizama.³⁴ Čak se i fertilitnost povećava, pogoto kod žena, omogućavajući im i održavanje trudnoće i sprečavanje intrauterinog zastoja rasta ploda.³⁴ **Psihološki problemi** pacijenata na dijalizi uglavnom obuhvataju anksioznost i depresiju. Ova stanja su češća kod onih pacijenata koji su krenuli sa dijalizom vrlo brzo nakon dijagnoze, za razliku od pacijenata koji su prošli dugoročnije pripreme i savetovanja od strane nefrologa.³⁵

Kada bi trebalo početi sa dijalizom? To treba učiniti najpre kod simptomatskih pacijenata, onih koji su izgubili na telesnoj masi, pacijenata sa opterećenjem volumenom i u slučaju nekontrolisane acidoze ili hiperkalijemije.⁶ U tabeli 1-2 su predstavljene najčešće indikacije za započinjanje zamene bubrežne funkcije dijalizom. S druge strane, brojne studije su pokazale da ne postoji prednost u započinjanju dijalize kod pacijenata koji su stabilni, ukoliko imaju dobre biohemijske parametre i ne gube na telesnoj masi, sve dok stepen glomerulske filtracije ne padne na oko 5 mL/min.³⁶

Tabela 1-2. Indikacije za započinjanje dijalize kod pacijenata sa CKD⁶

Biohemijske indikacije	Kliničke indikacije
Refraktarna hiperkalijemija > 6.5mmol/l	Oštećenje organa: perikarditis, encefalopatija, neuropatija, miopatija, uremijsko krvarenje, gubitak TM
Serumska urea > 50 nmol/L, ne zbog hipovolemije	Refraktarno opterećenje volumenom tečnosti
Refraktarna metabolička acidoza pH ≤ 7.1	

*CKD- hronična bubrežna insuficijencija

1.2.1.1. Hemodijaliza

Tokom hemodijalize, mali hidrosolubilni molekuli prolaze kroz polupropustljivu membranu dijalizatora u skladu sa gradijentom koncentracije. Dodatno se primenjuje i gradijent pritiska koji podstiče dopunsku ultrafiltraciju vode kroz membranu kao i molekula koji mogu proći kroz pore.^{6,37,38} Hemodijalizom se uspešno uklanjaju mali molekuli kao što je urea, dok se molekuli srednje veličine (npr. β2- mikroglobulin) bolje uklanjaju proširenom dijalizom ili hemodijafiltracijom.³⁹ Ključni uslov za sprovođenje adekvatne hemodijalize je pouzdan vaskularni pristup. Ukoliko je to centralni venski kateter, pacijenti su izloženi većem riziku od ozbiljnih bakterijskih infekcija, venske tromboze i stenozе. Najpouzdaniji vaskularni pristup je adekvatno napravljena arterio-venska fistula koja se pravi u distalnom aspektu podlaktice. Komplikacije hemodijalize podrazumevaju hipotenziju koja se često događa usled intravaskularne hipovolemije. Najčešće se događa kada se tokom kratke sesije ukone velike količine tečnosti.⁴⁰ Grčevi u mišićima često prate hipotenziju i nisku telesnu masu pacijenta, a mogu nastati i kao posledica nedostatka karnitina. Mučnina, povraćanje i glavobolje se mogu javiti, kao i blagi bolovi u grudima i leđima.⁴¹ Neki pacijenti mogu razviti alegrijsku reakciju na heparin, kao i na neke plastične polimere koji se koriste u sistemima. Pacijenti nekada tokom dijalize mogu da dobiju temperaturu i groznicu, usled infekcije pristupa za dijalizu.⁴¹

1.2.1.2.Peritonealna dijaliza

Peritonealna dijaliza predstavlja proces tokom kog se otpadni produkti razmenjuju između peritonealnih kapilara i dijalizata ubačenog u peritonealnu duplju.⁴² Peritonealna barijera za razmenu je prirodna i nju čine kapilarni zid, intersticijalni matriks, visceralne mezotelne ćelije i glikokaliks. Stepem razmene zavisi od propustljivosti ove prirodne membrane i od osmotskog, odnosno onkotskog pritiska glukoze, glukoznih polimera i aminokiselina u dijalizatu.^{43,44} Efikasnost peritonealne dijalize se može menjati kroz promenu zapremine i učestalosti sprovođenja procedure. Nedeljni klirens kreatinina i uree se koriste da bi se preračunala adekvatnost.⁴⁵ Najveći broj činjenica ukazuje da je veći broj dijaliza tokom nedelje bolji sa ciljanom vrednošću Kt/Vurea (dijalizna i rezidualna renalna funkcija) većom od 1.7 nedeljno. Slično i ciljana vrednost urinarnog i peritonealnog klirensa kreatinina treba da bude 50L/1.73 m².^{45,46} Iz ovoga proizilazi da je neophodno da postoji izvesna rezidualna bubrežna funkcija da bi pacijent bio na peritonealnoj dijalizi. Kako ta funkcija opada, ova vrsta dijalize često nije dovoljna da se zadovolje potrebe, pa ti pacijenti prelaze na hemodijalizu.

Da bi se peritonealna dijaliza adekvatno sprovodila, neophodno je plasiranje peritonealnog dijaliznog katetera. Vrh katetera bi trebalo da bude pozicioniran intraperitonealno pelvično, da bude slobodan i daleko od omentuma, unutrašnja manžetna mora biti nepropusna i zašivena izvan peritoneuma.^{6,47} Tok katetera bi trebalo da bude dijagonalan i kateter bi trebalo da bude usmeren lateralno i nishodno ka spoljašnjoj manžetni koja je na 2 cm od mesta izlaska na koži. Peritonealna dijaliza ima nekoliko prednosti u odnosu na hemodijalizu, ali i nekoliko mana. U principu je dosta jeftinija, ne zahteva skupu mašinu za dijalizu, obučavanje osoblja za njeno sprovođenje je jednostavnije i nije neophodan vaskularni pristup.⁴⁵⁻⁴⁷ Mnogi pacijenti mogu sprovoditi ovu dijalizu kod kuće, vrlo je komforna za decu i njihove roditelje. Nedostaci ove metode predstavljaju brojne komplikacije koje se mogu razviti u vidu peritonitisa, infekcije mesta izlaska katetera bakterijama sa kože (tunnel infekcije), apsorpcije glukoze iz dijalizata i gojaznosti. Nekada je neophodna dugotrajna obuka pacijenata da bi se izveo aseptički proces, dok dopunski problem predstavlja skladištenje dijalizne tečnosti i potrošnog materijala kod kuće u higijenskim uslovima.^{6,45-48} Takođe, porast intraabdominalnog pritiska povećava sklonost ka hernijama, gastroezofagealnom refluksu i opstipaciji. Kod nekih pacijenata se može razviti peritonealna skleroza zbog inflamatornih reakcija peritoneuma sa posledičnom fibrozom, adhezijama oko tankog creva, ileusom i malapsorpcijom, čak i mnogo godina nakon prestanka peritonealne dijalize.⁴⁹

•

Pacijenti sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom se nikada ne mogu izlečiti i često menjaju tipove zamene bubrežne funkcije tokom svog života. S obzirom da transplantacija bubrega

omogućava duže preživljavanje sa boljim kvalitetom života, treba da bude metoda izbora u njihovom lečenju. Deca nakon transplantacije imaju duže vreme preživljavanja grafta i duži životni vek u odnosu na adultne recipijente.^{5,50} Međutim dostupnost grafta dosta utiče na izbor terapije. Najidealnija opcija je transplantacija od živog srodnika ukoliko je kompatibilan, što u nekim slučajevima može omogućiti da se faza dijalize izbegne.⁵¹ Iako postoji strah od gubitka funkcije alografta, mladi pacijenti i njihove porodice moraju biti upoznati sa činjenicom da vremenski raspon od oko 10 godina bez dijalize u ranom životnom razdoblju kada je rast i razvoj intenzivan, može mladoj osobi omogućiti obrazovanje, pravljenje karijere, čak i porodice.^{1,6} Ukoliko transplantacija od živog donora nije opcija, pacijenti se stavljaju na listu čekanja za kadaveričnog donora. Kada je neophodno sprovesti dijalizu pre transplantacije, izbor tipa dijalize zavisi od očekivanog perioda čekanja na graft. U slučaju da je pacijent dobrog opšteg stanja, sa potencijalno dostupnim živim donorom, peritonealna dijaliza može biti metoda izbora jer se izbegava kreiranje privremenog ili trajnog vaskularnog pristupa.^{6,16-18} Nekada je prvi izbor hemodijaliza, pri čemu pacijenti dobijaju privremeni centralni venski kateter, kao kratkotrajnu opciju uz mnogo opreza od infekcije i venske stenozе. Ukoliko je vreme čekanja na graft neodređeno, pravi se trajni vaskularni pristup za hemodijalizu. Većina pacijenata sa CKD se dijalizom leči nedeljama, mesecima i godinama pre nego što dobije poziv života i bubreg.

1.2.2. Transplantacija

Transplantacija predstavlja, ako ne trajno, onda dugoročnije rešenje u lečenju hronične bubrežne insuficijencije. Zahvaljujući njoj se mogu prevazići brojne komplikacije CKD koje drugi oblici zamene bubrežne funkcije ne mogu rešiti. Međutim, iako alograft u principu ispunjava sve funkcije koje bi trebalo nativni bubrezi da vrše, drugi vid komplikacija vezanih za operativnu tehniku ili imunosupresivnu terapiju u velikoj meri mogu uticati na opšte zdravstveno stanje pacijenta. Transplantacija solidnog organa podrazumeva uklanjanje celog ili dela organa iz davaoca, bilo živog ili kadaveričnog i usađivanje tog organa u primaoca. Tokom ovog procesa neizbežan je privremeni prekid cirkulacije i oksigenacije da bi se organ bezbedno odstranio, što posledično vodi u „namerno“ oštećenje tkiva grafta, smrti ćelija i oslobađanja molekula koji mogu stimulisati i urođeni i stečeni imunski odgovor.^{6,52,53} Nakon presađivanja, kada se cirkulacija u primaocu ponovo uspostavi, događaju se dva osnovna stimulusa primaočevog imunskog sistema: jedan pokreće aktivaciju imunskog odgovora zbog oštećenja tkiva grafta usled ishemije (urođeni imunski odgovor), a drugi usled razlika u molekulima na površini ćelija (kao što su humani leukocitni antigen- HLA i antigeni krvne grupe).^{52,53} Faktori koji utiču na stepen imunskog odgovora primaoca dosta zavise i od vrste

davaoca. Kada su u pitanju **davaoci posle smrti**, kod njih se oštećenje organa odvija u nekoliko faza i sve mogu imati značajan uticaj na stanje i funkciju organa nakon transplantacije. Kod moždane smrti davaoca se oslobađa velika količina proinflammatoryh citokina koji direktno oštećuju organ i podstiču dopunsko imunološko oštećenje kod primaoca.⁵⁴⁻⁵⁷ Bubrezi koji su pre presađivanja izloženi delimičnoj hipotenziji zbog moždane smrti i inflamatornim citokinima razvijaju nekrozu tubula i fibrozu proliferaciju intime. Kada su u pitanju davaoci posle cirkulatorne smrti, njihovi bubrezi su takođe izloženi inflamatornim citokinima, ali u manjoj meri u odnosu na davaoce posle moždane smrti.^{58,59} S obzirom na cirkulatorni kolaps, od trenutka smrti do trenutka hlađenja i perfundovanja organa odgovarajućim rastvorima prolazi vreme koje se zove vreme tople ishemije.⁶⁰ Što je ovo vreme duže to postoji veća stopa odložene funkcije grafta nakon usađivanja u primaoca ili disfunkcije grafta u kasnijem vremenu. Iz navedenih razloga je kod ovih davaoca neophodno sprovesti brzu hiruriju da bi se organ hladio i perfundovao što je pre moguće, čak i pre samog odvajanja in situ.⁶⁰ Period od inicijalne aplikacije hladnog perfuzionog rastvora kroz arterije bubrega pa do trenutka kada se uspostavi reperfuzija u primaocu se naziva vreme hladne ishemije.^{61,62} Dužina ovog perioda je potencijalno važan faktor koji takođe određuje ishod transplantacije. Analizom podataka prikupljenih Kolaborativnom Transplant Studijom utvrđeno je da kada je vreme hladne ishemije duže od 19h, preživljavanje grafta je značajno lošije, uz produženu odloženu funkciju grafta.⁶¹⁻⁶³

1.2.2.1. Hirurške tehnike odvajanja bubrega

Bubrezi davaoca posle smrti se obezbeđuju zajedno sa ostalim abdominalnim ili torakalnim organima i zahtevaju dobro koordinisan hirurški tim. Bubrezi se mogu uzeti bilo individualno, bilo en bloc.⁶ Individualno odvajanje bubrega se sprovodi transekcijom leve renalne vene na spoju sa venom cavom inferior. I aorta i VCI se mogu transecirati neposredno iznad nivoa bifurkacije u kaudalnom aspektu i iznad nivoa odvajanja gornje mezenteijalne arterije i desne renalne vene u kranijalnom aspektu. Prilikom gornje transekcije aorte bi trebalo sačuvati Carrel zakrpu („patch“-mali deo okolnog zida aorte koji ima ulogu prilikom kreiranja anastomoze) oko ishodišta renalnih arterija obostrano.⁶ Tom prilikom je važno identifikovati da li postoji veći broj arterija koje snabdevaju bubreg, u cilju očuvanja Carrel zakrpe oko svake arterije pojedinačno. Desna renalna vena bi trebalo da se identifikuje pre transekcije VCI da bi se odvojila sa okolnim lumenom VCI u vidu manžetne koja će se koristiti za potencijalno produžavanje venskog toka prilikom kreiranja anastomoze.⁶ Prilikom odvajanja uretera važno je da se sačuva periureteralno tkivo da bi se smanjila mogućnost njegove devaskularizacije na najmanju moguću meru. En bloc odvajanje bubrega se izvodi bez longitudinalnog presecanja aorte i VCI i bez odvajanja renalnih vena. Radi se samo

njihova gornja i donja transekcija na posteriornom zidu, a odvajanje bubrega sa odgovarajućim vaskularnim zakrpama se vrši nakon ekstrakcije.⁶

Doniranje organa od živog davaoca, pogotovo srodnika predstavlja zlatni standard transplantacije, iz razloga što omogućava dobro funkcionisanje grafta neposredno nakon transplantacije, njegov duži poluživot, a samim tim i duži život primaoca organa. Organ se može odvojiti na dva načina, otvorenom hirurģijom koja je sve ređa u poslednje vreme ili mnogo komfornijom laparoskopskom hirurģijom.⁶⁴⁻⁶⁷ Laparoskopija se može izvesti na dva načina, tzv „hand- assisted“ tehnika koja kombinuje laparoskopsku vizualizaciju i manuelnu disekciju i odvajanje, dok se totalnom laparoskopskom tehnikom kompletan proces izvodi uz pomoć instrumentarijuma.⁶⁶ Bolji ishod transplantacije organa porekla živog davaoca se objašnjava odsustvom vremena tople ishemije, kraćim vremenom hladne ishemije, boljom HLA kompatibilnošću i boljom perioperativnom pripremom primaoca.⁶⁷ Koliko je transplantacija od živog davaoca superiornija objašnjavaju činjenice da preživljavanje grafta porekla živog nesrodnog davaoca je bolje u odnosu na mladog kadaveričnog davaoca.⁶⁸ Dodatno, dobijanje organa od živog starijeg srodnika (babe, dede) je superiornije u odnosu na kadaverični organ.⁶⁹ Da činjenice budu još istaknutije, čak je dobijanje organa od živog davaoca slabe HLA kompatibilnosti bolje od bilo kog kadaveričnog organa.⁷⁰ Što se starosti davaoca tiče, idealni raspon godina je kada je stariji od 6, a mlađi od 45 do 50 godina. Starost davaoca je mnogo bitnija kada je u pitanju transplantacija kadaveričnog organa, nego kada je u pitanju živi davaoc. Interesantna je činjenica da deca koja dobijaju organ od kadaveričnih davalaca mlađih od 18 godina su povećala relativni stepen glomerulske filtracije tokom vremena u odnosu na decu koja su dobila organ od adultnog davaoca, bilo živog, bilo kadaveričnog.⁷¹ Ovo se objašnjava činjenicom da se bubrežni alograft porekla mlađeg davaoca bolje adaptira na zahteve organizma primaoca sa intenzivnim metabolizmom i rastom, dok bubrezi starijih davaoca imaju nizak kapacitet za ćelijsko preživljavanje i regeneraciju i podležu ubrzanom „starenju“ nakon transplantacije.⁷²

Nakon odvajanja od davaoca, bilo preminulog, bilo živog, bubreg bi trebalo adekvatno obraditi pre usađivanja. Dobra priprema organa će omogućiti adekvatnu obradu krvnih sudova da bi se obezbedio dobar kalibar, tok i dužina za vaskularne anastomoze.⁶⁻¹¹ Na venama se odvajaju i ligiraju male pritoke, identifikuje se njihov broj i odlučuje da li će neka grana biti podvezana, da li će svaka imati svoju anastomozu ili će se spojiti združeno u jedno stablo. Kratka desna renalna vena se može u tom procesu produžiti delom resecirane VCI. Nakon obrade vena, pristupa se obradi arterija. Neophodno je identifikovati jasnu arterijsku anatomiju sa brojem grana i proveriti da li su male polarne grane oštećene.⁶⁻¹¹ Anomalije arterijskog stabla se javljaju u 30% kadaveričnih transplantacija, dok se kod živih davaoca unapred planira uzimanje bubrega koji ima samo jedno glavno arterijsko stablo. S obzirom da se arterijsko stablo sastoji od terminalnih grana bez

anastomoze, prilikom hladne perfuzije je neophodno perfundovati sve grane, da bi se sprečio segmentni infarkt, a posebno je važna arterija za donji pol koja može davati i vaskularne grane za ureter, da bi se sprečila njegova nekroza.⁷³⁻⁷⁵ Ukoliko postoji nekoliko glavnih arterijskih grana, odluka se donosi ad hoc da li će svaka imati pojedinačnu anastomozu ili će biti združene u zajedničko stablo, dok se sitne grane za gornji pol mogu čak i ligirati. Nakon vaskularne obrade, pristupa se obradi uretera, tokom koje je jako važno sačuvati periureteralno tkivo, pogotovo između donjeg pola bubrega i uretera, tzv. zlatni trougao, da bi se očuvala adekvatna ureteralna vaskularizacija.⁶

1.2.2.2. Osnovna priprema primaoca

Potencijalni primaoci bubrega se temeljno procenjuju pre nego što se stave na listu čekanja. Određuju se medicinski i hirurški faktori rizika i periodično se reevaluiraju, dok se na prijemu za transplantaciju procenjuju neposredni operativni rizici.^{76,77} Neki pacijenti zahtevaju dijalizu neposredno pre hirurgije, sprovodi se profilaksa protiv tromboze dubokih vena, a kod nekih se započinje imunosupresivna terapija preoperativno, mada za njenu uspešnost u očuvanju grafta nema dovoljno čvrstih dokaza. Priprema i evaluacija pedijatrijskih pacijenata je mnogo kompleksija i iziskuje brojne reevaluacije na svakih 6-12 meseci.^{76,77} U većini centara se neguje pravilo da pedijatrijski pacijenti treba da dostignu minimalnu telesnu masu od 10-15kg pre nego što uđu u razmatranje za transplantaciju, što je nekada jako teško zbog usporenog rasta i razvoja. Mnoga deca pre transplantacije pate od hipertenzije koja vodi u kardiološka oboljenja i potencijalnu srčanu insuficijenciju, te je detaljna kardiološka obrada i kontrola krvnog pritiska pre transplantacije često neophodna.⁷⁸⁻⁸⁰ Važno je identifikovati osnovnu bolest koja je dovela do terminalne bubrežne insuficijencije i proceniti rizik njenog vraćanja u graft (kao što su npr. glomerulonefritis ili kongenitalni nefrotski sindrom).⁸¹⁻⁸⁵ Potrebno je agresivno lečiti renalnu osteodistrofiju i omogućiti adekvatan koštani rast i razvoj pretransplantaciono. Kada postoje anomalije urinarnog trakta (subvezikalna opstrukcija, veziko-ureteralni refluks i rekurentne infekcije) neophodno je sprovesti adekvatnu antibiotsku terapiju i hirurško rešavanje anomalija, često sa bilateralnom nefrektomijom primarnih bubrega.⁸⁴⁻⁸⁸ Neophodno je sprovesti kompletan program imunizacije i skrining na neke infekcije kao što su CMV, EBV, hepatitis B i C. Profilaksa trombotičnih stanja kod pacijenata sklonih trombozi i adekvatna preoperativna CT ili MRI evaluacija su od velikog značaja. Ako postoji istorija maligniteta, kao što je Wilms tumor, nepohodno je sačekati bar dve godine od završenog lečenja.^{89,90} Dobra podrška u neurokognitivnom razvoju, kontrola epilepsije i komplijanse deteta i porodice omogućavaju dugotrajnost grafta nakon transplantacije i bolji kvalitet života.^{91,92}

1.2.2.3.Hirurška tehnika usađivanja organa

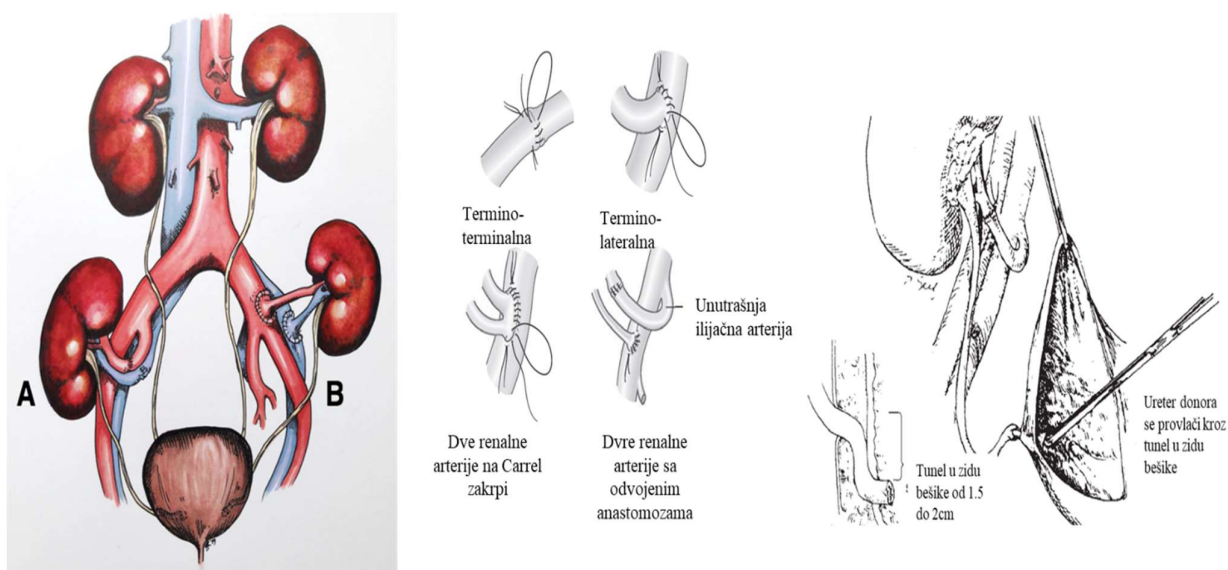
Iako se tradicionalno graft postavlja u desnu ilijačnu jamu, u realnosti se ipak procenjuje izbor tačnog mesta usađivanja u odnosu na anatomske karakteristike organa.^{73,74} Opšta preporuka je da se levi bubreg davaoca postavlja u desnu ilijačnu jamu primaoca, a desni u levu.⁷⁴ Na ovaj način se renalni pelvis i ureter postavljaju medijalno u cilju obezbeđivanja adekvatne ureteralne rekonstrukcije. Nekada se bubreg postavlja na ipsilateralnu, umesto na kontralateralnu stranu da bi se izbeglo ukrštanje arterije i vene. U svakom slučaju, izbor bilo koje ilijačne jame je opravdan. Nakon izbora pozicije i otvaranja primaoca, identifikuju se ilijačni krvni sudovi za kreiranje vaskularnih anastomoza.^{73,74,93} Kada je u pitanju arterijska anastomoza, termino-lateralna anastomoza se pravi sa spoljašnjom ili zajedničkom ilijačnom arterijom uz pomoć Carrel zakrpe (Carrel A. 1902). Kada vaskularni elementi organa nemaju Carrel zakrpu, kao što je slučaj kod živih davaoca, pravi se defekt na zidu ilijačne arterije veličine davaočeve arterije da bi se kreirala adekvatna anastomoza.⁷⁴ Znatno ređe se koristi unutrašnja ilijačna arterija za pravljenje anastomoze. U tom slučaju je neophodno podvezati sve njene distalne grane i preparisati je od najproksimalnijeg dela da bi se dobio maksimalni tok. Anastomoza je termino-terminalna, a ukoliko je kalibar davaočeve renalne arterije znatno manji od primaočeve unutrašnje ilijačne, renalna arterija se može širiti na jednoj strani da bi se dobilo na dijametru.⁷⁴ U ovom slučaju je važno voditi računa da se tok krvnog suda nakon anastomoze ispravi, da ne bi došlo do uvrtnja arterijskog sistema kada se bubreg postavi u svoju krajnju poziciju.⁷⁴

Venska anastomoza se pravi po principu termino-lateralne veze sa spoljašnjom ilijačnom venom. Uobičajeno je da se venska anastomoza pravi medijalno u odnosu na spoljašnju ilijačnu arteriju, ređe lateralno.^{73,74} Bez obzira na njenu poziciju, takođe je važno da ne dođe do uvrtnja venskog toka pre pravljenja anastomoze. Kada je primalac malo dete koje dobija bubreg od odraslog davaoca, neophodno je u pojedinim slučajevima skratiti renalnu venu, posebno kada se anastomoza pravi sa VCI.

Nakon skidanja vaskularnih klema, dolazi do reperfuzije bubrega u primaocu i u ovom trenutku se završava period hladne ishemije. Tada je važno proceniti integritet napravljenih anastomoza, da bi se identifikovala mesta krvarenja i učinila ligacija malih pritoka ako je neophodno. Kvalitet reperfuzije je varijabilan i zavisi dosta od vrste davaoca i mašinske reperfuzije tokom perioda ishemije.⁶ Bubrezi porekla živih davalaca brzo reperfunduju i dobijaju lepu ružičastu boju. Bubrezi porekla kadaveričnih davalaca, pogotovo oni sa produženim periodom hladne ishemije ili oni kod kojih je period tople ishemije bio izuzetno dug imaju tendenciju da se neravnomerno prokrve tokom dužeg vremenskog intervala na operativnom stolu. U takvim slučajevima hirurg proverava da li su sve kleme skinute, da li kojim slučajem arterijsko stablo nije uvrnutog toka ili presavijeno, da li

primaoc ima dobar arterijski pritisak i da li ima intimalne disekcije na proksimalnom delu ilijačne arterije primaoca ili renalne arterije davaoca.⁶

Kada je došlo do reperfuzije i kada je hemostaza adekvatna, pristupa se rekonstrukciji urinarnog trakta. Faktori koji utiču na tip rekonstrukcije su dužina i stanje uretera i stanje bešike ili neobešike primaoca. Pravi se ureterocystoneostomija (UCN), pri čemu se nativni ureter, ukoliko je prisutan, ne dira i čuva za potencijalne rekonstrukcije. Cilj ove procedure je da se davaočev ureter spoji sa mukozom bešike pri čemu njegov distalni segment na dužini od oko 2-3cm ponire u zid bešike koji će služiti kao valvularni antirefluks mehanizam.⁹⁴⁻⁹⁶ Kompleksniji slučajevi zahtevaju stariju hiruršku tehniku koja podrazumeva angažman nativnog uretera primaoca i stvaranje uretero-ureterostomije kao i pijelo-ureterostomije. Nakon kreiranja neophodnih urinarnih anastomoza, postavlja se stent koji ima ulogu da smanji mogućnost nastanka komplikacija i sačuva kompetentnost anastomoze, ali povećava rizik od urinarnih infekcija.^{97,98} Urinarni kateter se postavlja intraoperativno i služi za praćenje satne diureze, uklanja se nakon 5 dana od operacije, dok se stent standardno uklanja cistoskopski nakon 6 nedelja od operacije, ukoliko nije prisutna infekcija; u tom slučaju se uklanja ranije.⁹⁷⁻⁹⁹



Slika 1-1. Pozicioniranje bubrega u ilijačnim jamama (slika levo) i prikaz osnovnih tipova arterijskih anastomoza (srednja slika) i kreiranja transvezikalne UCN (slika desno) (Lee H et al. 1979)⁷⁴

Kod dece je priprema za transplantaciju i tehnika usađivanja organa ista kao kod odraslih, ukoliko im je telesna masa veća od 20 kg.^{100,101} Vaskularne termino-lateralne anastomoze se kreiraju sa ilijačnim krvnim sudovima ili aortom i VCI.¹⁰² Kod male dece (TM<20 kg), desni ekstrapertonealni prostor se može napraviti širenjem reza do desne kostalne regije ili se može koristiti

transperitonealni pristup.^{103,104} Kod ovog pristupa se vrši incizija od pubisa do ksifoide i retroperitoneumu se pristupa resekcijom peritoneuma lateralno od ascendentnog kolona, koji se pomera medijalno. Renalna vena se anastomozira prva, sa VCI, a zatim renalna arterija, češće sa aortom nego ilijačnom arterijom.⁷⁴ Ukoliko je dete baš malo, treba voditi računa da se nakon skidanja vaskularnih klema ne ukloni velika količina tečnosti diurezom i da dete ne upadne u hipovolemiju. Ascendentni kolon se zatim vraća nazad u poziciju ispred bubrega. Ureterocistostomija i rekonstrukcije urinarnog trakta se kreiraju na isti način kao kod odraslih.

1.2.2.4. Akutna disfunkcija grafta

Rane komplikacije transplantacije mogu se podeliti u mehaničke/hirurške i medicinske. Hirurške komplikacije najčešće nastaju usled varijabilne arterijske anatomije sa brojnim glavnim stablima, stenozama anastomoze i ishemije grafta, tu je tromboza bilo arterije, bilo vene, zatim opstrukcija urinarnog trakta, nakupljanje kolekcija -urinoma, limfocele, hematoma i hematurije. Hirurške komplikacije su detaljnije objašnjene po raznim posttransplantacionim fazama u skladu sa njihovom dijagnostikom u odeljku ultrazvučne dijagnostike, a u ovom odeljku će prednost biti data medicinskim komplikacijama.

Rane medicinske komplikacije su češće od hirurških, među kojima prednjači odložena funkcija grafta kod čak 20% pacijenata koji su dobili organ od preminulog davaoca, do čak 40% ukoliko je taj davaoc bio stariji od 55 godina u trenutku transplantacije.⁶ Na drugom mestu je akutno odbacivanje koje predstavlja veliki klinički problem. Ostali razlozi za disfunkciju su akutna nefrotoksičnost kalcineurinskih inhibitora, prerenalna azotemija, toksičnost nekih drugih lekova, infekcija i povratak osnovne bolesti.¹⁰⁵

Hiperakutno odbacivanje ima više istorijski značaj zbog napredovanja preoperativne pripreme i davaoca i primaoca i u današnje vreme je izuzetno redak entitet.¹⁰⁶ Ono nastaje neposredno nakon reperfuzije i posredovano je preformiranim antitelima na tkivo davaoca. Ovaj tip odbacivanja se događa kad postoji ABO „mismatch“ ili pozitivni limfocitotoksični „crossmatch“.¹⁰⁷ Bez obzira na negativno T ćelijsko crossmatch-ovanje, izvesni pacijenti mogu da razviju agresivnu formu odbacivanja koja je posredovana antitelima.¹⁰⁸ Incidenca može biti i do 20% kod osetljivih primaoca, a biopsijom se prikazuje mikrovaskularna inflamacija (glomerulonefritis, peritubularni kapilaritis), infiltracija imunskim ćelijama i aktivacija komplementa sa C4d komponentom u peritubularnim kapilarima.^{109,110}

Akutno odbacivanje je najčešća forma imunološkog ćelijskog odbacivanja u ranom posttransplantacionom periodu, posredovana je T ćelijskim imunitetom koji stvara odgovor na MHC

(major histocompatibility complex) molekule davaoca bubrega.¹¹¹⁻¹¹⁴ Bez adekvatne imunosupresivne terapije, ovaj vid odbacivanja se javlja u prvih 5 do 7 dana od transplantacije, ali se praktično može dogoditi u bilo kom periodu, uz najvišu incidencu tokom prva tri meseca. Dijagnoza akutnog odbacivanja kod pedijatrijskih pacijenata nije uvek očigledna. Mala deca koja dobiju adultni bubreg imaju relativno veliku bubrežnu rezervu spram telesne mase, te se značajno oštećenje bubrega može dogoditi pre nego što se izmeni nivo serumskog kreatinina.⁶ U kliničkoj slici se može pojaviti subfebrilnost ili blaga hipertenzija, ali se može razvijati i potpuno asimptomatski. U diferencijalnu dijagnozu ulaze nefrotoksičnost lekova, urinarna infekcija, opstrukcija i hipovolemija. Zlatni standard u dijagnostici predstavlja biopsija.¹¹⁵

Odložena funkcija grafta je najčešća rana komplikacija i iziskuje zamenu funkcije dijalizom u toku prve nedelje od transplantacije. Skorašnje definicije odložene funkcije kažu da ona predstavlja nemogućnost pada serumskog kreatinina za 10% u tri uzastopna dana u prvoj posttransplantacionoj nedelji.¹¹⁶ Literatura navodi da je u SAD učestalost odložene funkcije oko 15-20%, uz nešto više brojke kada su u pitanju kadaverični davaoci- oko 20-25%, pri čemu je incidenca kod bubrega dobijenih od davaoca preminulih zbog cirkualtornog kolapsa čak 40%.⁶ Dugoročne posledice odložene funkcije mogu podrazumevati porast od 38% u akutnom odbacivanju i oko 53% u riziku od mortaliteta primaoca.¹¹⁷ Najvažniji faktori rizika kod davaoca za odloženu funkciju grafta su produženo vreme hladne ishemije, starost, visok body mass index (BMI) i visok nivo kreatinina pre vađenja organa. Ostali faktori porekla davaoca podrazumevaju moždanu smrt, anoreksiju, hipertenziju, produženo vreme tople ishemije i veći HLA „mismatch“. Što se karakteristika primaoca tiče u faktore rizika spadaju muški pol, dijabetes, prethodne neuspešne transplantacije, prethodne transfuzije krvi, povišen nivo fosfata i nesrazmera u telesnoj konstituciji između davaoca i primaoca. Smatra se da je osnovni patofiziološki mehanizam odložene funkcije grafta oštećenje nastalo tokom perioda ishemije, koje dovodi do oksidativnog stresa, inflamatorne kaskade i ćelijske smrti nakon reprefuzije.¹¹⁸ Dijagnoza odložene funkcije se postavlja u prva 24h od transplantacije detekcijom pada diureze bez obzira na njenu stimulaciju. U diferencijalnoj dijagnozi se mogu razmatrati prerenalni razlozi akutne insuficijencije, kao i hirurške komplikacije na vaskularnoj anastomozi i ureteru. Dijagnoza se može postaviti dinamskom scintigrafijom na kojoj se prikazuje dobra i očuvana perfuzija, a odsutna urinarna ekskrecija.⁶ Takođe se može izvesti i biopsija grafta kao zlatni standard u razlikovanju akutnog odbacivanja i akutne tubulske nekroze.¹¹⁵ Uobičajeno vreme trajanja je oko 10 do 14 dana.

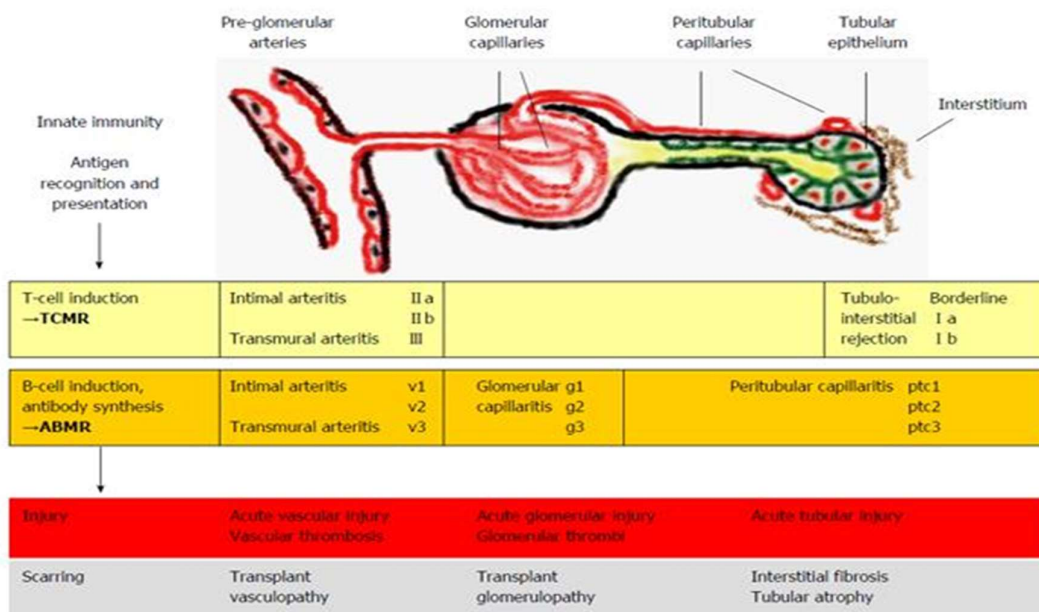
Nefrotoksičnost kalcineurinskih inhibitora je takođe potencijalni problem u ranom posttransplantacionom periodu.¹¹⁹ Međutim, njihova pravovremena i rana primena je od izuzetne važnosti u sprečavanju akutnog odbacivanja. Akutna toksičnost je zavisna od doze i na sreću je

reverzibilan proces koji se može dogoditi vrlo rano nakon započinjanja terapije i takođe može imati dugoročnije posledice. Zato je intenzivan monitoring nivoa lekova od izuzetne važnosti.^{120,121}

Povratak osnovne bolesti koja je dovela do bubrežne insuficijencije je jedan od važnih činioca gubitka grafta kod dece.¹²² Povratak bolesti se može dogoditi bilo kod primarnog ili sekundarnog glomerulonefritisa, kongenitalnog nefrotskog sindroma i metaboličkih oboljenja (kao što je slučaj kod hemolitičko-uremijskog sindroma).

1.2.2.5. Uzroci i praćenje hronične disfunkcije grafta

Kada sama procedura transplantacije prođe uspešno i bez hirurških ili ranih medicinskih komplikacija, u daljem posttransplantacionom toku se pažnja preusmerava na rano prepoznavanje odbacivanja odnosno akutizacije odbacivanja alografta radi pravovremene intervencije.¹²³ Rano prepoznavanje ovog procesa je važno tokom svih posttransplantacionih faza, u cilju pravovremenog lečenja i podešavanja imunosupresivne terapije i sprečavanja pokretanja procesa hroničnog odbacivanja. Bez obzira na moderne pristupe u protokolima za imunosupresivnu terapiju i redovno kliničko praćenje, proces hroničnog odbacivanja alografta i dalje se odvija iza leđa i pacijenta i kliničara. Odbacivanje pod uticajem T ćelijskog imuniteta je odgovorno za oštećenje funkcije tokom prve posttransplantacione godine i glavni je induktor sledeće faze odbacivanja koja je pod kontrolom humoralnog imunskog odgovora stvaranjem donor specifičnih antitela.^{124,125} Kao krajnja posledica nastaju intersticijska fibroza i tubulska atrofija.¹²⁵ Kada se uzme u obzir da se rana faza odbacivanja tokom prve godine karakteriše fibrogenezom i tubulointersticijskim oštećenjem posredovanim T ćelijskim imunitetom, a da se na dalje nastavlja ireverzibilnom intersticijskom fibrozom, tubulskom atrofijom, arteriolarnom hijalinozom i glomerulskom sklerozom, jasno je da u pozadini procesa progresivne tubulske atrofije i fibroze stoji smanjena perfuzija, hipoksija i nedostatak nutrijenata u bubrežnom tkivu.¹²⁶



Slika 1-2. Ilustrativni prikaz imunoloških procesa koji dovode do patohistoloških promena u tkivu alografta (Gwinner W et al. 2016)¹²⁶

Monitoring odbacivanja svakako predstavlja veliki izazov. Redovno merenje serumskog kreatinina i cistatina C za praćenje funkcije alografta je nedovoljno senzitivno i predstavlja kasni indikator, kada se značajno oštećenje tkiva već dogodilo.¹²⁷ Postoje razni kriterijumi za biopsiju, pogotovo u ranoj fazi ako adekvatna funkcija izostaje ili se javlja proteinurija. Dinamska scinitigrafija je vrlo korisna i pouzdana metoda za procenu stanja alografta, pogotovo ako je odložena funkcija u pitanju, ali s obzirom da koristi jonizujuće zračenje, smatra se invazivnom i nije pogodna za redovno intervalno praćenje.¹²⁸ Protokolarna biopsija predstavlja zlatni standard i jedini je pouzdan alat za procenu fibroze i atrofije, međutim njena uloga je dosta kontroverzna, s obzirom na potencijalne i po alograft i po život pacijenta ugrožavajuće komplikacije.¹²⁹ Od neinvazivnih standardnih metoda, ultrazvučna dijagnostika prednjači po svojoj dostupnosti, finansijskoj isplativosti i relativno lakom izvođenju, naročito u ranoj postoperativnoj fazi. Ovom dijagnostičkom metodom se može proceniti ultrazvučna anatomija alografta, veličina, ehogenost i debljina parenhima, kortiko-medularna diferencijacija, a doppler evaluacijom i stanje vaskularnog sistema. Međutim, ultrasonografija u velikoj meri zavisi od samog operatora, često je nesenzitivna i nedovoljno specifična.¹³⁰ Kompjuterizovana tomografija (CT) je vrlo senzitivna metoda za detekciju hirurških komplikacija u ranoj postoperativnoj fazi i pojedinih kasnih posledica koje se razvijaju tokom vremena. Međutim, ova dijagnostička procedura je takođe nedovoljno senzitivna u proceni funkcije alografta i vrlo je invazivna zbog visoke doze jonizujućeg zračenja, pogotovo za pedijatrijske pacijente, te za njih ne predstavlja metodu izbora. Magnetna rezonanca (MRI) je vrlo pouzdana i neinvazivna dijagnostička

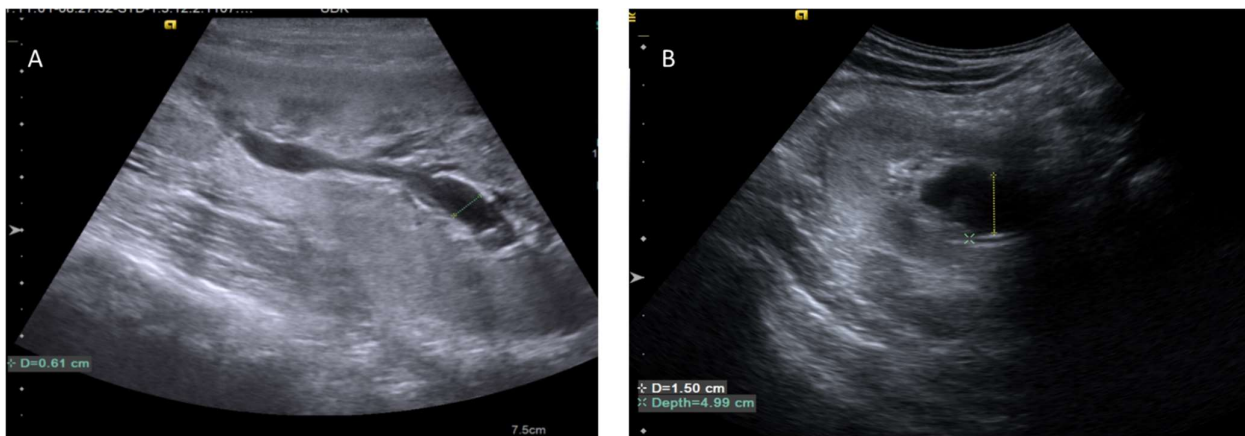
metoda za praćenje stanja alografta u bilo kom posttransplantacionom periodu.¹³¹ Standardni MRI protokol je u stanju da jasno prezentuje anatomiju alografta, vaskularnu peteljku, urinarni trakt i potencijalne komplikacije na njima. Takođe je u mogućnosti da obezbedi i izvesne funkcionalne parametre, bilo korišćenjem difuzijskog imidžinga (diffusion-weighted imaging DWI) i ADC (apparent diffusion coefficient) koeficijenta, bilo kontrastnom dinamskom studijom.^{132,133} ADC vrednost meri molekulska difuziju u tkivu u tri kompartmana, pod uticajem čiste difuzije vode u tkivu, mikrovaskularne perfuzije i tubulskog protoka.¹³⁴ Međutim, standardni MRI ima svoja ograničenja. Ako uzmemo u obzir da je najvažniji parametar koji reguliše bubrežnu funkciju njegova prokrvljenost- perfuzija i da je bubrežna perfuzija takođe i glavna determinanta glomerulske filtracije, samim tim i centralna mera monitoringa bubrežne funkcije, jasno je da ADC vrednost ne može dati odgovor na pitanje kakva je perfuzija per se. S druge strane, upotreba gadolinijumskog kontrastnog sredstva u proceni perfuzije grafta je kontraindikovana, pogotovo kod njegove oštećene funkcije, usled velike opasnosti od deponovanja kontrasta i sistemske nefrogene fibroze.¹³⁵

Iz svega navedenog proizilazi da bi razvoj neinvazivnih i pouzdanih metoda za procenu bubrežne perfuzije koje bi oslikavale stepen glomerulske filtracije, zajedno sa preciznom procenom morfologije grafta značajno unapredio pravovremenu identifikaciju oštećenja alografta.¹³⁶

1.3. NEINVAZIVNA RADIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA ALOGRAFTA

1.3.1. Ultrazvučna dijagnostika

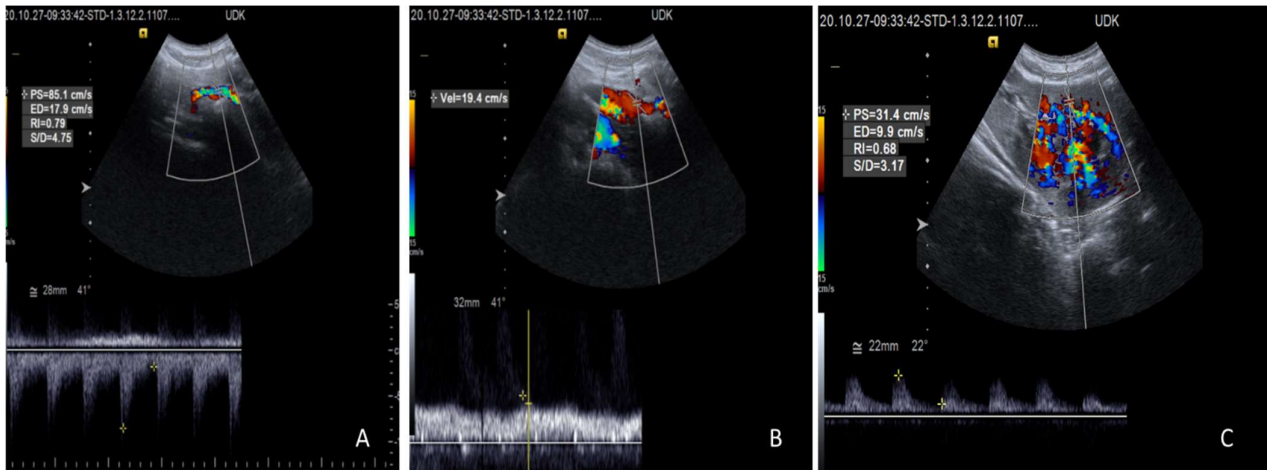
Zdrav bubrežni alograft ima identičan ultrazvučni aspekt kao i zdrav nativni bubreg, uz mogućnost prikaza više detalja visokofrekventnim sondama, s obzirom da je pozicija alografta površinska, najčešće u levoj ili desnoj ilijačnoj jami.¹³⁷ Detaljno se može prikazati bubrežna anatomija, jasno diferencirati korteks i medula, lepo se demarkira bubrežni sinus sa sabirnim sistemom i vaskularnom peteljkom. Sabirni sistem često može biti proširen, prvenstveno iz razloga što alograft radi kao jedini bubreg, ali i zbog denervacije uretera, te kad je mokraćna bešika puna, hidrostatiski pritisak se prenosi na proksimalnije segmente ekskretornog aparata. Nekada je teško proceniti da li postoji značajna dilatacija usled opstrukcije. Kada ne postoji opstrukcija, proširenje je uglavno malo i lokalizovano samo u pijelonu. S druge strane, kada se javi dilatacija kaliksa ili infundibuluma može se postaviti sumnja da se radi o zastoju usled opstrukcije. U tom slučaju je neophodno sprovesti serijsko ultrazvučno praćenje za potvrdu dijagnoze. Ono što dodatno otežava odluku je i činjenica da pacijenti sa uroopstrukcijom na graftu ne pokazuju kliničke znake renalnih kolika usled denervacije alografta prilikom transplantacije.



Slika 1-3. Proširenje sabirnog sistema: A. uzdužni presek alografta koji prikazuje lako naglašen pelvis centralno u sinusu, do 6mm, bez značajne dilatacije infundibuluma, ni kaliksa; B. aksijalni presek alografta drugog pacijenta i izmeren AP dijametar naglašenog pijelona hilarno do 15mm; lako napete konture, ali bez prikaza dilatacije infundibuluma, ni kaliksa; ne postoji opstrukcija ni kod jednog od prikazanih pacijenata

Kolor dopler ultrasonografija velikih krvnih sudova i grana u bubrežnom parenhimu predstavlja okosnicu u dijagnostici perfuzije bubrega i standardna je procedura u evaluaciji bubrežnog alografta.¹³⁸ Iako se konvencionalni kolor dopler dokazao kao nezamenljiva, brza i lako dostupna metoda za dijagnostiku stenozе renalne arterije ili venske tromboze, dijagnostička vrednost u proceni bubrežne perfuzije u parenhimu svakako nije visoka. Pravovremena dijagnoza vaskularnih komplikacija pre porasta serumskog kreatinina omogućava pravovremenu terapijsku intervenciju i očuvanje funkcije alografta. Vaskularni elementi zdravog alografta su isti kao kod nativnog bubrega, ali su dostupniji za dopler evaluaciju upravo zbog prethodno navedene graft pozicije. Glavno stablo renalne arterije se lako prikazuje, ali je vrlo često tortuoznog toka, što ponekada može predstavljati problem kada je neophodno precizno izmeriti brzine protoka u svim segmentima da bi se otkrila eventualna stenozа lumena.^{138,139} Treba imati u vidu da prilikom evaluacije renalne arterije za stenozу lumena, renalni protok itekako može zavistiti od stepena bubrežne funkcije i može pokazati uniformno visoku brzinu celim tokom arterije, čak i preko 200cm/s iako stenozа ne postoji.^{139,140} S druge strane, regionalno ubrzanje može ukazati na hemodinamski značajnu stenozу arterije ukoliko je protok u drugim segmentima oko jedne trećine ili jedne četvrtine izmerenog na mestu stenozе. Direktna kriterijum za stenozу je protok u stenotičnom delu koji je bar 1.5 puta veći u poređenju sa prestenotičnim ili poststenotičnim segmentom i tada senzitivnost i specifičnost ultrazvučne dijagnoze rastu na čak 90%.¹³⁹ Grane i glavno stablo renalne vene se lako procenjuju dopler metodom, ali bi trebalo imati na umu da njihov protok može biti pulsni, verovatno delimično oslikavajući reverzni

protok u VCI prouzrokovan ciklusom desne pretkomore i delom zbog sistolne ekspanzije susedne renalne arterije.



Slika 1-4. Dopler evaluacija vaskularnog stabla alografta A. prikaz gotovo celog toka renalne arterije od anastomoze do alografta sa adekvatnim pulsним dopler vrednostima i indeksom rezistencije; B. celokupan tok renalne vene sa adekvatnim kolor dopler prikazom i očekivanom brzinom protoka; C. adekvatan kolor dopler prikaz u parenhimu alografta, sa primerenim vrednostima pulsного doplera na interlobarnoj arterijskoj grani.

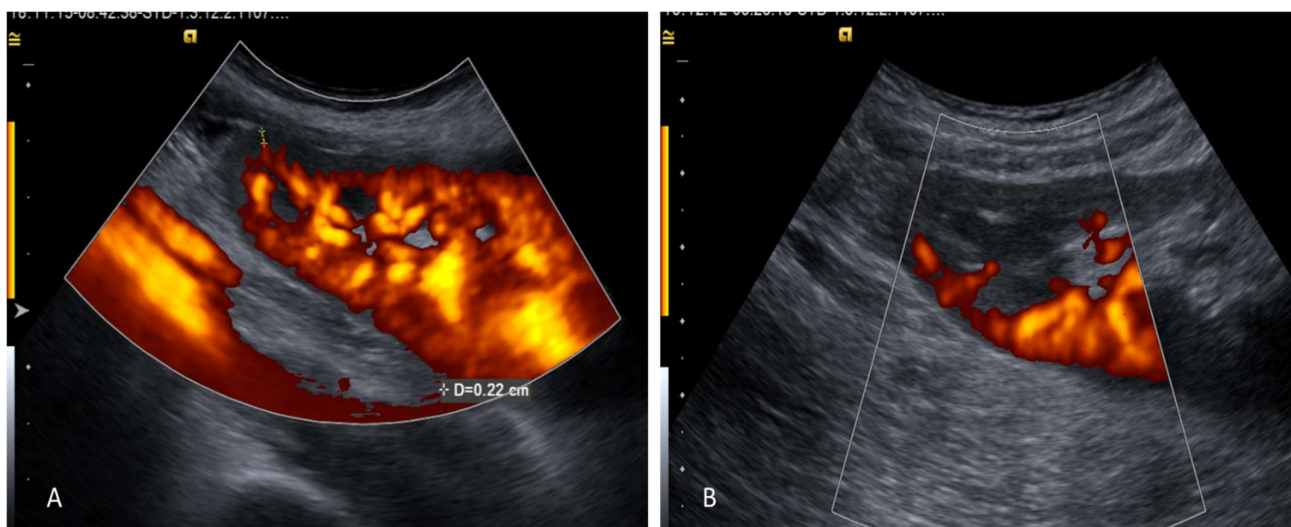
U sklopu kolor dopler evaluacije, pulsnom dopler analizom se može izračunati indeks rezistencije (IR) koji predstavlja standardni klinički parametar u evaluaciji alografta. Mnoge studije su pokazale da granična vrednost IR od 0.8 pokazuje dobru prediktivnu vrednost za održanje alografta i preživljavanje pacijenta, mada još uvek nije jasno da li arbitrarno određena vrednosti IR od 0.8 predstavlja dobro definisanu graničnu vrednost.¹⁴¹ U nekim studijama nije dokazano da visok IR, preko 0.8 korelira sa nalazima šestomesečnih protokolarnih biopsija. Šta više, nisu godine donora (samim tim i bubrega), već su godine recipijenta i njegov krvni pritisak visoko korelirali sa IR.¹⁴² Prilikom interpretacije IR, važno je u analizu uključiti i zadebljanje intime i medije velikih krvnih sudova i brzine pulsного talasa. Dokazano je u nekoliko studija da je vrednost IR veoma ograničena u postavljanju dijagnoze akutnog odbacivanja ili akutnog poremećaja funkcije nastalog usled akutne tubulske nekroze ili nefrotoksičnog dejstva imunosupresivne terapije.¹⁴³

1.3.1.1 Praćenje alografta u različitim postoperativnim fazama

1.3.1.1.1. Neposredne postoperativne komplikacije

U nekim centrima se ultrazvuk izvodi u operacionoj sali neposredno nakon stvaranja anastomoza, ali u većini slučajeva se prvi pregled sprovodi kada pacijent stigne u intenzivnu negu. U

oba slučaja, glavni cilj je da se proveriti arterijski protok i proceni da li je bubreg dobro prokrvljen.¹⁴⁴ Neposredne vaskularne komplikacije se događaju u 1-10% slučajeva, pri čemu okluzija renalne arterije ili tromboza renalne vene predstavljaju najteže komplikacije koje mogu dovesti do razarajućih posledica i gubitka grafta. Nakon kreiranja dobre anastomoze, kolor dopler bi trebalo da pokaže protok u glavnoj arteriji i njenim granama, kao i u manjim sudovima koji snabdeavaju korteks sve do arkuatne grane. Svakako, ograničenja postoje i dopler nije u potpunosti senzitivan da prikaže dublje postavljen parenhim, dok se na polovima ne mora videti protok u sitnim krvnim sudovima u istoj meri kao u interpolarnoj regiji.¹⁴⁵ Angulacijom sonde se ovaj problem može prevazići, ali ne i u potpunosti eliminisati, tako da neka mala sumnja može ostati prilikom interpretacije protoka na polovima. Ukoliko nije bilo problema sa pravljenjem anastomoze i ako nije postojala akcesorna arterija koja snabdeva neki od polova, simetrično opadanje dopler signala polarno se može smatrati normalnim i očekivanim nalazom.



Slika 1-5. Power dopler analiza dva alografta: A. allograft sa prikazom adekvatnog signala koji ima malu distancu od kapsule; B. defekt u power dopler signalu u anteriornom aspektu gornjeg pola kod drugog pacijenta koji ukazuje na zonu posttransplantacione ishemije

Kod težih slučajeva, kada postoji opravdana klinička sumnja, kontrastni ultrazvučni pregled bi mogao razrešiti sve dileme. Glavna renalna arterija bi trebalo da se evaluira spektralnim doplerom, posebno u regiji neposredno uz anastomozu, jer se ovde mogu prikazati poremećaji u protoku koji nastaju zbog “nategnute” anastomoze. Izuzetno visok protok, iznad 200cm/s bi mogao ukazivati na značajno suženje, ali oslanjanje samo na ovu vrednost bi moglo dati veliku stopu lažno pozitivnih rezultata.^{146,147} Ova metoda bi se mogla pospešiti merenjem brzine protoka u ilijačnoj arteriji uz samu anastomozu i izračunati odnos ove dve vrednosti. Celokupna dužina arterije bi trebalo da se isprati,

zato što kolenasto presavijen tok može potencijalno redukovati lumen arterije i samim tim i protok.¹⁴⁷ Pulsni indeksi se takođe mere, dominantno na segmentnim i interlobarnim granama, da bi se preračunao indeks rezistencije. Nema jasnih kliničkih dokaza o značaju ovako ranog merenja IR, ali je jasno da visok IR može biti prediktor loše funkcije grafta.¹⁴⁸

Iako je rana tromboza renalne vene retka, protok u njoj itekako treba proveriti, pogotovo u ranoj fazi, makar kao početni pregled koji će služiti za dalje praćenje.

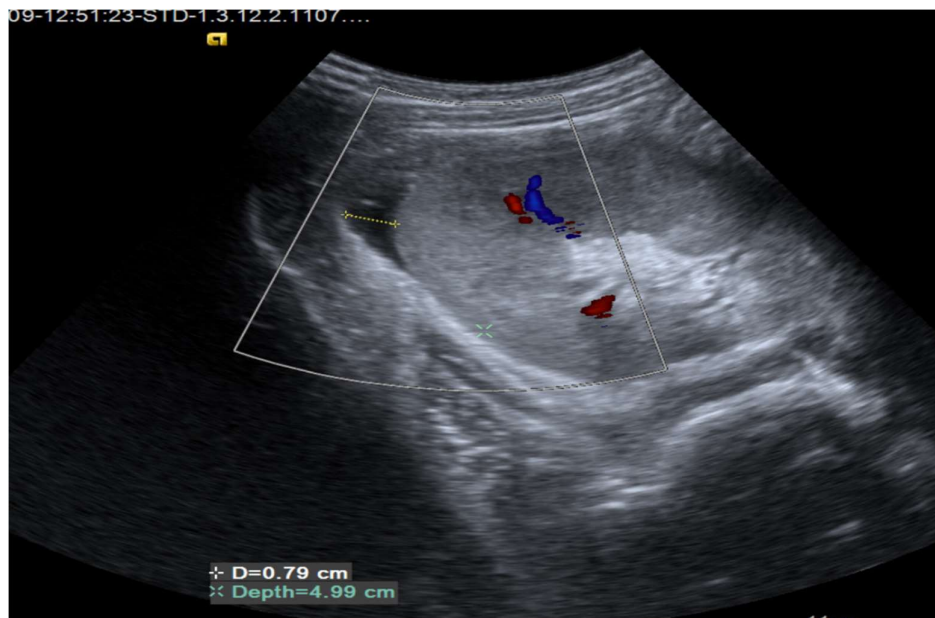
1.3.1.1.2. Prva do četvrta postoperativna nedelja

Briga da li je arterija dobrog kalibra i protoka u ovom periodu je gotovo ista kao u inicijalnom postoperativnom periodu. Tehnika pregleda i kriterijumi za stenozu su identični kao u prethodno opisanom poglavlju. S druge strane, venska tromboza, iako je i dalje retka, nešto je češća tokom ove posttransplantacione faze i ogleda se u odsutnom dopler protoku.¹⁴⁹ Međutim, direktni prikaz tromboze nekada može biti vrlo otežan, s obzirom da počinje u malim venulama u parenhimu. Venule nekada ne mogu biti lepo pregledane doplerom, a da bi situacija bila još komplikovanija, u nešto većim venama se može prikazati očuvan dopler signal, međutim slabiji i često prouzrokovan pulzacijama susednih arterija.¹⁴⁴ Koristan indirektan znak koji može ukazati na trombozu je da nedostatak venskog protoka može prouzrokovati veoma visok IR u arterijskom protoku, uz vrlo često odsutan ili čak i reverzan dijastolni protok ($IR = 1$).¹⁴⁴⁻¹⁴⁹

Ove promene u protoku mogu nastati i zbog teške akutne tubulske nekroze (ATN) ili zbog teškog akutnog odbacivanja. Međutim, ATN se događa u prvih nekoliko sati i prate je tragovi tubulskih ostataka u urinu. Nastaje kao rezultat dugotrajne tople ishemije i skoro je neizbežna kada je u pitanju kadaverični alograft. S druge strane, akutno odbacivanje (AO) se obično razvija tokom nekoliko dana, ali je toliko dobro kontrolisano novim imunosupresivnim lekovima, da je postalo skoro zanemarljiva kategorija problema. Oba stanja, i ATN i odbacivanje, dovode do uvećanja i edema grafta, pri čemu bubreg dobija globozan oblik. Normalno je da zdrav alograft raste oko 0.1 cm mesečno kao dogovor na adaptaciju da radi kao jedini bubreg.¹⁵⁰ Kada je porast grafta brži i veći od navedenog, a oblik od ovalnog prelazi u globozan, treba posumnjati na neku od ove dve dijagnoze (ATN ili AO).^{151,152}

Perinefrične kolekcije se često sreću kao komplikacija u prvih nekoliko nedelja od transplantacije.¹⁵³ Mali hematomi su čest nalaz, srpastog su izgleda, lokalizovani oko grafta i često su bez kliničkog značaja. Mogu biti anehogeni, ali mogu biti i ehogenijeg sadržaja usled prisustva ćelijskog debrija ili ugrušaka. S druge strane, veliki hematomi prave mnogo kompleksnije kolekcije oko bubrega, koje su uobičajeno multiple, sa hiperehogenim sadržajem. Mogu pritiskati bubreg ili

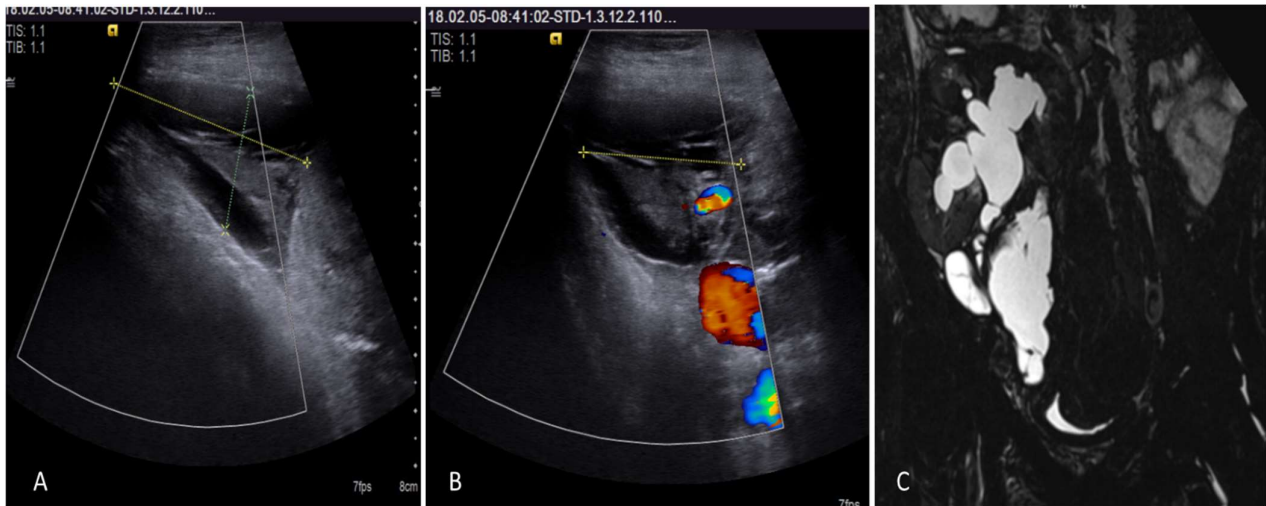
njegov sabirni sistem, kompromitujući njegovu funkciju i ekskreciju i često zahtevaju perkutanu drenažu.¹⁵³



Slika 1-6. Mala, srpasta, anehogena kolekcija lokalizovana uz lateralnu konturu alografta 8 dana nakon operacije, po svom ultrazvučnom aspektu najpre odgovara hematomu.

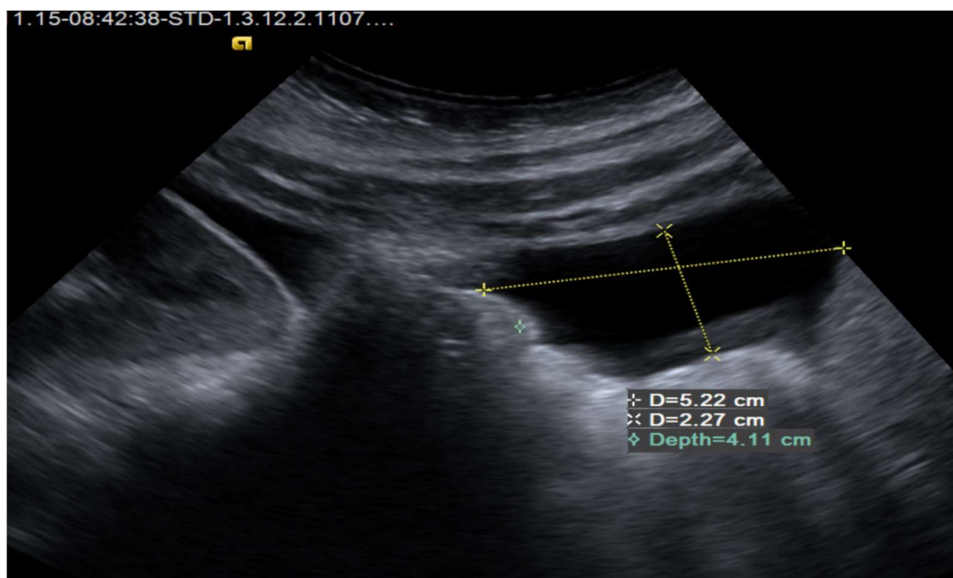
Apscesi su u današnje vreme izuzetno retki, ali mogu nastati kao rezultat suprinfekcije hematoma. Imaju identičan aspekt na ultrazvuku, ali se od njega razlikuju pojačanim dopler signalom perirenalno oko apscesa ili edemom masnih ravni.

Urološke komplikacije se dešavaju u 4-8% slučajeva i podrazumevaju razvoj urinoma i urinarnu opstrukciju. Urinomi, mada retko, se najčešće razvijaju u ranom postoperativnom periodu i nastaju zbog narušavanja ureterovezikalne anastomoze bilo zbog loše hirurške tehnike ili zbog nekroze uretera usled kompromitacije njegove vaskularizacije.¹⁵⁴ Urinomi koji nastaju usled ove problematike su često pozicionirni uz krov bešike. Međutim, mogu biti ekstenzivniji, kada se propagiraju u peritoneum gde izazivaju sterilni peritonitis i ozbiljne komplikacije. Urinomi koji nastaju na mestu proksimalnog uretera, pijelona i kaliksa su po pravilnu rezultat ishemije i nekroze.



Slika1-7. Kompleksna kolekcija heteroehogenog aspekta u desnoj ilijačnoj jami: A. uzdužni i B. transverzalni presek kolekcije sa prikazom septi i tečnog sadržaja sa debrijem; C. nativna MRI urografija prikazuje dilatiran sabirni sistem alografta, komprimovanu srednju i distalnu trećinu uretera tečnom kolekcijom koja se pruža od medijalnog aspekta bubrega do krova mokraćne bešike i koja je najviše odgovarala urinomu; intraoperativno je potvrđen nalaz, uz verifikaciju nekroze uretera pri anastomozi

Limfocele (ili limfociste) se formiraju kasnije, nakon nekoliko nedelja od operacije. Limfa se mora drenirati iz transplantiranog bubrega, međutim limfatici su previše sitni da bi se anastomozirali prilikom operacije, pa se drenaža odvija kroz graft u retroperitonealni prostor do ilijačne fose gde se tečnost resorbuje.¹⁵⁵ Ako se pak tečnost nakuplja, formiraju se anehogene kolekcije u blizini bubrega, vrlo često sa septama. Obično ne ugrožavaju funkciju bubrega, međutim, ako su velike mogu vršiti pritisak i proizvesti opstrukciju ekskretornog sistema. Ukoliko kompromituju funkciju grafta, neophodno je da se perkutano dreniraju. Postoji velika stopa recidivantnih limfocela i tada je terapija izbora marsupijalizacija u cilju prosipanja tečnosti u peritoneum odakle se resorbuje.^{145,155}



Slika 1-8. Anehogena tečna kolekcija uz donji pol alografta i u maloj karlici, u četvrtoj posttransplantacionoj nedelji, bez jasne demarkacije septi; s obzirom da su ostale komplikacije isključene drugim dijagnostičkim procedurama, postavljena je dijagnoza limfocele; posle izvesnog vremena je došlo do spontane resorpcije.

Intaoperativno postavljen stent se prikazuje svojim proksimalnim krajem u sabirnom sistemu, a distalnim u lumenu bešike. Njegov cilj je da održi protočnost urinarnog trakta od grafta do bešike i spreči opstrukciju. I u ovoj fazi je neophodno pratiti širinu sabirnog sistema i uretera da bi se pravovremeno reagovalo ukoliko ipak dođe do opstrukcije. Treba imati na umu da jednom kada se sabirni sistem razvuče, može se dogoditi da nikada više ne kolabira. Razlikovanje rezidualne dilatacije od opstrukcije je nekada teško i često se zasniva na serijskom praćenju dimenzija proširenog sabirnog sistema.¹⁵⁶ S druge strane, ako graft prolazi kroz akutnu tubulsku nekrozu i izrazito je napet i edematozan, sabirni sistem se ne može proširiti do mera koje odgovaraju recimo pridruženoj opstrukciji, pa se u ovakvim slučajevima dijagnoza može propustiti. Svakako, dopler evaluacija može pomoći. Indeks rezistencije raste kada je bubreg pod pritiskom, bilo unutrašnjim kod hidronefroze ili spoljašnjim kod kolekcija koje ga pritiskaju. Normalan IR isključuje mogućnost pritiska, međutim, u slučaju kada je povišen, treba dobro analizirati kliničku sliku i druge potencijalne uzroke, uključujući akutno odbacivanje.

Fokalni pijelonefritis, infarkt ili fokalno odbacivanje se mogu prezentovati kao zone snižene ehogenosti. Segmentni infarkt se može prikazati kao hipoehogena masa neoštro definisanih granica ili oštro ograničena hiperehogenim haloom.¹⁵⁷ Kolor i power dopler će pokazati odsustvo vaskularizacije, ali treba imati u vidu da se slični ultrazvučni nalaz može naći i kod fokalnog pijelonefritisa. Pijelonefritis se događa u oko 10% slučajeva i može biti opasniji nego kod nativnih bubrega, prvenstveno zbog imunosupresije. Ne postoje apsolutno pouzdani znakovi na ultrazvuku koji bi ukazivali na akutni difuzni pijelonefritis. U nekim slučajevima zadebljanje urotela u sabirnom

sistemu može biti znak, koji se takođe može videti i kod odbacivanja.¹⁴⁵ Ako se parenhimska infekcija dalje razvije u apsces ili ožiljavanje tkiva, ove pojave se mogu detektovati ultrazvučno kao fokalne kolekcije ili gubitak glatke konture bubrega.

1.3.1.1.3. Period od 1 do 6 meseci od transplantacije

U ovom periodu dolazi do postepene hipertrofije grafta, uz očuvanje ovalnog oblika. Ehosonografska struktura parenhima bi trebalo da je očuvana tako da liči na nativni bubreg, uz jasnu demarkaciju korteksa i medule.

Akutno odbacivanje se može dogoditi i u ovom periodu, ali nije uobičajeno zahvaljujući dobrom imunosupresivnom protokolu. Mnogo češći su nefrotoksični efekti lekova, dominantno kalcineurinskih inhibitora. Ultrazvuk nije u mogućnosti da razluči između akutnog odbacivanja i nefrotoksičnog efekta lekova, jer oba mogu dovesti do povišene ehogenosti korteksa, različite izmene u ehoprezentaciji piramida i porast u IR na dopler evaluaciji. Nekada je potrebno izvršiti biopsiju da bi se dilema razrešila.

Od vaskularne patologije, arteriovenske fistule i pseudoaneurizme su moguće komplikacije koje mogu nastati u ovom periodu, najčešće kao posledica biopsije grafta.¹⁵⁸ Većina ovih promena je mala i klinički beznačajna. Međutim, veliki šantovi mogu voditi do fenomena krađe krvi i ishemije grafta, dok rupture AV fistula i pseudoaneurizmi mogu voditi do perirenalne hemoragije i masivne hematurije. Na B modu se prikazuju kao proste ili kompleksne ciste, ali na kolor dopleru se u njima identifikuje intenzivan i dezorganizovan protok. Velike AV fistule osim dopler signala intraluminalno mogu pokazati i dopler signal oko susednog parenhima bubrega koji nastaje usled vibracija tkiva i predstavlja dopler ekvivalent palpabilnog trila.^{158,159} Arterija hranilica će pokazati visoku brzinu protoka i pulsni talas sa niskim indeksom rezistencije, a ako šant nosi puno krvi, drenažna vena će biti naglašenog kalibra sa pulzatilnim, arterijalizovanim protokom.^{160,161} Ako se može izmeriti površina fistule iz njenog dijametra, može se izvršiti procena protoka prostim množenjem površine (cm²) srednjom izmerenom brzinom protoka (cm/s) da bi se izračunao protok u mililitrima po minuti. Kada je protok u fistuli veliki, neophodno je izvršiti njenu katetersku embolizaciju. Pseudoaneurizme mogu nastati na mestima anastomoze, prilikom biopsije bubrega ili kao posledica infekcije. Kada su uskog vrata pokazuju "napred-nazad" protok na pulsним talasu.

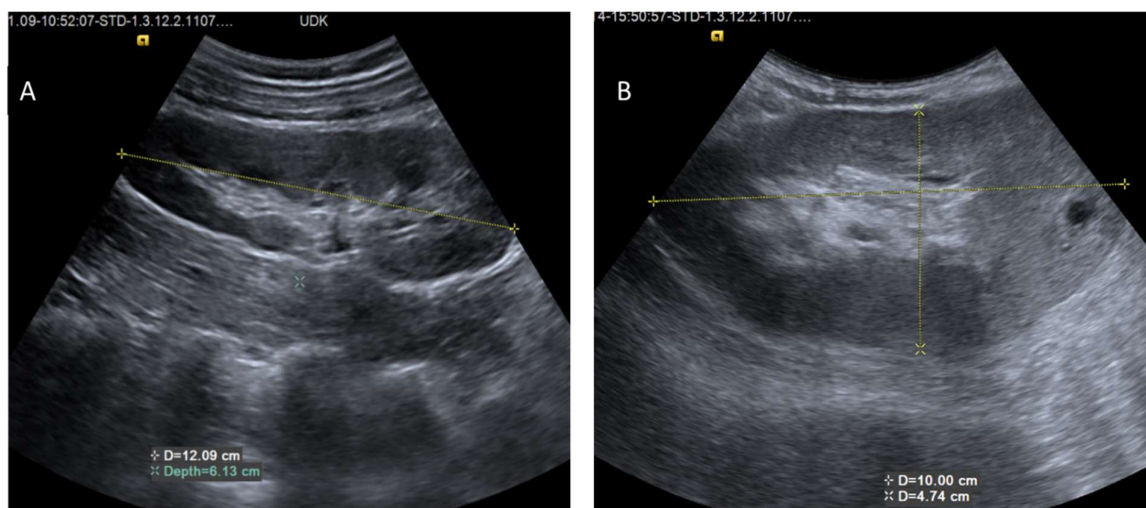
Što se perinefričkih kolekcija tiče, mogu nastati hematomi kao posledica biopsije, u suprotnom je jako retko nakupljanje bilo kakvih kolekcija u ovom periodu.

Dilatacija sabirnog sistema se može razviti i u ovoj fazi i manifestuje se serijskim uvećanjem dijametara pijelona i kaliksa uz porast IR. Opstrukcija urinarnog trakta se događa kod 2% graftova i

kod 90% slučajeva nastaje na nivou distalnog uretera. U ovoj fazi uzrok je najčešće posledica dugotrajnog edema usled ishemije ili odbacivanja koji vode u fibrozu uretero-vezikalnog spoja.¹⁴⁵

1.3.1.1.4. Kasne promene posle 6 meseci

U ovoj fazi, ako bubreg nastavi da funkcioniše dobro, njegove ultrazvučne karakteristike podsećaju na zdrav nativni kompenzatorno uvećan bubreg, međutim ako dođe do oštećenja, bubreg se može smanjiti, postati ehogeniji, uz redukciju protoka krvi.



Slika 1-9. Dva različita aspekta alografta u kasnijoj fazi: A. alograft dečaka nakon 10 godina od transplantacije porekla živog srodnika (majke) pokazuje kompenzatornu hipertrofiju, očuvan ovalan oblik i ultrazvučni aspekt poput nativnog bubrega; B. alograft mladića, pacijenta naše klinike 7 godina nakon transplantacije pokazuje globozan oblik, slabu kortiko-medularnu diferencijaciju i pojedinačne cistične promene- biopsijom je utvrđen povratak osnovne bolesti- nefrotski sindrom

Uzroci oštećenja funkcije se na ultrazvučnoj dijagnostici i dalje ne mogu razlikovati, bilo da je u pitanju hronično odbacivanje ili je u pitanju povratak osnovne bolesti koji je i inicijalno doveo do bubrežne insuficijencije, kao što su nefrotski sindrom ili dijabetes. Međutim, kod hroničnog odbacivanja može postojati raskorak u lošoj funkciji bubrega i njegovom normalnom izgledu na ultrazvuku, tako da se ultrazvuk ne može koristiti da proceni funkciju alografta.¹⁴⁵ U ovoj fazi se takođe može postaviti dijagnoza maligniteta alografta, poput renal-cell karcinoma, ili limfoma zbog dugotraje imunosupresije i pridruženih infekcija kao što je Epstein Barr virus.¹⁶² Limfom uglavnom prikazuje jednu ili više hipoehogenih promena, dok karcinomi imaju vrlo heterogeni ultrazvučni aspekt.

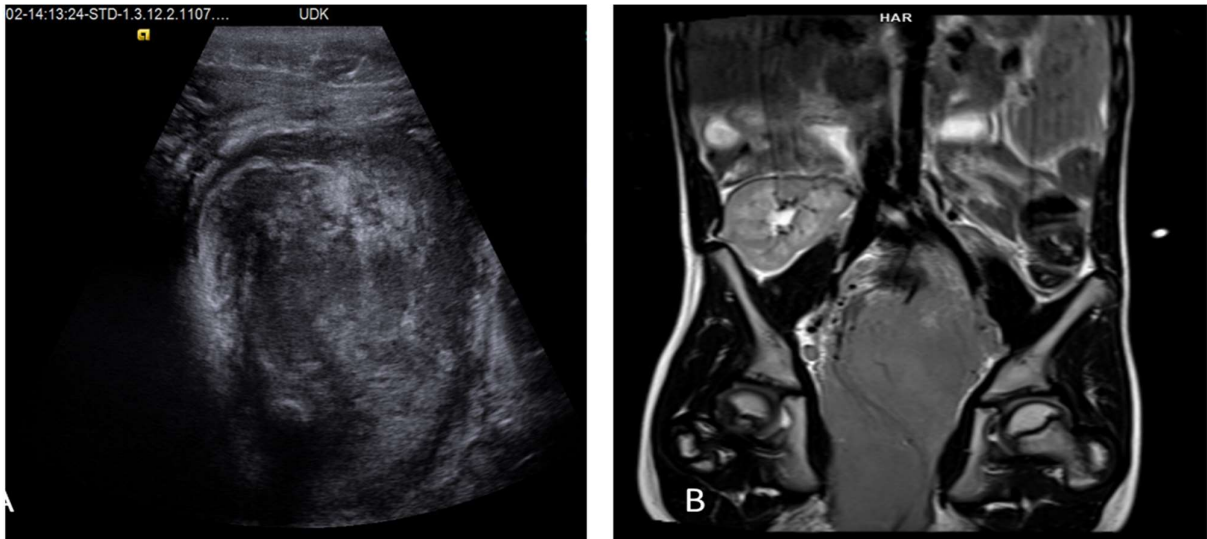
Stenoza renalne arterije je moguća i u ovom period, kod čak 10% pacijenata tokom prve 3 godine od transplantacije.¹⁶³ Oko polovine stenoza se događa na mestu anastomoze zbog povrede i

loše hirurške tehnike, ili reakcije na šavni material, pri čemu termino-terminalne anastomoze imaju veću šansu za razvoj stenozе. Stenoza se može razviti i proksimalnije od anastomoze usled aterosklerotske bolesti kod adultnih primalaca, a distalnije najčešće usled odbacivanja i turbulentnog protoka. Klinička prezentacija uključuje izrazitu hipertenziju i disfunkciju grafta. Kao što je već navedeno, dopler analizom će pik sistolni protok biti iznad 200cm/s, gradjent brzine pre i poststenotično bar 1.5, ako ne i 2:1, sa širenjem talasa poststenotično. Na periferiji će se tipično javiti tardus-parvus pulsni talas u arkuatnim i interlobularnim granama.¹⁶⁴

Kada je u pitanju hronična alograft nefropatija (chronic allograft nephropathy-CAN), dopler evaluacija i tu ima svoju ulogu. CAN se karakteriše hroničnom intersticijskom fibrozom, tubulskom atrofijom i vaskularnom fibrointimalnom hiperplazijom.^{164,165} Ovu dijagnozu je vrlo teško postaviti neinvazivnim tehnikama. Kolor doppler ultrasonografija je od izuzetnog značaja za ranu dijagnou CAN, međutim pravilna interpretacija je moguća samo u poređenju sa histopatološkim nalazom.¹⁶⁶⁻¹⁶⁸

Dijagnoza kasne hidronefroze koja nastaje kao posledica fibroze uretero-vezikalnog spoja ili kalkuloze su takođe važni razlozi redovnog ultrazvučnog praćenja. Primaoci bubrežnog grafta su pod povećanim rizikom za razvoj kalkuloze.^{169,170} Kamenje se obično prikazuje kao ehogeni odjek sa posteriornom akustičkom senkom u sabirnom sistemu. Međutim, ukoliko ehogeni odjek nema jaku posteriornu akustičku senku, treba postaviti sumnju na micetom.

Kada je u pitanju regija van alografta, prilikom pregleda uvek treba eksplorisati i regiju nativnih bubrega, ukoliko su prisutni, jer takođe postoji mali rizik od razvoja maligne bolesti. Povećan rizik na nativnim bubrezima nose cistične promene oivičene displastičnim endotelom.¹⁷¹⁻¹⁷³ Posttransplantaciona limfoprolifativna bolest (PTLD) je komplikacija u oko 1% transplantiranih pacijenata sa širokim spektrom ispoljavanja: od blagih oblika poliklonske limfadenopatije do malignih monoklonskih limfoma.¹⁷⁴ Bilo koji od solidnih organa, šuplji organi, abdominalni, retroperitonealni i ilijačni limfni čvorovi, retroperitonealna muskulatura i peritoneum mogu biti zahvaćeni PTLD, sa ekстранodalnom predominacijom.

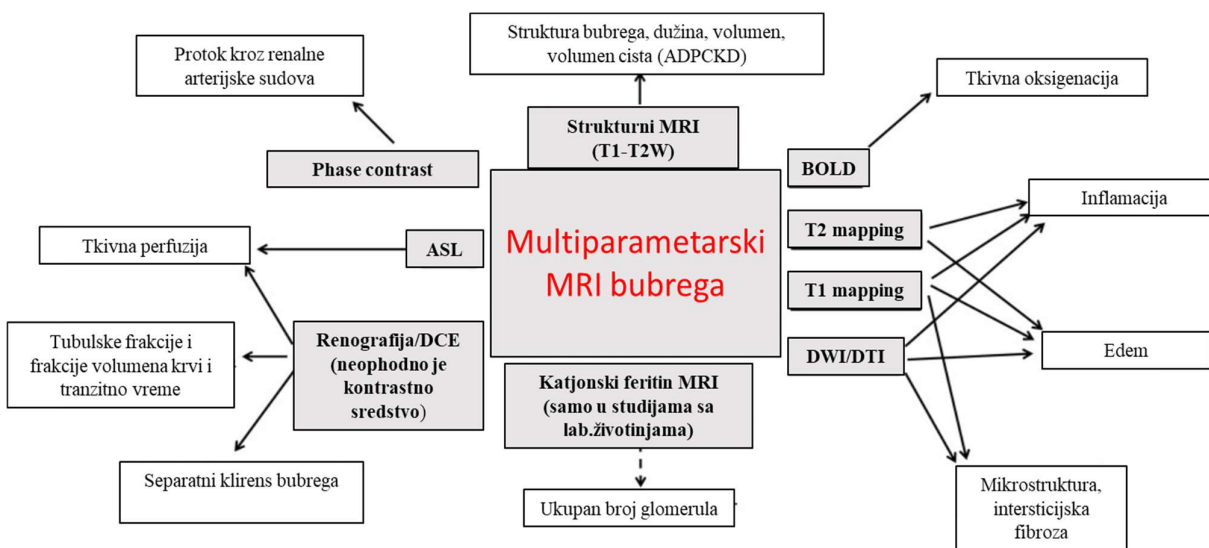


Slika 1-10. Osmogodišnji pacijent sa PTLD- limfom rektuma godinu dana nakon kombinovane kadaverične transplantacije jetre i bubrega: A. ehosonografski verifikovana heteroehogena, solidna masa lokalizovana retrovezikalno u maloj karlici kada je postavljena sumnja na limfom; dijagnoza je potvrđena na MRI pregledu (B. koronalni T2_TSE presek) i prilikom biopsije.

1.3.2. Magnetna rezonanca

U poslednje vreme raste interes za funkcionalnom i kvantitativnom MRI bubrega. Ovaj interes je nastao kao rezultat velikog opterećenja zdravstvenih sistema bubrežnim bolestima širom sveta i posledično sve kompleksijih zahteva kliničara dijagnostičkom timu. Vodeći evropski nefrološki časopis, *Nephrology Dialysis Transplantation*, je 2018 godine objavio specijalno izdanje o MRI bubrega, koje se baziralo na mišljenjima i ekspertizi preko 30 autora, uključujući i vodeće evropske nefrologe.¹⁷⁵ Osim isticanja globalnog problema bubrežnih bolesti, zaključeno je da je razvoj bolje dijagnostike ključ u njihovom rešavanju i pravovremenom lečenju. Jedan od ciljeva jeste i razvoj MRI biomarkera koji bi zbog svoje neinvazivnosti i potencijalno ranog detektovanja promena u parenhimu bubrega mogli omogućiti pravovremeno lečenje i praćenje efekata primenjenih tretmana. Od motiva za razvoj funkcionalnog MRI se najviše ističu: 1. bolje razumevanje patologije i patofiziologije bubrežnih bolesti, 2. mnogo bolja karakterizacija patoloških lezija, 3. razvoj ranih biomarkera koji ukazuju na progresiju bolesti i 4. individualizacija, odnosno prilagođavanje terapije svakom pojedinačnom pacijentu (personalizovana medicina) i praćenje efekata tretmana.¹⁷⁶ Međutim, glavni izazov u translaciji MRI biomarkera u kliniku je izgradnja jakih dokaza o njihovoj kliničkoj korisnosti i mogućnost da ovi biomarkeri budu dovoljno čvrsti da zadovolje očekivanja kliničara. Ovo je posebno izazovno kada je u pitanju hronična bubrežna bolest (CKD) gde su neophodne velike i dugotrajne studije da bi se dobila dovoljna količina podataka za validan zaključak.¹⁷⁷ Dokazi o

kliničkoj korisnosti uglavnom dolaze iz malih studija, međutim neophodno je pokrenuti velike multicentrične studije da bi se dijagnostika unapredila na pravi način. Prvi korak predstavlja baždarenje pristupa u primeni naprednih MRI tehnika, odnosno harmonizacija i standardizacija u dijagnostičkom pristupu i prikupljanju podataka. MRI sekvence su svakako jako kompleksne i zavise od mnogo parametara koji moraju biti optimizovani i fino podešeni. Trenutno, različite istraživačke grupe prave različite izbore MRI pulsnih sekvenci i načina analize podataka, pa dobijeni podaci nisu direktno uporedivi. Dalje, kalibracija i kontrola kvaliteta MRI opreme nisu uobičajena praksa, kao što je to npr. slučaj sa dijagnostičkim procedurama koje se baziraju na jonizujućem zračenju. Nedostatak već spremnih i opšte prihvaćenih protokola predstavlja barijeru novim istraživačkim grupama i kliničkim centrima, stavljajući ih u situaciju da primenjuju skupe i nestandardizovane optimizacije opreme. U maju 2018.godine napravljen je korak napred u optimizaciji MRI koji je bio iniciran od strane radne grupe istraživača na temu tehničkih preporuka kliničkog MRI bubrega.¹⁷⁸ Fokus je stavljen na 5 kategorija naprednog MRI bubrega koje polako postaju prioritet u funkcionalnom MRI: bubrežne T1 i T2 mape, arterial spin labelling (ASL), diffusion-weighted imaging (DWI) i blood oxygenation level-dependent MRI (BOLD).¹⁷⁹⁻¹⁸² Navedene tehnike združeno čine multiparametarski MRI i mogu obezbediti potencijalne biomarkere koji bi ukazivali na različite patofiziološke mehanizme oštećenja bubrega. U ovom radu je fokus stavljen na Arterial Spin Labeling tehniku (ASL-MRI) i monoeksponecijalni DWI.



Grafikon 1-2. Multiparametarski MRI i brojne kvantitativne sekvence koje združeno mogu poslužiti za pravljenje neinvazivnih MRI biomarkera u bubrežnim oboljenjima (Caroli A et al. 2018)¹⁷⁵

1.3.2.1.Arterial Spin Labeling (ASL) MRI

Arterial spin labelling (ASL) kao tehnika magnetne rezonance (MRI) je predložena još pre više od 25 godina, ali se tek u poslednje vreme uzdigla kao jedan od glavnih kandidata za neinvazivnu kvantifikaciju tkivne perfuzije.^{183,184} U ovoj MRI tehnici arterijska krv predstavlja slobodan i široko dostupan endogeni obeleživač za procenu perfuzije nekog tkiva, bez potrebe za primenom bilo kakvog egzogenog, potencijalno štetnog kontrastnog sredstva.^{183,184} Ove karakteristike čine da je ASL metoda potpuno neinvazivna i široko upotrebljiva dijagnostička procedura, primenljiva kod svih uzrasta ispitanika, bez obzira na stanje njihove bubrežne funkcije. Takođe se smatra da je ASL vrlo korisna ukoliko je neophodno sprovesti serijski monitoring perfuzije u nekom tkivu. Bubrezi su bili među prvim organima kod kojih je razmatrana upotreba ove tehnike za njenu kvantifikaciju, s obzirom da spadaju u visokoperfundovane organe.¹⁸⁴ Međutim, u inicijalnom periodu, oko 20 godina od prvih sprovedenih eksperimenata, ASL se dominantno koristio za procenu perfuzije mozga. Glavni razlog je što u toraksu i abdomenu postoje brojni organi i tkiva koji doprinose velikoj količini artefakata porekla tkivne susceptibilnosti i artefakata usled pokretanja organa (respiracije i peristaltike). Bez obzira na sve poteškoće, rad na razvoju ASL tehnike za procenu bubrežne perfuzije je značajno dobio na zamahu u poslednjih par godina, zahvaljujući motivaciji istraživača da se gadolinijumsko kontrastno sredstvo isključi iz upotrebe, pogotovo kod osetljivih kategorija pacijenata, kao što su pacijenti sa oštećenom bubrežnom funkcijom ili bubrežnim alograftom.¹⁸⁵ S obzirom na porast u interesovanju da se ASL primenjuje u proceni perfuzije bubrega, standardizacija ove metode je postala jako važna, posebno u cilju omogućavanja multicentričnih studija koje bi obuhvatale veliki broj ispitanika. Dopunski, kada je u pitanju bubrežna perfuzija, ASL omogućava da se perfuzija meri odvojeno u svakom bubregu, da se prate varijacije u perfuziji različitih regiona u okviru jednog bubrega, a vrlo je pogodna i u proceni funkcije transplantiranih bubrega, bez obzira na postoperativno uslovljenu varijabilnost u vaskularnoj anatomiji velikih krvnih sudova.

1.3.2.1.1 Osnovni fizički princip obeležavanja spinova protona iz arterijske krvi

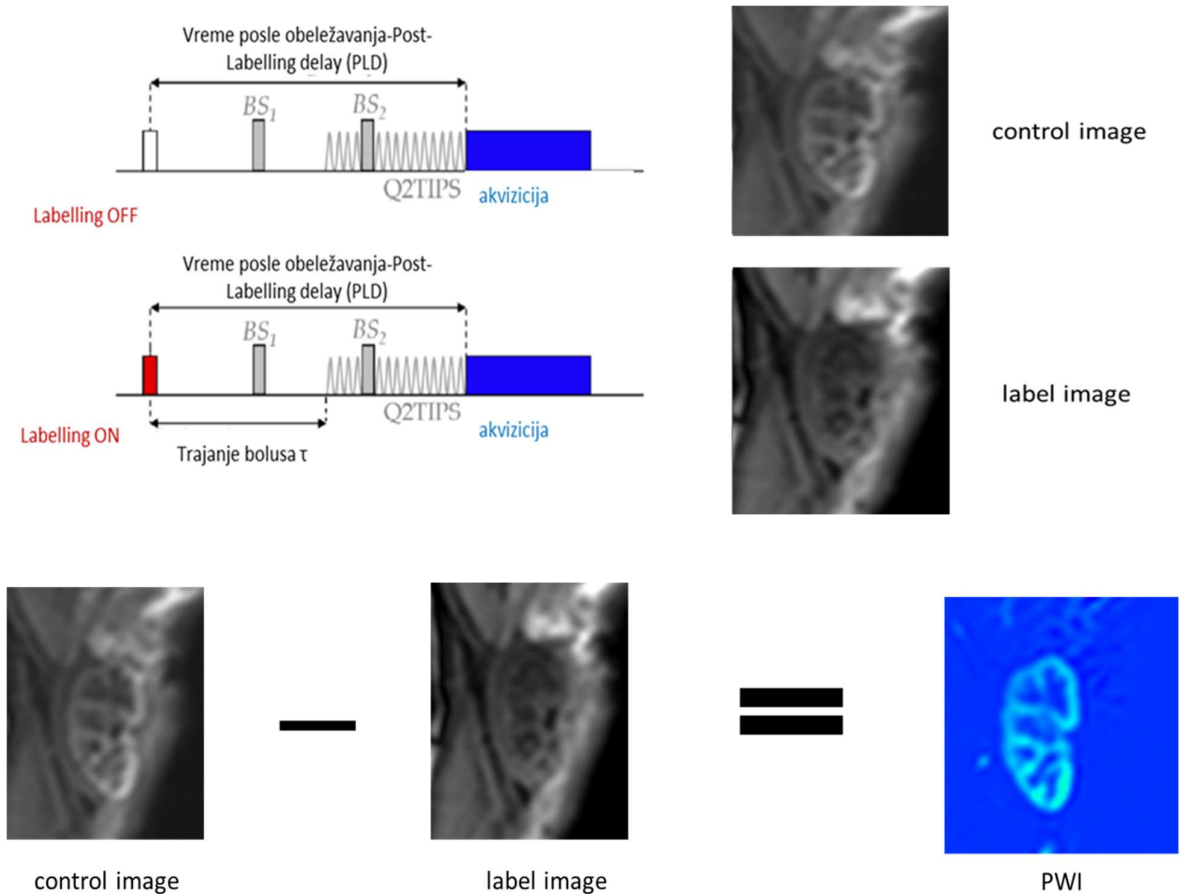
U okviru ASL eksperimenta obeleženi molekuli vode služe kao endogeno kontrastno sredstvo, koje se ubrzano kreće između intravaskularnog (IV) i ekstrasvaskularnog (EV) odeljka. U većini tkiva je odnos vode u EV prema IV kompartmanu 20:1, te voda koja ulazi u kapilarno korito sa arterijske strane, prelazi i razblažuje se u značajno većem vodenom odeljku.¹⁸⁶ Rezultat ovog fiziološkog procesa je da molekulima vode nakon prelasaka u EV treba više desetina sekundi da od arterijske strane kapilarnog korita pređe na njegovu vensku stranu i vrati se u IV kompartman, bez obzira što je

kapilarno tranzitno vreme eritrocita oko 1 sekunde (zbog kretanja samo IV kompartmanu). S obzirom da je obeleženi nosač signala u okviru ASL arterijska voda i da ona nesmetano može preći u tkivni odeljak, veoma je mala verovatnoća da će se vratiti u venski deo kapilarnog korita do potpunog gubitka signala usled njene kompletne T1 relaksacije. Krajnji rezultat je da na ovaj način obeležena voda iz arterijske krvi prelazi u tkivo i u očima ASL eksperimenta tamo i ostaje.¹⁸⁷ Kada se bolus arterijske krvi obeleži u arterijskim krvnim sudovima neposredno proksimalno od kapilarnog korita i kada protiče kroz tkivo od interesa, dobijeni signal od obeleženih protona u ASL eksperimentu je direktno proporcionalan lokalnom protoku krvi. Iđentičan efekat se postiže i prilikom ispitivanja perfuzije tkiva upotrebom obeleženih mikrosfera koje embolizuju mikrovaskulaturu i njihov broj koji se zadrži u tkivu je proporcionalan lokalnom protoku krvi.¹⁸⁷ U visoko prokrvljenim organima u organizmu: mozgu, srcu, plućima i bubrezima, voda koja protiče kroz kapilarno korito zamenjuje oko 1-3% tkivne vode u jednoj sekundi.¹⁸⁷ S obzirom da je ASL eksperiment ograničen T1 relaksacijom na samo par sekundi, signal u tkivu porekla ASL može da čini oko 5% ukupnog statičkog signala. Da bi se unapredio ovaj odnos signala i šuma (signal-to-noise ratio, SNR), akvizicija ASL slika se vrši pri maloj prostornoj rezoluciji (korišćenjem velikih voksela, 2-4mm), kao i uz veliki broj ponavljanja merenja nakon kojih se primenjuje princip usrednjavanja signala.

1.3.2.1.2. Faze akvizicije ASL

ASL sekvenca se može smatrati kombinacijom dva modula: 1. modul pripreme magnetizacije i 2. modul očitavanja, koji su praktično nezavisni. Modul pripreme magnetizacije predstavlja inverziju magnetizacije arterijske krvi pre nego što stigne u tkivo od interesa. Efekat ove inverzije se proverava u modulu očitavanja, poređenjem sa statičkim signalom.¹⁸⁷ Radiofrekventni (RF) puls se koristi da izmeni longitudinalnu magnetizaciju protona u ciljanim molekulima vode arterijske krvi, omogućavajući da ti molekuli postanu široko difuzibilni obeleživač. Kada dođe do inverzije magnetizacije, pravi se vremenska pauza koja predstavlja vreme odlaganja akvizicije (post labeling delay- PLD). Ovo odlaganje ima za cilj da omogući da dovoljan broj molekula vode iz „obeležene“ arterijske krvi uplovi u mikrovaskulaturu, nakon čega se vrši očitavanje „obeležene“ slike („label“ ili „tag“ image) u regionu od interesa.¹⁸⁸ Kada se ceo ciklus ponavlja pri sledećem vremenu repeticije (TR), očitavanje se vrši bez prethodnog obeležavanja utičuće arterijske krvi, pri čemu se dobija „kontrolna“ slika („control“ image). Prilikom oba merenja, svi statički spinovi iz tkiva su iskusili istu magnetizaciju. Da bi se signal iz statičkog tkiva koje je nepromenjene magnetizacije u dva očitavanja uklonio iz ukupnog dobijenog signala vrši se prosto oduzimanjem kontrolne i obeležene slike.^{183,184} S obzirom da je magnetizacija protičuće krvi različita u dva očitavanja, oduzimanjem kontrolne i

obeležene slike se dobija perfuzijska slika (perfusion-weighted image PWI). U praksi, akvizicija uparenih obeleženih i kontrolnih slika se ponavlja veći broj puta da bi se obezbedio dovoljan odnos signala i šuma (signal to noise ratio- SNR).



Slika 1-11. Osnovni princip dobijanja kontrolne i obeležene slike u ASLu i njihovo oduzimanje u cilju dobijanja perfuzijskog signala (PWI- Perfusion Weighted Imaging) (autorske ASL slike pregledanih pacijenata uz idejni dizajn ilustracije po Nery et al.)¹⁸⁸

Modul očitavanja je gotovo isti kod svakog ASL obrasca i predstavlja običnu spin echo sekvencu. Međutim, princip obeležavanja u različitim tehnikama se međusobno razlikuje i deli se na 1. kontinuirani ASL (continuous ASL- CASL), 2. pulsni ASL (pulsed ASL-PASL) i 3. ASL sa selekcijom brzine protoka (velocity-selective ASL-VSASL). Sažetak prednosti i mana svake od metoda obeležavanja je predstavljen u tabeli 1-3, dok je svaka pojedinačna metoda detaljnije objašnjena u daljem tekstu.¹⁸⁷

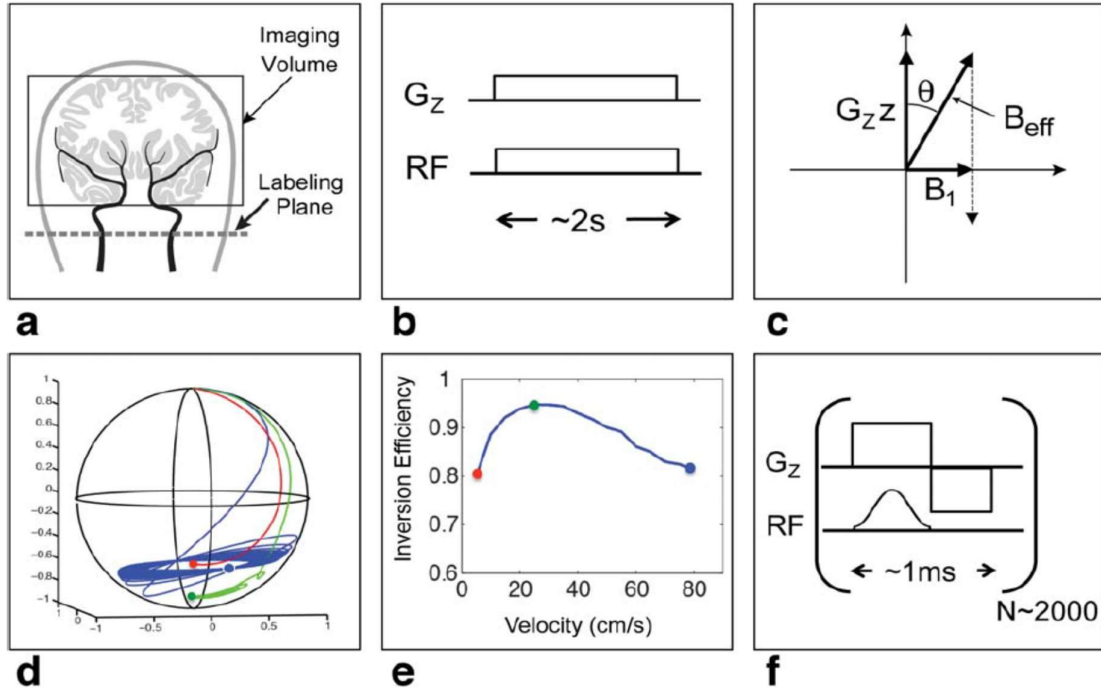
Tabela 1-3. Vrste obeležavanja spinova u ASL metodi¹⁸⁷

Metode obeležavanja	Prednosti	Mane
PASL	visoka efikasnost u obeležavanju	Nizak SNR
	Nizak SAR	
CASL/PCASL	Visok SNR	Visok SAR
	Direktna kontrola trajanja bolusa	Osetljiv na rezonantnu destabilizaciju
VSASL	Neosetljiv na odlaganja u tranzitnom vremenu	Nizak SNR
		Relativno netestiran

1.3.2.1.2.1 Faza obeležavanja i podela tipova obeležavanja

1.3.2.1.2.1.1 Kontinuirani i pseudokontinuirani ASL (Continuous ASL-CASL, Pseudocontinuous ASL- PCASL)

U slučaju CASL, primenjuje se konstantan gradijent u smeru protoka krvi (slika 1-12.) duž kog se generišu gradijent Larmorove frekvencije i brze izmene u frekvencijama spinova. U isto vreme se primenjuje i konstantan radiofrekventni puls (RF) identične frekvence kao što je Larmorova frekvencija u tačno određenoj ravni, koja je označena kao ravan obeležavanja (the labeling plane).¹⁸⁷ Kako krv protiče kroz ovu ravan, dolazi do inverzije njenih spinova procesom koji se zove adijabatska inverzija koja je uslovljena protokom.^{183,184} Ovaj proces se najbolje može razumeti kroz analizu komponenta efektivnog polja (Beff) pod čijim su uticajem spinovi koji se kreću u skladu sa frekvencijom RF pulsa (slika 1-12.c).¹⁸⁷



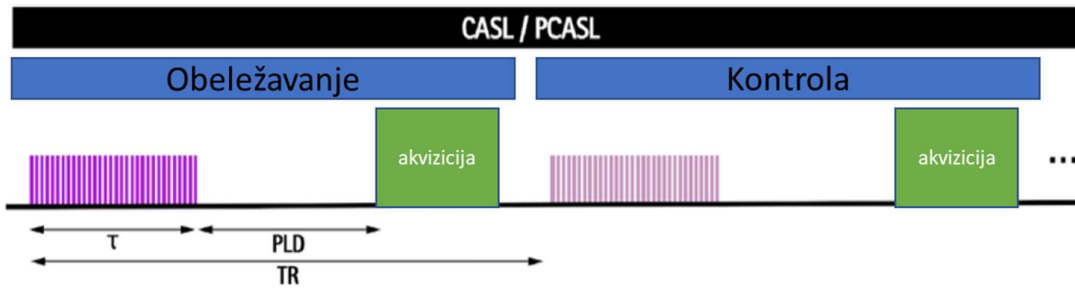
Slika 1-12. CASL i PCASL **a.** magnetizacija protičućih spinova se invertuje dok prolaze kroz ravan obeležavanja; **b.** pulsna sekvenca koja se sastoji od konstantnog gradijenta dugog RF; **c.** rotacioni okvir efektivnog polja B_{eff} od skorog poravnanja sa $+Z$ do skoro potpunog poravnanja sa $-Z$; **d.** Putanje magnetizacije u rotatornom okviru za tri različite brzine prikazane sa tri različite boje; **e.** efikasnost inverzije u funkciji brzine za određene kombinacije gradijenata; **f.** u PCASL je konstantan RF puls zamenjen većim brojem repetitivnih kraćih RF pulseva sa istim prosečnim gradijentom i amplitudom RF kao CASL. (Wong et al. 2014)¹⁸⁷

U okviru ovog procesa, transverzalna komponenta efektivnog polja je fiksna i određena je amplitudom B_1 , dok je longitudinalna komponenta proporcionalna poziciji spinova u gradijentu polja. Kretanje, odnosno tok spinova koji su inicijalno pozicionirani proksimalno od ravni obeležavanja ka samoj ravni obeležavanja prouzrokuje da se longitudinalna komponenta smanjuje ka nuli, prolazeći kroz nulu u nivou ravni obeležavanja, a zatim njena vrednost raste u suprotnom smeru.¹⁸⁷ Ovo prouzrokuje rotaciju efektivnog polja (B_{eff}) od skorog poravnanja sa $+Z$ do skoro potpunog poravnanja sa $-Z$. Magnetizacija će oscilovati oko B_{eff} i ako je stepen rotacije B_{eff} spor u poređenju sa frekvencom oscilacije, spinovi će pratiti B_{eff} od jednog do drugog pola, pokazujući inverziju. Neophodnost relativno spore rotacije se naziva adijabatski uslov koji je iskazan kvantitativno u sledećoj jednačini:

$$\frac{d\theta}{dt} \ll \gamma B_{eff}$$

gde je γ ugao između +Z ose i B_{eff} .¹⁸⁷ Reakcija magnetizacije na ovaj puls obeležavanja je zavisna od brzine što je prikazano na slici 1-12.d. Za finalnu magnetizaciju M_z , efikasnost inverzije se kreće između 0 i 1. Kada je u pitanju spora magnetizacija, stepen rotacije efektivnog polja je spor, adijabatski uslov je ispunjen i magnetizacija prati putanju ka inverziji. Međutim, kako je rotacija spora i magnetizacija provodi dosta vremena u transverzalnoj ravni, njena veličina opada zbog T2 relaksacije vodeći u nekompletnu inverziju (crvena trajektorija na slici 1-12.d). Za veoma brzu magnetizaciju (plava trajektorija), adijabatski uslov nije ispunjen i magnetizacija ne može da prati efektivno polje, rezultira oscilirajućom putanjom i nekompletnom inverzijom. Za srednje brzine (zeleno putanja), adijabatski uslov je tek ispunjen i inverzija ima maksimalnu efikasnost.

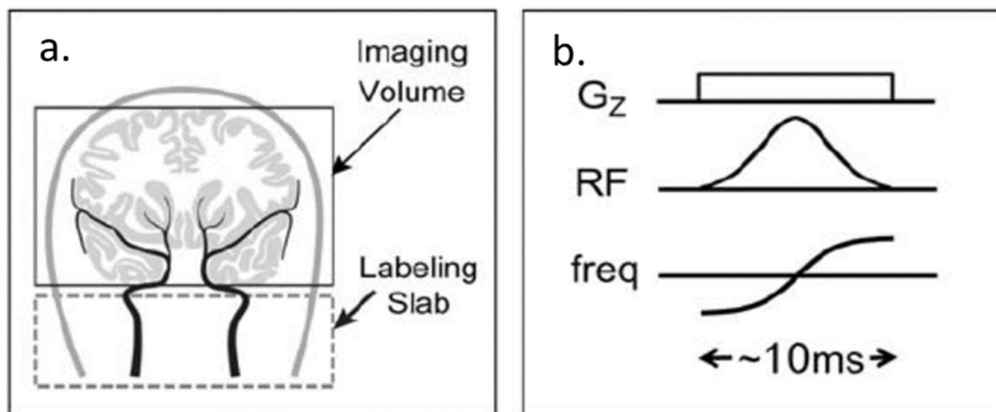
Nedavno je uveden modifikovan pristup u cilju rešavanja nedostataka CASL tehnike i poznat je pod imenom pseudokontinuirani ASL (PCASL).¹⁸⁹ Ovaj pristup koristi duge serije kratkih RF pulseva i gradijent pulseva umesto jednog kontinuiranog pulsa. Kada se gradijent i RF pulsevi podese tako da njihove srednje vrednosti tokom vremena budu slične konvencionalnom CASL, serija pulseva rezultira u adijabatskoj inverziji sličnog mehanizma kao za CASL. Tri su glave prednosti PCASL. Prvo, efekti transfera magnetizacije (MT) su eliminisani.¹⁹⁰ Ovi efekti potiču od protona koji su povezani sa makromolekulima i imaju vrlo širok spektar frekvence, pa informacija koja potiče od njih ne oslikava efekat koji želimo da postignemo prostim obeležavanjem slobodnih molekula vode. U CASL tehnici se koristi relativno slab gradijent za obeležavanje i RF puls koji rezonira u ravni obeležavanja u regiji očitavanja može biti za par KHz izvan rezonance, dovodeći do MT efekata iz makromolekula. Ovi efekti mogu biti veći nego ASL signal molekula vode i na taj način mogu korumpirati informaciju koju bi ASL signal trebalo da obezbedi. U PCASL to nije slučaj zbog znatno većeg gradijenta i jačeg RF pulsa koji je mnogo više izvan rezonance u regionu očitavanja, što efektivno odstranjuje MT efekte.¹⁹¹ Druga prednost PCASL je što mnogi radiofrekventni sistemi u kliničkoj upotrebi nisu u mogućnosti da generišu nizak RF puls kontinuirano koji je neophodan za CASL, s obzirom da su pravljeni za kratke visokoenergetske pulseve, te za PCASL nije potrebno modifikovati postojeće kliničke MRI sisteme.¹⁸⁷ Na kraju, vremenski razmaci u PCASL između RF pulseva omogućavaju da se primeni gradijent tokom obeležavanja da bi se vršilo obeležavanje u različitim krvnim sudovima i da se adekvatno mapiraju vaskularne teritorije. Glavni nedostatak PCASL je slabija efikasnost u obeležavanju upravo zbog spinova izvan rezonance koji gube koherentnost sa RF pulsom.^{187,188}



Grafikon 1-3. Ilustrativni prikaz faza obeležavanja i akvizicije kod CASL/PCASL(Nery et al. 2020)¹⁸⁸

1.3.2.1.2.1.2 Pulsni ASL (Pulsed ASL - PASL)

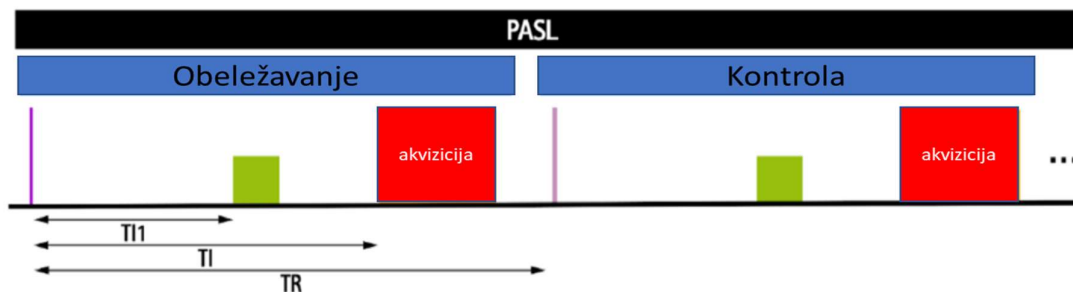
U pulsnom ASL (PASL), jedan RF puls ili kratka serija pulseva se primenjuje velikom brzinom da bi brzo došlo do inverzije magnetizacije.¹⁹²⁻¹⁹⁵ Inverzija se primenjuje uključivanjem jednog „slab“ volumena koji sadrži adijabatski inverzioni puls. U okviru ovih pulseva, izmena frekvence se koristi da generiše efektivno polje koje brzo rotira od +Z do -Z, ali u ovom slučaju ta izmena frekvence je zavisna od primenjenog pulsa, a ne od protoka duž gradijenta.^{196,197} Glavna prednost PASL je da je efektivnost inverzije visoka i konstantna i da je SAR nizak (SAR- specific absorption rate predstavlja deo elektromagnetne energije u RF pulsu koji apsorbiraju tkivo tokom MRI akvizicije).



Slika 1-13. Pulsni ASL (PASL); **a.** arterijski spinovi se invertuju korišćenjem selektivnog pulsa u odgovarajućem volumenu (*slab-u*) koji je lociran proksimalno od volumena akvizicije; **b.** puls obeležavanja u PASL je selektivan za *slab* i adijabatski je inverzioni puls koji obezbeđuje neosetljivost na nehomogenost B_1 polja (Wong et al 2014)¹⁸⁷

Međutim, odnos signala i šuma (SNR) je niži nego kod CASL. Takođe, prostorna veličina obeleženog bolusa krvi je limitirana prostornim pokrivanjem RF transmitterske zavojnice. Jako je važno za kvantifikaciju protoka krvi u tkivu da se kontroliše i vreme trajanja obeleženog bolusa u PASL. Međutim, prostorna veličina bolusa je direktno kontrolisana obeleživačkim pulsom, dok je trajanje bolusa zavisno od brzine protoka krvi, koja je često nepoznata i takođe drugačija za svaku pojedinačnu arteriju. U cilju kontrole trajanja bolusa u PASL, saturacioni puls ili pulsevi mogu biti primenjeni u određeno vreme nakon obeleživačkog pulsa, bilo da se prekrije ceo region, ili recimo veći broj pulseva na distalnom kraju regiona, da bi se otklonili „repovi“ bolusa koji nisu od interesa i u okviru obeležene i kontrolne slike.^{185,198} Ovo kontrolisano vreme trajanja bolusa t je poznato kao QUIPSS II (Quantitative imaging of perfusion using a single subtraction, second version) modifikacija.¹⁹⁸ Tokom mnogo godina, razni oblici PASL su u upotrebi, kao što su FAIR, EPISTAR i PICORE^{192,194,199}. Oni se razlikuju u sitnim detaljima vezanim za RF pulseve u obeleženim i kontrolnim slikama, tj. po načinu kako su spinovi distalno od imaging regiona obeleženi i kakav je kontrast u statičkom signalu, ali su u suštini vrlo slični.

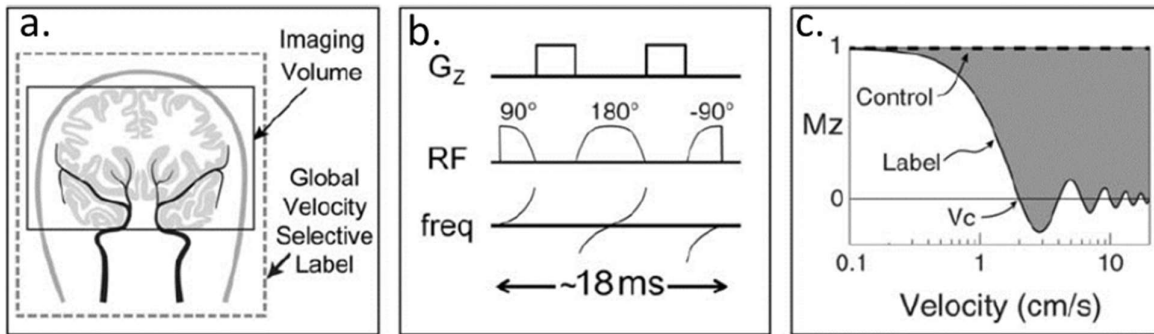
U FAIR tehnici, korišćenoj u ovoj studiji, uslovi za kontrolnu i obeleženu sliku su postignuti menjanjem između neselektivnog i selektivnog regiona inverzije. Za selektivnu inverziju se koristi adijabatska offset korigovana inverzija frekvence (adiabatic frequency offset corrected inversion FOCI).^{200,201} Selektivni inverzioni volumen se postavlja u ravni sa volumenom akvizicije i mora da bude pažljivo postavljen da bi isključio velike krvne sudove (descendentna aorta kod nativnih bubrega ili ilijačni krvni sudovi kod transplantiranih), da bi se izbeglo obeležavanje krvi u kontrolnoj slici.¹⁸⁸ Ukoliko bi se krv obeležila i u kontrolnoj slici, došlo bi do oduzimanja i njenog signala i ASL signal bi se na perfuzijskoj mapi potpuno ili delimično izgubio. Debljina selektivnog inverzionog volumena bi trebalo da se poklapa sa volumenom očitavanja i da ako je moguće bude deblja oko 10 do 20mm, ukoliko prostor do susednih krvnih sudova to dozvoljava (takođe zavisi i od broja preseka u volumenu očitavanja). Preporučeno vreme inverzije (TI) iznosi između 1.8–2.0 s kada je u pitanju primena samo jednog TI. U većini studija kod zdravih volontera su se koristila kraća TI, obično oko 1.2s, dok je ovo vreme kod pacijenata bilo duže ~ 2 s.²⁰²⁻²⁰⁴ Kada je u pitanju 1.5T treba imati u vidu da je T1 vreme relaskacije krvi vrlo kratko kada se bira vrednost TI za određene kategorije ispitanika. Vreme trajanja bolusa krvi se takođe postiže primenom saturacionih pulseva QUIPSSII ili Q2TIPS na mestu arterija hranilica i po preporuci iznosi oko 1-1.2s, da bi se omogućilo da dovoljno obeležene krvi uđe u tkivo pre nego što se završni deo bolusa saturiše.^{185,205} Da bi se poboljšao SNR, vrši se akvizicija brojnih ASL parova kontrola i obeleženih slika.



Grafikon 1-4. Ilustrativni prikaz obeležavanja i akvizicije kod pulsog ASL (PASL) (Nery et al. 2020)¹⁸⁸

1.3.2.1.2.1.3 ASL sa selekcijom brzine protoka (Velocity Selective ASL- VSASL)

U oba principa, CASL/PCASL i PASL, obeležavanje se primenjuje proksimalno u odnosu na tkivo od interesa. Ovaj princip proizvodi odlaganje u vremenu koje je neophodno da krv proputuje iz belezene ravni do tkiva od interesa. Da bi se smanjilo ovo odlaganje, uveden je „post labeling delay“ odnosno tačno definisan vremenski interval tokom kog se čeka i nakon kog se vrši očitavanje. Ovaj pristup je dobar u zdravim tkivima koji imaju visok protok krvi jer omogućava da se celokupna obeležena krv nađe u tkivu i da se vrši njena kvantifikacija.¹⁸⁷ Međutim, u organima koji imaju vrlo spor protok, ili neko vaskularno oboljenje koje usporava protok, ovo odlaganje može biti mnogo duže nego što je T1 vreme, što direktno prouzrokuje nizak SNR. ASL osetljiv na brzinu protoka (Velocity Sensitive ASL-VSASL) je upravo uveden iz tog razloga. Kod ovog principa obeleživački puls direktno vrši selekciju neke brzine protoka, a nije uopšte prostorno zavistan. Sveukupan koncept se zasniva na obeležavanju spinova koji se kreću brže od definisane granice, primenjuje PLD da bi omogućio obeleženoj krvi da uđe u tkivo od interesa i nakon toga vrši akviziciju slike spinova čija je brzina manja od definisane granice.²⁰⁶ Ovo omogućava filtraciju spinova koji imaju veću brzinu od granične u trenutku obeležavanja i manju brzinu od granične u trenutku očitavanja što znači da između ove dve faze usporavaju svoj tok. Samo spinovi koji ispunjavaju ove uslove bi trebalo da budu arterijski spinovi, jer statički spinovi ne pokazuju razliku u brzini, a venski po pravilu ubrzavaju. Tipični VSASL puls je prikazan na slici 1-14. Ovaj princip je i dalje u fazi razvoja i istraživanja.^{187,206}



Slika 1-14. ASL sa selekcijom brzine protoka (Velocity Selective ASL- VSASL); **a.** obeleživački puls selektuje spinove koji imaju brzinu veću od granične V_c ; obeleživački puls je globalan bez prostorne selekcije; **b.** puls se sastoji od spin echo sekvence i gradijenata osetljivih na protok, kao i pulsa od 90° na kraju; **c.** M_z odgovor na obeležavanje zavisan od brzine spinova (Wong et al 2014)¹⁸⁷

1.3.2.1.2.2 Supresija signala okolnog tkiva (Background suppression)

Da bi se obezbedio adekvatan odnos između signala i šuma, primenjuje se kombinacija niske prostorne rezolucije i usrednjavanja signala. Kada se koristi niska prostorna rezolucija, odnos signala i toplotnog šuma je veoma veliki i fluktuacije u signalu su dominantno porekla ne toplotnog šuma, već fizioloških pojava, kao što su srčana radnja, respiratorni pokreti i pokreti samog ispitanika. Smatra se da je vrlo poželjno ukloniti što više signala iz statičkog, odnosno okolnog tkiva. Ovo se postiže korišćenjem jednog ili više pulseva inverzije koji se primenjuju posle pulsa obeležavanja i podešeni su da tokom T_1 vrednosti zastupljenih u tkivu, magnetizacija tkiva M_z bude blizu nule u trenutku očitavanja slike.²⁰⁷⁻²⁰⁹ Važno je naglasiti da dok se M_z smanjuje do M_0 sa konstantom vremena T_1 , razlika u M_z između obeležene i kontrolne slike (ASL signal) se takođe smanjuje ka nuli sa vremenskom konstantom T_1 , bez uticaja globalne inverzije. Za CASL/PCASL, pulsevi inverzije u okviru supresije signala okoline bi trebalo da pokriju region distalno od mesta obeležavanja, uključujući i region očitavanja slike, dok u PASL invertovani pulsevi za supresiju bi trebalo da obuhvate region obeležavanja i region očitavanja. Ovo omogućava da se obeležena krv u potpunosti invertuje sa svakim supresionim pulsom, bez obzira da li je ušla u region akvizicije ili ne. Neselektivni inverzioni puls može da bude dobar u supresiji pozadine, ali bespotrebno utiče i na magnetizaciju krvi proksimalno od mesta obeležavanja i na taj način utiče na krv koja bi mogla biti obeležena u sledećem ciklusu.¹⁸⁷ Kod multislajsne akvizicije, supresija pozadine je različito efikasna za različite preseke, s obzirom da se svaki presek dobija u različito vreme. Supresija signala pozadine je najefikasnija za single-slice 2D imaging, single-shot 3D imaging ili 3D imaging segmentiran kroz TR (time of repetition) periode. Za segmentirani 3D imaging, supresija signala pozadine je posebno

važna, s obzirom da nedostatak fazne konzistencije između segmenata može rezultirati u *ghosting* artefaktima koji su vrlo uporedivi sa ASL signalom ukoliko statički signal nije dobro ugašen.

1.3.2.1.2.3 Faza očitavanja signala

Vrlo važna činjenica u renalnom ASL-u je i izbor metode očitavanja signala. S obzirom da je SNR u ASL-u nizak, neophodna je metoda koja će dati visok SNR da bi se signal perfuzije procenio. Međutim, kako dolazi do brzog “raspada” i gubitka ASL signala, šema očitavanja mora biti izuzetno brza. Optimalna ASL šema mora imati kratako vreme ehoa (time of echo- TE) da bi se obezbedio što veći SNR i smanjio gubitak signala i distorzija slike.¹⁸⁸ Kratko vreme akvizicije je pogotovo važno kod multislajsnog planiranja. Po dosadašnjim preporukama, akvizicija u jednom preseku predstavlja standard i smatra se dovoljnom u većini bubrežnih patologija koje su difuznog karaktera u relativno ujednačnom obrascu.¹⁸⁸ Izuzetak predstavljaju lezije koje su vaskularnog porekla, tumori, opstruktivne i infektivne bolesti, papilarna nekroza zbog upotrebe nesteroidnih antiinflamatornih lekova i slično. U ovim slučajevima, prošireno polje akvizicije na ceo bubrež se smatra neophodnim. Takođe, dosadašnje preporuke su predlagale multislajсни 2D metod, mada je kod njega stepen supresije signala iz pozadine prilično varijabilan.¹⁸⁸ Smatra se da 3D multislajсна akvizicija predstavlja obećavajuću alternativu 2D multislajsnim shemama, uz vrlo dobru supresiju signala iz okolnog tkiva, mada se još uvek ne smatraju standardom, s obzirom da su tek na početku istraživanja.^{210,211} Kada je u pitanju orijentacija preseka, kosi koronalni preseki duž uzdužne osovine bubrega se smatraju najpovoljnijom pozicijom volumena od interesa. Takođe je neophodno da se izbegnu veliki dovodni arterijski krvni sudovi, da bi se izbeglo njihovo merenje u kontrolnoj slici, a kasnije i gubitak signala u suptrahovanoj slici. Kod 2D akvizicije, preporučena debljina preseka je 4-8mm, dok je kod 3D 3-6mm. Preporučeno vreme repeticije TR iznosi 4-6s.¹⁸⁸

1.3.2.1.2.3 Ostali detalji

Pokreti porekla disanja mogu da pomere poziciju bubrega za dužinu koja je veća od veličine voksel, što značajno utiče na gubitak kvaliteta slike. Akvizicija tokom zadržavanja daha efikasno redukuje pokrete koji nastaju prilikom slobodnog disanja, međutim ovakve akvizicije iziskuju veliki broj ponavljanih merenja ili izuzetno duge periode zadržavanja daha sa manjim brojem ponavljanja koje su vrlo izazovne za saradnju, pogotovo kod pedijatrijskih pacijenata.^{212,213} Metode koje podrazumevaju respiratorni trigger mogu smanjiti artefakte usled pomeranja, ali uz produženje vremena akvizicije.²¹⁴ Postoji i opcija respiratornog treninga pri kom se pacijentu daju instrukcije da

ne diše u trenutku akvizicije i da diše u periodu pauze između kontrolne i obeležene faze.²¹⁵ Međutim ova tehnika u velikoj meri zavisi od komplijanse pacijenata i nije preporučljiva za pedijatrijsku populaciju.

1.3.2.1.2.4 Faza nakon akvizicije podataka

1.3.2.1.2.4.1 Prethodna obrada podataka

Obrada podataka pre kvantifikacije, tzv. preprocessing služi da unapredi kvalitet podataka pre izračunavanja perfuzije. Prednost ove tehnike je što ne iziskuje dodatnu pripremu pacijenta ili produžavanje vremena akvizicije sekvenci. Standardni metod preprocessinga predstavlja usrednjavanje signala mnogostrukih prikupljenih parova kontrola-obeležena slika, voksel po voksel.¹⁸⁸ Na ovaj način se poboljšava stepen ASL signala, dobija se čvrstina podataka spram artefakata pomeranja i poboljšava kvalitet PWI (suptrahovanih) slika. Odbacivanje podataka koji su korumpirani i sa puno artefakta, zatim podataka koji značajno odstupaju (“outlier”) mogu da se rade manuelno ili automatski.²¹⁶⁻²¹⁸ Još jedna klasa metoda preprocessinga je i koregistracija slika, koja može da se koristi zajedno sa odbacivanjem *outlier* podataka. Ove metode se koriste da bi se precizno podesila pozicija bubrega u različitim sekvencama (kontrola i obeležena slika, sekvenca za M_0 podatke, a opciono i T1 mapa) koje se koriste za kvantifikaciju, da bi se podesio odovarajući piksel na piksel i smanjile greške u kvantifikaciji.²¹⁶⁻²¹⁹

1.3.2.1.2.4.2 Kvantifikacija perfuzije

Merenje perfuzije i njeno izražavanje u fiziološkim jedinicama je važan korak u obradi informacija dobijenih ASL metodom. Precizna kvantifikacija omogućava poređenje podataka između različitih ispitanika, poseta, kod različitih MRI aparata čak i kod drugih metoda procene perfuzije koje se mere na MRI aparatu. Model koji se preporučuje za kvantifikaciju zanemaruje razlike u signalnoj relaksaciji između krvi i tkiva, pa se naziva i jednokompartmentskim modelom.¹⁸⁸ Prednost ovog modela i korišćenja jednog TI vremena je da se tkivna perfuzija u svakom vokselu može direktno kalkulisati pomoću jednačine. Matematička jednačina za računanje renalne perfuzije kod PCASL tehnike je:

$$RBF = \frac{6000 \cdot \lambda \cdot \Delta M}{2 \cdot \alpha \cdot T1 \cdot M_o \cdot (1 - e^{-\frac{\tau}{T1}})} \cdot e^{-\left|\frac{TI}{T1}\right|}$$

Kod FAIR tehnike pulsog ASL sa QUIPSSII tipom saturacije i oblikovanja bolusa krvi, koja je korišćena u ovoj studiji, odgovarajuća matematička jednačina je sledeća:

$$RBF = \frac{6000 \cdot \lambda \cdot \Delta M}{2 \cdot \alpha \cdot TI \cdot M_0} \cdot e^{-\left| \frac{TI}{T_1} \right|}$$

Matematičko izračunavanje se zasniva na razlici u longitudinalnoj magnetizaciji (ΔM) između obeleženih i kontrolnih slika u okviru ASL akvizicije.¹⁸⁸ M_0 predstavlja tkivnu ekvilibrijumsku magnetizaciju po jedinici mase koja se dobija iz PDW sekvence, α predstavlja efikasnost obeležavanja za koju se pretpostavlja da nosi vrednost 1, λ predstavlja particioni koeficijent krvi – tkivnih molekula vode, za koji se pretpostavlja da je konstanta i iznosi 80 mL/100 g, dok je TI vreme inverzije.² U ovim jednačinama, T1 je vrednosti longitudinalne relaksacije krvi na MRI-u, koja kod 1.5 T iznosi 1500ms, a na 3T 1650ms i smatra se konstantnom kroz različite preseke i regione bubrega, kao i kod različitih subjekata.¹⁸⁸ Parametar τ se koristi samo kod PCASL i on predstavlja vreme trajanja obeležavanja.

Za kvantifikaciju se preporučuje obeležavanje (zaokruživanje) regiona od interesa na kvantitativnim perfuzionim mapama, da bi se procenila srednja vrednost perfuzije u nekom regionu sa svojom standardnom devijacijom. Perfuzija u bubrežnom korteksu je najpouzdanija za merenje, s obzirom na visok protok i na distancu od struktura koje bi mogle negativno uticati na merenje (veliki krvni sudovi i sabirni sistem bubrega). ROI bi trebalo ručno unositi/birati na anatomskoj slici, da bi se izbegle greške, bilo na PDW slici, ili na nekoj drugoj takođe registrovanoj anatomskoj slici koja ima dobru prostornu rezoluciju. ROI bi trebalo birati da se izbegnu izrazito hiperintenzne zone na PWI jer one ustvari predstavljaju krvne sudove. Određivanja medularne perfuzije je znatno teže, prvenstveno zbog znatno nižeg protoka u odnosu na korteks, stoga i zbog nižeg signala. Kinetika obeležene vode iz krvi takođe doprinosi da su podaci u meduli nepouzdati, jer je voda podeljena između malih arteriola i tubula. Ova voda se takođe može razmenjivati sa okolinim tkivom pre nego što prodre duboko u medulu. Za sada se ne preporučuje analiza i izveštavanje podataka dobijenih na meduli.^{188,217}

1.3.2.1.2.5 ASL kod transplantiranih bubrega

Funkcionalni MRI bubrega predstavlja važnu dijagnostičku metodu u proceni bubrežnog alografta koja bi se mogla primenjivati u kliničkim protokolima u cilju izbegavanja invazivnijih procedura. Orijehtacija alografta često varira, što predstavlja pravi izazov u planiranju ASL, prvenstveno zbog orijentacije vaskularne peteljke.²¹⁷ Kod nativnih bubrega, renalne arterije su često

horizontalnog ili lako nishodnog toka i smer protoka krvi je medio-lateralni. Kosa pozicija alografta i vaskularne peteljke posle transplantacije uslovljava da je smer protoka i medio-lateralni i kranio-kaudalni, što dopunski iziskuje pažljivo planiranje. Imajući sve ovo u vidu, neohodno je ispuniti jednu važnu činjenicu, a to je da orijentacija akvizicionog volumena bude kosa sagitalna, odnosno kosa koronalna i da prati uzdužnu osovinu bubrega.^{2,188,217} Donji abdomen i pozicija transplantiranog bubrega je pod manjim ili gotovo nikakvim uticajem respiratornih pokreta, što ukazuje da je zadržavanje daha ili respiratorni triger manje važan za akviziciju podataka na alograftu, već može postojati određeni komfor pri kom pacijent slobodno diše tokom akvizicije. Sve ostale karakteristike akvizicije i pripreme slika su manje-više iste kao kod nativnih bubrega.

1.3.2.2. Difuzijom otežana MRI (Diffusion weighted MRI)

Diffusion-weighted MRI (DWI) je neinvazivna metoda osetljiva na izmeštanje molekula vode u tkivu, uključujući i Braunovo kretanje, uz pomoć koje se može procenjivati mikrostruktura tkiva i stepen fibroze. DWI daje vrlo korisne biomarkere kao što su a) ADC koeficijent (apparent diffusion coefficient) koji predstavlja meru ukupne difuzije vode koja se događa u okviru mikrovaskularne perfuzije, tubulskog protoka i čiste intersticijske difuzije, b) prava difuzija, pseudodifuzija i frakcija protoka dajući odvojenu informaciju za svaki pojedinačni kompartman i c) frakciona anizotropija koja određuje mikrostrukturnu orijentaciju.²²⁰ Trenutni dokazi ukazuju da je DWI kao metoda posebno osetljiva na promene u bubrežnom intersticijumu koje se događaju npr. kod fibroze, ćelijske infiltracije (inflamacija i tumorska infiltracija) ili edema, kod izmena u bubrežnoj perfuziji i protoka tečnosti u tubulima.

Kontrast na DWI slici se bazira upravo na mogućnosti molekula vode da se kreću (obično 1-17µm), pri čemu pokretni molekuli imaju nizak intenzitet signala.²²¹ Ovo se postiže tako što se gradijenti magnetnog polja tokom akvizicije menjaju, praveći slike sa različitim nivoom difuzijskog otežanja, odnosno odgovarajućim b vrednostima. Pad intenziteta signala u funkciji b vrednosti se kasnije može koristiti za pravljenje modela kvantifikacije kretanja molekula vode.²²² Za uspešno izvođenje DWI, neophodna je primena sekvenci koje su izuzetno brze (echo-planar imaging- EPI), uz metode akceleracije, da bi se smanjio stepen artefakata organa koji se kreće, uz supresiju masti.²²² Bubrežni DWI se izvodi bilo u aksijalnoj bilo u koronalnoj ravni, pri čemu svaka od njih ima svoje prednosti i mane. Sekvence se mogu izvoditi najčešće uz respiratorni triger, višestruko zadržavanje daha ili uz slobodno disanje sa višestrukim akvizicijama. Iako su DWI biomarkeri kvantitativne prirode, primenjena strategija tokom akvizicije može mnogo da utiče na dobijene rezultate (smer

gradijenta difuzije, vrste i broj b vrednosti, s obzirom da je difuzija vode u bubregu potpuno anizotropna, pogotovo u meduli).

U nekom odeljku slobodne vode, intenzitet signala DWI koji potiče od kretanja molekula monoeksponencijalno opada u odnosu na b vrednost, odnosno primenjeni gradijent.²²³ Međutim, u bubrežnom tkivu, ovo slobodno kretanje molekula vode je ograničeno brojnim preprekama, kao što su ćelijske membrane intersticijski matriks i zbog toga se u tkivu ovaj koeficijent difuzije naziva „navodni“ („apparent“). Osim difuzije molekula vode u tkivu, navodno kretanje je takođe pod uticajem i mikrocirkulacije i tubuskog protoka, koji se ustvari nazivaju pseudodifuzija. Kao i kod difuzije i kod pseudodifuzije intenzitet signala opada sa jačinom gradijenta i b vrednošću, ali oko 10 puta brže, rezultirajući bieksponencijalnim gubitkom signala. Ovaj bieksponencijalni model omogućava, osim merenja ADC koeficijenta i merenje pseudodifuzije (D^*), frakcije protoka u krvnim sudovima i tubulima (F) i pravog koeficijent difuzije u tkivu (D).²²⁰⁻²²² Ovaj model se naziva intravokselsko nekoherentno kretanje (intra-voxel incoherent motion IVIM) i na najbolji način opisuje DWI kada postoji dobar odnos signala i šuma (SNR) na koji je vrlo osetljiv.²²⁴ S druge strane, monoeksponencijalni model izračunavanja ADC koeficijenta je mnogo otporniji na nizak odnos signala i šuma, ali najmanje objašnjava dobijene podatke.²²⁵ Bez obzira na navedena ograničenja, monoeksponencijalni model je korišćen u većini studija i u regularnom kliničkom scenariju, pogotovo zbog široko dostupnog softvera za merenje ADC koeficijenta na svim proizvođačkim konzolama.

Otkrivanje i raščlanjivanje difuzijskog signala u velikom broju pravaca omogućava analizu prostorne zavisnosti difuzije molekula vode, utvrđivanje stepena anizotropije i mikroarhitekture. Ova napredna metoda se naziva difuzijski tenzor imaging (DTI). Za DTI je neophodno sprovesti višestruka merenja, u najmanje 6 različitih pravaca kodiranja signala.²²⁶ Ova metoda omogućava analizu frakcione anizotropije (FA), koja predstavlja procenat prostorno orijentisanog difuzijskog signala, oslikavajući stepen tkivne anizotropije. Takođe se može meriti srednja difuzivnost (mean diffusivity MD), ekvivalent ADC koeficijentu koji je nezavistan od anizotropije. U svim dosadašnjim studijama dokazano je da medula ima mnogo veći stepen anizotropije nego korteks, sa pretpostavkom da je razlog dominantno kretanje vode duž tubula i vaskularnih spletova u piramidama.²²⁵⁻²²⁹

Bez obzira što je DWI prepoznat kao koristan alat za procenu bubrežne mikrostrukture, specifične metode potvrde njene kliničke vrednosti ne postoje. Razlog tome jeste da ne postoji zlatni standard za merenje difuzije vode in vivo. Bubrežna perfuzija, glomerulski i tubulski protok i tkivna difuzija vode mogu pojedinačno da utiču na DWI signal i promene u ADC vrednosti.²³⁰⁻²³² Smanjenje perfuzije i tubuskog protoka, kao i ekstracelularnog prostora ćelijskom infiltracijom mogu da objasne pad u vrednosti ADC koeficijenta kod nekih akutnih bubrežnih oboljenja, kao što je akutno ćelijsko odbacivanje grafta ili akutni pijelonefritis (APN).^{233,234} Situacija je slična i kod renalne fibroze, kada

deponovanjem fibroznog matriksa dolazi do redukcije intersticijskog prostora, posledično redukcije Braunovog kretanja slobodnih molekula vode, ali i do redukcije perfuzije i tubulskog protoka. Studije na eksperimentalnim životinjama su pokazale da negativna korelacija ADC koeficijenta i stepena fibroze je pre posledica redukcije perfuzije bubrega i glomerulske filtracije, nego deponovanja fibroznog matriksa.²³⁵ Imajući u vidu da se ovi rezultati ne mogu lako prebaciti na in vivo sistem, nepohodna je primena kompleksnijih modela kao što je IVIM za jasnu kompartmentalizaciju svakog od pomenutih efekata na difuziju vode, ili DTI za orijentaciju struktura koje utiču na difuziju.

1.3.2.2.1. Modeli DWI

1.3.2.2.1.1 Monoeksponencijalni ADC

Merenje ADC koeficijenta predstavlja najpopularniju metodu kvantifikacije zbog svoje široke dostupnosti, jednostavnosti i malo uslova koje postavlja prilikom akvizicije. Monoeksponencijalni ADC model se zasniva na pretpostavci da postoji uniformno Gausovo kretanje molekula vode koje je oslikano monoeksponencijalnim gubitkom difuzijskog signala u skladu sa promenom gradijenta.²²⁰ Računanje monoeksponencijalnog ADC se zasniva na Stejskal–Tanner formuli:²³⁶

$$\frac{S_b}{S_0} = e(-bADC_{\text{mono}})$$

Gde je S_b signal DWI, S_0 je intenzitet signala bez DWI ($b = 0$ s/mm²), b je snaga difuzijskog otežanja (u s/mm²), i ADC_{mono} je navodni difuzijski koeficijent (apparent diffusion coefficient) vode u odgovarajućem vokselu. Za bubrežno tkivo i njegovu anizotropiju, jasno je da monoeksponencijalni model nije u stanju da opiše gubitak difuzijskog signala na pravi način, sa IVIM efektima koji se događaju pri nižim b vrednostima (< 200 s/mm²) i ne-Gausovskim efektima koji se događaju pri visokim b vrednostima (> 800 s/mm²).²³⁷ Međutim, kao metod koji daje sveukupnu procenu, monoeksponencijalni model obezbeđuje relativno stabilan ADC i zahteva samo umeren SNR (odnos signala i šuma). Procenjeni ADC u velikoj meri zavisi od izbora b vrednosti i ne postoji jasan konsenzus koliko b vrednosti treba uzeti i koliko one treba tačno da iznose.^{237,238} Preporuke su da treba postaviti minimum dve b vrednosti da bi se dobio stabilan difuzijski signal za merenje ADC, uz preporuku da je što više b vrednosti uključeno, to bolje.^{238,239}

1.3.2.2.1.2 Intravokselno nekoherentno kretanje (Intravoxel incoherent motion IVIM)

IVIM podrazumeva poreklo signala difuzije iz dva odeljka. Jedan odeljak reflektuje sporu toplotnu difuziju u tkivu (D) koja je pod uticajem lokalne mikrostrukture. Drugi odeljak podrazumeva brzo kretanje molekula vode u mikrovaskulaturi i bubrežnim kanalićima koje može da imitira nasumično kretanje vode i naziva se pseudodifuzija (D^*) i frakcija protoka (F).²⁴⁰⁻²⁴² Ovaj metod kvantifikacije se zasniva na bieksponecijalnom gubitku difuzijskog signala i predstavljen je jednačinom

$$\frac{S_b}{S_0} = (1 - f)e^{-bD} + fe^{-bD^*}$$

Gde je S_b intenzitet signala DWI, S_0 je intenzitet signala bez DWI ($b = 0$ s/mm²), b je snaga difuzijskog otežanja (u s/mm²), D je difuzija vode u tkivu (spora komponenta), D^* je pseudodifuzija (brza komponenta) i f je frakcija protoka.^{220,240-242} Da bi se izmerili parametri u okviru IVIM, potrebno je uključiti u akviziciju minimum 4 b vrednosti, koje tipično produžavaju vreme akvizicije u odnosu na monoeksponencijalni model. Dalje, ne postoji jasan algoritam u kalkulaciji IVIM parametara. U brojnim studijama je primenjivano takozvano segmentirano podešavanje kod koga je granična b vrednost definisana da razdvoji protok iz mikrocirkulacije od difuzijskih efekata (pri čemu je pad signala usled uticaja mikrocirkulacije zanemarljiv iznad definisane granične vrednosti).²⁴³⁻²⁴⁶ Međutim, iako je D (tkivna difuzija) relativno stabilan u ovom metodu, procena f i D^* itekako može biti pogrešna jer zavisi od određivanja granične vrednosti. Nedavno je kreiran model baziran na Bajesovoj verovatnoći sa ili bez uklapanja pseudodifuzijskog koeficijenta.²⁴⁷ Takođe postoje i drugi mnogo kompleksniji modeli koji imaju za cilj da uključe više karakteristika bubrežnog tkiva u analizu intenziteta difuzijskog signala. Trokompartmentski model uključuje i dodatne komponente kao što je glomerulska filtracija, vaskularni spram tubulskog protoka ili rezidualni signal masti.²⁴⁸⁻²⁵⁰

1.3.2.2.1.3 Diffusion tensor imaging (DTI)

Merenje i mapiranje anizotropije u tkivu, odnosno zavisnosti difuzije vode u odnosu na orijentaciju mikrostrukture obezbeđuje biomarker koji najbolje može opisati integritet tkiva. Za DTI analizu potrebno je da se dobiju difuzijski signali duž nekoliko smerova da bi se dobio 3×3 simetrični tenzor model.^{251,252} Uopšteno, svi gradijenti (imaging i diffusion weighting) mogu da se uračunaju u kompletnu b matricu.²²⁰

$$\bar{D} = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix} \quad \text{ADC}_n = \hat{g}_n^\dagger \cdot \bar{D} \cdot \hat{g}_n = \sum_{ij} g_{i,n} g_{j,n} D_{ij}$$

Eigenvrednosti opisuju maksimalnu, umerenu i minimalnu difuzijsku vrednost sa eigenvektorima koji oslikavaju odgovarajući pravac. Primarni eigenvektor sa maksimalnom difuzijskom vrednošću se izražava odnosom:

$$\text{MD} = \frac{1}{3}(\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3),$$

Gde je MD ili srednja vrednost difuzije predstavlja srednju vrednost difuzijskih koeficijenata i 1, 2, 3 su eigenvrednosti. Još jedan važan parametar koji se zove frakciona anizotropija (FA), oslikava količinu difuzije duž određenih smerova (0 = kompletna izotropija, 1 = kompletna anizotropija) i opet se meri iz srednje vrednosti difuzije (MD) i 1, 2, 3 su eigenvrednosti.²²⁰

Nekoliko studija je pokazalo da DTI obezbeđuje vrlo značajne biomarkere difuzijske izotropije u korteksu i anizotropije u meduli.²⁵³⁻²⁵⁹ Ovo ponašanje u meduli je uslovljeno njenom strukturnom organizacijom koju čine Henle-ove petlje, sabirni kanali, vaskularna vasa recta koji imaju zrakasti tok ka papilama. Kao i ostali difuzijski parametri i FA i MD zavise od primenjenog broja i veličine b vrednosti.^{254,258,260} S obzirom da je anizotropija cilj koji treba detektovati upotrebom DTI, akvizicija u višestrukim smerovima (minimum 6) je neophodna da bi se dobio tenzor. Brojne studije su primenjivale čak 12 pravaca, međutim, određivanje optimalnog broja pravaca i b vrednosti za bubrežni DTI još uvek nije uspostavljen.²⁶¹

1.3.2.2.2 DWI kod različitih kliničkih stanja

Različiti modeli DWI se mogu koristiti u brojnim kliničkim stanjima kao što su akutni pijelonefritis, opstrukcija urinarnog trakta, dijabetes, hronična bubrežna insuficijencija različitog porekla, ali nisu od prevelikog značaja za analizu transplantiranih pacijenata, te ovde nisu pojedinačno objašnjeni.

Akutna disfunkcija alografta

DWI je kod transplantiranih bubrega pokazala potencijal u detekciji alografta sa oštećenom funkcijom na osnovu nižih ADC vrednosti, niže medularne FA i niže medularne frakcije protoka F.^{252,253} Iako su ADC vrednosti u nekim studijama bile značajno niže kod alografta sa akutnim odbacivanjem, akutnom tubulskom nekrozom i imunosupresivnom toksičnošću u poređenju sa

alografima koji su bili očuvane funkcije, DWI nije bila u mogućnosti da otkrije različitu patološku osnovu koja je odgovorna za oštećenje bubrežne funkcije. Svakako, heterogeni izgled DWI predstavlja morfološki znak udružen sa ozbiljnim histopatološkim promjenama.^{262,263} Stoga, kombinacija kvalitativne i kvantitativne analize DWI parametara može da pomogne u proceni stanja alografta i da odredi koji bi pacijenti iziskivali invazivnije procedure, kao što je biopsija.²⁶²

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Validacija 3D GRASE ASL tehnike za procenu perfuzije bubrega u uzorku zdravih ispitanika, koja se ogleda u izračunavanju vrednosti kortikalne perfuzije kod zdravih ispitanika, uticaj opterećenja vodom na stepen perfuzije i u proveru ponovljivosti metode u okviru jedne i u okviru ponovljene posete.
2. Procena i kvantifikacija perfuzije transplantiranog bubrega kod pedijatrijskih pacijenata u ml/100gr/min tkiva upotrebom ASL tehnike i naknadnim postprocessingom u odgovarajućem programskom interfejsu.
3. Utvrđivanje da li perfuzija izračunata ASL tehnikom oslikava bubrežnu funkciju alografta poređenjem sa laboratorijskim parametrima funkcije- individualno procenjenim klirensom kreatinina, odnosno stepenom izračunate glomerulske filtracije (GFR).
4. Utvrđivanje da li se perfuzija izračunata ASL tehnikom razlikuje između podgrupa transplantiranih pedijatrijskih pacijenata kategorizovanih na osnovu izračunate vrednosti GFR- podgrupi pacijenata sa očuvanom funkcijom ($GFR \geq 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$) i u podgrupi sa oštećenom funkcijom ($GFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$).
5. Upoređivanje svih dobijenih rezultata kod pedijatrijskih pacijenata sa individualno uparenim zdravim kontrolama izabranim u odnosu na karakteristike donora bubrega.
6. Utvrđivanje da li ADC koeficijent dobijen DWI-MRI tehnikom može ukazati na oštećenje bubrežne funkcije i mikrostrukture kod transplantiranih bubrega upoređivanjem njegove vrednosti sa kliničkim parametrima (GFR) u celom uzorku i po definisanim podgrupama.
7. Utvrđivanje da li se ADC koeficijent korteksa i medule razlikuje kod bubrežnih alografta u odnosu na zdrave individualno uparene kontrole.
8. Utvrđivanje da li standardni ultrazvučni parametri najpre indeks rezistencije (IR), a zatim i brzina pik-sistolnog (PS) i end-dijastolnog (ED) protoka mogu diskriminisati alografte

oštećene u odnosu na alografte očuvane funkcije, kao i njihovo poređenje sa vrednostima individualno uparenih zdravih kontrola.

3. METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA

3.3. VREME I MESTO ISTRAŽIVANJA

Studija prospektivnog tipa je bila izvedena u Univerzitetnoj dečijoj klinici u Beogradu u periodu od novembra 2018. do novembra 2021.godine.

3.4. ISPITANICI

U studiju su bile uključene dve glavne grupe ispitanika i jedna dopunska za validaciju nove metode koja će biti prezentovana kasnije. Od dve glavne grupe, jednu je činilo 20 pedijatrijskih i mladih adultnih pacijenata sa bubrežnim alograftom koji su bili redovni pacijenti klinike, dok se druga grupa sastojala od 20 individualno uparenih zdravih kontrola u odnosu na karakteristike donora bubrega po polu, starosti, telesnoj masi i visini, odnosno indeksu telesne mase (Body mass index kg/m^2), koji su bili ispitani u istom periodu kada i transplantirani pacijenti.

3.4.2. Inkluzioni kriterijumi za grupu transplantiranih pacijenata

Posle pažljive trijaže, u studiju su uključeni pedijatrijski i mladi adultni pacijenti Univerzitetne dečije klinike sa bubrežnim alograftom koji su bili bez znakova akutizacije odbacivanja alografta u proteklih 6 meseci i u trenutku redovne kliničke kontrole i studijskog dana. Ovi pacijenti su kasnije tokom analize svrstani u dve podgrupe (nakon što im je izračunat klirens kreatinina, odnosno stepen glomerulske filtracije) na osnovu literaturno definisane granične vrednosti GFR od 60ml/min/1.73m^2 .⁹

3.4.3. Inkluzioni kriterijumi zdravih kontrola

Zdrave individualno uparene kontrole su birane na osnovu karakteristika donora, s obzirom da se procenjivalo stanje transplantiranog bubrega, odnosno njegova funkcija i upoređivanje sa nativnim bubrezima sličnih karakteristika. Uslovi koje je trebalo da zdrave kontrole ispune su sledeći:

1. Fiziološka bubrežna funkcija, normalan procenjeni klirens kreatinina iz serumskih vrednosti kreatinina;
2. Isključene urođene i stečene bolesti bubrega na osnovu anamnestičkih podataka, fizikalnih, laboratorijskih i radioloških nalaza;
3. Ukoliko se po uzrastu/starosti donora uključuje pedijatrijski pacijent, u studiju je bio uključen pacijent koji dolazi na MRI dijagnostiku iz drugih indikacija koje nisu povezane sa oslabljenom bubrežnom funkcijom.

Svi učesnici studije, koji su ispunjavali kriterijume za uključivanje u studiju su dobijali detaljan informator i ukoliko su bili zainteresovani da učestvuju, dobijali su formular o pristanku koji su potpisivali sami ukoliko su bili punoletni, a pristanak je bio dopunjavao potpisom i staratelja kod ispitanika koji su bili maloletni (kod pedijatrijskih ispitanika starijih od 7 godina, pristanak su davali i dete i staratelj, a kod mlađih od 7 godina samo staratelj). Svi ispitanici su inicijalno odlazili na odeljenje dijalize i transplantacije i nefrologije, našte nakon 8h gladovanja i oko 2-4h žeđanja, gde su im se beležili klinički parametri i uzimali biohemijski uzorci.

3.3.STUDIJSKA MERENJA

3.3.1. Klinički parametri

Kod svih ispitanika su se beležili/prikupljali/merili:

- Životna dob
- Pol
- Telesna masa
- Telesna visina
- Arterijski krvni pritisak
- Uzorak venske krvi za analizu serumskog kreatinina (sCr) i izračunavanje eGFR kod zdravih kontrola po MDRD formuli²⁶⁴
- Kod transplantiranih pacijenata je dopunski analiziran nivo kreatinina u 24-ovnom uzorku urina (uCr) za izračunavanje klirensa kreatinina, odnosno GFR po zadatoj formuli:

$$\text{GFR} = [\text{uCr (mL/mg)}] * \text{diureza (mL/min)} / [\text{sCr (mL/mg)}].^{265}$$

Nakon prikupljanja kliničkih i laboratorijskih podataka, ispitanici su odlazili na odeljenje radiologije gde su sprovedena odgovarajuća dijagnostička merenja.

3.3.2. Dijagnostička merenja

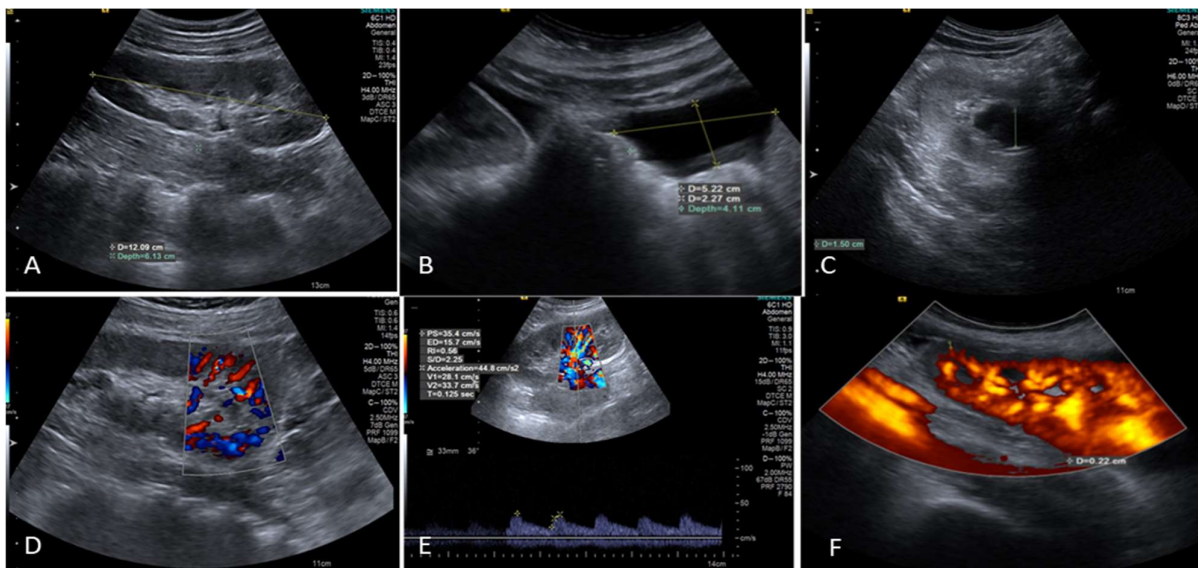
3.3.2.1. Ultrazvučna dijagnostika

Svi ultrazvučni pregledi su vršeni na ultrazvučnom aparatu Siemens Accuson S3000 upotrebom konveksnih sonde raspona frekvence od 2 do 6 MHz i 3 do 8 MHz i linearne sonde raspona frekvence 4 do 9 MHz. Svi transplantirani pacijenti su pregledani u supinatornom položaju, dok su

zdrave kontrole pregledane u supinatornom, zatim u lateralnim dekubitima i ukoliko su zdrave kontrole bile pedijatrijski pacijenti i u pronatornom položaju. Na ultrazvučnoj dijagnostici su se kod svih ispitanika procenjivali:

- položaj i dimenzije transplantiranog, odnosno nativnih bubrega;
- debljina i ehogenost parenhima, kao i kortiko-medularna diferencijacija;
- postojanje proširenja sabirnog sistema i uretera;
- brzina protoka (PS i ED u cm/s) u tri merenja u arterijskom stablu od bubrežnog hilusa do nivoa interlobularnih grana u svim aspektima bubrega (gornji pol, interpolarno i donji pol), sa posebnim težištem na vrednosti u interlobularnim granama, a indeks rezistencije (IR) je izračunavan na osnovu sledeće formule:²⁶⁶

$$RI = [PS - ED] / PS.$$



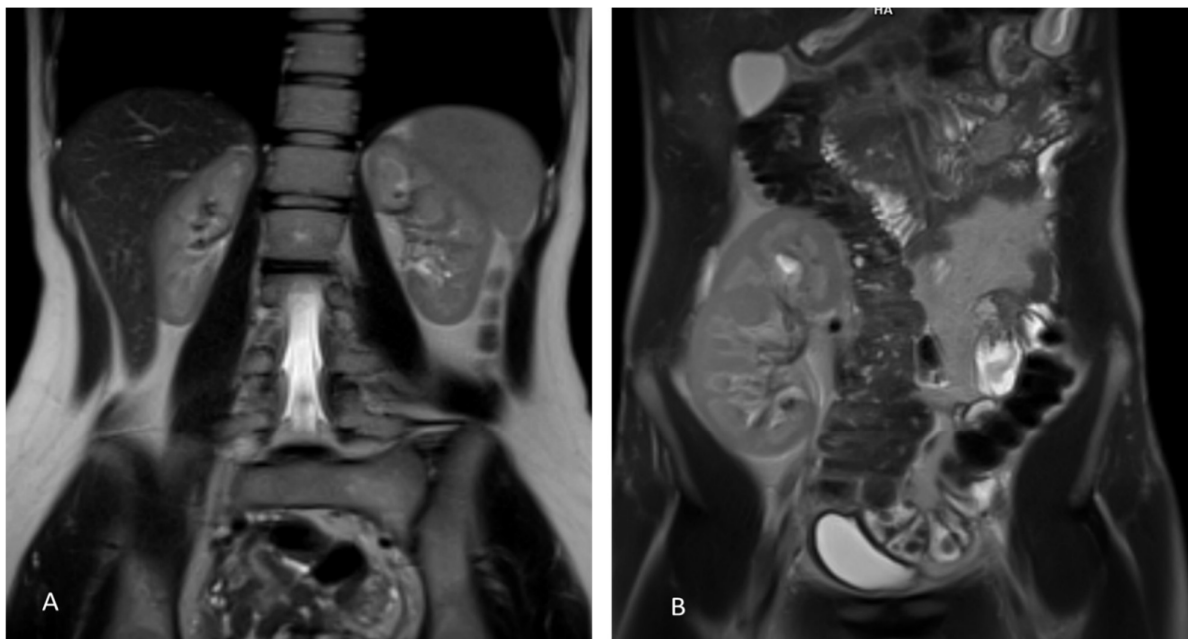
Slika 3-1. Primeri ultrazvučne evaluacije alografta kod različitih pacijenata koja pokazuje A. merenje uzdužnog dijametra alografta; B. evaluaciju i merenje infrarenalno lokalizovane anehogene tečne kolekcije, C. merenje AP dijametra proširenog pijelona, D. kolor-dopler prikaz interlobarnih grana, E. pulsni dopler i merenje brzine protoka i indeksa rezistencije; F. power dopler u cilju evaluacije signala u parenhimu i procene distance od kapsule i nemih zona perfuzije.

3.3.2.2. Magnetna rezonanca

Svi MRI pregledi su vršeni na MRI aparatu od 1.5T (Siemens Aera, Erlangen, Nemačka). Ispitanici su bili pozicionirani u supinatorni položaj, a akvizicija je vršena tokom slobodnog disanja pomoću kombinacije površinke šestokanalne zavojnice (6ch body coil) koja je postavljena na

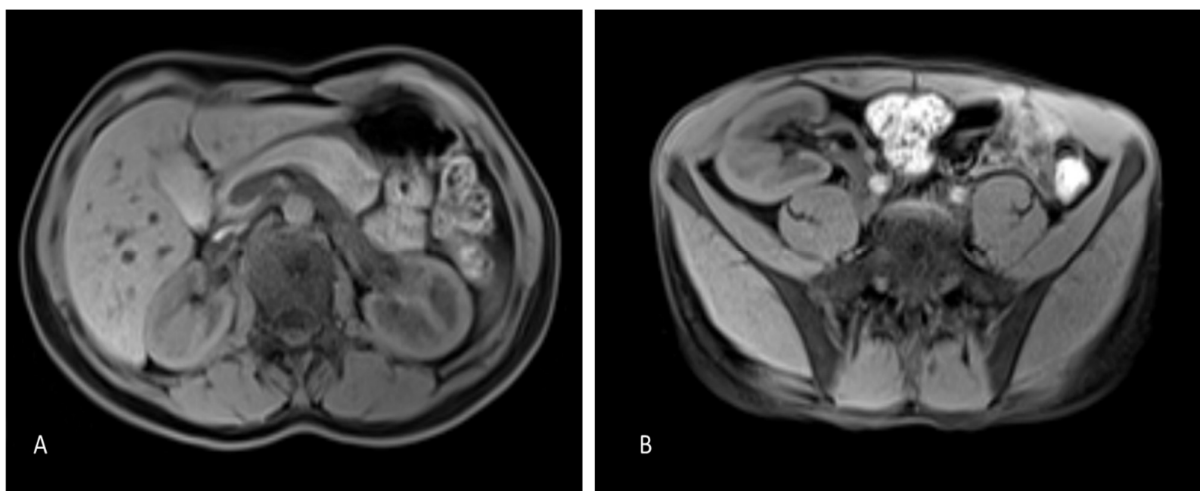
abdomen odnosno pelvični region i integrisane matriks zavojnice (spine matrix coil). Protokol MRI dijagnostike je podrazumevao sledeće pulsne sekvence:

1. standardna T2-weighted HASTE (Half-Fourier Acquired Single Shot Turbo Spin Echo) sekvenca u koronalnoj ravni za anatomsku evaluaciju bubrega;



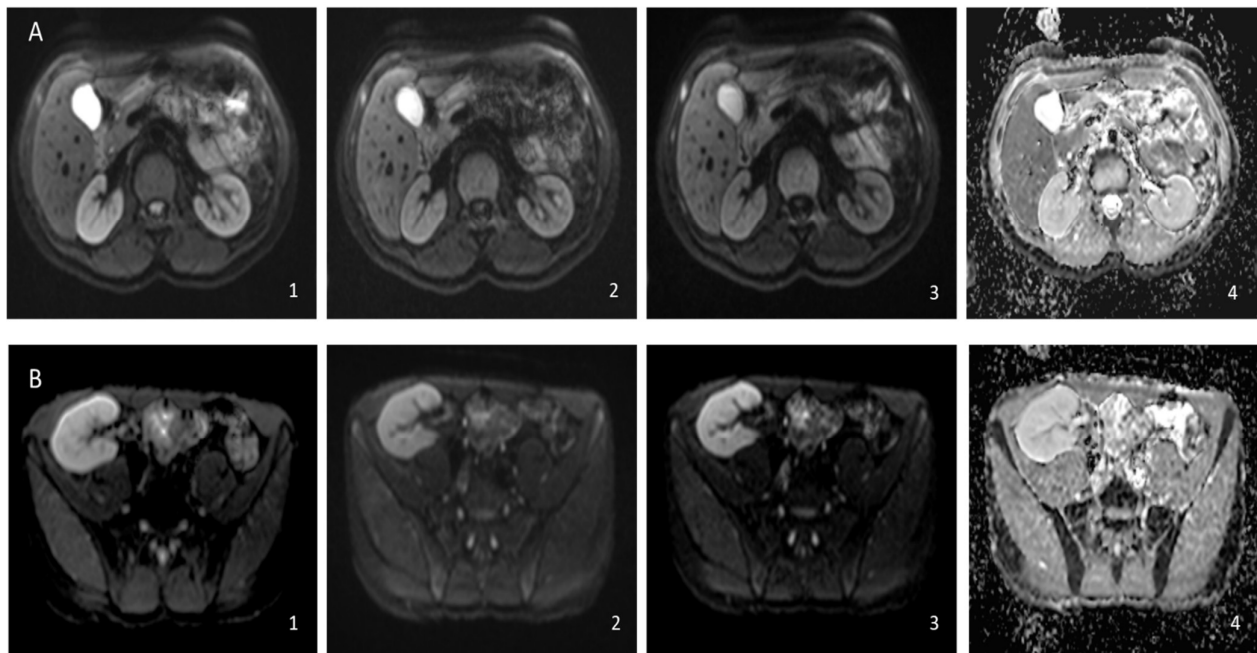
Slika 3-2. T2W HASTE sekvenca u koronalnoj ravni prikazuje anatomske karakteristike bubrega kod A. zdravog volontera i B. transplantrarnog pacijenta čiji je alograft postavljen u desnoj ilijačnoj jami.

2. standardna T1-weighted 3D volumetrijska VIBE (volume interpolated breath-hold) sekvenca u aksijalnoj ravni za anatomsku evaluaciju bubrega;



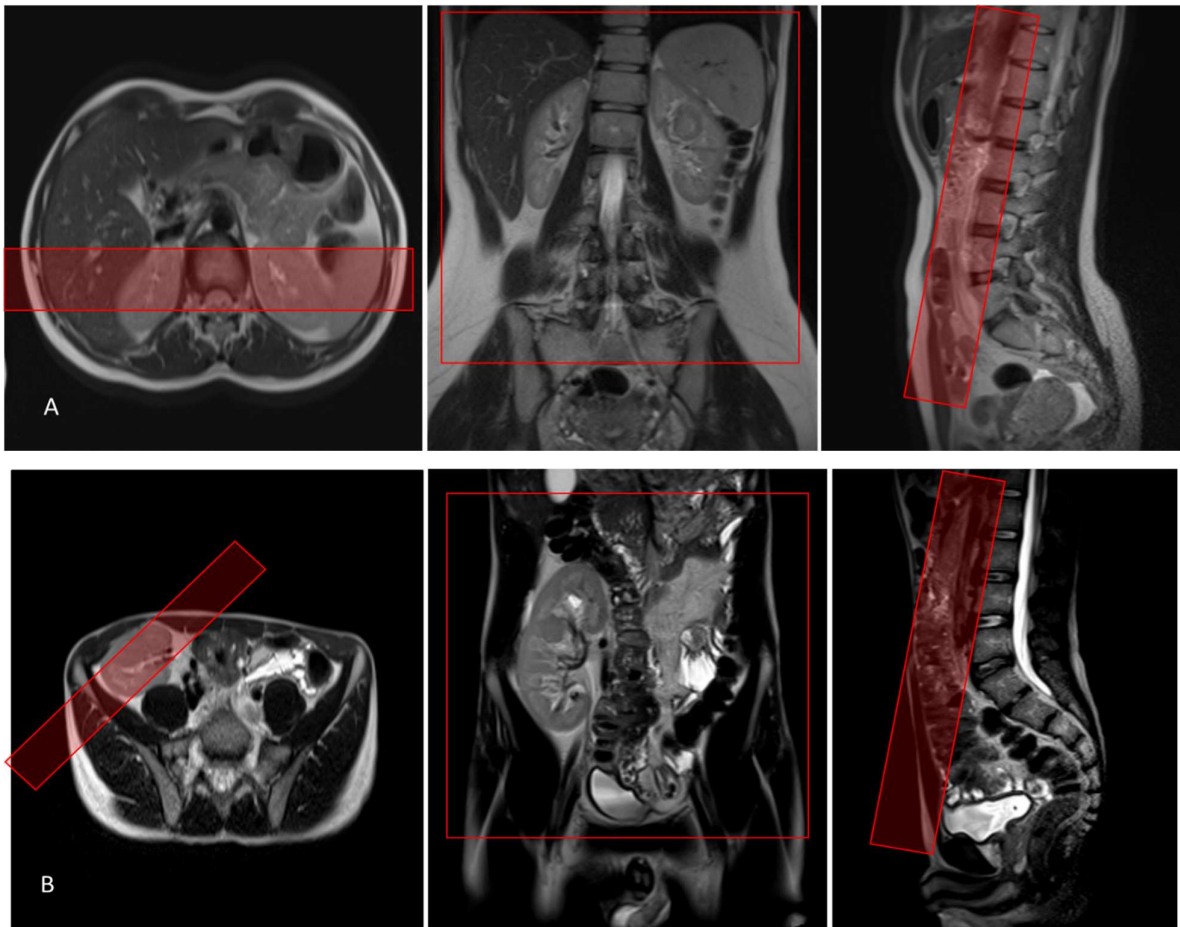
Slika 3-3. 3D T1 VIBE sekvenca u aksijalnoj ravni kod A. zdravog volontera i B. transplantiranog pacijenta čiji je graft u desnoj ilijačnoj jami (primetna je jasna diferencijacija korteksa i medule koju ova sekvenca obezbeđuje).

3. monoeksponecijalni model difuzijskog imidžinga (diffusion-weighted imaging DWI-MRI) uz pomoć EPI-SE (Echo Planar Imaging Spin Echo) sekvence sa b vrednostima od 50/400/600 s/mm² u transverzalnoj ravni, a ADC (apparent diffusion coefficient) mape su automatski generisane od strane MRI sistema;



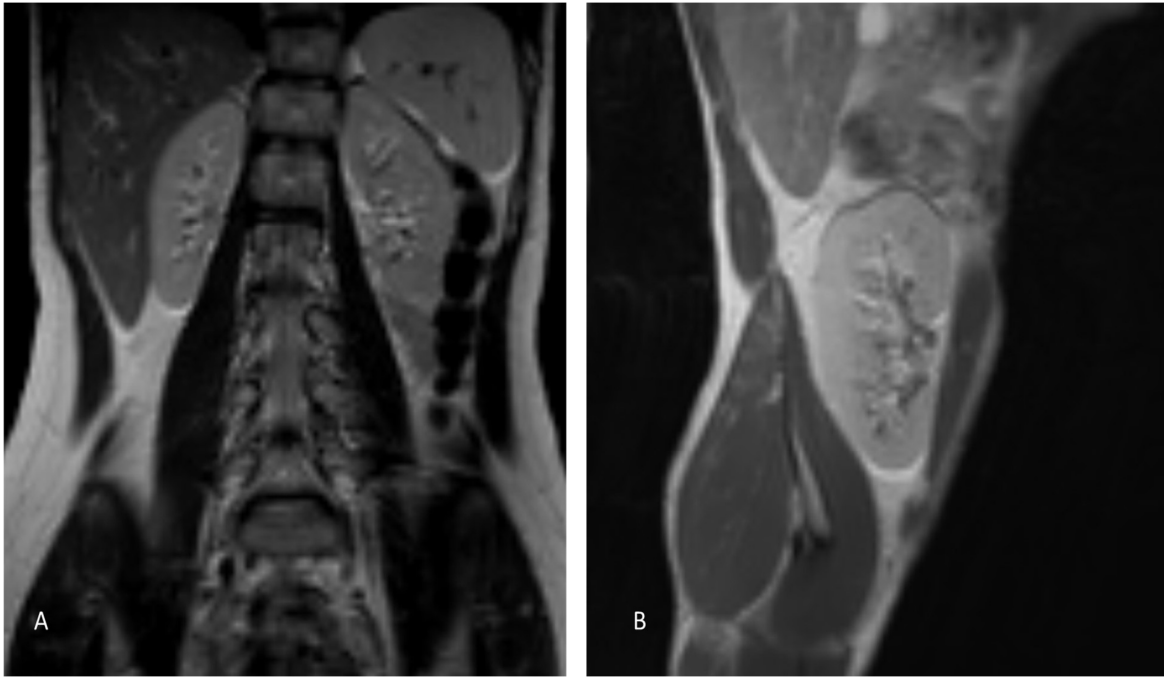
Slika 3-4. Monoeksponecijalni DWI pri b vrednostima 50 (1), 400 (2) i 600 (3) s/mm² i automatski preračunate ADC mape (4) u sklopu fabrički podešenog softvera na radnoj stanici; red A. zdrav volonter, red B. transplantirani pacijent.

4. ASL FAIR True-Fisp (Flow-sensitive Alternating Inversion Recovery True-Fast imaging with steady-state precession) i multi-shot 3D gradient and spin-echo (3D-GRASE) imaging modul sa supresijom signala iz pozadine u parakoronarnoj/parasagitalnoj ravni da bi se izbegli veliki krvni sudovi (aorta i ilijačni krvni sudovi);



Slika 3-5. Princip pozicioniranja regiona za planiranje ASL sekvence na skaut slikama u tri ravni kod **A.** zdravog ispitanika i **B.**transplantiranog pacijenata; volumeni za planiranje postavljeni su na taj način da bi izbegli velike krvne sudove (abdominalnu aortu kod zdravih i ilijačne arterije kod transplantiranih pacijenata)

5. ponovljeni ASL u parakoronalnoj/parasagitalnoj ravni za procenu ponovljivosti u okviru jedne posete (intravisit reliability);
6. PDW (Proton Density Weighted) u identičnoj parakoronalnoj/parasagitalnoj ravni kao ASL u cilju naknadnog postprocesinga u odgovarajućem programskom interfejsu.



Slika 3-6. Proton Density Weighted (PDW) bez inverzije u identičnoj orijentaciji kao i ASL sekvenca kod A. zdravog ispitanika, B. transplantiranog pacijenta.

ASL je bio pulsno tipa i podrazumevao je adijabatsku offset korekciju frekvence (adiabatic frequency offset correction) inverzionog pulsa postavljenu u ravni sa akvizicionim volumenom od interesa, pozicioniranu tako da izbegne velike krvne sudove. Selektivni inverzioni volumen sa neselektivnim i selektivnim pulsevima je zavisio od akvizicionog volumena čija je ukupna debljina bila 56mm. Da bi se definisalo trajanje bolusa, Q2TIPS (Quantitative imaging of perfusion using a single subtraction, second version, with thin-slice T1 periodic saturation) je primenjen da bi pokrio velike arterije.^{188,194,197,198} Parametri sekvence su podrazumevali: 3 segmenta (multi-shot), veličinu polja (Field of View- FOV) 360 x 360 mm, TE/TR 20/6000 ms, Flip angle 180, bez paralelnog imaginga, veličina vokseli 2.8 x 2.8 x 6 mm, debljina preseka 6 mm, broj preseka 8, rekonstruktivni matriks 128 x 128, broj merenja 6 (parova obeleženih i neobeleženih slika). Korišćeno je vreme inverzije (TI) od 2000 ms kod transplantiranih i 1200ms kod zdravih ispitanika. Ukupno vreme trajanja ASL FAIR True-FISP sekvence je bilo 3.42 minuta. Što se tiče respiratorne kontrole, zdravi ispitanici su bili instruirani da dišu najpliće moguće uz praćenje saradnje respiratornim senzorom i eventualno ponavljanje sekvence ukoliko saradnja nije bila adekvatna uz ponovno pružanje instrukcija. Transplantirani pacijenti su slobodno disali tokom akvizicije, bez posebnih zahteva, osim eliminisanja pokreta delova tela koji bi doveli do artefakata. Dopunska PDW sekvenca bez inverzije je planirana za određivanje ekvilibrijumske magnetizacije

Tabela 3-1. MRI parametri sekvenci korišćenih u okviru studije

Sequence type	T2 HASTE	3D T1 VIBE	DWI	ASL-MRI	PDW
Sequence type	SSh FSE	Spoiled 3D GRE	EPI-SE	FAIR-True FISP	TSE
Slice orientation	Coronal	Axial	Axial	Para-sagittal	Para-sagittal
FOV (mm x mm)	350 x 350	380 x 308	350 x 282	360 x 360	360 x 360
TR/TE (ms)	2000/92	4.74/2.08	2000/53	6000/20	4000/35
TI (ms)	NA	NA	NA	2000	NA
Flip Angle	180	10	NA	180	150
b values (s/mm ²)	NA	NA	50/400/600	NA	NA
Slice thickness (mm)	5	3	6	6	6
Interslice gap (mm)	1	0.3	0	1.2	1.2
Number of slices	32	30	35	8	8
Matrix	256 x 256	166 x 256	108 x 134	128 x 128	128x 128
Spatial resolution (mm x mm x mm)	1.4 x 1.4 x 5	1.5 x 1.5 x 3	2 x 2 x 6	2.8 x 2.8 x 6	2.8 x 2.8x 6
Parallel imaging	GRAPPA	CAIPIRINHA	GRAPPA	-	GRAPPA
Fat suppression	None	SPAIR	SPAIR	Fat Sat	None
Respiratory control	Free-breathing	Breath-hold	Free-breathing	Free-Breathing	Free-breathing
Bandwidth (Hz/px)	698	350	2332	3004	260
Acquisition time (min)	2.30	0.12	2.35	3.42	1.36

HASTE - Half-Fourier Single-Shot Turbo Spin-Echo; VIBE - Volumetric Interpolated Breath-hold Examination; DWI - Diffusion-Weighted Imaging; ASL - Arterial Spin Labeling; PDW- Proton Density-Weighted; SSh FSE - Single-Shot Fast Spin-Echo; GRE - Gradient Echo; EPI SE - Echo-Planar Imaging Spin-Echo; FAIR True-FISP - Flow-sensitive Alternating Inversion Recovery True-Fast Imaging with Steady-State Precision; FOV - Field of View; TR - Repetition Time; TE - Echo Time; TI - Inversion Time; GRAPPA - Generalized Autocalibrating Partial Parallel Acquisition; CAIPIRINHA - Controlled Aliasing in Parallel Imaging Results in Higher Acceleration; GRASE- Gradient and Spin Echo; SPAIR - Spectral Attenuated Inversion Recovery; Fat Sat - Fat Saturation.

M₀, koja je bila potrebna za kvantifikaciju perfuzije. Ova sekvenca je imala identičan FOV, orijentaciju i debljinu preseka, razmak između preseka i rekonstruktivni matriks da bi se u potpunosti poklapala sa FAIR ASL. Ukupno vreme akvizicije je bilo 1.36 min. T1 vrednost korteksa kod svih ispitanika je iznosila 1500ms, koliko iznosi T1 za krv na MRI od 1.5T.¹⁸⁸

Detaljnije karakteristike svih sekvenci su predstavljene u tabeli 3-1.

3.4. VALIDACIJA METODE DOPUNSKOM GRUPOM ISPITANIKA

Grupu zdravih ispitanika koja je omogućila validaciju metode je sačinjavalo ukupno 23 individue sa 46 bubrega (jedinica posmatranja). Ovi ispitanici su morali da ispune inkluzione kriterijume za zdrave uparene kontrole i prikupljeni su identični klinički parametri, uz uzorkovanje krvi za merenje serumskog kreatinina i izračunavanje eGFR. Od dijagnostičkih merenja je ovim ispitanicim rađen MRI pregled po gore predloženom standardizovanom protokolu, pri čemu je izvedeno još jedno (treće) ASL merenje na kraju imidžing protokola. Ovo treće merenje u okviru jedne posete je izvedeno nakon per os unosa vode u količini od 10-20ml/kg TM, a zatim nakon pauze od oko 20 minuta, u cilju merenja efekta unosa vode na perfuziju bubrega. Pri per os davanju, ispitanici nisu menjali svoj položaj, već su unosili vodu uz pomoć slamčice iz posude adekvatne zapremine uz asistenciju ispitivača, da bi odgovarajuće regije bubrega bile uporedive u naknadnom postprocessing-u.

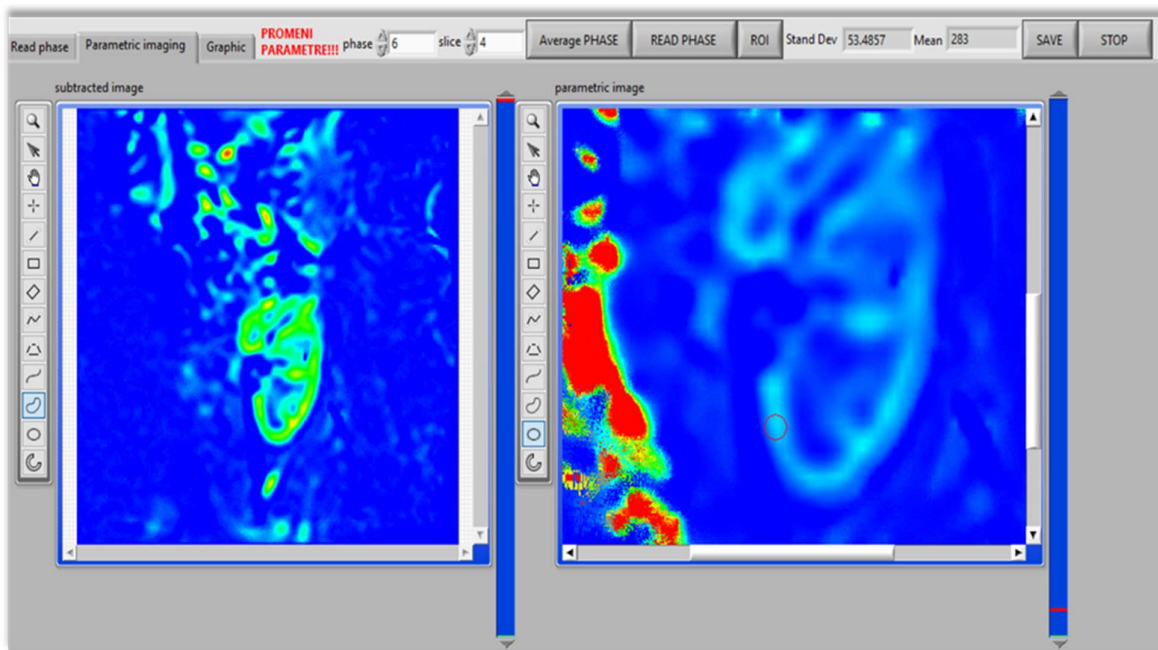
Ukupno 10 ispitanika (20 bubrega kao jedinica posmatranja) je došlo u drugu posetu koja je podrazumevala pauzu između studijskih dana od najmanje 24h, prilikom koje je ponovljen ceo standardizovan MRI protokol, u cilju evaluacije ponovljivosti ASL eksperimenta između dve posete.

3.5. OBRADA DOBIJENIH MRI PODATAKA

Za ASL-MRI parametarsku analizu, ciljano je razvijen softver za ovu priliku, koji se zasnivao na Labview environment version 2018 programu (National Instruments, Texas, Austin) i dopunskom NI Vision Development modulu. Ulazne slike za softver su bile obeležene i neobeležene slike iz ASL sekvence, kao i korespondirajući strukturni PDW. Sve slike su bile registrovane i kvalitativno analizirane u cilju eliminacije onih sa artefaktima usled pomeranja kod nesaradljivih ispitanika. Za piksel-po-piksel kvantifikaciju kortikalne perfuzije, korišćena je sledeća matematička formula:^{188,267-}

270

$$f = \frac{6000 \cdot \lambda \cdot \Delta M}{2 \cdot \alpha \cdot TI \cdot M_0} \cdot e^{\left| \frac{TI}{T_1} \right|}$$



Slika 3-7. Interfejs Labview environment version 2018 programa (National Instruments, Texas, Austin) i dopunskog NI Vision Development modula, nakon unosa i registracije odgovarajućih kontrolnih i obeleženih ASL slika i korespondirajućih PDW slika i nakon matematičke obrade po prikazanoj formuli- sa leve strane se prikazuje PWI slika koja predstavlja razliku signala kontrolne i obeležene ASL slike, dok je sa desne strane finalna parametarska mapa na kojoj se mogu birati regioni od interesa.

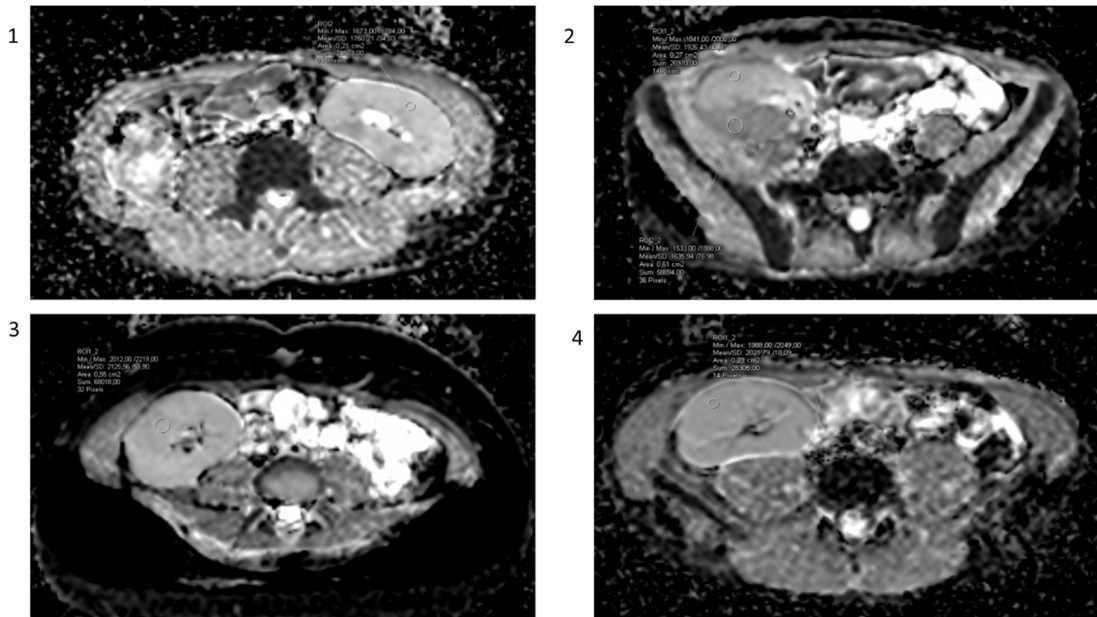
Matematičko izračunavanje u ovoj formuli se zasniva na razlici u longitudinalnoj magnetizaciji (ΔM) između obeleženih i neobeleženih slika u okviru ASL FAIR akvizicije. M_0 predstavlja tkivnu ekvilibrijumsku magnetizaciju po jedinici mase koja se dobija iz PDW sekvence. α predstavlja efikasnost obeležavanja za koju se pretpostavlja da nosi vrednost 1, f predstavlja stepen perfuzije kod kortikalnog bubrežnog protoka (cRBF) i λ predstavlja particioni koeficijent krvi – tkivnih molekula vode, za koji se pretpostavlja da je konstanta i iznosi 80 mL/100 g. Za regionalnu analizu perfuzije, bubrežni korteks je definisan na odgovarajućim perfuzijskim mapama u okviru navedenog softvera gde su se ručno konturisali regioni od interesa (ROI), a kao rezultat je dobijena automatski izračunata srednja vrednost sa standardnom devijacijom. Dopunski je računat i relativni perfuzijski signal (relative perfusion-weighted signal -PWS) za procenu kvaliteta dobijenih podataka i vrednosti su računane na osnovu sledeće formule:^{268,269}

$$PWS = \frac{\Delta M}{M_0} \cdot 100 (\%).$$

S obzirom da je korišćena 3D akvizicija u 8 preseka, kao rezultat je dobijeno 8 PWI/RBF mapa kod svakog ispitanika, a sve u cilju da se se izabere najbolji presek za finalnu kvantifikaciju. Kod svakog

ispitanika su mape sa značajnim artefaktima i šumom eliminisane (uglavnom su bile porekla prvog ili poslednjeg preseka i najčešće usled parcijalnog volumnog efekta sa okolnim strukturama). Srednji preseki (4-ti ili 5-ti) su se pokazali kao najreprezentativniji i najkvalitetniji kod svih ispitanika, a koji je konkretno bio izabran je zavisilo od preciznije pozicije akvizicionog volumena.

Za kvantifikaciju difuzije, analizirane su ADC mape na standardnim kliničkim radnim stanicama i ADC vrednosti su bile merene biranjem regiona od interesa (ROI) u bubrežnom korteksu ili meduli (po 3 ROI-a po korteksu i meduli po preseku) da bi se izračunala srednja vrednost (slika 3-8). Da bi se preciznije pozicionirao ROI, analizirana je kortiko-medularna diferencijacija na T1-weighted VIBE sekvenci i korišćena je 3D referentna prostorna tačka u okviru standardnog softverskog programa na radnoj stanici za preciznu navigaciju.



Slika 3-8. Primeri ADC mape kod četiri transplantirana pacijenta sa ručno izabranim ROI u odgovarajućim zonama korteksa.

3.6. STATISTIČKA ANALIZA

Celokupna statistička analiza je rađena korišćenjem programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 25.0, IBM, Chicago, IL).

Kod svih grupa ispitanika su rađeni osnovni deskriptivni parametri (distribucija po polu, prosečna starost/uzrast i body mass index- BMI), izračunata je prosečna vrednost laboratorijskih parametara (serumskog kreatinina, uree i GFR/eGFR), a kod transplantiranih pacijenta još i

distribucija po tipu osnovne bolesti koja je dovela do terminalne bubrežne insuficijencije, po tipu donora i pozicije alografta.

U grupi zdravih pacijenata koji su omogućili validaciju metode dobijene vrednosti kortikalne perfuzije (cRBF) i relativni perfuzijski signal (PWS) su poređeni između desnog i levog bubrega korišćenjem Pirsonovog koeficijenta korelacije, kao i t- testom za zavisni uzorak u cilju otkrivanja statistički značajne razlike. Cronbach-ov alfa koeficijent i ICC (Intraclass Correlation Coefficient) koeficijent za utvrđivanje ponovljivosti ASL merenja u okviru jedne i u okviru dve posete, kao i koeficijent varijacije (CV%). T test za zavisne uzorke je korišćen za utvrđivanje razlike u cRBF pre i nakon opterećenja vodom per os.

U grupi transplantiranih pacijenata, svi dijagnostički parametri su korelirani sa GFR vrednošću korišćenjem Pirsonovog koeficijenta korelacije. Binarna logistička regresija i ROC (Receiver Operating Characteristic) kriva su korišćene da procene dijagnostičku efikasnost cRBF, ADC, PS, ED i IR u diskriminaciji alografta sa oštećenom od alografta sa očuvanom funkcijom. Nakon podele pacijenata na odgovarajuće podgrupe u odnosu na vrednosti GFR, za analizu razlike u medijani vremena od transplantacije i u medijani uzrasta među podgrupama korišćen je Fišerov test tačne verovatnoće. T test za nezavisne uzorke sa Bonferroni korekcijom ($p=0.05$ /sa brojem testova) je služio da poredi razlike u srednjim vrednostima serumskog kreatinina, GFR, cRBF, PWS, ADC vrednosti, srednje vrednosti pik sistolnog (PS), end-dijastolnog (ED) protoka i indeksa rezistencije (IR). Kod svake analize u odnosu na broj izvršenih testova je definisana Bonferroni korekcija za graničnu p vrednost. Ponovljene identične analize su izvršene nakon drugog tipa podele pacijenata na osnovu tipa donora. Takođe je izračunavan Cronbachov alfa koeficijent i ICC koeficijent u cilju provere ponovljivosti ASL metode u okviru jedne posete i koeficijent varijacije (CV%).

U grupi zdravih uparenih kontrola takođe su poređene vrednosti svih izmerenih dijagnostičkih parametara između desnog i levog bubrega Pirsonovim koeficijentom korelacije i t-testom za zavistan uzorak. Poređenje je zatim vršeno između uparenih kontrola i alografta multiplim t-testovima za vezani uzorak za sve izmerene parametere, sa Bonferroni korekcijom gde je kod svake analize jasno definisana granična p vrednost u odnosu na primenjen broj testova.

4. REZULTATI

Studijsko ispitivanje je uspešno završeno kod svih ispitanika.

4.1. VALIDACIJA ASL METODE DOPUNSKOM GRUPOM ISPITANIKA

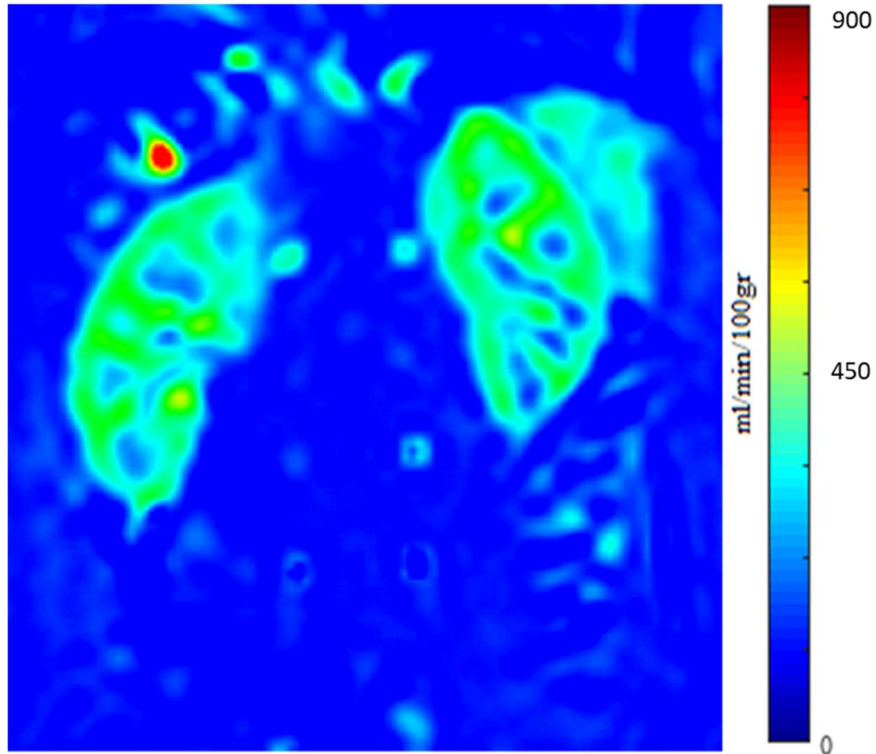
Populaciju ispitanika koji su inicijalno bili uključeni u istaživanje činilo je ukupno 23 zdrave individue, od kojih je 8 bilo muškog, a 15 ženskog pola. Prosečna starost je iznosila $36,56 \pm 15,02$ godine, uz prosečan body mass indeks (BMI) od $22,12 \pm 2,53 \text{ kg/m}^2$, serumski kreatinin (sCr) od $72,04 \pm 12,90 \mu\text{mol/l}$, ureu $4,45 \pm 1,71 \text{ mmol/l}$ i eGFR računat po MDRD formuli od $91,83 \pm 19,73 \text{ ml/min/1.73m}^2$. Svi pacijenti su bili normotenzivni, bez kardiovaskularnih i urološko-nefroloških oboljenja. Kod ove 23 individue je bilo ukupno 46 bubrega koji su bili jedinice posmatranja. U tabeli 4-1. su prikazane prosečne vrednosti sa standardnom devijacijom ASL perfuzije (cRBF) i perfuzijskog signala (PWS) odvojeno za desni i levi bubreg u celom uzorku.

Tabela 4-1. Prosečne vrednosti kortikalne bubrežne perfuzije i prosečni perfuzijski signal kod desnog i levog bubrega					
	N	Min.	Maks.	Srednja vrednost	Std.devijacija
cRBF DB	23	161.00	579.00	326.52	124.95
cRBF LB	23	151.00	467.00	312.83	100.59
PWS DB	23	3.60	13.00	7.32	2.81
PWS LB	23	3.40	10.50	7.08	2.27

*ASLcRBF- Arterial Spin Labeling cortical Renal Blood Flow; DB- Desni Bubrež; LB- Levi Bubrež;

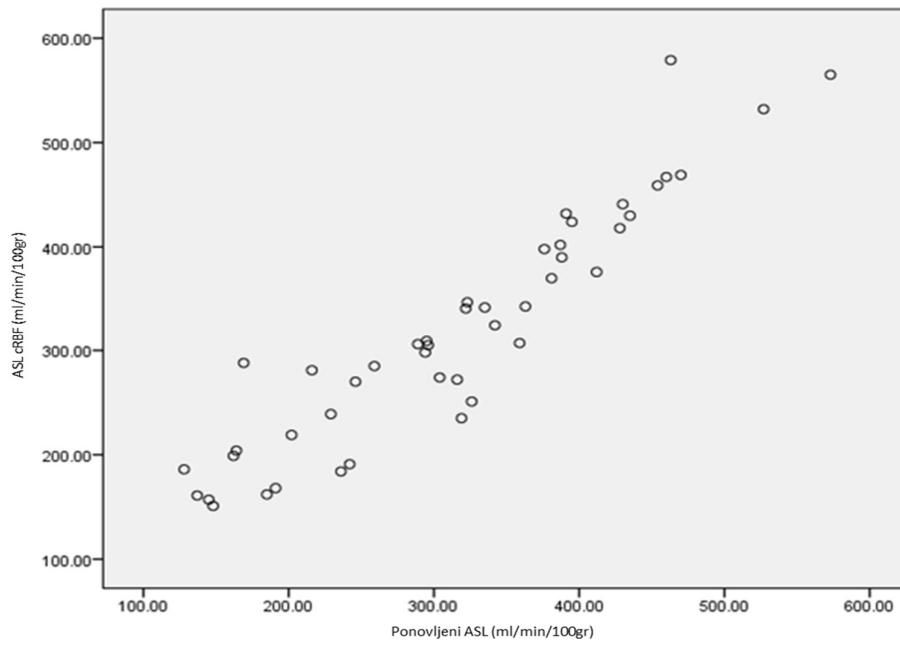
PWS- Perfusion Weighted Signal.

Pirsonov koeficijent korelacije za vrednost cRBF perfuzije između desnog i levog bubrega je iznosio $r=0.87$ uz visoko statistički značajnu pozitivnu korelaciju ($p<0.0001$), sa vrlo sličnim rezultatima prilikom analize PWS ($r=0.86$, $p<0.0001$). T testom za vezani uzorak nije dokazana statistički značajna razlika u vrednostima cRBF i PWS između desnog i levog bubrega (p vrednosti su iznosile redom $p=0.310$ i $p=0.429$). Svi ovi dobijeni rezultati su ukazivali da ne postoji razlika u izmerenim vrednostima oba parametara između desnog i levog bubrega. Ukupna prosečna vrednost perfuzije je iznosila $319.68 \pm 112.77 \text{ ml/100gr/min}$ bubrežnog tkiva, dok je prosečan perfuzijski signal iznosio $7.2 \pm 2.54\%$, što je takođe odgovaralo literaturi za ispitanike kod kojih je TI iznosilo 1200 ms .^{268,269}

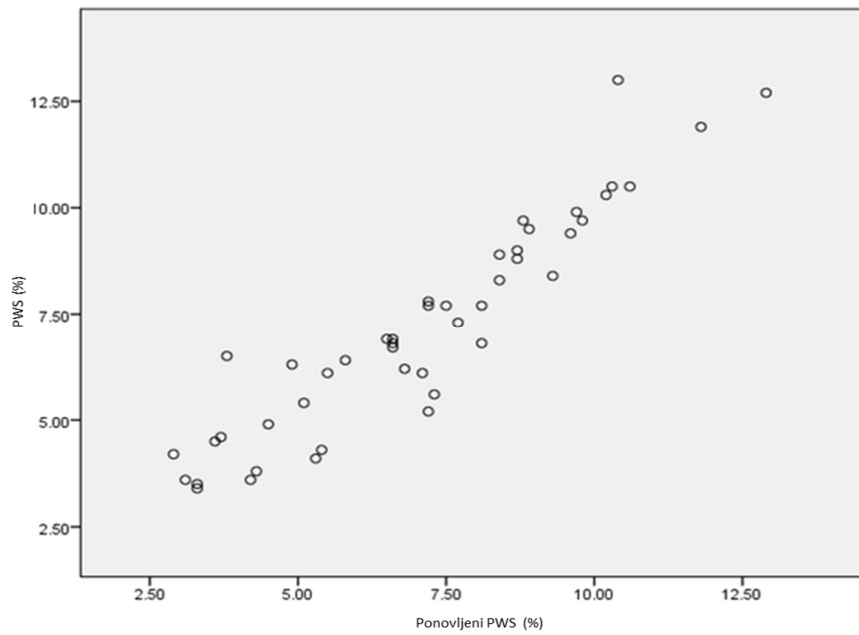


Slika 4-1. Primer kvantitativne perfuzijske mape zdravog ispitanika.

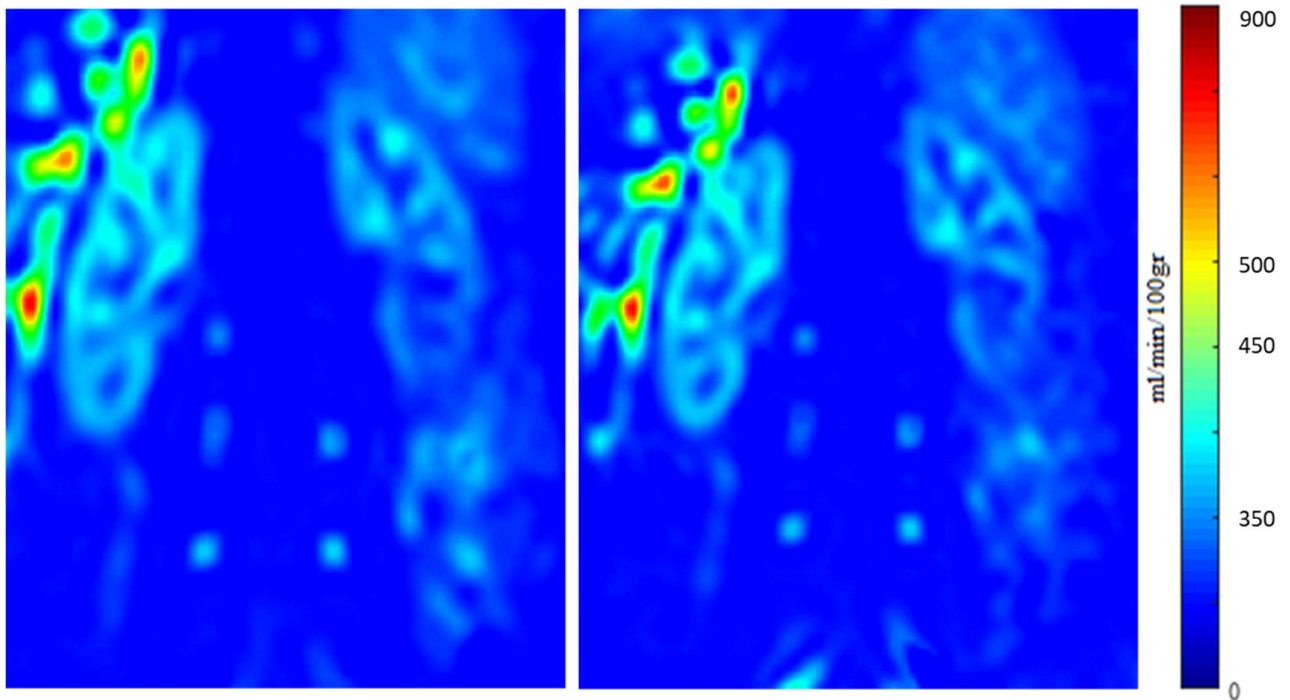
Kod svih ispitanika je u okviru jedne posete pod istim okolnostima ponovljena ASL sekvenca za procenu ponovljivosti metode u okviru iste posete. Cronbach-ov alfa koeficijent je iznosio 0.97 što je ukazivalo na izuzetnu konzistenciju podataka, uz ICC koeficijent korelacije koji je iznosio 0.94 (95%CI 0.89-0.97) i visoko statistički značajnu korelaciju ($p < 0.0001$), dok je prosečan koeficijent varijacije (CV) iznosio 6,2%. Takođe je perfuzijski signal u okviru jedne posete pokazivao odličnu konzistenciju kod svih ispitanika (Cronbach alfa je bio 0.97), uz ICC koeficijent od 0.94 (95%CI 0.89-0.96) i visoko statistički značajnu korelaciju ($p < 0.0001$), uz prosečan koeficijent varijacije (CV) od 6,3%. Korelacije ovih parametara su prikazane grafikonima 4-1 i 4-2.



Grafikon 4- 1. korelacija dva ASL merenja u okviru jedne posete

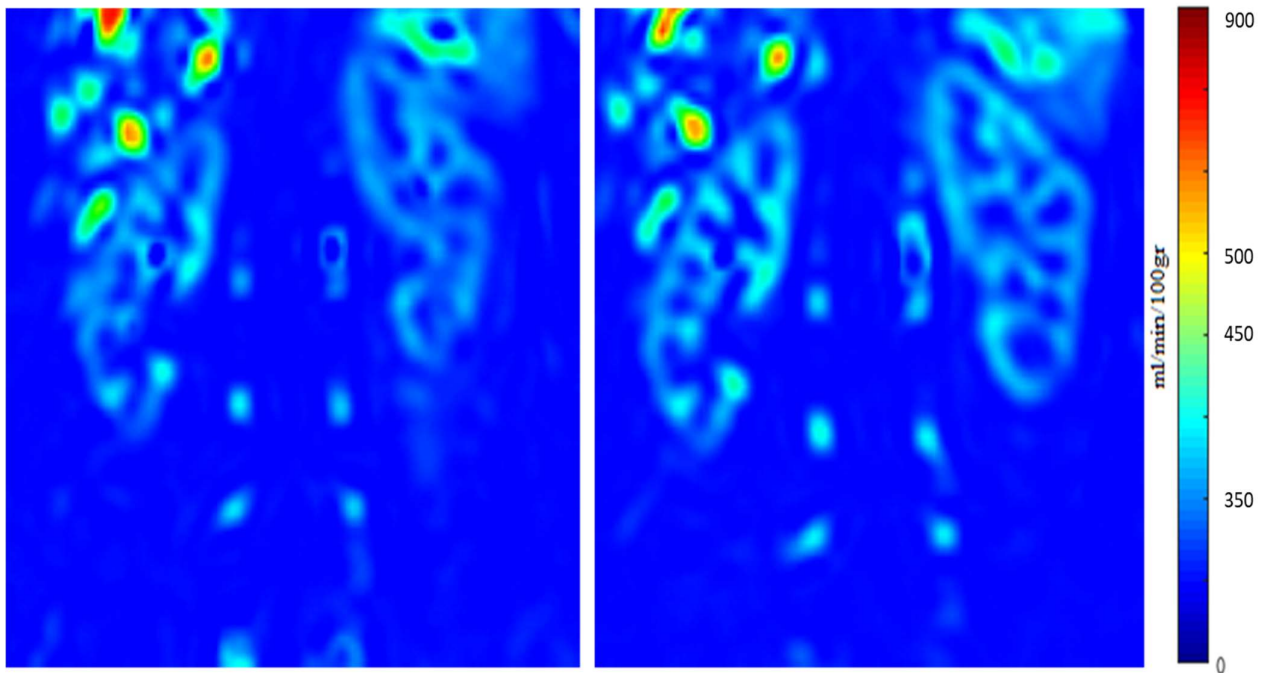


Grafikon 4-2. korelacija dva perfuzijska signala (PWS %) u okviru jedne posete



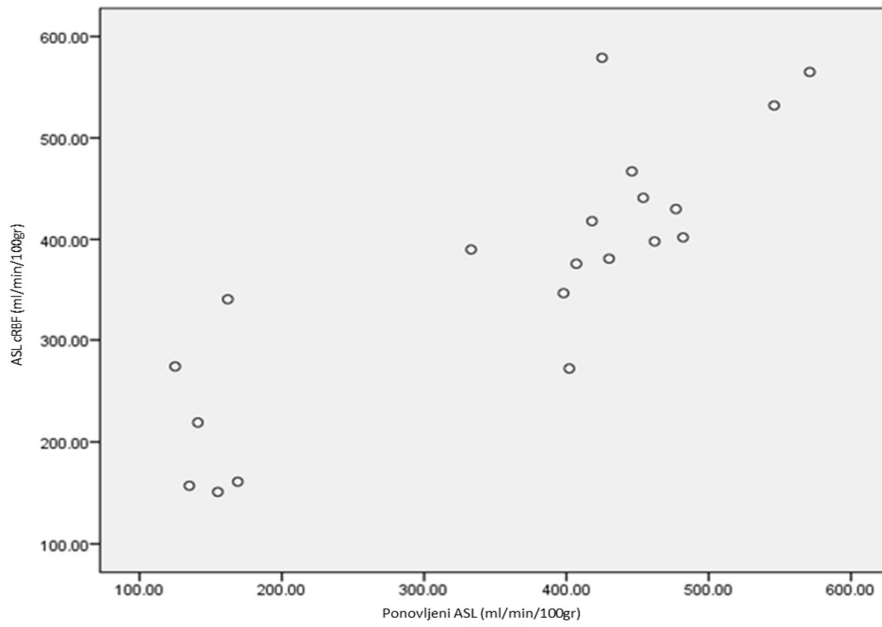
Slika 4-2. Uporedni prikaz perfuzijskih mapa zdravog ispitanika kod ponovljenih ASL merenja u okviru iste posete

Od ukupnog broja ispitanika, za procenu uticaja opterećenja vodom na perfuziju bubrega, 12 ispitanika je zatim u okviru jedne posete dobilo da popije 10-20ml/kg TM vode i nakon 20-30 minuta je ponovljeno ASL merenje. Prosečna vrednost kortikalne perfuzije kod ovih ispitanika pre uzimanja vode je iznosila $339,21 \pm 121,61$ ml/100gr/min tkiva, dok je nakon opterećenja vodom iznosila $387,58 \pm 161,6$ ml/100gr/min tkiva, uz visoko statistički značajnu pozitivnu korelaciju ($r=0.87$, $p<0.0001$): Postojala je visoko statistički značajna razlika postojala između ovih vrednosti merena t testom za vezani uzorak ($p=0.008$), koja je ukazivala da opterećenje vodom dovodi do porasta u kortikalnoj perfuziji bubrega.

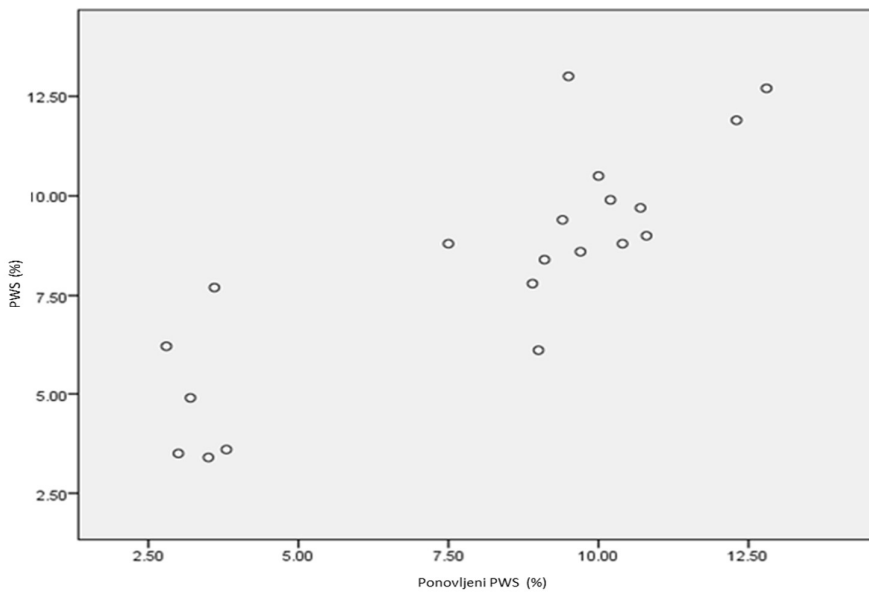


Slika 4-3. Uporedni prikaz kvantitativnih perfuzijskih mapa kod jednog zdravog volontera pre (mapa sa leve strane) i nakon primene vode per os (mapa sa desne strane).

Za ponovljenu posetu je komplijansu pokazalo 10 zdravih ispitanika, pri čemu je razmak između dve posete bio minimum 24h. Ovaj studijski dan se odvijao pod istim okolnostima i rađena je samo MRI akvizicija, bez uzrokovanja krvi. S obzirom da je bilo 10 ispitanika, bilo je ukupno 20 jedinica posmatranja (bubrega). Ponovo je Cronbach-ov alfa koeficijent pokazao izuzetnu konzistenciju podataka kod ponovljene posete za ASL perfuziju i iznosio je 0.92, uz ICC koeficijent korelacije koji je iznosio 0.86 (95%CI 0.68-0.94) i visoko statistički značajnu korelaciju ($p < 0.0001$), dok je koeficijent varijacije (CV) iznosio 13,4%. Takođe je perfuzijski signal (PWS) u okviru ponovljene posete pokazivao odličnu konzistenciju kod svih ispitanika (Cronbach alfa je bio 0.92), uz ICC koeficijent od 0.86 (95%CI 0.67-0.94) i visoko statistički značajnu korelaciju ($p < 0.0001$) i koeficijent varijacije (CV) od 13,4%. Korelacije ovih parametara su prikazane grafikonima 4-3. i 4-4.



Grafikon 4-3. korelacija dva ASL merenja kod prve i ponovljene posete



Grafikon 4-4. korelacija dva perfuzijska signala (PWS %) kod prve i ponovljene posete

4.2. TRANSPLANTIRANI PACIJENTI

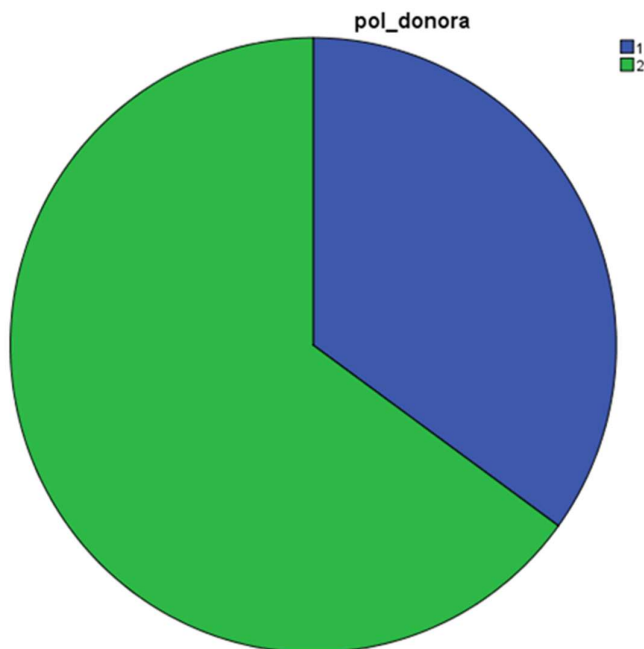
Nakon pažljive i temeljne kliničke trijaže u grupu ispitanika sa bubrežnim alograftom je bilo uključeno ukupno 20 pacijenata Univerzitetske dečije klinike u Beogradu koji su pregledani od Novembra 2018 do novembra 2021 godine. Distribucija učesnika po polu je prikazana u tabeli 4-2.

Tabela 4-2.Distribucija pacijenata sa alograftom po polu

	Učestalost	Procenti	Validni procenti	Kumulativni procenti
Muški pol	10	50.0	50.0	50.0
Ženski pol	10	50.0	50.0	100.0
Ukupno	20	100.0	100.0	

Medijana uzrasta ispitanika je iznosila 15.5 godina, sa minimumom od 5 i maksimumom od 28 godina. Pacijent od 28 godina, dugogodišnji pacijent naše bolnice, je bio uključen u uzorak nakon detaljne kliničke analize koja je ukazivala da je primarna bubrežna bolest koja je dovela do terminalne bubrežne insuficijencije u velikoj meri uticala na njegov fizički i mentalni rast i razvoj koji se i manifestovao kroz izraženo zaostajanje u skeletnom sazrevanju do trenutka transplantacije u njegovom ranom adultnom dobu. Prikupljeni podaci od značaja za studiju kod ovog pacijenta nisu pokazali značajna odstupanja od uzorka.

Prosečan Body mass index (BMI) je iznosio $21.91 \pm 5.58 \text{ kg/m}^2$. Kada su u pitanju primarna bubrežna oboljenja koja su dovela do terminalne bubrežne insuficijencije, kod 7 pacijenata je to bio CAKUT (Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract), kod 6 nefronoftiza, kod 5 je razlog bio nefrotski sindrom od kojih su 3 pacijenta sa kongenitalnim tipom, kod jednog je vaskulitis, a kod jednog bilateralni Wilmsov tumor. Jedanaest pacijenata je dobilo bubreg od živog srodnika (55%), dok je 9 imalo kadaverični transplantat (45%). Medijana starosti donora u trenutku transplantacije je iznosila 36.5 godina. Kada je u pitanju pol donora, 14 su činile žene (70%), a 6 muškarci (30%) Distribucija učestalosti donora po polu je prikazana grafikonom 4-5.



Grafikon 4-5. Distribucija donora po polu; 1- donori muškog pola, 2- donori ženskog pola

Većini pacijenata je intraoperativno graft položen u desnu ilijačnu ložu (kod 12 ispitanika- 60%), dok je kod 4 ispitanika bio desno nisko lumbalno ka ilijačnoj regiji (20%), a kod 4 levo i lijačno (20%). Medijana vremena od transplantacije do studijskog dana je iznosila 74 meseca sa rasponom intervala od 1 do 187 meseci. Demografske i kliničke karakteristike pacijenata su predstavljene za svakog pojedinačno u tabeli 4-3.

Prosečna zapremina alografta (u mm³), vrednosti serumskog kreatinina (sCr), uree, klirensa kreatinina, odnosno izračunate glomerulske filtracije (GFR), zatim procenjene filtracije (eGFR), u celokupnom uzorku transplantiranih pacijenata su predstavljene tabelom broj 4-4. Nije pronađena statistički značajna korelacija između zapremine bubrega i GFR ($r=0.4$, $p=0.708$), odnosno zapremine bubrega i nivoa serumskog kreatinina ($r=0.15$, $p=0.518$). Takođe nije pronađena statistički značajna korelacija u BMI pacijenta i GFR, iako je veza između dva parametra recipročna, a razlika granična ($r= -0.44$, $p=0.053$). Kada je u pitanju stepen glomerulske filtracije, poređenjem srednje vrednosti koja predstavlja klirens kreatinina, odnosno izračunatu glomerulsku filtraciju (GFR) i srednje vrednosti procenjene glomerulske filtracije (eGFR) nije dobijena statistički značajna korelacija između ove dve vrednosti ($r=0.43$, $p=0.06$), što ukazuje da kod transplantiranih pacijenata eGFR odstupa od izračunatog klirensa.

Tabela 4-3. Demografske i kliničke karakteristike transplantiiranih pacijenata uključenih u studiju

Pacijent Broj	Pol	Uzrast (godine)	BMI (kg/m ²)	Vreme Od Tx (meseći)	Tip Donora	Primarna Bolest	HTA	Zapremina Alografta (mm ³)	sCr (μmol/L)	GFR (mL/min/1.73m ²)	eGFR po MDRD (ml/min/1.73 m ²)
1	M	5	17.72	1	ŽSD	CAKUT	Ne	105,75	73	55.56	157,4
2	Ž	18	17.8	13	KD	CAKUT	Ne	139,48	119	46.25	51,2
3	Ž	17	19.04	1	KD	CAKUT	Ne	163,68	69	66.82	96,1
4	Ž	19	25.56	66	KD	Nephronophthisis	Da	131,18	107	76.46	57,3
5	M	19	25.4	1	ŽSD	Nephronophthisis	Ne	120	144	36.23	54,8
6	M	28	20.2	83	KD	Nefrotski sindrom	Da	136,08	108	65.25	70,1
7	M	15	19.6	4	KD	Nephronophthisis	Da	159,39	146	77.67	73,4
8	M	15	28.27	45	ŽSD	CAKUT	Da	187,5	93	59.1	95,3
9	Ž	20	20.04	187	ŽSD	Nephronophthisis	Da	153,09	102	50.99	59,9
10	Ž	16	21.8	79	KD	Wilms tumor	Ne	203	90	64	55,9
11	Ž	9	15.68	82	ŽSD	Kongenitalni nefrotski sindrom	Da	110,16	81	72.85	91,9
12	Ž	13	23.32	108	ŽSD	Kongenitalni nefrotski sindrom	Ne	138,85	117	57.09	55,8
13	M	13	16.55	112	ŽSD	Kongenitalni nefrotski sindrom	Da	163,8	86	80.27	107,3
14	M	13	22.02	73	ŽSD	Nephronophthisis	Da	133,12	81	58.03	115
15	Ž	13	37.29	75	ŽSD	Nephronophthisis	Da	78,66	108	32.08	61,2
16	M	14	18.67	12	KD	CAKUT	Ne	126,36	68	93.39	138,6
17	M	19	21.63	161	ŽSD	CAKUT	Da	250,26	171	66.06	58,1
18	M	21	32.98	109	KD	CAKUT	Da	94,77	206	41.58	35,5
19	Ž	16	23,6	50	KD	Vaskulitis	Da	110,94	98	63.06	65,7
20	Ž	10	20,93	108	ŽSD	Nefrotski sindrom	Ne	168,87	90	73,04	79,7

M: muški pol; Ž: ženski pol; BMI: body mass index; HTA: hipertenzija; sCr: serumski kreatinin GFR: stepen glomerulske filtracije; ASL: arterial spin labelling perfusion; CAKUT: congenital anomalies of the kidney and urinary tract; KD: kadaverični donor; ŽSD: živi srodni donor

Tabela 4-4. Prosečne vrednosti laboratorijskih parametara u uzorku pacijenata sa alograftom

	Broj Ispitani ka	Minimal na Vrednost	Maksimal na Vrednost	Srednja vrednost	Standardna Devijacija
Zapremina bubrega (mm ³)	20	78.66	250.26	143.75	39.77
sCr (μmol/L)	20	68	206	107.85	35.40
Urea (mmol/L)	20	4.4	14.3	8.34	3.06
GFR (ml/min/1.73m ²)	20	32.08	93.39	61.79	15.40
eGFR po MDRD (ml/min/1.73m ²)	20	35.50	157.40	79.01	31.39

*sCr: serumski kreatinin; GFR: stepen glomerulske filtracije; eGFR procenjeni stepen glomerulske filtracije.

Kod svih ispitanika ASL metodom dobijene perfuzijske mape su bile dobrog kvaliteta. S obzirom da je bubrežni alograft bio nisko položen, bilo lumbalno ka ilijačnoj regiji, bilo ilijačno u maloj karlici, respiratorni pokreti nisu mnogo ili uopšte uticali na njegovu poziciju tokom MRI akvizicije.¹⁸⁸ Peristaltika susednih crevnih vijuga je bila moguć izvor artefakata usled pomeranja, što je prevaziđeno odgovarajućom pripremom pacijenata- dolazili su rano ujutru našte minimum 8 h. Za odgovarajuću procenu kvaliteta dobijenih perfuzijskih mapa, relativni perfuzijski signal (PWS-perfusion weighted signal u %) je izračunat i iznosio je 4.18±1.49%. S obzirom da su dobijeni 3D podaci, kortikalna perfuzija (cRBF) celog bubrega zbirno na svim presecima je poređena sa cRBF u centralnom, najreprezentativnijem preseku (4. ili 5. od ukupno 8) pri čemu su dobijeni prosečni rezultati iznosili 182±69.29ml/100gr/min tkiva zbirno u odnosu na centralni presek gde je perfuzija u proseku iznosila 190.05±67.62 ml/100gr/min tkiva. Upoređivanjem ove dve vrednosti, dokazano je da ne postoji statistički značajna razlika u izabranoj metodi za kvantifikaciju (t= 0.986; p=0.337), uz postojanje visoko statistički značajne korelacije između ove dve metode (r=0.86, p<0.001). Identični rezultati su dobijeni i za prosečan relativni perfuzijski signal koji je iznosio 4±1.52% zbirno na svim mapama i 4.18±1.49% u najreprezentativnijem preseku, bez statistički razlike (t=0.998, p=0.331), uz visoko statistički značajnu korelaciju (r=0.85, p<0.001). Prosečne vrednosti parametara merenih na magnetnoj rezonanci su predstavljeni tabelom 4-5.

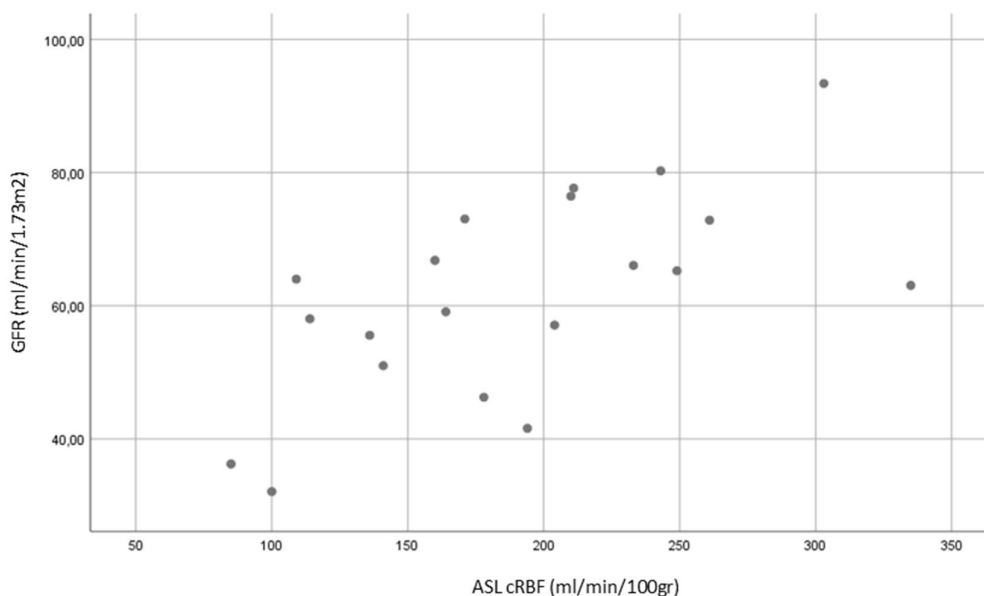
Tabela 4-5. Prosečne vrednosti MRI parametara

MRI parametri	Ispitanici	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Prosečna vrednost	Standardna devijacija
cRBF (ml/100gr/min)	20	85	335	190.05	67.62
PWS (%)	20	1.9	7.4	4.18	1.49
ADC korteks (x10⁻³mm²/s)	19	1.59	2.32	1.94	0.17
ADC medulla (x10⁻³mm²/s)	19	1.68	2.07	1.84	0.12

* cRBF: cortical Renal Blood Flow; PWS: Perfusion Weighted Signal; ADC: Apparent Diffusion Coefficient

Analizom izmerenih prosečnih vrednosti ADC koeficijenta korteksa i medule nije pronađena statistički značajna korelacija sa vrednostima GFR (korteks $r=0.19$, $p=0.436$, medulla $r= -0.03$, $p=0.893$).

Kada je u pitanju korelacija ASL metodom izračunate kortikalne perfuzije (cRBF), dokazana je visoko statistički značajna pozitivna korelacija sa GFR u celom uzorku ($r=0.64$, $p=0.002$). Korelacija ova dva parametra je prikazana dijagramom rasturanja (grafikon 4-6).



Grafikon 4-6. Dijagram rasturanja koji reprezentuje korelaciju vrednosti kortikalne perfuzije (cRBF) izračunate ASL metodom

Korišćenjem standardnih ultrazvučnih metoda za procenu funkcije alografta- kvantifikacija indeksa rezistencije (IR), pik-sistolnog (PS) i end-dijastolnog protoka (ED) pulsni doplerom, dobijene su

prosečne vrednosti koje su predstavljene tabelom 4-6. Nije dokazana statistički značajna korelacija koja bi mogla da ukazuje na kvalitet GFR (IR $r=0.16$, $p=0.492$; PS $r=0.41$, $p=0.07$; ED $r=0.32$, $p=0.168$).

Tabela 4-6. Ultrazvučni parametri dobijeni pulsnom dopler kvantifikacijom

Ultrazvučni parameter	Broj ispitanika	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednost	Srednja vrednost	Standardna devijacija
IR	20	0.43	0.73	0.63	0.08
PS cm/s	20	12.20	29.10	20.20	4.57
ED cm/s	20	3.90	11.80	7.52	1.98

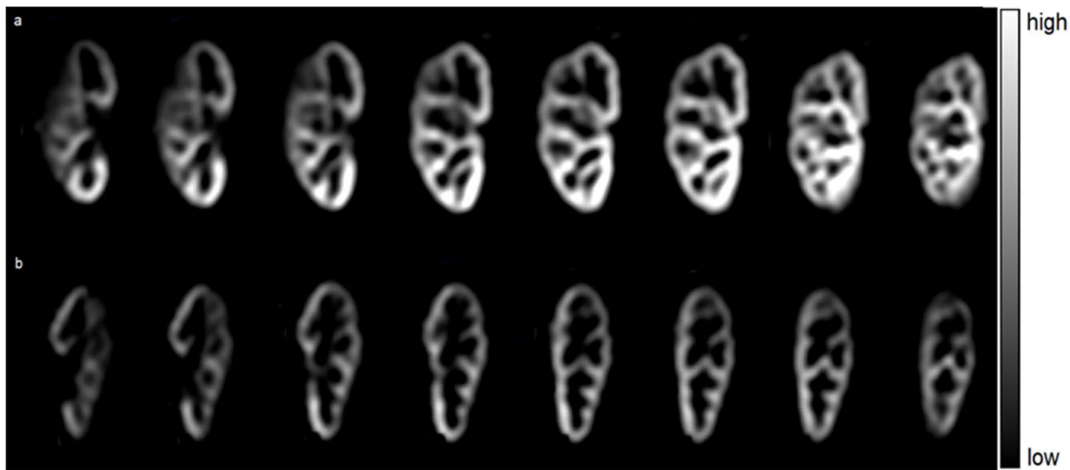
U grupi pacijenata je takođe proveravana ponovljivost eksperimenta, ali samo u okviru jedne posete, pri čemu je na izuzetnu konistenciju podataka ukazivao Cronbach-ov alfa koeficijent koji je iznosio 0.98, ICC koeficijent 0.97 (95% CI 0.91-0.99) i za cRBF i PWS, uz visoko statistički značajnu korelaciju (za oba je $r=0.97$ i $p<0.0001$) i bez statistički značajne razlike između dva nezavisna merenja u okviru posete (t-test cRBF= -0.797, $p=0.438$ i t-test PWS= -0.960, $p=0.352$). Koeficijent varijacije (CV) za cRBF je iznosio 5,7%, a za PWS 5,8%.

Transplantirani pacijenti su zatim podeljeni u dve grupe na osnovu vrednosti GFR u odnosu na literaturno definisanu granicu za stabilnu bubrežnu funkciju- u grupu sa oštećenom bubrežnom funkcijom ($GFR<60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$) gde je bilo ukupno 9 pacijenata i u grupu sa očuvanom bubrežnom funkcijom ($GFR\geq 60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$) gde je bilo 11 pacijenata. Medijana uzrasta u grupi sa oštećenom funkcijom je iznosila 15 godina, a u grupi sa očuvanom 16 godina, bez statistički značajne razlike u odnosu na medijanu uzorka (Fišerov test tačne verovatnoće $p=1.000$). Medijana vremena do transplantacije u prvoj grupi je iznosila 73 meseca, a u drugoj 79, bez statistički značajne razlike u odnosu na medijanu uzorka (Fišerov test tačne verovatnoće $p=1.000$). Nije primećena razlika u tipu donora po grupama, (živi srodnik ili kadaverični donor, Fišerov test tačne verovatnoće je iznosio $p=0.09$). Dvanaest pacijenata ukupno u celom uzorku je imalo dobro kontrolisanu hipertenziju uz pomoć dva ili više antihipertenzivnih lekova (5 iz grupe I i 7 iz grupe II, od kojih 2 iz grupe I i 3 iz grupe II primaju ACE inhibitore, bez jasnog prikaza obrasca koji utiče na vrednosti GFR). Prosečne vrednosti laboratorijskih, MRI i doppler parametara po grupama su predstavljene tabelom broj 4-7. Subtrahovane PWI (razlika kontrolne i obeležene slike) po svim prikupljenim presecima (ukupno 8 po pacijentu) za jasniji prikaz razlika između dva reprezentativna pacijenta koji pripadaju različitim grupama ($GFR \geq$ ili $< 60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$) su predstavljene slikom br 4-4.

Tabela 4-7. Prosečne vrednosti GFR, MRI i dopler parametara po grupama transplantiranih pacijenata

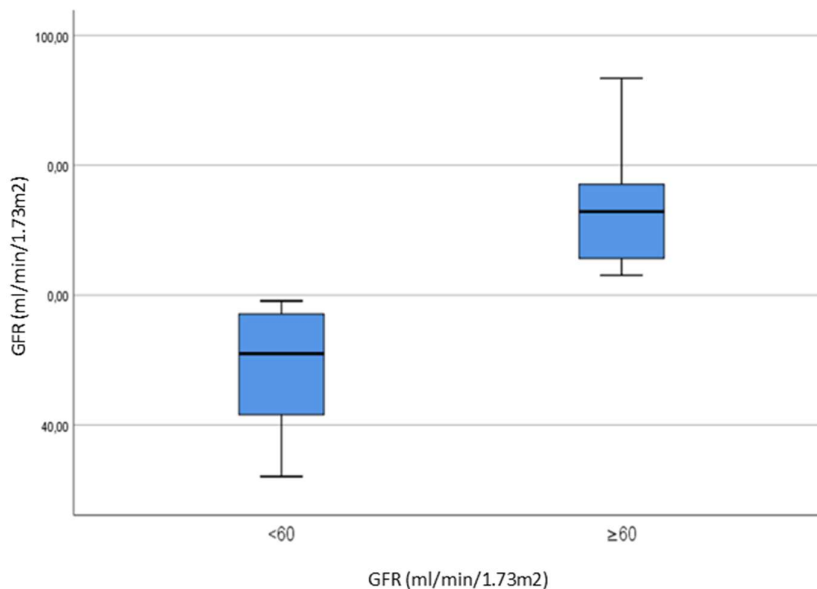
	grupeTx	N	Srednja vrednost	Standardna devijacija	Statistička značajnost (p vrednost)		
sCr	<60	9	115.89	39.93	0.372		
	≥60	11	101.27	31.62			
GFR ml/min/1.73m ²	<60	9	48.54	10.04	0.000		
	≥60	11	72.62	9.09			
cRBF ml/100gr/min	<60	9	146.22	41.84	0.005		
	≥60	11	225.91	64.38			
PWS %	<60	11	3.211	.9239	0.005	41.84	
	≥60	9	4.964	1.4229		64.38	
ADC korteks x10-3mm ² /s	<60	8	1.92	0.17	0.592		
	≥60	11	1.96	0.16			
ADC medulla x10-3mm ² /s	<60	8	1.88	0.15	0.372		
	≥60	11	1.82	0.11			
IR	<60	9	0.62	0.12	0.864		
	≥60	11	0.63	0.04			
PS cm/s	<60	9	18.32	3.92	0.097		
	≥60	11	21.74	4.65			
ED cm/s	<60	9	6.73	2.04	0.108		
	≥60	11	8.17	1.77			

*statistička značajnost kod multiplih t testova uz Bonferroni korekciju na nivou p<0.006

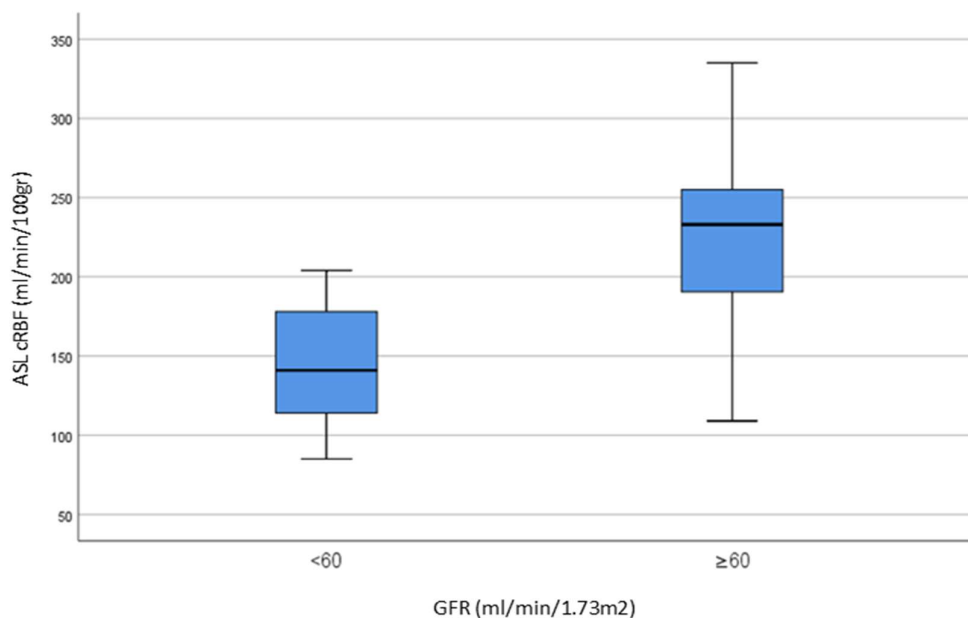


Slika 4-4. PWI (subtrahovane) slike u monohromatskoj tehnici za bolji kontrastni prikaz razlike signala kod dva transplantirana pacijenta u redu a. sa očuvanom funkcijom alografta ($GFR \geq 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$) i u redu b. sa oštećenom funkcijom ($GFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$), uz prikaz sive skale koja označava intenzitet ASL signala u svakom od piksela (Radovic T et al. 2022) ²⁷¹

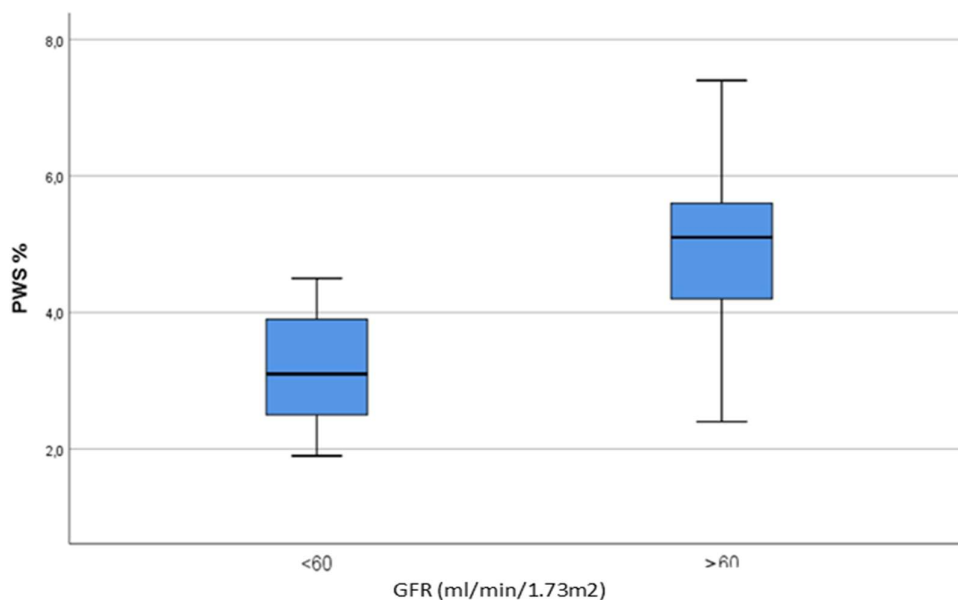
Poređenjem ovih parametara među grupama višestrukim t testovima za nezavisne uzorke, uz odgovarajuću Bonferroni korekciju (statistička značajnost u ovom slučaju kada je $p < 0.006$), dobijene su visoko statistički značajne razlike u vrednostima izračunate glomerulske filtracije (GFR; $p < 0.0001$), kortikalne renalne perfuzije (cRBF; $p = 0.005$) i relativog perfuzijskog signala (PWS; $p = 0.005$). Ove statistički značajne razlike su grafički prikazane box-plot-om u grafikonima 4-7, 4-8 i 4-9.



Grafikon 4-7. Box-plot grafički prikaz razlike u srednjim vrednostima GFR po grupama transplantiranih pacijenata u odnosu na definisanu graničnu vrednost (srednja vrednost u grupi $< 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ iznosi $48.54 \pm 10.04 \text{ ml/min/1.73m}^2$, a u grupi ≥ 60 iznosi $72.62 \pm 9.09 \text{ ml/min/1.73m}^2$; $p < 0.0001$)

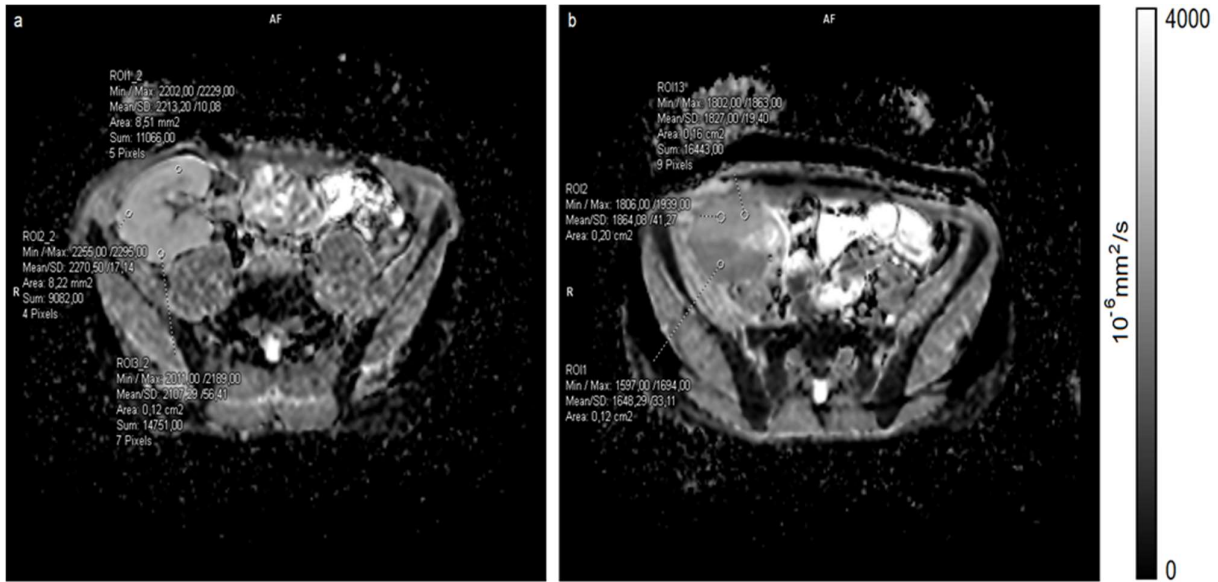


Grafikon 4-8. Box-plot grafički prikaz razlike u srednjim vrednostima kortikalne perfuzije (c>RBF ml/min/100gr tkiva) po grupama transplantiranih pacijenata u odnosu na definisanu graničnu vrednost (srednja vrednost u grupi <60ml/min/1.73m² iznosi 146.22 ± 41.84ml/min/100gr, a u grupi ≥60 iznosi 225.91 ± 64.38ml/min/100gr; p<0.008)

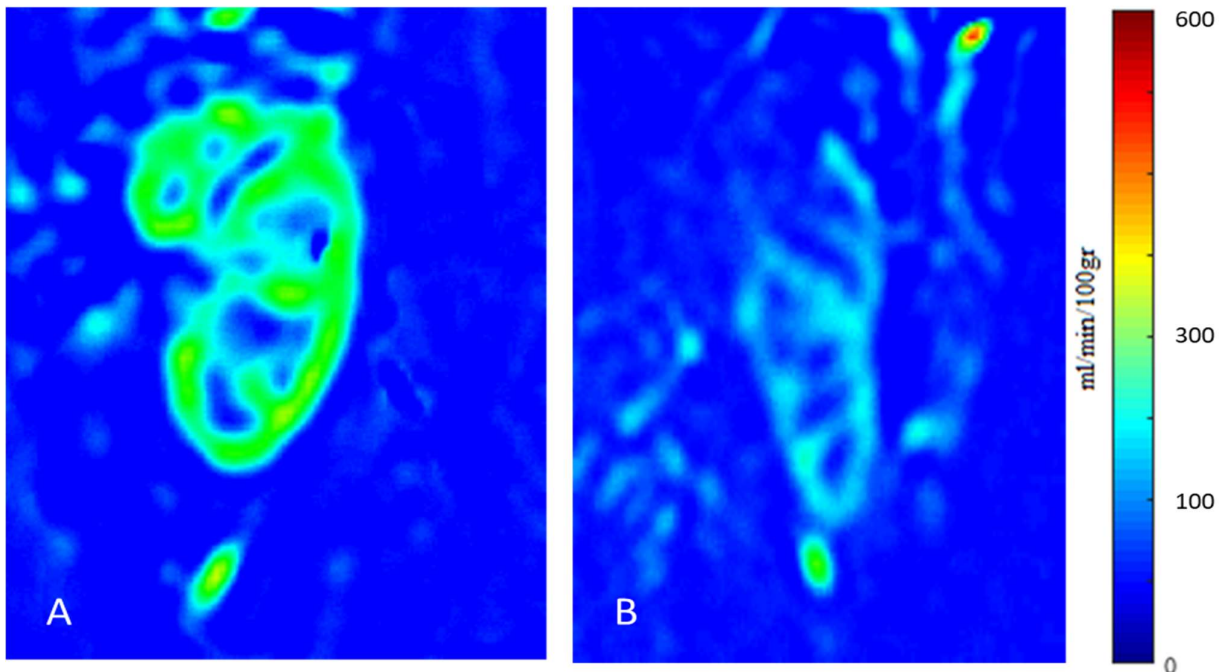


Grafikon 4-9. Box-plot grafički prikaz razlike u relativnom perfuzijskom signalu (PWS%) po grupama transplantiranih pacijenata u odnosu na definisanu graničnu vrednost (srednja vrednost u grupi <60ml/min/1.73m² iznosi 3.21± 0.92%, a u grupi ≥60 iznosi 4.96 ± 1.42%; p<0.008).

Ostali izmereni parametri- serumski kreatinin i urea, ADC koeficijenti u korteksu i meduli i doppler parametri nisu pokazali statistički značajnu razliku između grupa pacijenata sa alograftom koji imaju oštećenu i stabilnu bubrežnu funkciju.



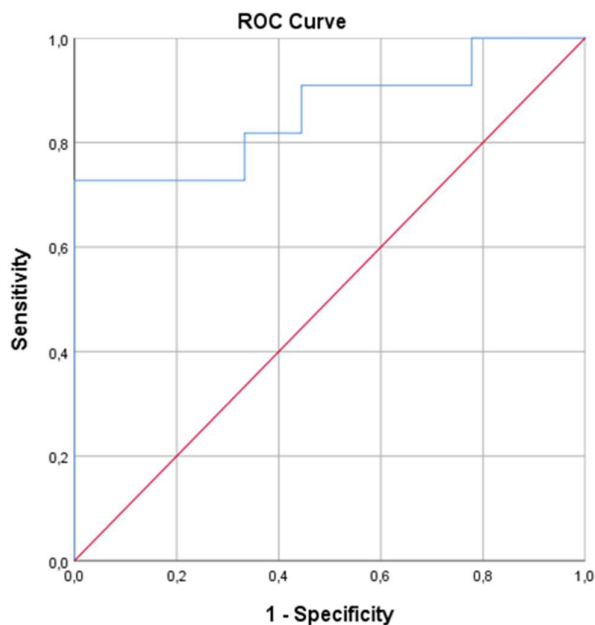
Slika 4-5. Aksijalne ADC mape sa reprezentativnim kružnim regionima od interesa (ROI) plasiranim u bubrežni korteks **a)** kod pacijenta sa $GFR \geq 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ i **b)** pacijenta sa $GFR < 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ (primećuje se razlika u vrednostima ADC u anteriornom i posteriornom aspektu bubrega, sa umerenom restrikcijom difuzije u posteriornom aspektu koja je nastala kao posledica intraoperativnog vaskularnog incidenta) (Radovic T et al. 2022) ²⁷¹



Slika 4-6. Kvantitativne perfuzijske mape dva reprezentativna pacijenta sa alograftom A. iz grupe gde je $GFR \geq 60 \text{ mL/min/100gr}$ i B. iz grupe gde je $GFR < 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$

Binarnom logističkom regresijom su analizirani svi dijagnostički parametri (cRBF, DWI, IR, PS, ED) koji bi mogli služiti kao prediktori da li kod pacijenta sa alograftom možemo pretpostaviti,

odnosno predvideti pre merenja GFR da ima stabilnu funkciju (odnosno $GFR \geq 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$) ili oštećenu funkciju ($GFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$). Na ovaj način je utvrđeno da samo cRBF služi kao statistički značajan diskriminator ($p < 0.05$) alografta sa dobrom od alografta sa oštećenom funkcijom, sa visokim poljem ispod krive (area under the curve $AUC = 0.859$, $p = 0.007$) sa senzitivnošću od 81.8% i specifičnošću od 66,7% za granično postavljenu cRBF vrednost od 167,5ml/min/100gr tkiva predstavljene ROC krivom (grafikon 4-10).



Grafikon 4-10. ROC kriva kortikalne perfuzije (cRBF) merene ASL-MRI tehnikom za diskriminaciju alografta sa očuvanom od alografta sa oštećenom funkcijom.

Kada je u pitanju ispitivanje uticaja tipa donora (da li je u pitanju živi srodnik ili kadaver), celokupni uzorak transplantiranih pacijenata je sada drugačije podeljen u dve grupe, od kojih su prvu sačinjavali pacijenti koji su bubreg dobili od živog srodnika, a drugu čiji je donor bio kadaver. Ponovljene su sve prethodne analize i rezultati su predstavljeni tabelom 4-9.

Tabela 4-9. Prosečne vrednosti laboratorijskih, MRI i dopler parametara po grupama transplantiranih pacijenata po tipu donora (ŽSD- živi srodni donor, KD- kadaverični donor)

	Tip donora	N	Srednja vrednost	Standardna devijacija	Standardna greška	Statistička značajnost (p vrednost)
SCr	ŽSD	11	104.18	29.90	9.01	0.622
	KD	9	112.33	42.64	14.21	
Urea	ŽSD	11	8.91	3.47	1.04	0.372
	KD	9	7.64	2.50	0.83	
GFR ml/min/1.73m ²	ŽSD	11	58.30	14.86	4.48	0.274
	KD	9	66.05	15.80	5.26	
ASL cRBF ml/min/100gr	ŽSD	11	168.36	60.00	18.09	0.115
	KD	9	216.56	70.17	23.39	
ADC korteks x10-3mm ² /s	ŽSD	10	1.97	0.22	0.07	0.457
	KD	9	1.91	0.12	0.04	
ADC medulla x10-3mm ² /s	ŽSD	10	1.89	0.14	0.04	0.076
	KD	9	1.79	0.07	0.02	
IR	ŽSD	11	0.63	0.09	0.03	0.823
	KD	9	0.62	0.07	0.02	
PS cm/s	ŽSD	11	19.70	4.42	1.33	0.602
	KD	9	20.81	4.94	1.65	
ED cm/s	ŽSD	11	7.21	1.86	0.56	0.446
	KD	11	7.91	2.18	0.73	

*Statistička značajnost razlike za multiple t testove sa Bonferroni korekcijom je na nivou $p < 0.006$.

Nijedan parameter nije pokazao statistički značajnu razliku između grupa po tipu donora, što ukazuje da u našem uzorku pacijenata bez akutizacije, tip donora nije imao presudan uticaj za održanje funkcije.

4.3. ZDRAVE KONTROLE I UPOREĐIVANJE DVE GRUPE

Kada su u pitanju zdravi ispitanici iz kontrolne grupe koji su individualno upareni sa transplantiranim pacijentima po polu i starosti u odnosu na donora bubrega i sa normalnim BMI, uključeno je bilo ukupno 20 ispitanika. Bilo je 6 ispitanika muškog (30%) i 14 ispitanika ženskog pola (70%). Medijana starosti je iznosila 45,5 godina, a prosečan body mass indeks je iznosio $23,06 \pm 3,07 \text{ kg/m}^2$, nivo serumskog kreatinina $73,95 \pm 20,60 \mu\text{mol/L}$, uree $4,69 \pm 2,01 \text{ mmol/l}$ i eGFR $84,64 \pm 18,99 \text{ ml/min/1.73m}^2$. Kod svih zdravih ispitanika su mereni svi MRI i dopler parametri po istom principu kao kod transplantiranih pacijenata i dobijene prosečne vrednosti su odvojeno prikazane u tabeli 4-10. za desni i levi bubreg.

Kod svih posmatranih parametara nije dokazana statistička značajnost razlike u funkciji desnog u odnosu na levi bubreg. Bila je visoko statistički značajna pozitivna korelacija perfuzije korteksa desnog i levog bubrega- cRBF ($r=0.86$, $p<0.0001$), PWS ($r=0.87$, $p<0.0001$), umerena korelacija ADC vrednosti korteksa ($r=0.58$, $p=0.008$) i medule ($r=0.69$, $p=0.001$). Parametri izmereni doppler pretragom takođe nisu pokazali značajnu razliku nakon primene odgovarajuće Bonferroni korekcije za multiple testove (statistička značajnost $p<0.007$). S obzirom da su isključene sve moguće razlike desnog i levog bubrega, dalja komparacija zdravih sa transplantiranim pacijentima vršena je u odnosu na vrednosti izmerene kod levog bubrega zdravih kontrola koji se inače u praksi češće uzima kao donorski organ. U sledećoj tabeli (pod brojem 4-11.) su uporedno prikazane prosečne vrednosti najvažnijih izmerenih parametara kod transplantiranih pacijenata i levog bubrega zdravih kontrola- eGFR/GFR, prosečne cRBF, PWS relativnog MRI signala, ADC koeficijenta korteksa i medule i indeksa rezistencije (IR).

Tabela 4-10. Prosečne vrednosti MRI i dopler parametara kod individualno uparenih zdravih ispitanika predstavljene odvojeno za desni i levi bubreg

	Bubreg	N	Srednja vrednost	Standardna devijacija	Statistička značajnost (p vrednost)
cRBF ml/100gr/min	Desni	20	331,25	134,93	0.432
	Levi	20	318,85	111,77	
PWS %	Desni	20	7,42	3,03	0.372
	Levi	20	7,12	2,61	
ADC korteks x10-3mm2/s	Desni	20	2,07	0,14	0.508
	Levi	20	2,05	0,15	
ADC medulla x10-3mm2/s	Desni	20	1,80	0,10	0.078
	Levi	20	1,84	0,13	
PS cm/s	Desni	20	30,06	5,71	0.842
	Levi	20	30,24	5,38	
ED cm/s	Desni	20	11,32	1,87	0,023
	Levi	20	12,47	2,01	
IR	Desni	20	0,61	0,06	0.016
	Levi	20	0,58	0,07	

*statistička značajnost razlike kod multiplih t testova (7) u ovom slučaju sa Bonferroni korekcijom je na nivou značajnosti od $p < 0.007$

Tabela 4-11. Poređenje prosečnih vrednosti eGFR/GFR, MRI i dopler parametara levog bubrega kao referentnog kod zdravih individualno uparenih i transplantiranih ispitanika

	Ispitanik	N	Srednja vrednost	Standardna devijacija	Statistička značajnost (p vrednost)
Crbf ml/100gr/min	Zdrav	20	318.85	111.77	0.000
	Tx	20	190.05	67.62	
PWS %	Zdrav	20	7.12	2.61	0.000
	Tx	20	4.18	1.49	
ADC korteks x10-3mm2/s	Zdrav	20	2.05	0.15	0.041
	Tx	19	1.94	0.02	
ADC medulla x10-3mm2/s	Zdrav	20	1.84	0.14	0.940
	Tx	19	1.84	0.12	
eGFR (ml/min/1.73m2)	Zdrav	20	84.64	18.99	0,000
GFR (ml/min/1.73m2)	Tx	20	61.79	15.4	
IR	Zdrav	20	0.58	0,07	0.036
	Tx	20	0.63	0,08	

*statistička značajnost razlike kod multiplih t testova (6) u ovim slučaju sa Bonferroni korekcijom je na nivou značajnosti od $p < 0.008$; Tx: transplantirani.

Statistička značajnost razlike između transplantiranih bubrega i bubrega zdravih kontrola je dokazana u odnosu na kortikalnu perfuziju ($p < 0.0001$), perfuzijski signal ($p < 0.0001$) i stepen glomerulske filtracije ($p < 0.0001$). ADC koeficijent u korteksu i meduli i indeks rezistencije na dopleru nisu pokazali statistički značajnu razliku za stepen značajnosti kod Bonferroni korekcije koji je u ovom slučaju iznosio $p < 0.008$.

Daljom analizom je utvrđivano da li postoje razlike u funkciji zdravog i transplantiranog bubrega u odnosu na transplantirane pacijente koji imaju stabilnu i očuvanu funkciju i kakva je razlika u odnosu na pacijente čija je funkcija oštećena. Vrednosti su poređene u odgovarajućim individualno podešenim parovima po grupama. Prosečne vrednosti izmerenih parametara od značaja su predstavljene tabelom 4-12.

Tabela 4-12. Razlike u parametrima funkcije zdravih bubrega u odnosu na dve kategorije transplantiranih bubrega

		Srednja vrednosti	Broj ispitanika	Std. devijacija	P
Poređenje sa Tx<60	eGFR (ml/min/1.73m ²)	83.72	9	17.69	0.000
	GFR Tx (ml/min/1.73m ²)	48.54	9	10.04	
Poređenje sa Tx≥60	eGFR (ml/min/1.73m ²)	85.40	11	20.81	0.061
	GFR Tx (ml/min/1.73m ²)	72.62	11	9.09	
Poređenje sa Tx<60	cRBF (ml/100gr/min)	315.00	9	105.96	0.002
	cRBF Tx (ml/100gr/min)	146.22	9	41.84	
Poređenje sa Tx≥60	cRBF (ml/100gr/min)	322.00	11	121.36	0.056
	cRBF Tx (ml/100gr/min)	225.91	11	64.38	
Poređenje sa Tx<60	PWS (%)	7.08	9	1.69	0.001
	PWS Tx (%)	3.21	9	1.04	
Poređenje sa Tx≥60	PWS (%)	7.14	11	1.81	0.060
	PWS Tx (%)	4.96	11	1.09	

Poređenje sa Tx<60	ADC korteks (x10 ⁻³ mm ² /s)	2.08	8	0.12	0.128
	ADC Tx (x10 ⁻³ mm ² /s)	1.92	8	0.2	
Poređenje sa Tx≥60	ADC korteks (x10 ⁻³ mm ² /s)	2.03	11	0.17	0.205
	ADC Tx (x10 ⁻³ mm ² /s)	1.96	11	0.16	

*statistička značajnost razlike kod multiplih t testova (8) u ovim slučaju sa Bonferroni korekcijom je na nivou značajnosti od $p < 0.006$; Tx: transplantirani.

Ovom analizom je dokazana visoko statistički značajna razlika u funkciji zdravih bubrega u odnosu na transplantirane bubrega sa oštećenom funkcijom (cRBF $p=0.002$, PWS $p=0.001$, i eGFR $p < 0.0001$), dok razlika u funkciji u odnosu na transplantirane pacijente sa stabilnom očuvanom funkcijom ne postoji (cRBF $p=0.056$, PWS $p=0.060$ i GFR $p=0.061$). Nije dokazana razlika u ADC vrednostima zdravih bubrega u odnosu na bilo koju grupu transplantiranih bubrega.

5. DISKUSIJA

Najpouzdanije metode koje ujedno predstavljaju i zlatne standarde u proceni funkcije bubrega, bilo nativnog bilo alografta su biopsija bubrega i dinamska scintigrafija. Međutim, ove metode su vrlo invazivne, mogu biti skopčane sa ozbiljnim postproceduralnim komplikacijama, kao što su hemoragija, hematomi, infekcija, urinomi, čak i smrtni ishod nakon biopsije, dok značajna količina jonizujućeg zračenja kod scintigrafije predstavlja glavnu prepreku za njenu široku upotrebu. Ove procedure se iz navedenih razloga ne koriste rutinski u proceni funkcije alografta, već se kliničari većinom oslanjaju na kliničke i laboratorijske parametre, kao i na konvencionalne dijagnostičke procedure. Ultrazvučna i dopler dijagnostika, kao najrasprostranjenija procedura se pokazala vrlo nepouzdanom, s obzirom da u velikoj meri zavisi od operatora, a nije dovoljno ni senzitivna niti specifična za procenu funkcije alografta. MRI dijagnostika je vrlo pouzdana za procenu anatomskih karakteristika alografta i potencijalnih komplikacija u bilo kom posttransplantacionom stadijumu.¹³¹ Takođe, MRI se u dosadašnjoj standardnoj kliničkoj praksi pokazala i vrlo uspešnom u proceni pojedinih funkcionalnih parametara, bilo izračunavanjem ADC koeficijenta (Apparent Diffusion Coefficient) ili dinamskom kontrastnom MRI studijom. S obzirom da ADC koeficijent zavisi od trokompartmentne difuzije molekula vode- difuzije vode kroz tkivo, mikrovaskularne perfuzije i tubulskog protoka, sam po sebi ne može da reflektuje centralnu meru bubrežne funkcije, a to je perfuzija. Aplikacija gadolinijumskog kontrastnog sredstva je kontraindikovana kod pacijenata sa bubrežnim alograftom, pogotovo kod onih sa oštećenom funkcijom zbog opasnosti od sistemske nefroskleroze.¹³⁵ Iz navedenih razloga se javila potreba da se razvije nova dijagnostička procedura koja će, osim detaljnog anatomskog prikaza alografta, moći da evaluira i njegovu funkciju.

U ovom istraživanju kao glavni klinički parametar koji je oslikavao bubrežnu funkciju je korišćen stepen glomerulske filtracije (GFR) i sve primenjene radiološke metode su upoređivane u odnosu na njegove vrednosti. U populaciji zdravih ispitanika je to bio procenjeni GFR (eGFR) po MDRD formuli jer je pretpostavljeno da ti ispitanici imaju normalnu bubrežnu funkciju.²⁶⁴ Nivo serumskog kreatinina se koristio u svrhu preračunavanja eGFR kod zdravih ispitanika, međutim nivo serumskog kreatinina izolovano nije dovoljno senzitivan parametar da detektuje male, ali opet značajne gubitke u funkciji alografta.¹²⁷ Iz tog razloga je u populaciji transplantiranih pacijenata meren GFR, tj klirens kreatinina na osnovu vrednosti serumskog kreatinina, kreatinina u urinu i diureze za 24h.

Radiološke procedure korišćene u ovom istraživanju spadaju u domen neinvazivnih tehnika, u cilju diskriminacije bubrežnih alografta sa oštećenom funkcijom u populaciji pedijatrijskih i mladih transplantiranih pacijenata. Ove procedure su primarno obuhvatale standardne metode koje su već dugo u kliničkoj upotrebi kao što su ultrazvučna i dopler dijagnostika sa procenom brzine protoka

krvi u arterijskom stablu i indeksom rezistencije (PS, ED, IR). Standardna MRI dijagnostika je obuhvatala Diffusion Weighted Imaging MRI (DWI- MRI) sa procenom ADC koeficijenta (Apparent Diffusion Coefficient) u korteksu i meduli alografta. Za potrebe istraživanja je dopunski razvijana potpuno nova napredna metoda sa velikim potencijalom za kliničku upotrebu u funkcionalnom body MRI- Arterial Spin Labeling MRI (ASL-MRI). Ova tehnika prvenstveno za zadatak ima što precizniju procenu stepena bubrežne kortikalne perfuzije, odnosno njenu kvantifikaciju. U praksi je prvenstveno razvijana u sklopu neuroimaginga da bi procenjivala perfuziju endokranijalno, bez većih kliničkih iskustava u upotrebi za body imaging.

Težište u proceni funkcije alografta radiološkim dijagnostičkim metodama je stavljeno upravo na procenu kortikalne bubrežne perfuzije (cRBF- cortical Renal Blood Flow) koja je izražavana u fiziološkim jedinicama (mL protoka krvi/100gr bubrežnog tkiva/min). Glavni razlog tome je što su brojne studije pokazale da umereno oštećena bubrežna funkcija može voditi do značajne redukcije u bubrežnoj perfuziji, koja u suštini najjasnije oslikava stanje bubrežnog alografta.²⁶⁹⁻²⁷⁶

Za validaciju metode je u studiji prvobitno ispitivana populacija slučajno izabranih zdravih ispitanika (23 ispitanika), sa normalnim vrednosti serumskog kreatinina (sCr) i procenjenog GFR (eGFR). Cilj je bio da se utvrdi prosečna vrednost cRBF kod zdravih ispitanika, koliko te metode koreliraju sa rezultatima objavljenim u dosadašnjim malobrojnim studijama, da li metoda ukazuje na razlike između desnog i levog bubrega, da li je u okviru jedne posete eksperiment ponovljiv, kao i kakvi se rezultati dobijaju kada ispitanik dođe drugi put sa minimumom vremenskog razmaka od 24h između dve posete. Metoda je pokazala da je dobijena prosečna vrednost kortikalne perfuzije kod zdravih ispitanika (u proseku $319,68 \pm 112,77$ ml/min/100gr tkiva) odgovarala dosadašnjim podacima iz literature.^{2,218,268,274-277} Nije dokazana statistički značajna razlika u vrednostima cRBF desnog i levog bubrega, uz visoku korelaciju vrednosti, potvrđujući postulat da je u potpunosti svejedno koji se bubrežni organ izabere za donorski organ, osim što pojedine anatomske pogodnosti favorizuju izbor levog bubrega (npr. duži tok renalne vene). Takođe je i kvalitet metode merenjem relativnog perfuzijskog signala (PWS%) u odnosu na okolni signal iz tkiva pokazao dobru konzistenciju sa dosadašnjim objavljenim podacima.^{268,269}

Nakon ponavljanja ASL eksperimenta pod istim okolnostima u okviru jedne posete, dobijena je visoka vrednost Cronbach-ovog alfa koeficijenta koji je ukazivao na izuzetnu konzistenciju dobijenih podataka cRBF, izuzetno visoku vrednost ICC koeficijenta i visoko statistički značajnu korelaciju dva ponovljena merenja ($p < 0.0001$) uz nizak prosečan koeficijent varijacije. Identične rezultate je pokazao i relativni perfuzijski signal (PWS) koji je ukazivao na konzistentan i dobar kvalitet perfuzijskih mapa, visoko statistički značajnu korelaciju ($p < 0.0001$) i nizak prosečan koeficijent varijacije. Kod transplantiranih pacijenata kod kojih su ponavljana merenja samo u okviru jedne

posete rezultati takođe pokazuju skoro identične vrednosti, dovodeći nas do zaključka da je metoda apsolutno ponovljiva u okviru iste posete.

U literaturi je pokazana varijabilnost u izmerenim vrednostima kortikalne perfuzije između brojnih studija na zdravim volonterima (ukupno 56 studija), sa rasponom prosečnih vrednosti od 139–427 mL/100 g/min.¹⁸¹ U nekim studijama, kao faktori koji utiču na stepen perfuzije su istaknuti individualne navike u unosu tečnosti, intravenska infuzija fiziološkog rastvora i primena diuretika poput furosemida.^{216,278-280} S obzirom na relativno visoku standardnu devijaciju u vrednostima cRBF kod zdravih ispitanika koji su pokazivali normalnu bubrežnu funkciju, utvrđeno je da individualne navike u unošenju tečnosti u velikoj meri utiču na perfuziju, te su se svi ispitanici u našoj studiji pre MRI pregleda uzdržavali od hrane i vode bar 4h. Eksperiment je dopunjen i proverom koliko opterećenje vodom kod izabranih ispitanika tokom prve posete (12 ispitanika je unelo između 10 i 20 ml/kg TM vode, ukupno 24 jedinica posmatranja- bubrega) i nakon toga je bilo ponovljeno ASL merenje. Pokazano je da postoji visoko statistički značajna razlika u kortikalnoj perfuziji ($p=0.008$) pre i posle opterećenja vodom uz visoko statistički pozitivnu korelaciju ($r=0.87$, $p<0.0001$) što je ukazivalo na prirast u vrednostima cRBF nakon primene vode per os. Ove činjenice su nas navele da sva dalja ispitivanja kod svih ispitanika vršimo našte. U jednoj od studija koja je analizirala uticaj opterećenja vodom per os, dokazana je statistički značajna razlika u specifičnoj težini urina pre i posle unosa vode ($p<0.0001$), ali nije dokazana razlika u cRBF.²⁷⁰ U citiranoj studiji nije navedeno kako su tačno upoređivali iste regije od interesa, s obzirom da su pacijenti nakon svake ASL akvizicije menjali poziciju ustajanjem da bi dali uzorak urina. U našoj studiji pacijenti su prilikom unosa vode ostajali u tačno istoj poziciji te su naknadne akvizicije izvedene po istim presecima. U našoj studiji analiza osmolalnosti urina nije bila dostupna za statističko preračunavanje.

Za procenu ponovljivosti studije u okviru dve odvojene posete, 10 zdravih ispitanika (odnosno 20 bubrega kao jedinica posmatranja) je ponovilo studijski dan i u ovoj fazi eksperimenta je kroz Cronbach-ov alfa koeficijent i ICC dokazano da postoji visoko statistički značajna korelacija ($p<0.0001$) i konzistencija podataka između dve posete, uz relativno nizak koeficijent varijacije, što je ukazivalo na apsolutnu ponovljivost eksperimenta. Relativni perfuzijski signal (PWS) je takođe pokazao identične rezultate ukazujući na dobar i konzistentan kvalitet perfuzijskih mapa. Ovi podaci ukazuju na činjenicu da bi ASL metoda bila dovoljno pouzdana za serijsko praćenje patoloških procesa bilo u nativnim bubrezima, bilo u alograftima, uz potencijal da evaluiira i efekte lečenja.

Na ponovljivost renalnog ASL-a u okviru jedne i više poseta utiče mnogo faktora, tehničkih i porekla pacijenta. Način planiranja dve sekvence bilo u istoj ili ponovljenoj poseti, susceptibilnost okolnog tkiva i izbegavanje velikih krvnih sudova u velikoj meri mogu uticati na rezultate. S druge strane, ako se tehnički uslovi ispune, neadekvatna saradnja pacijenta u vidu artefakata usled

pomeranja, neadekvatna respiratorna kontrola ili nedovoljna pripremljenost pacijenata, pogotovo između dve posete (neophodnost merenja našte) može učiniti da rezultati budu neuporedivo različiti. U tabeli 5-1 su zbirno predstavljeni podaci koji mere reproducibilnost ASL metode za merenje kortikalne perfuzije kod do sada najrepresentativnijih studija rađenih na zdravim volonterima i pacijentima, bilo s nativnim ili transplantiranim bubrežima.¹⁸¹

Tabela 5-1. Studije koje su se bavile ponovljivošću ASL eksperimenta u okviru jedne i ponovljene posete¹⁸¹

Reference	Br.ispitanika (n)	B ₀ (T)	Intravisit		Intervisit		
			ICC	CV(%)	ICC	CV	Interval (d)
Arzt et al.	14(ZV)+10(P)	1.5	0.96-0.98(C)	4.8-6.0	0.83-0.93	7.6-13.1(C)	74 ±83(ZV)
			0.72-0.78(M)	16.7-26.7	0.13-0.63	19.8-37(M)	19±21 (P)
Cox et al.	11 (ZV)	1.5/3			0.80 (C)	9.3 ± 4.4	NA
					0.61 (ceo)	14.9 ± 3.8	
Getzin et al.	15 (ZV)	1.5	0.77 (C)	6.7 (C)			
			0.83 (M)	10 (M)			
Gillis et al.	12 (ZV)	3			0.85 (C)	9.2	4-28
					0.86 (M)	7.1	
Hammon et al	15 (ZV) + 9(P)	1.5	0.95–0.96 (C)	3.0–3.8± 1.2–1.7 (C)	0.97 (C)	4.2±1.3 (C)	14
			0.92–0.94 (M)	3.3–3.9± 1.8–2.1 (M)	0.96 (M)	4.1±1.4 (M)	
			0.93–0.97 (W)	2.3–3.2± 1.0–1.5 (ceo)	0.97 (ceo)	3.4±0.9 (ceo)	
Kim et al.	25 (ZV)	3	0.90 (C)	17.6 (C)			
			0.42 (M)	42.9 (M)			
Rapacchi et al	10(ZV) + 10(P)	1.5	0.62–0.66 (C)	10.9–11.6 (C)			
			0.46–0.47 (M)	20.8–21.1 (M)			

*ZV- zdrav volonter; P-pacijent; C- korteks; M-medula; ICC- Intraclass Correlation Coefficient; Coefficient of Variation.

Sve ove studije koje su se bavile ponovljivošću ASL eksperimenta su uglavnom imale manji ili relativno sličan broj ispitanika. Koeficijent korelacije kortikalne perfuzije je pokazivao umereno do odlično slaganje od studije do studije i u okviru jedne posete je pokazao ukupan raspon od 0.62-0.98, a između dve posete 0.85-0.97. Naša studija je u oba slučaja pokazala odličnu korelaciju i niži prosečan koeficijent varijacije i za zdrave ispitanike i transplantirane pacijente i na ovaj način je dokazala da je ASL pouzdana metoda za kvantifikaciju perfuzije, zahvaljujući adekvatnoj pripremi i obuci pacijenata i preciznom planiranju sekvenci.

Na dalje je u studiji ASL-MRI perfuzija primenjena kao potpuno neinvazivna metoda za izračunavanje kortikalne bubrežne perfuzije kod pedijatrijskih i mladih pacijenata sa bubrežnim alograftom. Ukupna kortikalna bubrežna perfuzija u našoj grupi pacijenata je bila u rasponu između

85 and 335 ml/100 g/min (prosečna vrednost $190.05 \pm 67.62 \text{ mL}/100 \text{ g/min}$) što je bilo u skladu sa prethodno objavljenim podacima studija na transplantiranim i nativnim bubrezima.^{2,218,268,270,272,276,277} Kako prosečne vrednosti GFR i cRBF nisu pokazivale statistički značajnu razliku u odnosu na grupe pacijenata po tipu donora (živi srodni donor i kadaverični donor, $p=0.225$ i $p=0.262$, redom), ova karakteristika alografta je nakon toga smatrana uniformnom kod svih pacijenata i bez značajnog uticaja na funkciju alografta. Potencijalni razlog zašto u našoj studiji nije dokazana razlika u funkcionisanju bubrega porekla živih i kadaveričnih donora, kako se inače u literature navodi, može biti što nijedan pacijent u trenutku ispitivanja nije imao epizodu akutizacije odbacivanja grafta, zatim dobra klinička kontrola, terapija i praćenje svih neophodnih kliničkih parametara, a dodatan faktor može biti i medijana starosti kadaveričnih donora od 35 godina, što ih svrstava u mlađu kategoriju donora sa boljim dugoročnim ishodom.

S obzirom da ni kod jednog pacijenta nisu bile jasno verifikovane epizode akutizacije odbacivanja alografta, pacijentima je pristupljeno sa premisom da imaju relativno stabilnu bubrežnu funkciju. U ovakvom uzorku, primenom ASL-MRI metode je trebalo diskriminisati koji pacijenti imaju pad i oštećenje funkcije alografta. Stoga su bili podeljeni u dve grupe u skladu sa izmerenim klirensom kreatinina, odnosno stepenom GFR sa literaturno definisanom graničnom vrednošću od $60 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$. GFR vrednosti u na ovaj način definisanim grupama pacijenata (sa dobrom i oštećenom bubrežnom funkcijom) su pokazale, u skladu sa očekivanjima, visoko statistički značajnu razliku ($p<0.0001$).

Glavni rezultat u studiji je bio da je prosečna kortikalna bubrežna perfuzija merena ASL-MRI perfuzijskom tehnikom bila visoko statistički značajno viša u grupi pacijenata sa alograftom koji imaju stabilnu funkciju u odnosu na pacijente sa oštećenom funkcijom ($p=0.005$). Dalje, bubrežni protok meren ASL-MRI je pokazao pozitivnu korelaciju sa bubrežnom funkcijom determinisanom vrednostima GFR u celom uzorku pacijenata ($r=0.64$, $p=0.002$), što je vodilo zaključku da je kortikalna perfuzija merena ASL-MRI tehnikom precizno oslikavala funkciju alografta. Takođe, dijagnostička efikasnost ASL-MRI u identifikaciji alografta sa dobrom ili oštećenom funkcijom je bila statistički značajno veća u odnosu na druge široko primenjivane metode za evaluaciju alografta (DWI-MRI, dopler merenja), sa visoko površinom ispod ROC krive i sa visokom senzitivnošću i specifičnošću. Takođe se ističe i činjenica vezana za rezultate izmerene kod jednog od pacijenata koji je u trenutku posete pripadao grupi sa dobrom funkcijom ($\text{GFR} \geq 60 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$; pacijent broj 10 u tabeli 4-3). Ovaj pacijent je studijskog dana po svojim vrednostima cRBF značajno odstupao od rezultata drugih pripadnika grupe (cRBF vrednost je bila značajno manja i u proseku je iznosila $100 \text{ ml}/100 \text{ gr/min}$). U trenutku kada je ovaj pacijent dolazio na ispitivanje, GFR vrednosti su reflektovale stabilnu i očuvanu bubrežnu funkciju ($\text{GFR} 64 \text{ ml/min}/1.73 \text{ m}^2$). Međutim, u naredna dva

meseca, GFR vrednosti su značajno varirale, zajedno sa postepenim porastom nivoa Cistatina C (1.31 mg/l). Tokom narednih 12 meseci GFR vrednosti su pale ispod vrednosti od 40ml/min/1.73m². Ove kliničke činjenice su vodile ka dijagnozi hronične alograft nefropatije stadijum 2. Dodatno, ovaj pacijent je razvio i portnu hipertenziju nejasnog porekla. Ostali pacijenti iz grupe sa dobrom funkcijom (GFR \geq 60ml/min/1.73m²) i dalje po svim kliničkim parametrima ispunjavaju uslov za dobru funkciju alografta. Sve navedeno bi moglo ukazivati na pitanje da li bi možda cRBF meren ASL tehnikom bio senzitivniji i na neki način značajan prediktor buduće deteriorijacije funkcije alografta koja je u trenutku ispitivanja bila klinički nema.

Rezultati dobijeni kod transplantiranih pacijenata su zatim upoređivani sa individualno uparenim zdravim ispitanicima iz kontrolne grupe, čije se uparivanje vršilo u skladu sa karakteristikama donora koje su podrazumevale pol, starost i normalan BMI (uziman je BMI u normalnom rasponu pošto ovaj podatak nije bio dostupan za sve donore). Ovakva kontrolna grupa je birana iz razloga što se pratilo stanje transplantiranog bubrega na putu od osobe određene starosti i pola od koje je presađen, uz korekciju vremena od transplantacije do studijskog dana, s ciljem da se uporedi kakva je funkcija zdravog bubrega in situ i kakva je funkcija bubrega nakon transplantacije, sa utvrđivanjem najbitnijih razlika. S obzirom da su svi zdravi ispitanici pokazali gotovo iste rezultate na desnom i levom bubregu, sva dalja poređenja su vršena sa levim bubregom koji se inače češće koristi kao donorski organ u praksi. Od svih analiziranih parametara samo su stepen glomerulske filtracije, cRBF i PWS pokazali visoko statistički značajnu razliku između grupa koje su posmatrane kao vezan uzorak (kod svih parametara je $p < 0.0001$). S obzirom da je bilo neophodno istražiti poreklo ovako velike razlike u funkciji zdravih i transplantiranih bubrega, dalje poređenje je ponovo raščlanjeno u odnosu na podgrupe transplantiranih pacijenata prema graničnim vrednostima za stabilnu funkciju- GFR od 60ml/min/1.73m². Primećena je visoko statistički značajna razlika u vrednostima parametara kod zdravih ispitanika u odnosu na transplantirane pacijente koji imaju oštećenu funkciju, odnosno GFR<60- eGFR/GFR $p < 0.0001$, cRBF $p = 0.002$ i PWS $p = 0.001$). Kada su bubrezi zdravih uparenih ispitanika poređeni sa transplantiranim koji su imali stabilnu i očuvanu funkciju - GFR \geq 60ml/min/1.73m², nije pronađena statistički značajna razlika ni u jednom parametru, što je išlo u prilog da su ovi transplantirani bubrezi funkcionisali dobro kao nativni zdravi bubrezi- eGFR/GFR $p = 0.061$, cRBF $p = 0.056$ i PWS $p = 0.06$. U literaturi se navodi da prilikom implantacije bubrega ilijačno i povezivanjem njegove vaskularne peteljke sa ilijačnim krvnim sudovima, može doći do usporavanja brzine protoka krvi, u poređenju sa nativnim bubregom koji se ishranjuje iz aorte, te je perfuzija u alograftu potencijalno sporija usled manjeg kalibra dovodnog krvnog suda.^{2,188} Međutim, nakon upoređivanja dobijenih rezultata u našoj studiji kod zdravih uparenih kontrola sa odgovarajućim podgrupama transplantiranih pacijenata, nije nađena razlika u perfuziji u odnosu na

alografte očuvane funkcije u stepenu perfuzije, bez obzira na njihovu alokaciju, što bi ukazivalo da razlika u poziciji ne utiče značajno na snabdevanje alografta krvlju kao izolovan fizički faktor.

U ovoj studiji je fokus stavljen na kortikalnu perfuziju i nije bila posvećena značajna pažnja medularnoj perfuziji iz razloga što medularni protok krvi manje zavisi od hidrostatskog pritiska i otpora u renalnoj arterijskoj vaskulaturi, ukazujući na činjenicu da čak 90% bubrežnog protoka postoji u kortikalnoj mikrovaskulaturi. Dodatno, pored glavnih imunoloških mehanizama odbacivanja alografta i ciljane imunosupresivna terapija (kalcineurinski inhibitori) u principu utiče na male kortikalne krvne sudove, te snižavajući kortikalnu perfuziju utiče na stepen glomerulske filtracije. Takođe, nekoliko grupa je pokazalo dobru ponovljivost u merenju kortikalne RBF kod zdravih volontera i transplantiranih pacijenata, dok su rezultati merenja perfuzije u meduli bili manje pouzdani.^{217,270,281-287} Pouzdano i precizno merenje medularne perfuzije je izuzetno teško zbog brojnih otežavajućih faktora.^{188,217} Na prvom mestu je nizak odnos signala i šuma zbog niže perfuzije u odnosu na korteks, a na drugom parcijalni volumni efekat sa korteksom na koji se naslanja.¹⁸¹ Kinetika obeležene vode je takođe vrlo nepouzdana i nepoznata zato što se arterijska voda deli između malih arteriola i filtrata. Takođe se može u izvesnoj meri razmenjivati sa okolnim intersticijumom pre nego što prodre duboko u medulu.¹⁸⁸ Na osnovu svega navedenog, ne iznenađuje činjenica da je reproducibilnost merenja medularne perfuzije značajno niža od kortikalne (ICC 0.27–0.94; CV 3–43%)¹⁸¹. Stoga je cilj u analizi bio da se evaluira odnos između promena u GFR kod alografta u odnosu na promene u kortikalnoj bubrežnoj perfuziji.

Prethodno objavljene studije su konzistentno dokazivale da ASL-MRI perfuzija pozitivno korelira sa procenjenom glomerulskom filtracijom (eGFR) bilo kod nativnih bubrega^{269,270,275} bilo kod bubrežnih alografta,^{272-274,276} uz isticanje činjenice da umereno oštećena bubrežna funkcija može voditi značajnoj redukciji bubrežne perfuzije, sa pokretanjem začaranog kruga u daljem oštećenju bubrežne funkcije. Iz navedenog sledi da kod pacijenata posle transplantacije bubrega koji imaju postepeno pogoršanje bubrežne funkcije, ASL-MRI perfuzija ima veliki potencijal da postane koristan dijagnostički alat za identifikaciju ovih pacijenata bez odlaganja. Ova činjenica bi mogla da ukazuje i da se najinvazivnije procedure za evaluaciju alografta, kao što je npr. biopsija ne moraju izvoditi rutinski ili učestalo, pogotovo kod pedijatrijskih pacijenata, da bi se izbegle neželjene komplikacije. Biopsija grafta bi mogla ostati rezervisana za klinički stabilne pacijente kod kojih je na ovaj način postavljena dijagnoza relativno “tihog” oštećenja grafta da bi se procenila osnovna patologija, a sve u cilju očuvanja i dugovečnosti i pacijenta i alografta.

Renalni ASL je u inicijalnim studijama poređen sa alternativnim metodama za merenje bubrežnog protoka krvi (renal blood flow- RBF), kao što su klirens paraaminohipurne kiseline, mikrosfere, ultrazvučno merenje protoka, scinigrafske metode i kontrastni MRI.^{181,267} Dosadašnji dobijeni

rezultati ukazuju da se može podržati hipoteza da je ASL tehnika u stanju da obezbedi realne procene cRBF. Ipak, vredi napomenuti da prilikom poređenja sa dinamičkom kontrastnom MRI postoje oprečni dokazi u smislu uporedivosti rezultata cRBF dobijenih putem ove dve tehnike. Iznese činjenice mogu dovesti do zaključka da postoje metodološke razlike u ovim tehnikama, odnosno različite kinetičke karakteristike kontrasta koji se koriste u svakoj od njih, s obzirom na razliku u veličini molekula obeleživača, kao i relaksaciono vreme “kontrasta” u ASL tehnici.¹⁸¹ Stoji veliki zadatak da se ove razlike prevaziđu, što je izuzetno teško jer ne postoji klinički zlatni standard za merenje RBF. Pokazalo se da je RBF izmeren ASL tehnikom bio reproducibilniji od perfuzije dobijene dinamskom kontrastnom MRI studijom.^{218,287,288} Što se drugih metoda merenja perfuzije tiče, mikrosfere se koriste u raznim studijama na eksperimentalnim životinjama jer se njihova koncentracija može meriti samo post mortem. Osim toga, mikrosfere ostaju zarobljene u pleglomerulskoj i glomerulskoj cirkulaciji, bez mogućnosti procene medularne perfuzije.¹⁸¹ Klirens para-aminohipurne kiseline se može koristiti kod ljudi, i prikazuje efektivan bubrežni protok, ali uz nekompletnu i varijabilnu bubrežnu ekskreciju. Takođe, klirens PAHA ne može obezbediti informaciju o relativnoj perfuziji korteksa i medule. Renalna scintigrafija ima lošu prostornu rezoluciju, a pri tom koristi jonizujuće zračenje što je čini nepodobnom za serijsko praćenje,

U ovoj studiji dobijeni rezultati su u kongruenciji sa rezultatima prethodno objavljenih studija u kojima cRBF pokazuje dobru korelaciju sa procenjenim GFR. Međutim, većina dosadašnjih studija koja je evaluirala ASL metodu je uključivala adultne pacijente sa različitim pristupima u MRI tehnici i varijabilnim brojem ispitanika. Ovde je težište stavljeno na pedijatrijske i mlade transplantirane pacijente za koje istaživanje u velikoj meri nedostaje, sa jednim, do sada objavljenim izuzetkom koji se bavio samo nativnim bubrežima kod dece.²¹⁴ Takođe, broj mlađih pedijatrijskih pacijenata u studiji je značajno limitiran iz raznih razloga kao što su: ispoljavanje pojedinih bubrežnih bolesti koje vode do terminalne bubrežne insuficijencije kasnije u detinjstvu, mnogo kompleksnija priprema pedijatrijskih pacijenata za transplantaciju u odnosu na odrasle i određeni uzrast i telesna masa kao mogući limitirajući faktori za transplantaciju rano u detinjstvu. Od ostalih vrlo značajnih limitirajućih faktora se ističe i nedovoljna razvijenost transplant programa i donorstva u našoj zemlji. Svi navedeni faktori bi mogli biti razlozi zašto i u literaturi nema na raspolaganju studija koje ispituju pedijatrijsku populaciju u poređenju sa studijama koje ispituju adulte. Kao dopunska činjenica koja ističe vrednost ovog istaživanja ističe se izmereni GFR kao mnogo senzitivnija i pouzdanija referentna tačka u refleksiji kliničke funkcije alografta u poređenju sa eGFR, koji je često, ako ne i stalno korišćen u studijama.

S druge strane, relativno mali broj pacijenata uključenih u studiju, varijabilnost u vremenu od transplantacije do studijskog dana su potencijalna ograničenja u studiji da bi se detaljnije ispratili

efekti pojedinačnih faktora koji utiču na perfuziju bubega, bilo individualno bilo udruženo. Neki aspekti u heterogenosti populacije su bili prevaziđeni regrutovanjem pacijenata koji su bili bez evidentnih akutnih epizoda odbacivanja. Takođe, iz analize je bilo isključeno ispitivanje uticaja kalcineurinskih inhibitora na perfuziju per se, a rezultati biopsije su bili dostupni kod vrlo malog broja ispitanika. Neki ispitanici su bili malo stariji od 18 godina u trenutku prikupljanja podataka, ali su bili transplanirani kao deca ili kao mladi adulti; neki od njih su imali značajan zaostatak u rastu i razvoju, kao i u koštanom sazrevanju i prolazili su kroz rutinske kliničke kontrole u pedijatrijskoj bolnici, gde su i bili regrutovani za studiju. Populacija ispitanika je bila uslovljena ograničenim brojem pacijenata koji su imali klinički relativno stabilnu funkciju alografta 6 meseci pre, u vreme studije i narednih 6 meseci, kao i ukupnim brojem pacijenata koji su gravitirali našoj bolnici u vreme studije.

Takođe, činjenica je da nedostatak T1 mapa kod svakog pojedinačnog ispitanika predstavlja značajan ograničavajući faktor, s obzirom da T1 mape mogu biti od velike važnosti za tkivnu karakterizaciju, pogotovo u praćenju dugotrajnog i hroničnog odbacivanja alografta. Akvizicija T1 mape bi dopunski iziskivala merenje i nakon što krv napusti mikrovaskulaturu i uđe u tkivo. Merenje kinetike krvi upotrebom višestrukih vremena odlaganja ili TI i kvantifikacija upotrebom dvokompartmentskog modela sa odvojenim tranzitnim vremenom i T1 mapom tkiva predstavlja potencijalnu alternativu jednokompartmentskom pristupu koji je trenutno u upotrebi, ali iziskuje i mnogo kompleksniju akviziciju i analitičke metode, te se u ovom trenutku ne preporučuje za analizu bubrežne perfuzije.¹⁸⁸ Tokom ove studije, iz tehničkih razloga nije bilo moguće napraviti akviziciju T1 mapa kod svih ispitanika, te su korišćene dobro poznate literaturne vrednosti.¹⁸⁸ S druge strane, po novim standardima i preporukama propisanim 2020.godine u sklopu prvog međunarodnog konsenzusa na temu ispitivanja bubrežne funkcije, za jednokompartmentski model kao što je ovaj, za preračunavanje cRBF, nije neophodna akvizicija T1 mapa, već i akviziciju i izračunavanje u velikoj meri pojednostavljuje literaturno definisana vrednost T1 krvi na 1.5T koja iznosi 1500ms, a koja takođe olakšava i standardizuje vrednosti kroz sve preseke u multislajsoj 3D akviziciji, kao i komparaciju između različitih subjekata.^{181,188,267} Pretpostavka stoji da ukoliko su T1 mape i izmerene kod svakog ispitanika pojedinačno, da bi razlike u perfuziji u određenim grupama bile još prominentnije, s obzirom da je T1 eksponent u jednačini za proračunavanje cRBF. Takođe bi se očekivalo da se uoči značajna razlika u T1 vrednosti između različitih grupa (recipročni odnos oslikan većim T1 kod nižeg GFR), s obzirom da T1 i cRBF pokazuju značajnu negativnu korelaciju.²¹⁴

ASL-MRI tehnika predstavlja potencijalno novu, potpuno neinvazivnu metodu za procenu perfuzije bubrežnog alografta u cilju diskriminacije alografta koji imaju oštećenu funkciju, uz njeno poređenje sa standardnim kliničkim biomarkerima bubrežne funkcije. Ograničenja ASL-MRI kao

metode podrazumevaju njen relativno nizak odnos signal-šum (signal-to-noise ratio SNR) i dugo vreme akvizicije- problemi koji mogu biti od velikog značaja kada su pedijatrijski pacijenti u pitanju zbog slabije saradnje tokom snimanja. Njena rutinska klinička aplikacija zahteva dodatna iscrpna istraživanja i različite pristupe i studijske populacije. Veći broj vremenskih intervala za akviziciju ponavljanih ASL-MRI od ranog posttransplantacionog perioda pa na dalje tokom narednih nekoliko godina su neophodni da bi se pratile potencijalne komplikacije koje dovode do oštećenja funkcije grafta u različitim posttransplantacionim fazama, kao i kakvi su efekti imunosupresivne terapije. Iz svega navedenog proizilaze činjenice da: 1. detaljnija analiza, posebno za determinisanje granične vrednosti kortikalne perfuzije koja oslikava dobru bubrežnu funkciju, a ispod koje se smatra da je funkcija oštećena, 2. veći broj pacijenata, pedijatrijskih i adultnih i 3. multicentrične studije predstavljaju imperativne u budućim ispitivanjima bubrežne funkcije.

Još uvek ne postoji konkretan konsenzus o tipu obeležavanja spinova u sklopu ASL tehnike, tj. koja bi tehnika obeležavanja najbolje prikazala bubrežnu patologiju. Za ove preporuke neophodno je sprovođenje multicentričnih studija na velikom broju pacijenata koje bi upoređivale različite tehnike obeležavanja i dobijene rezultate perfuzije. Stoga nije moguće predložiti jedan standardizovan protokol koji bi važio u svim kategorijama pacijenata i vrstama bubrežnih bolesti. Otežavajući faktor koji uslovljava problematiku preciznog merenja je izražena bubrežna anizotropija i kompleksna tkivna struktura koja usled bolesti može biti izmenjena u toj meri da može dovesti do kompleksnog poremećaja hemodinamike i samim tim bude izvan domašaja dosadašnjeg jednodomajnog jednodomajnog matematičkog modela. U takvim slučajevima primena multiplih TI za merenje tranzitnog vremena i za analizu razlike između vrednosti T1 kompartmenta tkiva i kompartmenta krvi u okviru dvodomajnog modela bi mogli dati odgovor na neka pitanja. Takođe, postoje stremljenja koja bi mogla unaprediti merenje perfuzije u okviru medule, koja je do sada analizirana u vrlo ograničenoj seriji studija,^{217,284,286} zbog izraženih tehničkih poteškoća dobijanja reproducibilnih podataka. Analiza medule je od velikog kliničkog značaja i kao takva dovodi do intenzivnijeg planiranja i rada na razvijanju modela za precizno izračunavanje perfuzije medule, pogotovo za patološka stanja koja dovode do akutnog oštećenja tubula (npr. akutna bubrežna insuficijencija- ABI).²⁸⁹⁻²⁹¹

Dalji rad na unapređenju ASL tehnike podrazumeva i razvoj metoda za eliminaciju artefakata porekla pomeranja, disanja, distorzije slike i parcijalnog volumnog efekta uz adekvatnu optimizaciju kliničkog rada i vizualizaciju i kvantifikaciju perfuzijskih mapa u sklopu klinički dostupnih softvera. Očekuje se da će ASL metoda biti značajan deo multiparametarskog MRI gde će sa drugim sekvencama izgraditi paletu neinvazivnih MRI biomarkera bubrežnih oboljenja.²⁸⁴

Tokom celog istraživanja monoeksponencijalni model DWI-MRI se nije posebno istakao u otkrivanju pacijenata koji imaju oštećenu funkciju alografta. Merenjem ADC koeficijenta nije

dokazana razlika između transplantiranih pacijenata sa stabilnom i oštećenom funkcijom (ADC korteks $p=0.592$, ADC medulla $p=0.372$), kao ni u grupama zdravih uparenih kontrola u odnosu na sve ili bilo koju kategoriju transplantiranih pacijenata (zdravi vs. transplantirani <60 $p=0.128$; zdravi vs. transplantirani ≥ 60 $p=0.205$). Poznato je da biekspencijalni DWI koji podrazumeva Intravoxel Incoherent Motion (IVIM), združen sa ASL-MRI modelom je senzitivniji u evaluaciji perfuzije.^{274,276} Međutim, glavni razlozi zašto je u studiji primenjen standardni monoekspencijalni DWI su sledeći: prvo, želja je bila da se izvede rutinska MRI sekvenca koja se nalazi u standardnim kliničkim protokolima za evaluaciju bubrega (bilo nativnih bilo alografta) i da se proveriti koliko je ova sekvenca u stanju da otkrije koji transplantirani pacijenti imaju stabilnu, a koji oštećenu bubrežnu funkciju. Drugo, akvizicija IVIM traje značajno duže od standardnog monoekspencijalnog modela (u zavisnosti od broja primenjenih b vrednosti, čak i 5-6 puta vremenski duža), koji je jednostavniji, mnogo robustniji i zahteva umeren odnos signala -šuma (SNR) posebno kod malih subjekata, kao što su pedijatrijski pacijenti. S obzirom da dobijene vrednosti nisu pokazivale razliku između različitih kategorija ispitanika u studiji, dolazi se do zaključka da konvencionalni monoekspencijalni DWI nije dovoljno pouzdan alat u analizi funkcije bubrežnog alografta. Sa druge strane, DWI ima značajnu ulogu u dijagnostici akutnih ili hroničnih komplikacija, kao što su npr. akutna ishemija ili infekcija, koje dovode do značajnog oštećenja anatomije i funkcije alografta. Svakako, detaljna analiza grafta, različiti DWI pristupi u poređenju sa rezultatima biopsije grafta i veliki broj pacijenata su od izuzetne važnosti u budućim istraživanjima.²⁷⁶ Iz svega nadvedenog, dizajn DWI studije i dalje ostaje kontroverzan, uz potencijalnu primenu kombinovanih DWI modela i tehnika u sklopu multiparametarskog MRI pregleda.^{182,220} U brojnim protokolima i postignutim konsenzusima se preferira upotreba višeg magnetnog polja (3T) i veći broj b vrednosti za svaki modalitet. I dalje se smatra da ručno postavljanje ROI predstavlja daleko precizniji pristup od automatskog sa zahvatanjem što više regiona bubrega i u korteksu i u meduli.

U ovoj studiji su se dopler merenja kao standardna radiološka metoda pokazala vrlo nesenzitivnim i nespecifičnim u praćenju funkcije alografta. Nijedan parametar (PS, ED i IR) nije pokazao razliku između dve kategorije transplantiranih pacijenata, kao ni značajnu korelaciju sa GFR. Postojale su neke razlike u populaciji zdravih uparenih ispitanika u vrednostima ED i IR upoređivanjem desnog i levog bubrega, ali u skladu sa Bonferroni korekcijom, nisu pokazale statističku značajnost. Prilikom poređenja zdravih i transplantiranih pacijenata, prikazana je minimalna razlika u IR bez statističke značajnosti prilikom Bonferroni korekcije i bez dokazane korelacije IR sa GFR ili cRBF. Navedene činjenice ukazuju da široko korišćena ultrazvučna merenja ne mogu pouzdano otkriti pacijente koji imaju slabu i oštećenu funkciju alografta. Međutim, ultrazvučnu dijagnostiku ne treba zanemarivati kao vrlo moćan alat u praćenju stanja alografta. Vrlo je pouzdana metoda kada je u pitanju merenje

veličine grafta, detekcija dilatacije sabirnog sistema, praćenje perirenalnih kolekcija, procena kalibra i protoka u vaskularnoj peteljci i u parenhimu, zatim u analizi eventualnih arteriovenskih fistula, kao i u detekciji fokalnih lezija alografta. Odlična je kao metoda pod čijom kontrolom se mogu izvoditi perkutane interventne procedure poput biopsije ili plasiranja katetra za perkutanu nefrostomu. Glavni nedostatak ultrazvuka je što nije u mogućnosti da razlikuje koji su uzroci doveli do gubitka funkcije u ranom postoperativnom periodu (kao što su npr. akutna tubulska nekroza, akutno odbacivanje ili nefrotoksični efekat imunosupresivne terapije), kao i kasnije tokom posttransplantacionog perioda kada nije u stanju da diskriminiše alografte sa očuvanom od alografta sa oštećenom funkcijom, već se do tih zaključaka dolazi u sprezi sa drugim dijagnostičkim i kliničkim procedurama.

U poslednje vreme efikasnost procene stanja transplantiranog bubrega na ultrazvuku je značajno unapredila kontrastna metoda. Mikromehurići kontrasta nisu nefrotoksični, mogu prikazati prokrvljenost alografta, kao i funkcionalnu procenu korišćenjem krivulja koje pokazuju intenzitet dobijenog ultrazvučnog signala u funkciji vremena, mogu se karakterisati fokalne promene i pratiti efekti terapije kod pijelonefritisa.²⁹² Nažalost, u našoj ustanovi se ovi pregledi još uvek ne rade.

Elastografija je još jedna od metoda koja je u razvoju i koja bi mogla dati potencijalne odgovore na pitanje tvrdoće, odnosno elastičnosti tkiva alografta, kad je procena stepena fibroze u pitanju. Do sada se nije pokazala najpouzdanijom metodom, s obzirom na veliku varijabilnost podataka između različitih sistema i proizvođača, kao i različitih dostupnih tehnika merenja. Takođe, ono što značajno utiče na rezultate je i velika anizotropija bubrežnog tkiva koja u velikoj meri otežava ujednačeno merenje i poređenje između subjekata kao i kod ponovljenih poseta i takođe zahteva minuciozno planiranje studija na velikom broju ispitanika, po mogućstvu u više centara.²⁹²

6. ZAKLJUČCI

1. Dugovečnost alografta i pacijenta zavisi od pravovremene dijagnostike potencijalnih komplikacija koje oštećuju funkciju alografta u bilo kojoj posttransplantacionoj fazi.
2. ASL-MRI tehnika predstavlja potencijalno novu, potpuno neinvazivnu metodu za procenu perfuzije bubrežnog alografta u cilju diskriminacije alografta koji imaju oštećenu funkciju, uz njeno poređenje sa standardnim kliničkim biomarkerima bubrežne funkcije.
3. U ovoj studiji ASL- MRI perfuzija se dokazala kao vrlo pouzdana metoda za kvantifikaciju kroz vrlo visoku reproducibilnost prilikom ponovljenih merenja u okviru jedne posete kod zdravih ispitanika i transplantiranih pacijenata, kao i kod ponovljenih merenja u okviru dve posete kod zdravih ispitanika.
4. ASL-MRI tehnikom je moguće merenje kortikalne perfuzije individualno za svaki bubreg kod nativnih bubrega i njihovo međusobno upoređivanje.
5. ASL-MRI metodom je pokazana statistički značajna razlika u perfuziji bubrega prilikom merenja vrednosti cRBF pre i posle per os unošenja vode kod zdravih volontera, što dovodi do zaključka da stepen hidriranosti može uticati na stepen perfuzije.
6. Prosečna vrednost kortikalne perfuzije merene ASL tehnikom je kod transplantiranih pacijenata oslikavala kliničke parametre funkcije bubrežnog alografta, na prvom mestu stepena glomerulske filtracije sa kojom je visoko korelirala.
7. Prosečna kortikalna bubrežna perfuzija merena ASL-MRI tehnikom je bila visoko statistički značajno viša u grupi pacijenata sa alograftom koji imaju stabilnu funkciju ($GFR \geq 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$) u odnosu na pacijente sa oštećenom funkcijom ($GFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$).
8. Visoko statistički značajna razlika u funkciji bubrega između individualno uparenih zdravih kontrola i pacijenata sa alograftom se odlikuje u razlici u stepenu glomerulske filtracije i

kortikalne bubrežne perfuzije i dokazana je u odnosu na pacijente sa alograftom koji imaju oštećenu funkciju.

9. Pacijenti sa alograftom koji imaju očuvanu funkciju nisu pokazali razlike u GFR i cRBF u odnosu na uparene zdrave ispitanike, što dovodi do zaključka da alokacija bubrega u ilijačnu jamu ne kompromituje perfuziju alografta kao izolovan fizički faktor.
10. Kortikalna bubrežna perfuzija merena ASL tehnikom bi mogla biti senzitivna i potencijalno značajan prediktor buduće deteriorijacije funkcije alografta koja je u trenutku ispitivanja klinički nema.
11. Ograničenja ASL-MRI kao metode podrazumevaju njen relativno nizak odnos signal-šum (signal-to-noise ratio SNR) i dugo vreme akvizicije- problemi koji mogu biti od velikog značaja kada su pedijatrijski pacijenti u pitanju zbog slabije saradnje tokom snimanja.
12. Unapređenje ASL tehnike podrazumeva i razvoj metoda za eliminaciju artefakata porekla pomeranja, disanja, distorzije slike i parcijalnog volumnog efekta.
13. ADC koeficijent dobijen monoeksponencijalnim DWI nije dovoljno pouzdan u diferencijaciji transplantiiranih pacijenata sa stabilnom i oštećenom funkcijom, kao ni u grupama zdravih uparenih kontrola u odnosu na sve ili bilo koju kategoriju transplantiiranih pacijenata.
14. DWI ima značajnu ulogu u dijagnostici akutnih ili hroničnih komplikacija, kao što su npr. akutna ishemija ili infekcija, koje dovode do značajnog oštećenja anatomije i funkcije alografta.
15. Multiparametarski MRI predstavlja budućnost u dijagnostici bubrežnih oboljenja s ciljem da ponudi veliki broj neinvazivno prikupljenih biomarkera.
16. Dopler merenja su se pokazala kao vrlo nesenzitivna i nespecifična u praćenju funkcije alografta.

7. LITERATURA

1. Kaballo MA, Canney M, O'Kelly P, Williams Y, O'Seaghdha CM, Conlon PJ. A comparative analysis of survival of patients on dialysis and after kidney transplantation. *Clin Kidney J* 2018;11:389–393.
2. Artz NS, et al. Arterial Spin Labeling MRI for Assessment of Perfusion in Native and Transplanted Kidneys. *Magn Reson Imaging* 2011; 29(1):74–82.
3. Srisawat N, Hoste EE, Kellum JA. Modern classification of acute kidney injury. *Blood Purif* 2010;29(3):300–7.
4. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005;67(6):2089–100.
5. Saran R et al. US Renal Data System 2017 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. *Am J Kidney Dis* 2018 Mar;71(3 Suppl 1):A7.
6. Knechtle S J, Marson LP & Morris PJ. *Kidney Transplantation - Principles and Practice* 8th edition. Elsevier Ltd: London, UK. 2019.
7. Smart NA, Titus TT. Outcomes of early versus late nephrology referral in chronic kidney disease: a systematic review. *Am J Med* 2011;124(11):1073–80.
8. Eknoyan G, Lamiere, Barsoum R, et al: The burden of kidney disease: Improving global outcomes. *Kidney Int* 2004;66:1310–1314.
9. National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. *Am J Kidney Dis* 39 (Suppl 1):S1–S266, 2002
10. Webster AC, Nagler EV, Morton RL, Masson P. Chronic kidney disease. *Lancet* 2017;389(10075):1238–52.
11. Levey AS, Beto JA, Coronado BE, et al: Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: What do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? *Am J Kidney Dis* 32:853–906 1998.
12. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, et al: Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: A statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 108:2154–2169, 2003.
13. National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical Practice Guidelines on Hypertension and Antihypertensive Agents in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 43 (Suppl 1):S1–S290, 2004.

14. Vanholder R, Fouque D, Glorieux G, et al.; European Renal Association European Dialysis; Transplant Association (ERA-EDTA) European Renal; Cardiovascular Medicine (EURECA-m) working group. Clinical management of the uraemic syndrome in chronic kidney disease. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016;4(4):360–73.
15. Fleming GM. Renal replacement therapy review: Past, present and future. *Organogenesis* 2011 Jan-Mar;7(1):2–12.
16. Lowrie EG, Laird NM, Parker TF, et al. Effect of haemodialysis prescription on patient morbidity: report from the National Cooperative Dialysis Study. *N Engl J Med* 1981;305:1176.
17. National Kidney Foundation. NKF-DOQI clinical practice guidelines for hemodialysis adequacy. *Am J Kidney Dis* 1997 Sep;30(3 Suppl.2):S15–66.
18. Woodrow G, Davies S. Renal Association Clinical Practice Guideline on peritoneal dialysis. *Nephron Clin Pract* 2011;118 Suppl 1:c287-310
19. Mikhail A, Brown C, Williams JA, Mathrani V, Shrivastava R, Evans J, Isaac H, Bhandari S. Renal association clinical practice guideline on Anaemia of Chronic Kidney Disease. *BMC Nephrol* 2017 Nov 30;18(1):345.
20. Vincenti F, Larsen CP, Alberu J, et al. Three-year outcomes from BENEFIT, a randomized, active-controlled, parallel-group study in adult kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2012;12:210–7.
21. Jonas MM, Zilleruelo GE, Larue SI, Abitbol C, Strauss J, Lu Y. Hepatitis C infection in a pediatric dialysis population. *Pediatrics* 1992;89:707–9.
22. Molle ZL, Baqi N, Gretch D, Hidalgo G, Tejani A, Rabinowitz SS. Hepatitis C infection in children and adolescents with end-stage renal disease. *Pediatr Nephrol* 2002;17:444–9.
23. Hruska KA, Mathew S, Lund R et al. Hyperphosphatemia of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int.* 2008 July ; 74(2): 148–157.
24. Slatopolsky E, Gradowska L, Kashemsant C. The control of phosphate excretion in uremia. *J Clin Invest* 1966;45:672–677.
25. Craver L, Marco MP, Martinez I, et al. Mineral metabolism parameters throughout chronic kidney disease stages 1–5--achievement of K/DOQI target ranges. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:1171–1176.
26. Liu S, Tang W, Zhou J, et al. Fibroblast Growth Factor 23 Is a Counter-Regulatory Phosphaturic Hormone for Vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1305–1315.
27. Holliday MA. Calorie deficiency in children with uremia: effect upon growth. *Pediatrics* 1972;50:590–7.

28. Rigden SP, Start KM, Rees L. Nutritional management of infants and toddlers with chronic renal failure. *Nutr Health* 1987;5:163–74.
29. Foreman JW, Abitbol CL, Trachtman H, Garin EH, Feld LG, Strife CF, et al. Nutritional intake in children with renal insufficiency: a report of the growth failure in children with renal diseases study. *J Am Coll Nutr* 1996;15:579–85.
30. Iorember FM. Malnutrition in Chronic Kidney Disease. *Front Pediatr* 2018 Jun 20;6:161.
31. Seifter JL, Samuels MA. Uremic encephalopathy and other brain disorders associated with renal failure. *Semin Neurol* 2011 Apr;31(2):139-43.
32. Smogorzewski MJ. Central nervous dysfunction in uremia. *Am J Kidney Dis* 2001;38(4, Suppl 1):S122–S128.
33. Earley CJ. Clinical practice. Restless legs syndrome. *N Engl J Med* 2003;348(21):2103–2109
34. Holley JL, Schmidt RJ. Changes in fertility and hormone replacement therapy in kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2013 May;20(3):240-5.
35. Chilcot J, Davenport A, Wellsted D, et al. An association between depressive symptoms and survival in incident dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(5):1628–34.
36. Cooper BA, Branley P, Bulfone L, et al. A randomized, controlled trial of early versus late initiation of dialysis. *N Engl J Med* 2010;363(7):609–19.
37. Locatelli F, Altieri P, Andrulli S, et al. Hemofiltration and hemodiafiltration reduce intradialytic hypotension in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2010;21(10):1798–807.
38. Locatelli F, Martin-Malo A, Hannedouche T, et al. Effect of membrane permeability on survival of hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2009;20(3):645–54.
39. Davenport A, Peters SA, Bots ML, et al. Higher convection volume exchange with online hemodiafiltration is associated with survival advantage for dialysis patients: the effect of adjustment for body size. *Kidney Int* 2016;89(1):193–9.
40. Dheenan S, Henrich WL: Preventing dialysis hypotension: A comparison of usual protective maneuvers. *Kidney Int* 2001;59:1175–1181.
41. Himmelfarb J. Hemodialysis Complications. *Core curriculum in nephrology* 2005; 45(6): 1122-31.
42. Mehrotra R, Devuyst O, Davis JS, Johnson WD. The Current State of Peritoneal Dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2016 Nov;27(11):3238–3252.
43. Brimble KS, Walker M, Margetts PJ, Kundhal KK, Rabbat CG. Meta-analysis: peritoneal membrane transport, mortality, and technique failure in peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2006;17: 2591–2598.

44. Ni J, Verbavatz JM, Rippe A, et al. Aquaporin-1 plays an essential role in water permeability and ultrafiltration during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2006;69:1518–1525.
45. Woodrow G, Fan SL, Reid C, Denning J, Pyrah AN. Renal Association Clinical Practice Guideline on peritoneal dialysis in adults and children. *BMC Nephrol*. 2017;18(1):333.
46. Canada-USA (CANUSA) Peritoneal Dialysis Study Group. Adequacy of dialysis and nutrition in continuous peritoneal dialysis: association with clinical outcomes. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:198.
47. Strippoli GF, Tong A, Johnson D, Schena FP, Craig JC. Catheter type, placement and insertion techniques for preventing peritonitis in peritoneal dialysis patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;4:CD004680.
48. Li PK, Szeto CC, Piraino B, et al. ISPD peritonitis recommendations: 2016 update on prevention and treatment. *Perit Dial Int* 2016;36(5):481–508.
49. Korte MR, Sampimon DE, Betjes MG, Krediet RT: Encapsulating peritoneal sclerosis: the state of affairs. *Nat Rev Nephrol* 7: 528–538, 2011
50. 2017. United States Renal Data System. USRDS Annual data report: epidemiology of kidney disease in the United States. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive Kidney Diseases; 2017.
51. Hart A, Smith JM, Skeans MA, et al. Optn/Srtr 2015 Annual data report: kidney. *Am J Transplant* 2017;17(Suppl. 1):21–116.
52. Naesens M, Sarwal MM. Molecular diagnostics in transplantation. *Nat Rev Nephrol* 2010;6(10):614–28.
53. Kono H, Rock KL. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol* 2008;8(4):279–89
54. Bos EM, Leuvenink HGD, van Goor H, Ploeg RJ. Kidney grafts from brain dead donors: inferior quality or opportunity for improvement? *Kidney Int* 2007;72(7):797–805.
55. Nijboer WN, Schuurs TA, van der Hoeven JAB, et al. Effects of brain death on stress and inflammatory response in the human donor kidney. *Transplant Proc* 2005;37(1):367–9.
56. Koo DDH, Welsh KI, McLaren AJ, Roake JA, Morris PJ, Fuggle SV. Cadaver versus living donor kidneys: impact of donor factors on antigen induction before transplantation. *Kidney Int* 1999;56(4):1551–9.
57. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, et al. Accelerated rejection of renal allografts from brain-dead donors. *Ann Surg* 2000;232(2):263–71.
58. Kootstra G, Daemen JH, Oomen AP. Categories of non-heartbeating donors. *Transplant Proc* 1995;27:2893–4.

59. Thuong M, Ruiz A, Evrard P, et al. New classification of donation after circulatory death donors definitions and terminology. *Transpl Int* 2016;29(7):749–59.
60. Magliocca JF, Magee JC, Rowe SA, et al. Extracorporeal support for organ donation after cardiac death effectively expands the donor pool. *J Trauma* 2005;58(6):1095–101; discussion 1092–101.
61. Opelz G, Dohler B. Multicenter analysis of kidney preservation. *Transplantation* 2007;83(3):247–53.
62. Quiroga I, McShane P, Koo DD, et al. Major effects of delayed graft function and cold ischaemia time on renal allograft survival. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:1689–96.
63. Ojo AO, Wolfe RA, Held PJ, Port FK, Schumouder RL. Delayed graft function: risk factors and implications. *Transplantation* 1997 Apr 15;63(7):968-74.
64. Kok NF, Lind MY, Hansson BM, et al. Comparison of laparoscopic and mini-incision open donor nephrectomy: single blind, randomised controlled clinical trial. *BMJ* 2006;333(7561):221.
65. Perry KT, Freedland SJ, Hu JC, et al. Quality of life, pain and return to normal activities following laparoscopic donor nephrectomy versus open mini-incision donor nephrectomy. *J Urol* 2003;169(6):2018–21.
66. Yang SL, Harkaway R, Badosa F, Ginsberg P, Greenstein MA. Minimal incision living donor nephrectomy: improvement in patient outcome. *Urology* 2002;59(5):673–7.
67. Pitt SC, Vachharajani N, Doyle MB, Lowell JA, Chapman WC, Anderson CD, Shenoy S, Wellen JR. Organ allocation in pediatric renal transplants: is there an optimal donor? *Clin Transplant* 2013;27:938–44.
68. Van Arendonk KJ, Orandi BJ, James NT, Segev DL, Colombani PM. Living unrelated renal transplantation: a good match for the pediatric candidate? *J Pediatr Surg* 2013b;48:1277–82.
69. Papachristou F, Stabouli S, Printza N, et al. Long-term outcome of pediatric kidney transplantation: a single-center experience from Greece. *Pediatr Transplant* 2016;20:500–6.
70. Foster BJ, Dahhou M, Zhang X, Platt RW, Hanley JA. Relative importance of HLA mismatch and donor age to graft survival in young kidney transplant recipients. *Transplantation* 2013;96:469–75.
71. Dubourg L, Cochat P, Hadj-Aissa A, Tyden G, Berg UB. Better longterm functional adaptation to the child's size with pediatric compared to adult kidney donors. *Kidney Int* 2002;62:1454–60.
72. Melk A, Schmidt BM, Braun H, Vongwiwatana A, Urmson J, Zhu LF, Rayner D, Halloran PF. Effects of donor age and cell senescence on kidney allograft survival. *Am J Transplant* 2009;9:114–23.
73. Hume DM, Magee JH, Kauffman HM, et al. Renal homotransplantation in man in modified recipients. *Ann Surg* 1963;158:608–44.

74. Lee H. Surgical techniques of renal transplantation. In: Morris P, editor. *Kidney transplantation*. London: Academic Press/Grune & Stratton;1979.
75. He B, Mitchell A. A novel technique for reconstruction of multiple renal arteries in live donor kidney transplantation: a case report and literature review. *Transplant Proc* 2012 Dec;44(10):3055-8.
76. Rosenberger J, van Dijk JP, Nagyova I, et al. Predictors of perceived health status in patients after kidney transplantation. *Transplantation* 2006;81(9):1306.
77. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation and recipients of a first cadaveric transplant. *New Engl J Med* 1999;341:1725.
78. Malatesta-Muncher R, Wansapura J, Taylor M, et al. Early cardiac dysfunction in pediatric patients on maintenance dialysis and post kidney transplant. *Pediatr Nephrol*. 2012;27:1157–64.
79. Chinali M, Matteucci MC, Franceschini A, et al. Advanced Parameters of cardiac mechanics in children with CKD: the 4C study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10:1357–63.
80. Shamszad P, Slesnick TC, Smith EO, Taylor MD, Feig DI. Association between left ventricular mass index and cardiac function in pediatric dialysis patients. *Pediatr Nephrol*. 2012;27:835–41.
81. Fuentes GM, Meseguer CG, Carrion AP, et al. Long-term outcome of focal segmental glomerulosclerosis after pediatric renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 2010;25:529–34.
82. Hickson LJ, Gera M, Amer H, et al. Kidney transplantation for primary focal segmental glomerulosclerosis:outcomes and response to therapy for recurrence. *Transplantation* 2009;87:1232–9.
83. Lee SE, Min SI, Kim YS, et al. Recurrence of idiopathic focal segmental glomerulosclerosis after kidney transplantation: experience of a Korean tertiary center. *Pediatr Transplant* 2014;18:369–76.
84. Kim MS, Primack W, Harmon WE. Congenital nephrotic syndrome: preemptive bilateral nephrectomy and dialysis before renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1992;3:260–3.
85. Mattoo TK, Al-Sowailem AM, Al-Harbi MS, Mahmood MA, Katawee Y, Hassab MH. Nephrotic syndrome in 1st year of life and the role of unilateral nephrectomy. *Pediatr Nephrol* 1992;6:16–8.
86. Bagga HS, Lin S, Williams A, Schold J, Chertack N, Goldfarb D, Wood H. Trends in renal transplantation rates in patients with congenital urinary tract disorders. *J Urol* 2016;195:1257–62.
87. Sierralta MC, Gonzalez G, Nome C, et al. Kidney transplant in pediatric patients with severe bladder pathology. *Pediatr Transplant* 2015;19:675–83.
88. Aki FT, Aydin AM, Dogan HS, et al. Does lower urinary tract status affect renal transplantation outcomes in children? *Transplant Proc* 2015;47:1114–6.

89. Kist-Van Holthe JE, Ho PL, Stablein D, Harmon WE, Baum MA. Outcome of renal transplantation for Wilms' tumor and Denys-Drash syndrome: a report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study. *Pediatr Transplant* 2005;9:305–10.
90. European best practice guidelines for renal transplantation. Section IV: Long-term management of the transplant recipient. IV.11 Paediatrics (specific problems). *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(Suppl. 4):55–8.
91. Slickers J, Duquette P, Hooper S, Gipson D. Clinical predictors of neurocognitive deficits in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007;22:565–72.
92. Qvist E, Pihko H, Fagerudd P, et al. Neurodevelopmental outcome in high-risk patients after renal transplantation in early childhood. *Pediatr Transplant* 2002;6:53–62.
93. Starzl TE, Marchioro TL, Dickinson TC, et al. Technique of renal homotransplantation. Experience with 42 cases. *Arch Surg* 1964;89:87–104.
94. Lich Jr R. Obstructive diseases of the urinary tract in children. *J Ark Med Soc* 1961;58:127–30.
95. Politano VA, Leadbetter WF. An operative technique for the correction of vesicoureteral reflux. *J Urol* 1958;79(6):932–41.
96. Stevens A, Marshall V. Reimplantation of the ureter into the bladder. *Surg Gynecol Obstet* 1943;77:585–94.
97. Benoit G, Blanchet P, Eschwege P, et al. Insertion of a double pigtail ureteral stent for the prevention of urological complications in renal transplantation: a prospective randomized study. *J Urol* 1996;156(3):881–4.
98. Pleass HC, Clark KR, Rigg KM, et al. Urologic complications after renal transplantation: a prospective randomized trial comparing different techniques of ureteric anastomosis and the use of prophylactic ureteric stents. *Transplant Proc* 1995;27(1):1091–2.
99. Wilson CH, Rix DA, Manas DM. Routine intraoperative ureteric stenting for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;(6):CD004925.
100. Belzer FO, Schweitzer RT, Holliday M, et al. Renal homotransplantation in children. *Am J Surg* 1972;124(2):270–8.
101. Najarian JS, Simmons RL, Tallent MB, et al. Renal transplantation in infants and children. *Ann Surg* 1971;174(4):583–601.
102. Broyer M, Gagnadoux MF, Beurton D, et al. Transplantation in children: technical aspects, drug therapy and problems related to primary renal disease. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1981;18:313–21.
103. Nahas WC, Mazzucchi E, Scafuri AG, et al. Extraperitoneal access for kidney transplantation in children weighing 20 kg. or less. *J Urol* 2000;164(2):475–8.

104. Starzl T. Experience in renal transplantation. Philadelphia: WB Saunders; 1964.
105. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009;9(Suppl. 3):S1–155.
106. European Renal Best Practice Transplantation Guideline Development Group. ERBP guideline on the management and evaluation of the kidney donor and recipient. *Nephrol Dial Transplant* 2013;28(Suppl. 2):ii1–71.
107. Taylor CJ, Kosmoliaptsis V, Sharples LD, et al. Ten-year experience of selective omission of the pretransplant crossmatch test in deceased donor kidney transplantation. *Transplantation* 2010;89(2):185–93.
108. Racusen LC, Haas M. Antibody-mediated rejection in renal allografts: lessons from pathology. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1(3):415–20.
109. Lefaucheur C, Nochy D, Hill GS, et al. Determinants of poor graft outcome in patients with antibody-mediated acute rejection. *Am J Transplant* 2007;7(4):832–41.
110. Haas M, Sis B, Racusen LC, et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of C4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 2014;14(2):272–83.
111. Bloom RD, Bromberg JS, Poggio ED, et al. Cell-free DNA and active rejection in kidney allografts. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(7):2221–32.
112. Garg N, Samaniego MD, Clark D, et al. Defining the phenotype of antibody-mediated rejection in kidney transplantation: advances in diagnosis of antibody injury. *Transplant Rev* 2017;31(4):257–67.
113. Kim SC, Page EK, Knechtle SJ. Urine proteomics in kidney transplantation. *Transplant Rev* 2014;28(1):15–20.
114. Sis B, Mengel M, Haas M, et al. Banff'09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant* 2010;10(3):464–71.
115. Rose EM, Kennedy SE, Mackie FE. Surveillance biopsies after paediatric kidney transplantation: A review. *Pediatr Transplant* 2016;20:748–55.
116. Moore J, Shabir S, Chand S, et al. Assessing and comparing rival definitions of delayed renal allograft function for predicting subsequent graft failure. *Transplantation* 2010;90(10):1113–6.
117. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica Jr RN, et al. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(3):1039–47.

118. Siedlecki A, Irish W, Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant. *Am J Transplant* 2011;11(11):2279–96.
119. Naesens M, Kuypers DR, Sarwal M. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4(2):481–508.
120. Jacobson PA, Schladt D, Israni A, et al. Genetic and clinical determinants of early, acute calcineurin inhibitor-related nephrotoxicity: results from a kidney transplant consortium. *Transplantation* 2012;93(6):624–31.
121. Solez K, Vincenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1998;66(12):1736–40.
122. Smith JM, Martz K, Blydt-Hansen TD. Pediatric kidney transplant practice patterns and outcome benchmarks, 1987-2010: a report of the North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies. *Pediatr Transplant* 2013;17:149–57.
123. El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ, Kremers WK, Amer H, Gloor JM, Cosio FG. Identifying specific causes of kidney allograft loss. *Am J Transplant* 2009;9:527-535.
124. El Ters M, Grande JP, Keddiss MT, et al. Kidney allograft survival after acute rejection, the value of follow-up biopsies. *Am J Transplant* 2013;13:2334-2341.
125. Colvin RB. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:1046-1056.
126. Gwinner W, Metzger J, Husi H, Marx D. Proteomics for rejection diagnosis in renal transplant patients: Where are we now? *World J Transplant* 2016;6(1):28-41.
127. Gwinner W. Renal transplant rejection markers. *World J Urol* 2007;25: 445-455.
128. Chandarana H, Lee VS. Renal functional MRI: are we ready for clinical application? *AJR Am J Roentgenol* 2009;192(6):1550–7.
129. Jiang SH, Karpe KM, Talaulikar GS. Safety and predictors of complications of renal biopsy in the outpatient setting. *Clin Nephrol* 2011;76(6):464–9.
130. Wu O, Levy AR, Briggs A, Lewis G, Jardine A. Acute rejection and chronic nephropathy: a systematic review of the literature. *Transplantation* 2009;87(9):1330–9.
131. Lanzman, R.S. et al. ECG-gated nonenhanced 3D steady-state free precession MR angiography in assessment of transplant renal arteries: comparison with DSA. *Radiology* 2009;252:914–921.
132. Thoeny HC, et al. Functional evaluation of transplanted kidneys with diffusion-weighted and BOLD MR imaging: initial experience. *Radiology* 2006;241:812–821.
133. Lanzman, R.S. et al. Kidney transplant: functional assessment with diffusion-tensor MR imaging at 3T. *Radiology* 2013;266:218–225.

134. Zhang JL, et al. Variability of renal apparent diffusion coefficients: limitations of the monoexponential model for diffusion quantification. *Radiology* 2010;254(3):783–92.
135. Sadowski EA, et al. Nephrogenic systemic fibrosis: risk factors and incidence estimation. *Radiology* 2007;243:148–157.
136. Buchanan CE, Cox EF, Francis ST. Evaluation of 2D Imaging Schemes for Pulsed Arterial Spin Labeling of the Human Kidney Cortex. *Diagnostics* 2018;8:43.
137. Park SB, Kim JK, Cho KS. Complications of renal transplantation: ultrasonographic evaluation. *J Ultrasound Med* 2007;26:615.
138. Thalhammer C, Aschwanden M, Mayr M, et al. Colour-coded duplex sonography after renal transplantation. *Ultraschall Med* 2007;28:6.
139. Krumme B, Blum U, Schwertfeger E, Flugel P, Hollstin F, Schollmeyer P, Rump LC: Diagnosis of renovascular disease by intra- and extrarenal Doppler scanning. *Kidney Int* 1996;50:1288–1292.
140. Krumme B, Rump LC: Colour Doppler sonography to screen for renal artery stenosis – technical points to consider. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:2385–2389.
141. Radermacher J, Mengel M, Ellis S, et al. The renal arterial resistance index and renal allograft survival. *N Engl J Med* 2003;349:115–124.
142. Heine GH, Gerhart MK, Ulrich C, Kohler H, Girndt M: Renal Doppler resistance indices are associated with systemic atherosclerosis in kidney transplant recipients. *Kidney Int* 2005;68:878–885.
143. Dupont PJ, Dooldeniya M, Cook T, Warrens AN. Role of duplex Doppler sonography in diagnosis of acute allograft dysfunction – time to stop measuring the resistive index? *Transpl Int* 2003;16:648–652.
144. Friedewald SM, Molmenti EP, Friedewald JJ, et al. Vascular and nonvascular complications of renal transplants: sonographic evaluation and correlation with other imaging modalities, surgery, and pathology. *J Clin Ultrasound* 2005;33:127.
145. Cosgrove DE, Chan KE. Renal Transplants: What Ultrasound Can and Cannot Do. *Ultrasound Quarterly* 2008;24:77Y87
146. O’Neill W, Baumgarten D. Ultrasonography in renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 2002;39:663.
147. de Moraes RH, Muglia VF, Mamere AE, et al. Duplex Doppler sonography of transplant renal artery stenosis. *J Clin Ultrasound* 2003;31:135.
148. Saracino A, Santarsia G, Latorraca A, et al. Early assessment of renal resistance index after kidney transplant can help predict long-term renal function. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2916

149. Aschwanden M, Thalhammer C, Schaub S, et al. Renal vein thrombosis after renal transplantation. Vearly diagnosis by duplex sonography prevented fatal outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:825.
150. Lachance SL, Adamson D, Barry JM. Ultrasonically determined kidney transplant hypertrophy. *J Urol* 1988;139:497.
151. Heckemann R, Rehwald U, Jakubowski HD, et al. Sonographic criteria for renal allograft rejection. *Urol Radiol* 1982;4:15.
152. Linkowski GD, Warvariv V, Filly RA, et al. Sonography in the diagnosis of acute renal allograft rejection and cyclosporine nephrotoxicity. *AJR Am J Roentgenol* 1987;148:291.
153. Van Rompaey W, Vereycken H. Postoperative fluid collection after renal transplantation. *J Belge Radiol* 1987;70:574.
154. Goerres G, Muller-Brand J. Urinoma in a renal transplant patient. *Clin Nucl Med* 1996;21:503.
155. Zietek Z, Sulikowski T, Tejchman K, et al. Lymphocele after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2007;39:2744.
156. Berger PM, Diamond JR. Ureteral obstruction as a complication of renal transplantation: a review. *J Nephrol* 1998;11:20.
157. Kamath NS, John GT, Neelakantan N, et al. Acute graft pyelonephritis following renal transplantation. *Transpl Infect Dis* 2006;8:140.
158. Harrison KL, Nghiem HV, Coldwell DM, et al. Renal dysfunction due to an arteriovenous fistula in a transplant recipient. *J Am Soc Nephrol* 1994;5:1300.
159. Nakatani T, Uchida J, Han YS, et al. Renal allograft arteriovenous fistula and large pseudoaneurysm. *Clin Transplant* 2003;17:9.
160. Akbar SA, Jafri ZH, Amendola MA, Madrazo BL, Salem R, Bis KG. Complications of Renal Transplantation. *RadioGraphics* 2005; 25:1335–1356.
161. Middleton WD, Kellman GM, Melson GL, Madrazo BL. Postbiopsy renal transplant arteriovenous fistulas: Color doppler US characteristics. *Radiology* 1989;171:253–257.
162. Baccarani U, Adani GL, Montanaro D, et al. De novo malignancies after kidney and liver transplantations: experience on 582 consecutive cases. *Transplant Proc* 2006;38:1135.
163. Gray DWR. Graft renal artery stenosis in the transplanted kidney. *Transplant Rev* 1994;8:15–21.
164. Dodd G, Tublin M, Shah A, et al. Imaging of vascular complications associated with renal transplantation. *AJR Am J Roentgenol* 1991;157:449–459.
165. Kreis HA, Ponticelli C. Causes of late renal allograft loss: chronic allograft dysfunction, death, and other factors. *Transplantation* 2001;71(suppl):S5–S9.

166. Hilborn MD, Bude RO, Murphy KJ, Platt JF, Rubin JM: Renal transplant evaluation with power Doppler sonography. *Br J Radiol* 1997;70:39–42.
167. Mallek R, Mostbeck GH, Kain R, Sunder-Plassmann G, Helbich T, Tscholakoff D. Polyetiology of renal allograft dysfunction: Does calculation of the resistive index still make sense? *Acta Radiol* 1992;33:434–439.
168. Scholbach T, Girelli E, Scholbach J: Dynamic tissue perfusion measurement: a novel tool in follow-up of renal transplants. *Transplantation* 2005;79:1711–1716.
169. de Francisco AM, Riancho JA, Amado JA, et al. Calcium, hyperparathyroidism, and vitamin D metabolism after kidney transplantation. *Transplant Proc* 1987;19:3721.
170. Bennett L, Voegeli D, Crummy A, et al. Urologic complications following renal transplantation: Role of interventional radiologic procedures. *Radiology* 1986;160:531–536.
171. Schwarz A, Vatandaslar S, Merkel S, et al. Renal cell carcinoma in transplant recipients with acquired cystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2:750.
172. Penn I, Brunson M. Cancers after cyclosporine therapy. *Transplant Proc* 1988;20(suppl 3):885–892.
173. Scott M, Sells R. Primary adenocarcinoma in a transplanted cadaveric kidney. *Transplantation* 1988;46:157–158.
174. Vrachliotis T, Vaswani K, Davies E, et al. CT findings in posttransplantation lymphoproliferative disorder of renal transplants. *AJR Am J Roentgenol* 2000;175:183–188.
175. Caroli A., Pruijm M., Burnier M., Selby NM. Functional magnetic resonance imaging of the kidneys: where do we stand? The perspective of the European COST Action PARENCHIMA. *Nephrol Dial Transplant* 2018;33:ii1–ii3.
176. Prasad PV. Functional MRI of the kidney: tools for translational studies of pathophysiology of renal disease. *Am J Physiol Ren Physiol* 2006;290:958–974.
177. Mendichovszky I et al. Technical recommendations for clinical translation of renal MRI: a consensus project of the Cooperation in Science and Technology Action PARENCHIMA. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* 2020;33:131–140.
178. Wolf M (2016) Magnetic resonance imaging biomarkers for chronic kidney disease. www.renal-mri.org.
179. Pruijm M et al. Renal blood oxygenation level-dependent magnetic resonance imaging to measure renal tissue oxygenation: a statement paper and systematic review. *Nephrol Dial Transplant* 2018;33:ii22–ii28.
180. Jerome NP et al. Magnetic resonance imaging T1- and T2-mapping to assess renal structure and function: a systematic review and statement paper. *Nephrol Dial Transplant* 2018;33:ii41–ii50.

181. Odudu A et al. Arterial spin labelling MRI to measure renal perfusion: a systematic review and statement paper. *Nephrol Dial Transplant* 2018;33:ii15–ii21.
182. Caroli A et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging to assess diffuse renal pathology: a systematic review and statement paper. *Nephrol Dial Transplant* 2018;33:29–40.
183. Detre JA, Leigh JS, Williams DS, Koretsky AP. Perfusion imaging. *Magn Reson Med* 1992;23:37–45.
184. Williams DS, Detre JA, Leigh JS, Koretsky AP. Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:212–216.
185. Luh WM, Wong EC, Bandettini PA, Hyde JS. QUIPSS II with thin-slice T1I periodic saturation: A method for improving accuracy of quantitative perfusion imaging using pulsed arterial spin labeling. *Magn. Reson. Med.* 1999;41:1246–1254.
186. Grubb RL, Raichle ME, Eichling JO, Ter-Pogossian MM. The effects of changes in PCO₂ on cerebral blood volume, blood flow, and vascular mean transit time. *Stroke* 1974;5:630–639.
187. Wong EC. An Introduction to ASL Labeling Techniques. *J. Magn. Reson. Imaging* 2014;40:1–10.
188. Nery F, Buchanan CE, Hartevelde AA, et al. Consensus-based technical recommendations for clinical translation of renal ASL MRI. *Magn Reson Mater Phy* 2020;33:141–161.
189. Dai W, Garcia D, de Bazelaire C, Alsop DC. Continuous flow driven inversion for arterial spin labeling using pulsed radio frequency and gradient fields. *Magn Reson Med* 2008;60:1488–1497.
190. Wolff SD, Balaban RS. Magnetization transfer contrast (MTC) and tissue water proton relaxation in vivo. *Magn Reson Med* 1989;10:135–144.
191. Alsop DC, Detre JA. Multisection cerebral blood flow MR imaging with continuous arterial spin labeling. *Radiology* 1998;208:410–416.
192. Edelman RR, Chen Q. EPISTAR MRI: multislice mapping of cerebral blood flow. *Magn Reson Med* 1998;40:800–805.
193. Golay X, Petersen ET, Hui F. Pulsed star labeling of arterial regions (PULSAR): a robust regional perfusion technique for high field imaging. *Magn Reson Med* 2005;53:15–21.
194. Kim SG. Quantification of relative cerebral blood flow change by flow-sensitive alternating inversion recovery (FAIR) technique: application to functional mapping. *Magn Reson Med* 1995;34:293–301.
195. Wong EC, Buxton RB, Frank LR. Implementation of quantitative perfusion imaging techniques for functional brain mapping using pulsed arterial spin labeling. *NMR Biomed* 1997;10:237–249.
196. Frank LR, Wong EC, Buxton RB. Slice profile effects in adiabatic inversion: application to multislice perfusion imaging. *Magn Reson Med* 1997;38:558–564.

197. Garwood M, DelaBarre L. The return of the frequency sweep: designing adiabatic pulses for contemporary NMR. *J Magn Reson* 2001;153:155–177.
198. Wong EC, Buxton RB, Frank LR. Quantitative imaging of perfusion using a single subtraction (QUIPSS and QUIPSS II). *Magn Reson Med* 1998;39:702–708.
199. Wong EC, Buxton RB, Frank LR. Implementation of quantitative perfusion imaging techniques for functional brain mapping using pulsed arterial spin labeling. *NMR Biomed* 1997;10:237–249.
200. Ordidge RJ, Wylezinska M, Hugg JW, Butterworth E, Franconi F. Frequency offset corrected inversion (FOCI) pulses for use in localized spectroscopy. *Magn Reson Med* 1996;36:562–566.
201. Wang X, Greer JS, Dimitrov IE, Pezeshk P, Chhabra A, Madhuranthakam AJ. Frequency offset corrected inversion pulse for B0 and B1 insensitive fat suppression at 3T: application to MR neurography of brachial plexus. *J Magn Reson Imaging* 2018;48:1104–1111.
202. Prasad PV, Li L-P, Thacker JM, et al. Cortical perfusion and tubular function as evaluated by magnetic resonance imaging correlates with annual loss in renal function in moderate chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2019;49:114–124.
203. Tan H, Koktzoglou I, Prasad P. Renal perfusion imaging with two-dimensional navigator gated arterial spin labeling. *Magn Reson Med* 2014;71:570–579.
204. Cai Y, Li Z, Zuo P, Pfeuffer J, Li Y, Liu F, Liu R. Diagnostic value of renal perfusion in patients with chronic kidney disease using 3D arterial spin labeling. *J Magn Reson Imaging* 2017;46:589–594.
205. Wong EC, Buxton RB, Frank LR. A theoretical and experimental comparison of continuous and pulsed arterial spin labeling techniques for quantitative perfusion imaging. *Magn Reson Med* 1998;40:348–355.
206. Wong EC, Cronin M, Wu WC, Inglis B, Frank LR, Liu TT. Velocity selective arterial spin labeling. *Magn Reson Med* 2006;55:1334–1341.
207. Dixon WT, Sardashti M, Castillo M, Stomp GP. Multiple inversion recovery reduces static tissue signal in angiograms. *Magn Reson Med* 1991;18:257–268.
208. Ye FQ, Frank JA, Weinberger DR, McLaughlin AC. Noise reduction in 3D perfusion imaging by attenuating the static signal in arterial spin tagging (ASSIST). *Magn Reson Med* 2000;44:92–100.
209. Garcia DM, Duhamel G, Alsop DC. Efficiency of inversion pulses for background suppressed arterial spin labeling. *Magn Reson Med* 2005;54:366–372.
210. Greer JS, Wang X, Wang Y, Pinho MC, Maldjian JA, Pedrosa I, Madhuranthakam AJ. Robust pCASL perfusion imaging using a 3D Cartesian acquisition with spiral profile reordering (CASPR). *Magn Reson Med* 2019 Nov;82(5):1713–1724.

211. Taso M, Guidon A, Alsop DC. Influence of background suppression and retrospective realignment on free-breathing renal perfusion measurement using pseudo-continuous ASL. *Magn Reson Med* 2019;81:2439–2449.
212. Chavhan GB, Babyn PS, Vasanawala SS. Abdominal MR imaging in children: motion compensation, sequence optimization, and protocol organization. *Radiographics* 2013;33:703–719
213. Dong J, Yang L, Su T, Yang X, Chen B, Zhang J, Wang X, Jiang X. Quantitative assessment of acute kidney injury by noninvasive arterial spin labeling perfusion MRI: a pilot study. *Sci China Life Sci* 2013;56:745–750.
214. Nery F, De Vita E, Clark CA, Gordon I, Thomas DL. Robust kidney perfusion mapping in pediatric chronic kidney disease using single-shot 3D-GRASE ASL with optimized retrospective motion correction. *Magn Reson Med* 2019;81:2972–2984.
215. Robson PM, Madhuranthakam AJ, Dai W, Pedrosa I, Rofsky NM, Alsop DC. Strategies for reducing respiratory motion artifacts in renal perfusion imaging with arterial spin labeling. *Magn Reson Med*. 2009;61:1374–1387.
216. Cox EF, Buchanan CE, Bradley CR, Prestwich B, Mahmoud H, Taal M, Selby NM, Francis ST. Multiparametric renal magnetic resonance imaging: Validation, interventions, and alterations in chronic kidney disease. *Front Physiol* 2017;8:696.
217. Wu W-C, Su M-Y, Chang C-C, Tseng W-YI, Liu K-L. Renal perfusion 3-T MR imaging: a comparative study of arterial spin labeling and dynamic contrast-enhanced techniques. *Radiology* 2011;261:845–853.
218. Martirosian P, Klose U, Mader I, Schick F. FAIR true- FISP perfusion imaging of the kidneys. *Magn Reson Med* 2004;51:353–361.
219. Niles DJ, Artz NS, Djamali A, Sadowski EA, Grist TM, Fain SB. Longitudinal assessment of renal perfusion and oxygenation in transplant donor-recipient pairs using arterial spin labeling and blood oxygen level-dependent magnetic resonance imaging. *Invest Radiol* 2016;51:113–120.
220. Ljimani, A., Caroli, A., Laustsen, C. et al. Consensus-based technical recommendations for clinical translation of renal diffusion-weighted MRI. *Magn Reson Mater Phy* 2020;33,177–195.
221. Le Bihan D, Iima M. Diffusion magnetic resonance imaging: what water tells us about biological tissues. *PLoS Biol* 2015;13:e1002203.
222. Caroli A, Schneider M, Friedli I, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging to assess diffuse renal pathology: a systematic review and statement paper. *Nephrol Dial Transplant* 2018 Sep 1;33(suppl_2):ii29-ii40.

223. Malyarenko DI, Wilmes LJ, Arlinghaus LR, et al. QIN DAWG validation of gradient nonlinearity bias correction workflow for quantitative diffusion-weighted imaging in multicenter trials. *Tomography* 2016;2(4):396–405.
224. Lemke A, Stieltjes B, Schad LR, Laun FB. Toward an optimal distribution of b values for intravoxel incoherent motion imaging. *Magn Reson Imaging* 2011;29(6):766–776.
225. Zhang JL, Sigmund EE, Chandarana H et al. Variability of renal apparent diffusion coefficients: limitations of the monoexponential model for diffusion quantification. *Radiology* 2010;254:783–792.
226. Basser PJ. Inferring microstructural features and the physiological state of tissues from diffusion-weighted images. *NMR Biomed* 1995;8:333–344.
227. Sigmund EE, Vivier PH, Sui D et al. Intravoxel incoherent motion and tensor imaging in renal tissue under hydration and furosemide flow challenges. *Radiology* 2012;263:758–769.
228. Yoshikawa T, Ohno Y, Kawamitsu H et al. Abdominal apparent diffusion coefficient measurements: effect of diffusion-weighted image quality and usefulness of anisotropic images. *Magn Reson Imaging* 2008;26:1415–1420.
229. Cheung JS, Fan SJ, Chow AM et al. Diffusion tensor imaging of renal ischemia reperfusion injury in an experimental model. *NMR Biomed* 2010;23:496–502.
230. Wittsack HJ, Lanzman RS, Quentin M et al. Temporally resolved electrocardiogram-triggered diffusion-weighted imaging of the human kidney: correlation between intravoxel incoherent motion parameters and renal blood flow at different time points of the cardiac cycle. *Invest Radiol* 2012;47:226–230.
231. Hueper K, Khalifa AA, Brasen JH et al. Diffusion-weighted imaging and diffusion tensor imaging detect delayed graft function and correlate with allograft fibrosis in patients early after kidney transplantation. *J Magn Reson Imaging* 2016;44:112–121.
232. Friedli I, Crowe LA, Berchtold L et al. New magnetic resonance imaging index for renal fibrosis assessment: a comparison between diffusion-weighted imaging and T1 mapping with histological validation. *Sci Rep* 2016; 6: 30088.
233. Park SY, Kim CK, Park BK et al. Assessment of early renal allograft dysfunction with blood oxygenation level-dependent MRI and diffusion-weighted imaging. *Eur J Radiol* 2014; 83: 2114–2121.
234. Derlin T, Gueler F, Brasen JH et al. Integrating MRI and chemokine receptor CXCR4-targeted PET for detection of leukocyte infiltration in complicated urinary tract infections after kidney transplantation. *J Nucl Med* 2017;58: 1831–1837.
235. Boor P, Perkuhn M, Weibrecht M et al. Diffusion-weighted MRI does not reflect kidney fibrosis in a rat model of fibrosis. *J Magn Reson Imaging* 2015;42: 990–998.

236. Stejskal EO, Tanner JE. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *J Chem Phys* 1965;42(1):288–292.
237. Cheung JS, Fan SJ, Chow AM, Zhang J, Man K, Wu EX (2010) Diffusion tensor imaging of renal ischemia reperfusion injury in an experimental model. *NMR Biomed* 23(5):496–502.
238. Zhang JL, Sigmund EE, Rusinek H, et al. Optimization of b value sampling for diffusion-weighted imaging of the kidney. *Magn Reson Med* 2012;67(1):89–97.
239. Lemke A, Stieltjes B, Schad LR, Laun FB. Toward an optimal distribution of b values for intravoxel incoherent motion imaging. *Magn Reson Imaging* 2011;29(6):766–776.
240. Ljimini A, Lanzman RS, Muller-Lutz A, Antoch G, Wittsack HJ. Non-gaussian diffusion evaluation of the human kidney by Pade exponent model. *J Magn Reson Imaging* 2018 Jan;47(1):160–167.
241. Blondin D, Lanzman RS, Mathys C, Grottemeyer D, Voiculescu A, Sandmann W, Rump LC, Modder U, Wittsack HJ. Functional MRI of transplanted kidneys using diffusion-weighted imaging. *RoFo: Fortschr Geb Rontgenstrahlen Nuklearmed* 2009;81(12):1162–1167.
242. Schneider MJ, Notohamiprodjo M, Dietrich O. IVIM MRI the Kidney. In: LeBihan D, Iima M, Federau C, Sigmund EE (eds) *Intravoxel incoherent motion (IVIM) MRI*, vol 1. Pan Stanford Publishing, Singapore, 2019 pp 261–282.
243. Gurney-Champion OJ, Klaassen R, Froeling M, et al. Comparison of six fit algorithms for the intra-voxel incoherent motion model of diffusion weighted magnetic resonance imaging data of pancreatic cancer patients. *PLoS One* 2018;13(4):e0194590.
244. Cho GY, Moy L, Zhang JL, Baete S, Lattanzi R, Moccaldi M, Babb JS, Kim S, Sodickson DK, Sigmund EE. Comparison of fitting methods and b value sampling strategies for intravoxel incoherent motion in breast cancer. *Magn Reson Med* 2015;74(4):1077–1085.
245. Meeus EM, Novak J, Withey SB, Zarinabad N, Dehghani H, Peet AC. Evaluation of intravoxel incoherent motion fitting methods in low-perfused tissue. *J Magn Reson Imaging* 2017;45(5):1325–1334.
246. Jalnefjord O, Andersson M, Montelius M, Starck G, Elf AK, Johanson V, Svensson J, Ljungberg M. Comparison of methods for estimation of the intravoxel incoherent motion (IVIM) diffusion coefficient (D) and perfusion fraction (f). *MAGMA* 2018;31(6):715–723.
247. Barbieri S, Donati OF, Froehlich JM, Thoeny HC. Impact of the calculation algorithm on biexponential fitting of diffusionweighted MRI in upper abdominal organs. *Magn Reson Med* 2016;5(5):2175–2184.

248. van Baalen S, Leemans A, Dik P, Lilien MR, Ten Haken B, Froeling M. Intravoxel incoherent motion modeling in the kidneys: comparison of mono-, bi-, and triexponential fit. *J Magn Reson Imaging* 2017;46(1):228–239.
249. van der Bel R, Gurney-Champion OJ, Froeling M, Stroes ESG, Nederveen AJ, Krediet CTP. A tri-exponential model for intravoxel incoherent motion analysis of the human kidney: in silico and during pharmacological renal perfusion modulation. *Eur J Radiol* 2017;91:168–174.
250. Ebrahimi B, Saad A, Jiang K, et al. Renal adiposity confounds quantitative assessment of markers of renal diffusion with MRI: a proposed correction method. *Invest Radiol* 2017;52(11):672–679.
251. Hagmann P, Jonasson L, Maeder P, Thiran JP, Wedeen VJ, Meuli R. Understanding diffusion MR imaging techniques: from scalar diffusion-weighted imaging to diffusion tensor imaging and beyond. *Radiographics* 2006;26(Suppl 1):S205–S223
252. Basser PJ. Inferring microstructural features and the physiological state of tissues from diffusion-weighted images. *NMR Biomed* 1995;8(7–8):333–344
253. Blondin D, Lanzman RS, Klasen J, Scherer A, Miese F, Kropil P, Wittsack HJ. Diffusion-attenuated MRI signal of renal allografts: comparison of two different statistical models. *AJR Am J Roentgenol* 2011;196(6):701–705.
254. Kataoka M, Kido A, Yamamoto A, Nakamoto Y, Koyama T, Isoda H, Maetani Y, Umeoka S, Tamai K, Saga T, Morisawa N, Mori S, Togashi K. Diffusion tensor imaging of kidneys with respiratory triggering: optimization of parameters to demonstrate anisotropic structures on fraction anisotropy maps. *J Magn Reson Imaging* 2009;29(3):736–744
255. Lu L, Sedor JR, Gulani V, Schelling JR, O'Brien A, Flask CA, MacRae Dell K. Use of diffusion tensor MRI to identify early changes in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 2011;34(5):476–482
256. Notohamiprodjo M, Glaser C, Herrmann KA, Dietrich O, Attenberger UI, Reiser MF, Schoenberg SO, Michaely HJ. Diffusion tensor imaging of the kidney with parallel imaging: initial clinical experience. *Invest Radiol* 2008;43(10):677–685.
257. Ries M, Jones RA, Basseau F, Moonen CT, Grenier N. Diffusion tensor MRI of the human kidney. *J Magn Reson Imaging* 2001;14(1):42–49.
258. Sigmund EE, Vivier HV, Sui D, et al. Intravoxel incoherent motion (IVIM) and diffusion tensor imaging (DTI) in renal tissue under hydration and furosemide flow challenges. *Radiology* 2012;263(3):758–769.
259. Thoeny HC, Binser T, Roth B, Kessler TM, Vermathen P. Noninvasive assessment of acute ureteral obstruction with diffusion-weighted MR imaging: a prospective study. *Radiology* 2009;252(3):721–728.

260. Wu M, Lin Y, Shieh C, Wan Y, Yen TH, Ng K, Wai Y, Wang J. Measuring anisotropic diffusion in kidney using MRI. *Acad Radiol* 2011;18(9):1168–1174.
261. Notohamiprodjo M, Dietrich O, Horger W, Horng A, Helck AD, Herrmann KA, Reiser MF, Glaser C. Diffusion tensor imaging (DTI) of the kidney at 3 tesla-feasibility, protocol evaluation and comparison to 1.5 Tesla. *Invest Radiol* 2010;45(5):245–254.
262. Hilbert F, Bock M, Neubauer H, Veldhoen S, Wech T, Bley TA, Kostler H. An intravoxel oriented flow model for diffusion weighted imaging of the kidney. *NMR Biomed* 2016;29(10):1403–1413.
263. Ozcelik U, Cevik H, Bircan HY, Yarbug Karakayali F, Isiklar I, Haberal M. Evaluation of transplanted kidneys and comparison with healthy volunteers and kidney donors with diffusion weighted magnetic resonance imaging: initial experience. *Exp Clin Transplant* 2017 Mar 22. <https://doi.org/10.6002/ect.2016.0341>
264. Levey AS et al. GFR estimation by the MDRD equation using a standardized creatinine assay. *Nat Rev Nephrol* 2006;2,607.
265. Schwart GJ, Haycock GB, Edelmann CM, Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976;58(2):259–63.
266. Viazzi F, Leoncini G, Derchi LE, Pontremoli R. Ultrasound Doppler renal resistive index: a useful tool for the management of the hypertensive patient. *J Hypertens* 2014;32(1):149–153.
267. Nery F, Gordon I, Thomas DL. Non-Invasive Renal Perfusion Imaging Using Arterial Spin Labeling MRI: Challenges and Opportunities. *Diagnostics* 2018;8 (2)
268. Harteveld AA, et al. Comparison of multi-delay FAIR and pCASL labeling approaches for renal perfusion quantification at 3T MRI. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* 2020;33:81–94.
269. Bones IK, et al. Enabling free-breathing background suppressed renal pCASL using fat imaging and retrospective motion correction. *Magn Reson Med* 2019;82:276–288.
270. Lu-Ping L, Tan H, Thacker JM et al. Evaluation of Renal Blood Flow in Chronic Kidney Disease Using Arterial Spin Labeling Perfusion Magnetic Resonance Imaging. *Kidney Int Rep* 2017;2:36–43.
271. Radovic, T., Jankovic, M.M., Stevic, R. et al. Detection of impaired renal allograft function in paediatric and young adult patients using arterial spin labelling MRI (ASL-MRI). *Sci Rep* 2022;12: 828.
272. Ahn H-S, Yu HC, Kwak HS, Park S-H. Assessment of Renal Perfusion in Transplanted Kidney Patients Using Pseudo-Continuous Arterial Spin Labeling with Multiple Post-Labeling Delays. *European Journal of Radiology* 2020;30(9):109200.

273. Wang W. et al. Early detection of subclinical pathology in patients with stable kidney graft function by arterial spin labelling. *Eur Radiol* 2021;31:2687–2695.
274. Heusch P. et al. Correlation of biexponential diffusion parameters with arterial spin-labeling perfusion MRI: results in transplanted kidneys *Invest Radiol* 2013;48(3):140–4.
275. Rossi C, Artunc F, Martirosian P, Schlemmer HP, Schick F, Boss A. Histogram analysis of renal arterial spin labeling perfusion data reveals differences between volunteers and patients with mild chronic kidney disease. *Invest Radiol* 2012;47:490–496.
276. Ren T. et al. Evaluation of renal allografts function early after transplantation using intravoxel incoherent motion and arterial spin labeling MRI. *Magnetic Resonance Imaging* 2016;34:908–914.
277. Tan H, Koktzoglou I, Prasad PV. Renal perfusion imaging with two-dimensional navigator gated arterial spin labeling. *Magn Reson Med* 2014;71:570–579.
278. Boss A, Martirosian P, Graf H et al. High resolution MR perfusion imaging of the kidneys at 3 Tesla without administration of contrast media. *Rofo* 2005;177:1625–1630.
279. Chowdhury AH, Cox EF, Francis ST et al. A randomized, controlled, double-blind crossover study on the effects of 1-L infusions of 6% hydroxyethyl starch suspended in 0.9% saline (voluven) and a balanced solution (Plasma Volume Redibag) on blood volume, renal blood flow velocity, and renal cortical tissue perfusion in healthy volunteers. *Ann Surg* 2014;259:881–887.
280. Wang J, Zhang Y, Yang X et al. Hemodynamic effects of furosemide on renal perfusion as evaluated by ASL-MRI. *Acad Radiol* 2012;19:1194–1200.
281. Cutajar M, Thomas DL, Banks T, Clark CA, Golay X, Gordon, I. Repeatability of renal arterial spin labelling MRI in healthy subjects. *Magn. Reson. Mater Phys Biol Med* 2012;25:145-153.
282. Gillis KA, McComb C, Foster JE et al. Inter-study reproducibility of arterial spin labelling magnetic resonance imaging for measurement of renal perfusion in healthy volunteers at 3 Tesla. *BMC Nephrol* 2014;15(23).
283. Hammon M, Janka R, Siegl C et al. Reproducibility of Kidney Perfusion Measurements With Arterial Spin Labeling at 1.5 Tesla MRI Combined With Semiautomatic Segmentation for Differential Cortical and Medullary Assessment. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e3083.
284. Kim DW, Shim WH, Yoon SK et al. Measurement of arterial transit time and renal blood flow using pseudocontinuous ASL MRI with multiple post-labeling delays: Feasibility, reproducibility, and variation. *J. Magn. Reson. Imaging* 2017;46:813–819.
285. Lanzman RS, Wittsack H-J, Martirosian P. et al. Quantification of renal allograft perfusion using arterial spin labeling MRI: Initial results. *Eur. Radiol* 2010;20:1485–1491.

286. Artz, NS, Sadowski EA, Wentland AL et al. Reproducibility of renal perfusion MR imaging in native and transplanted kidneys using non-contrast arterial spin labeling. *J. Magn. Reson. Imaging* 2011;33:1414–1421.
287. Cutajar M, Thomas DL, Hales PW et al. Comparison of ASL and DCE MRI for the non-invasive measurement of renal blood flow: quantification and reproducibility. *Eur Radiol* 2014;24:1300–1308.
288. Conlin CC, Oesingmann N, Bolster B, Jr. et al. Renal plasma flow (RPF) measured with multiple-inversion-time arterial spin labeling (ASL) and tracer kinetic analysis: validation against a dynamic contrast-enhancement method. *Magn Reson Imaging* 2017;37:51–55.
289. Haddock BT, Francis ST, Larsson HBW, Andersen UB. Assessment of perfusion and oxygenation of the human renal cortex and medulla by quantitative MRI during Handgrip. *Exercise J Am Soc Nephrol* 2018;29(10):2510-2517.
290. Haddock B, Larsson HBW, Francis S, Andersen UB. Human renal response to furosemide: Simultaneous oxygenation and perfusion measurements in cortex and medulla. *Acta Physiol (Oxf)* 2019;227(1):e13292.
291. Bradley CR, Buchanan CE, Cox EF, Francis ST. (2018) Assessment of optimal technique for measurement of medullary perfusion. *Proc. ISMRM 26th Annu. Meet. Exhib. Paris, Fr.* 4600.
292. Morgan TA, Jha P, Poder L, Weinstein S. Advanced ultrasound applications in the assessment of renal transplants: contrast-enhanced ultrasound, elastography, and B-flow. *Abdom Radiol (NY)*. 2018 Oct;43(10):2604-261.

BIOGRAFIJA

Dr Tijana Radović je rođena 1981.godine u Beogradu. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2006.godine sa prosečnom ocenom 9,46. Od 2008. godine je zaposlena na odeljenju radiologije Univerzitetske dečije klinike u Beogradu. Akademski specijalistički rad na temu „Evaluacija ultrazvučne dijagnostike u detekciji veziko-ureteralnog refluksa kod dece sa urinarnom infekcijom“ pod mentorstvom Prof. dr Ruže Stević je odbranila 2013.godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a specijalistički ispit iz radiologije je položila 2014.godine sa odličnim uspehom.

Kao stipendista švajcarske nacionalne naučne fondacije (Swiss National Science Foundation-SNSF) je boravila godinu dana, od marta 2012. do marta 2013. godine, u Univerzitetnoj bolnici u Cirihu gde se u saradnji sa Elektrotehničkim fakultetom u Cirihu bavila istraživanjima u oblasti kvantitativnog i funkcionalnog MRI gastrointestinalnog sistema.

Dr Tijana Radović se bavi dijagnostikom oboljena u dečijem uzrastu, a svoje znanje u domenu pedijatrijske radiologije je dodatno usavršavala u sklopu jednomesečne posete Dečijoj Univerzitetnoj Bolnici u Londonu (Great Ormond Street Hospital) 2019.godine.

Član je brojnih nacionalnih i internacionalnih udruženja iz oblasti radiologije i pedijatrijske radiologije, kao i Evropskog udruženja pedijatrijske onkologije (SIOP). Autor je i koautor brojnih naučnih publikacija u međunarodnim časopisima.

Izjava o autorstvu

Potpisana **Tijana Radović**

Broj indeksa **RN-06/13**

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Značaj primene neinvazivnih naprednih tehnika magnetne rezonance u evaluaciji funkcije bubrežnog alografta

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, 18.03.2022.

Potpis doktoranda



Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora **Tijana Radović**

Broj indeksa **RN-06/13**

Studijski program **Radiologija i nuklearna medicina**

Naslov rada **Značaj primene neinvazivnih naprednih tehnika magnetne rezonance u evaluaciji funkcije bubrežnog alografta**

Mentor: **Prof. dr Ruža Stević**

Komentor: **Prof. dr Mirjana Kostić**

Potpisana **Tijana Radović**

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 18.03.2022.

Potpis doktoranda



Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku "Svetozar Marković" da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Značaj primene neinvazivnih naprednih tehnika magnetne rezonance u evaluaciji funkcije bubrežnog alografta

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo - nekomercijalno (CC BY-NC)
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade** (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerade (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

U Beogradu, 18.03.2022.

Potpis doktoranda

