



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Катарина Обренчевић

Процена активности и ремисије током лечења идиопатске
ретроперитонеалне фиброзе

Докторска дисертација

Ментор: др сци. мед. Дејан Петровић, ванредни професор

Крагујевац, 2019. године

Идентификациона страница докторске дисертације

<i>I Аутор</i>
Име и презиме: Катарина Обренчевић
Датум и место рођења: 10. април 1970. год. у Београду
Садашње запослење: лекар субспецијалиста - нефролог у Клиници за нефрологију Војномедицинске академије у Београду
<i>II Докторска дисертација</i>
Наслов: Процена активности и ремисије током лечења идиопатске ретроперитонеалне фиброзе
Број страница: 152
Број табела: 29, број графикона: 21, број слика: 6
Број библиографских података: 110
Установа и место где је рад израђен: Војномедицинска академија, Београд, Србија
Научна област (УДК): Медицина (Клиничка и експериментална интерна медицина - Нефрологија)
Ментор: др сци.мед. Дејан Петровић, ванредни професор
<i>III Оцена и одбрана</i>
Датум пријаве теме: 15.03.2016. год.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-720/9 од 13.07.2016. године
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: 1. Проф. др Снежана Живанчевић Симоновић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник 2. Проф. др Драган Јовановић редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан 3. Проф. др Предраг Алексић, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Урологија, члан
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације: 1. Проф. др Снежана Живанчевић Симоновић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник 2. Проф. др Драган Јовановић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан 3. Доц. др Весна Станковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан
Датум одбране дисертације:

Сажетак:

Увод/Циљ рада: Идиопатска ретроперитонеална фиброза је ретко обољење, које се карактерише фиброинфламаторним ткивом и захватањем уретера, доводећи до опструктивне нефропатије и бубрежне инсуфицијенције. Болест је највероватније аутоимунске природе. Терапија укључује имunosупресиве, али оптимални приступ до сада није дефинисан. Седиментација (*SE*) и *C*-реактивни протеин (*CRP*) представљају маркере активне инфламације у почетној фази болести и стога би могли представљати сензитивне предикторе одговора на терапију имunosупресивним лековима.

Метод: Ретроспективна клиничка опсервациона студија типа серије случајева обухватила је пацијенте са идиопатском ретроперитонеалном фиброзом код којих су примењена два различита терапијска протокола: кортикостероиди у комбинацији са микофенолат мофетилом и кортикостероиди у комбинацији са азатиоприном. Укупно је укључено 28 пацијената (13 у првој, 15 у другој групи) који су лечени у Клиници за нефрологију Војномедицинске академије.

Резултати: 92,3% пацијената је иницијално имало повишене вредности *SE* и *CRP*-а, а 67,8% акутну бубрежну инсуфицијенцију. Код свих пацијената се губе општи симптоми након 4 недеље терапија. Бубрежна функција се у обе групе значајно побољшава, већ после првих месец дана, с тим да је креатинин на крају био виши у у групи са микофенолатом, као последица релапса код 23,1% пацијената у овој групи. Редукција фиброзног ткива је била бржа под терапијом микофенолатом након 6 месеци, а 100% редукције на крају постиже 53,8% пацијената у првој и 33,3% у другој групи. Вредност *SE* и *CRP*-а после месец дана у групи са азатиоприном значајно корелира са смањењем дебљине фиброзног ткива после 6 месеци и после годину дана терапије. У групи са микофенолатом једино вредност *CRP*-а након месец дана значајно корелира са редукцијом фиброзног ткива након годину дана.

Закључак: Микофенолат мофетил има бржи и потпунији ефекат на повлачење хидронефрозе и комплетну редукцију фиброзног ткива, у односу на азатиоприн, који делује спорије, и не постиже комплетну редукцију. *CRP* се показао као добар параметар који у оба терапијска протокола корелира са постизањем ремисије болести.

Кључне речи: Идиопатска ретроперитонеална фиброза, седиментација еритроцита, *C*-реактивни протеин, кортикостероиди, микофенолат мофетил, азатиоприн.

Abstract:

Background/Aim: Idiopathic retroperitoneal fibrosis (IRF) is a rare disease characterized by fibroinflammatory periaortic tissue that affects the ureters, causing obstructive nephropathy and impairment of renal function. Findings strongly suggest an autoimmune etiology. Medical treatment includes immunosuppressive drugs, but the optimal treatment has not been established. Erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) represent markers of active inflammation in the early phase of the disease, and hence could be sensitive predictors of the treatment response.

Methods: This retrospective case series study includes patients with IRF treated with two different protocols: corticosteroids in combination with mycophenolate mofetil (MMF) and corticosteroids combined with azathioprine (AZA). The total number of 28 patients (13 in the first group and 15 in the second group) were treated and followed in the Clinic of nephrology in Military Medical Academy.

Results: At presentation 92.3% of patients had elevated levels of ESR and CRP, and 67.8% of them had acute renal insufficiency. Systemic symptoms resolved after four weeks in all patients. The kidney function improved significantly in both groups after first month of treatment, although the creatinine level was higher in the MMF group because of the disease recurrence in 23% of the patients. In MMF group was observed faster reduction in the periaortic mass after six months and 53.8% of patients achieve 100% of the mass reduction at the end of the treatment while 33.3% in AZA group. The levels of ESR and CRP after one month of treatment in AZA group correlated with the fibrotic mass reduction after six months and after one year. In MMF group, only the CRP level after one month correlated with the fibrotic mass reduction achieved after one year.

Conclusion. MMF had more rapid and complete effect in hydronephrosis withdrawal and total reduction of the fibrotic tissue, comparing with AZA whose effect was slower and without complete mass reduction. CRP strongly correlated with the remission of the disease in both therapeutic protocols.

Key words: Idiopathic retroperitoneal fibrosis, Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, Corticosteroids, Mycophenolate mofetil, Azathioprine.

Захвалница:

Велику захвалност дугујем свом ментору, проф. др Дејану Петровићу, на помоћи и сугестијама које су помогле да се започети рад успешно приведе крају.

Посебну захвалност дугујем научном сараднику др сци. мед. Немањи Ранчићу, колеги и пријатељу, на непоколебљивој вери у успешност овог рада, немерљивој помоћи, подрици и истрајности у настанку ове докторске дисертације.

Неизмерно хвала проф. др Предрагу Алексићу на стручним и пријатељским сугестијама, као и на вери у успешност овог рада.

Велику захвалност дугујем особљу и колегама из Центра за трансплантацију солидних органа и Клинике за нефрологију, као и из Института за радиологију, који су ми омогућили да реализујем овај рад.

Посебно се захваљујем колегама и пријатељима, др Милораду Радојевићу и др сци. мед. Невену Вавићу чија су ме племенитост, доброта и подршка подстицали да истрајем у изради овог рада.

Хвала мојој пријатељици Дубравки на непоколебљивој вери у мене.

Неизмерно хвала мојој пријатељици и колегиници, асист. др Маријани Петровић на безусловној подрици и помоћи током година нашег пријатељства.

Захваљујем се својој породици, родитељима и брату, на сталној вери, стрпљењу и подрици, без које не бих успела.

Захваљујем се најбољој деци на свету, мојим братанцима, Алекси и Марку, што постоје.

Хвала Olivieri, што је увек поред мене.

Садржај:

1. Увод	7
1.1. Епидемиологија	7
1.2. Етиопатогенеза	7
1.2.1. Идиопатска ретроперитонеална фиброза и <i>IgG4</i> -повезане болести	11
1.3. Хистопатолошка слика	12
1.4. Клиничка слика	14
1.5. Лабораторијске анализе	15
1.6. Дијагноза	16
1.7. Диференцијална дијагноза	20
1.8. Терапија	20
1.8.1. Кортикостероиди	22
1.8.2. Микофенолат мофетил	23
1.8.3. Азатиоприн	24
1.9. Параметри активности болести и успешности терапије	26
2. Хипотезе и циљеви	28
2.1. Хипотезе студије	28
2.2. Циљеви студије	28
3. Материјал и методе	30
3.1. Врста студије	30
3.2. Популација која је анализирана	30
3.3. Узорковање	30
3.4. Варијабле које су мерене у студији	31
3.4.1. Током истраживања код свих пацијената одређено је следеће	31
3.4.2. Радиолошка испитивања	33
3.5. Терапијски протокол	34
3.6. Клинички параметри праћења пацијената	36
3.7. Статистичка обрада података	36
4. Резултати	37
4.1. Социо-демографске карактеристике	37
4.2. Клиничке карактеристике пацијената- симптоми и знаци болести	38
4.3. Присуство коморбидитета, фактора ризика и налаз имунолошких анализа	40
4.4. Ранија терапија	41
4.5. Примена ендуроуролошких процедура и компликације	42
4.6. Исходи терапије	43
4.7. Нежељени ефекти терапије	47
4.8. Степен хидронефрозе током периода праћења	47
4.9. Лабораторијски налази током периода праћења	50
4.9.1. Вредност седиментације и <i>C</i> -реактивног протеина током терапије	55
4.10. Проширеност фиброзног ткива током периода праћења	61
4.11. Повезаност лабораторијских и клиничких налаза	65
5. Дискусија	79
5.1. Социо-демографске карактеристике	82
5.2. Клиничке карактеристике пацијената- симптоми и знаци болести	82
5.3. Присуство коморбидитета, фактора ризика и налаз имунолошких анализа	84
5.4. Лабораторијски налази на укључењу	85
5.5. Ранија терапија	85
5.6. Примена ендуроуролошких процедура и компликације	87
5.7. Ефекти терапије	88
5.7.1. Повлачење хидронефрозе	88
5.7.2. Промене вредности лабораторијских параметара током терапије	89
5.7.3. Проширеност фиброзног ткива током периода праћења	90
5.8. Повезаност лабораторијских и клиничких налаза	92
5.9. Нежељени ефекти терапије	94
5.10. Исход, ремисија, и релапс болести	95
6. Закључак	98
7. Литература	100
8. Прилози	109
Биографија	
Библиографија	
Кључна документацијска информатика	
Key Words Documentation	
Образац 1	
Образац 2	

1. УВОД

Ретроперитонеална фиброза је ретко обољење које карактерише присуство фибро-инфламаторног ткива локализованог око абдоминалне аорте и илијачних артерија, које својим ширењем обухвата и друге ретроперитонеалне структуре. Захватање уретера овим ткивом доводи до опструктивне нефропатије и бубрежне инсуфицијенције различитог степена, која може прогредирати до терминалног стадијума са потребом за хроничним лечењем дијализом.

Код две трећине случајева ретроперитонеална фиброза је идиопатска, док је код једне трећине секундарна – настаје као последица малигнитета, инфекција, траума, радиотерапије, хируршких абдоминалних процедура, употребе одређених лекова, или је удружена са различитим аутоимунским болестима и васкулитисима (1).

Први случај ретроперитонеалне фиброзе је објавио француски уролог *Albarran* 1905. године који је описао хируршко лечење екстензивног фиброзног ретроперитонеалног процеса који је узроковао уретералну опструкцију. Болест је ипак препозната као посебан ентитет након рада *John-a Ormond*-а 1948. године који је описао два случаја билатералне уретералне опструкције узроковане ретроперитонеалном инфламацијом (2, 3). Због тога је болест називана и Ормондов синдром.

1.1. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА

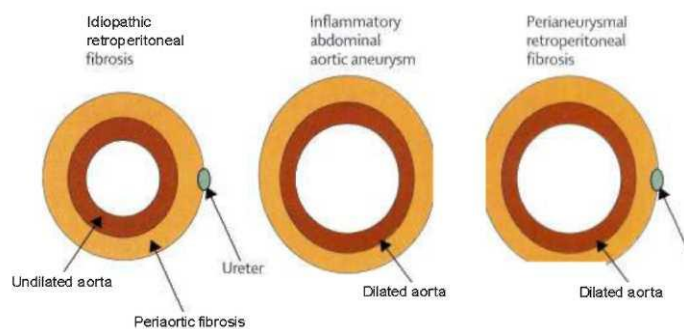
Идиопатска форма ретроперитонеалне фиброзе је ретка болест са инциденцом од 0,1-1,3 случаја/100.000 људи годишње и преваленцом од 1,4 случаја/100.000 становника (4). Болест се дијагностикује обично између 50-те и 60-те године живота, мада је описана и код деце, као и у другом животном добу. Два до три пута је чешћа код мушкараца него код жена (1, 2). Етничка и фамилијарна предиспозиција оболевања није доказана, а до сада је појава болести код близанаца откривена само у појединачном случају (1).

1.2. ЕТИОПАТОГЕНЕЗА

Идиопатска ретроперитонеална фиброза (ИРФ) је једна од три манифестације хроничног периаортитиса (ХП) који се карактерише присуством фибро-инфламаторног

периаортног ткива у ретроперитонеуму. Ово ткиво се може развити око анеуризматски дилатирани абдоминалне аорте или око аорте која није проширена. ИРФ спада у не-анеуризмалну форму ХП, док друга два ентитета: инфламаторна анеуризма абдоминалне аорте (ИААА) и перианеуризмална ретроперитонеална фиброза (ПРФ) припадају анеуризмалним формама ХП. Сва три ентитета имају сличне патохистолошке карактеристике: узапредовалу артериосклерозу, истањење медије, адвентицијалну и периадвентицијалну инфилтрацију лимфоцитима и плазмоцитима и различит степен адвентицијалне и периаортне фиброзе. Поред адвентиције абдоминалне аорте, процес обично захвата и адвентицију илијачних артерија, а описани су и случајеви ХП око торакалне аорте (5). ИААА не захвата суседне структуре, док је код ИРФ и ПРФ често ширење латерално и захватање уретера, доње шупље вене и других структура ретроперитонеума (Слика 1) (6).

Слика 1. Шематски приказ идиопатске ретроперитонеалне фиброзе, инфламаторне анеуризме абдоминалне аорте и перианеуризмалне ретроперитонеалне фиброзе



Преузето из: *Vaglio A, Saharani C, Buzio C. Retroperitoneal fibrosis. Lancet 2006;367:241-51.*

Патогенеза ИРФ није разјашњена до данас и различити механизми су били предлагани у циљу објашњења њеног настанка. Према ранијој хипотези коју су поставили *Parums* и *Mitchinson*, ХП и ИРФ као његов ентитет, настају као последица локалног аутоимунског одговора на антигене артериосклеротског плака (цериоиде и оксидоване липопротеине мале густине – *LDL*) у абдоминалној аорти. Истањење или руптура медије аорте око плака, што се дешава у узапредовалој атеросклерози, је предуслов за отпочињање инфламаторног процеса, јер на тај начин антигени могу бити препознати од стране лимфоцита. Макрофаги презентују ове антигене *T* и *B* лимфоцитима, који затим покрећу инфламаторну реакцију у адвентицији. Ову

хипотезу подржавају имунохистохемијске анализе узорака зида аорте пацијената са ХП, које показују присуство антитела, углавном имуноглобулина Г (*IgG*), у блиском контакту са екстрацелуларним цероидима у некротичној бази артериосклеротског плака, као и присуство макрофага богатих цероидима у адвентицији. Такође, у серуму пацијената са ХП детектована су антитела на оксидоване *LDL* и цероиде (6-8). Ипак, ова хипотеза не објашњава комплексан клинички спектар ИРФ, посебно удруженост са аутоимунским и фибро-инфламаторним болестима које захватају друге органе, као и појаву болести код деце и пацијената који немају артериосклеротске промене у зиду аорте.

Новија истраживања указују да је ИРФ системска аутоимунска болест, пре него локална реакција на артериосклерозу (1, 9). Ова претпоставка заснована је на сличностима са васкулитисом великих крвних судова, с обзиром да код неких пацијената са ИРФ инфламаторни процес није локализован само на абдоминалној аорти и заједничким илијачним артеријама, већ захвата и торакалну аорту, као и реналне, мезентеричне и целијачне артерије. Према овој хипотези иницијални догађај би могао бити примарни аортитис који узрокује периаортни фиброимфламаторни одговор. У прилог овога говори и идентична хистопатолошка слика ХП са оном која се виђа код васкулитиса: у оба постоји васкулитис *vasa vasorum* и лимфоидни фоликули са герминативним центрима у адвентицији. Испитивањем биоптичких узорака зида аорте откривено је присуство генских транскрипта за интерферон гама (*IFN-γ*), интерлеукин 1-алфа (*IL-1α*), интерлеукин 2 и интерлеукин 4 (*IL-2*, *IL-4*) који указују на лимфоцитну активацију (1, 10, 11). Овој теорији иду у прилог и описани случајеви захватања артерија које су обично поштеђене артериосклеротских промена – торакална аорта и мезентеричне артерије (5, 10, 12). Да је теорија о ИРФ као системској, имунолошки посредованој болести и највероватнија, указује и клиничка презентација болести - присуство конституционалних симптома, повишени реактанти акутне фазе, често позитивна аутоантитела, посебно антинуклеарна антитела (*ANA*) и истовремено присуство других аутоимунских болести (Хашимото тироидитис, Грејвсова болест, *ANCA* позитивни васкулитис, системски еритемски лупус, псоријаза (13-16).

До сада су објављени радови о бројним факторима који би могли имати улогу у патогенези ИРФ. *Martorana* и сарадници сматрају да постоји снажна повезаност ИРФ и генетских фактора, односно присуства *HLA-DRB1*03* алела, за који се зна да је повезан са другим аутоимунским болестима: системским еритемским лупусом, типом 1

шећерне болести и миастенијом гравис (17). *HLA* систем не само да може утицати на склоност ка појави болести, већ и на интензитет инфламаторног одговора.

Спољашњи фактори - професионална изложеност азбесту и пушење повећавају ризик за настанак ИРФ, а посебно присуство оба фактора истовремено (18, 19). Секундарна форма ретроперитонеалне фиброзе може бити покренута разним факторима као што су лекови, инфекције, трауме, малигнитети, радиотерапија, хируршке абдоминалне процедуре (Табела 1) (1).

Табела 1. Узроци секундарне ретроперитонеалне фиброзе

ЛЕКОВИ	Метизергид, перголид, бромокриптин, ерготамин, метил-допа, хидралазин, аналгетици, β -блокатори
МАЛИГНИТЕТИ	Карциноид, <i>Hodgkin</i> и <i>non-Hodgkin</i> лимфоми, саркоми, карциноми колоне, простате, дојке, желуца
ИНФЕКЦИЈЕ	Туберкулоза, хистоплазмоза, актиномикоза
РАДИОТЕРАПИЈА	Семином тестиса, карцином колоне, карцином панкреаса
ОПЕРАЦИЈЕ	Лимфаденектомија, колектомија, хистеректомија, анеуризмектомија абдоминалне аорте
ДРУГА СТАЊА	Хистиоцитоза, <i>Erdheim-Chester</i> -ова болест, амилоидоза, траума, баријумска клизма

Преузето из: *Vaglio A, Saharani C, Buzio C. Retroperitoneal fibrosis. Lancet 2006;367:241-51.*

Од лекова, најчешће је описивана повезаност ретроперитонеалне фиброзе (РФ) са дериватима ергот алкалоида (метизергид, ерготамин) и допаминским агонистима (перголид, метил-допа). Метизергид и други ергот деривати повећавају ниво ендогеног серотонина што би могло до узрокује фиброзу реакцију кроз пролиферацију миофибробласта и повећање колагеног матрикса. Овај процес није лимитиран само на ретроперитонеум, већ може захватити и перикард, плеуру и плућа (1, 20). Други лекови чија употреба се повезује са настанком РФ су β -блокатори како неселективни (пропранолол, соталол) тако и $\beta 1$ -селективни (метопролол, атенолол), потом хидралазин, аналгетици и нестероидни антиинфламаторни лекови (аспирин, парацетамол, фенацетин), али се о њиховој каузалној улози још расправља (1, 21-26).

У новије време објављени су случајеви секундарне РФ као последице употребе биолошких агенаса, посебно етанерцепта (солубилни рецептор који делује као блокатор фактора некрозе тумора-алфа, *TNF- α*) током лечења реуматоидног артритиса и инфликсимаба (моноклонско антитело против *TNF- α*). Ово је изненађујући податак с обзиром да су биолошки агенси већ успешно примењивани у лечењу РФ. Још увек није познато на који начин ови лекови могу покренути фиброзу реакцију у ретроперитонеуму, мада је познато да, парадоксално, могу покренути бројна аутоимунска стања као што је псоријаза, саркоидоза и инфламаторна болест црева (27, 28).

Секундарна РФ може настати ретко и као последица инфективних болести: туберкулозе, сифилиса, хистоплазмозе, актиномикозе и гљивичних инфекција. Код туберкулозног спиналног или параспиналног апсцеса, фиброзу може изазвати локално ширење инфективног фокуса у ретроперитонеум (29, 30).

Радиотерапија такође може изазвати РФ услед склерозирајућег ефекта зрачења, али је тада фиброза обично локализована у самом пољу зрачења (31).

Малигнитети узрокују секундарну РФ у око 8-10% случајева (30) и то као последица дезмоплазије односно формирања фиброзног ткива као одговора на присуство метастатских ћелија у ретроперитонеуму или присуства самог ретроперитонеалног примарног тумора (*Hodgkin* и *non-Hodgkin* лимфоми, саркоми). Метастазе у ретроперитонеум могу дати бројни малигнитети, најчешће карциноми колоне, простате, дојке, желуца, плућа и бубрега (32, 33). Једини изузетак је карциноид, који узрокује РФ у одсуству метастаза или примарне локализације у ретроперитонеуму, вероватно путем серотонинског механизма или ослобађањем профиброгених фактора раста као што су тромбоцитни фактор раста (*PDGF*), инсулину сличан фактор раста (*IGF*), епидермални фактор раста (*EGF*) и трансформишући фактор раста алфа и бета (*TGF- α* , *TGF- β*) (34).

Остали ређи узроци секундарне РФ су траума, велике абдоминалне хируршке интервенције, пролиферативне болести као што је *Erdheim-Chester*-ова болест и хистиоцитоза (35).

1.2.1. Идиопатска ретроперитонеална фиброза и *IgG4*-повезане болести

У новије време се патогенеза ИРФ разматра у вези са *IgG4*-повезаним болестима, које представљају групу имунолошки посредованих болести, а могу захватити

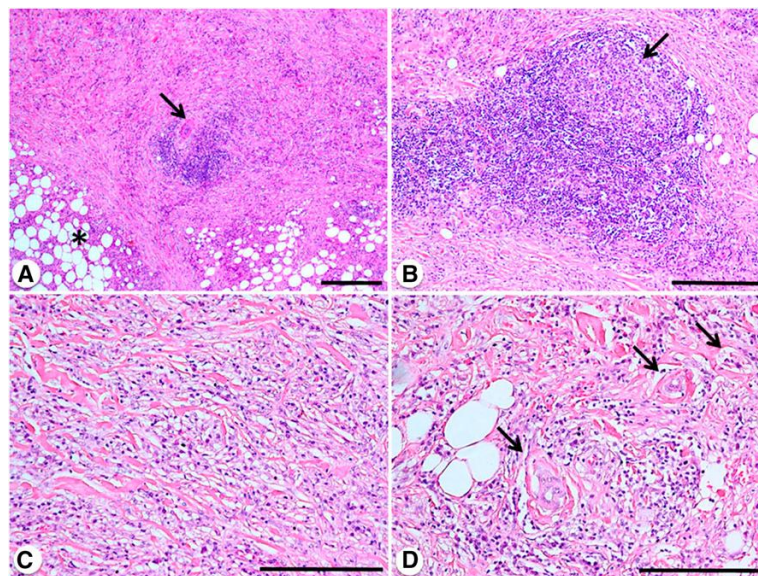
различите органе (панкреас, лимфне жлезде, пљувачне жлезде, бубреге, жучне путеве и сузне жлезде). Многа обољења, раније сматрана као изолована, сада се убрајају у спектар *IgG4*-повезаних болести: аутоимуни панкреатитис, Микулићева болест, инфламаторни псеудотумор, интерстицијални нефритис, интерстицијална пнеумонија, склерозирајући мезентеритис и ретроперитонеална фиброза (36). Клинички се карактерише формирањем туморозних формација и увећањем захваћених органа, а серолошки повећаном концентрацијом *IgG4* у плазми (у већини случајева). Хистопатолошка слика одликује се лимфоплазмоцитном инфилтрацијом богатом у *IgG4*-позитивним плазмоцитима и различитим степеном фиброзе (37). Неки, али не и сви случајеви идиопатске РФ имају овакве карактеристике, те се могу сврстати у групу *IgG4*-повезаних болести, али се тачан проценат ових болесника још увек не зна. Основна разлика у односу на ИРФ која није *IgG4*-повезана је захваћеност других органа истовремено, пре или после појаве ретроперитонеалне фиброзе. Тако је учесталост аутоимуног панкреатитиса са *IgG4*-повезаном РФ 10-19% у различитим студијама, а склерозирајућег сијалоденитиса око 10%. У *IgG4*-повезаној РФ повишена је концентрација *IgG4* у серуму као и однос *IgG4*/укупни *IgG*, а хистолошка слика показује израженију инфламацију, еозинофилију и већу учесталост облитеративног флебитиса, на супрот израженијој фибрози у ИРФ која није *IgG4*-повезана. Такође је већи број *IgG4*-позитивних плазмоцита, а за дијагнозу је потребно да је однос *IgG4*+/укупни број *IgG*-плазмоцита већи од 40% (38, 39). Клиничка слика, лабораторијске анализе, радиолошка испитивања као и добар одговор на имunosупресивну (кортикостероидну) терапију не разликују се у обе групе болесника. Процењује се да око 30-60% од укупног броја болесника са идиопатском РФ припада групи *IgG4*-повезаних болести, али су за прецизнију статистику потребне контролисане клиничке студије на већем узорку (38).

1.3. ХИСТОПАТОЛОШКА СЛИКА

Хистолошка слика ИРФ састоји се од две компоненте: фиброзног ткива и инфламаторног инфилтрата (40). Фиброзна компонента обухвата екстрацелуларни матрикс састављен од типа-1 колагених влакана организованих у виду дебелих ирегуларних снопова, који обично окружују мале ретроперитонеалне крвне судове. Фибробласти показују знаке активације и преласка у миофибробласте (Слика 2). Инфламаторни инфилтрат садржи бројне лимфоците, плазмоците, макрофаге и

еозинофиле, организоване у нодуларне периваскуларне агрегате или је дифузно расут између колагених влакана. Нодуларни агрегати лимфоцита обично имају центар од *B* лимфоцита, а на периферији се налазе *CD4+* и *CD8+* *T* лимфоцити. У неким случајевима ови лимфоидни фоликули имају структуру герминативног центра, што је процес типичан за хроничне аутоимунске болести. Неутрофилна инфилтрација је ретка, као и грануломи. Плазмоцити су заступљени у значајном проценту, а када је однос *IgG4+*/укупни број *IgG*-плазмоцита већи од 40%, ИРФ се сматра *IgG4*-повезаном болешћу (38, 39).

Слика 2. Хистолошка слика идиопатске ретроперитонеалне фиброзе (*H&E* бојење)



(A) Изражена и ирегуларна фиброза замењује нормално ретроперитонеално меко ткиво (астерикс) и инфламаторни инфилтрат организован у лимфоидни агрегат локализован око мале ретроперитонеалне артерије (стрелица)

(B) Лимфоидни нодуларни агрегат са јасним герминативним центром (стрелица)

(C) Дифузни распоред инфламаторног инфилтрата, углавном састављен од лимфоцита и плазмоцита дифузно расутих између колагених влакана.

(D) Колагена влакна окружују мале ретроперитонеалне крвне судове (стрелица)

(увеличање 4x у A, 10x у B, 20x у C и D).

Преузето из: *Vaglio A, Maritati F. Idiopathic retroperitoneal fibrosis. J Am Soc Nephrol 2016;27(7):1880-9.*

Хистолошка слика се разликује на почетку болести и у каснијим стадијумима. У раном стадијуму ткиво је најчешће едематозно и добро васкуларизовано са активном

хроничном инфламацијом у виду бројних моноклеарних ћелија између фибробласта и колагених влакана. У касном стадијуму, израженија је склероза, доминирају колагена влакна и расуте калцификације са врло мало ћелијског инфилтрата (1).

Секундарне форме РФ узроковане малигнитетима су врло сличне идиопатским, с тим да су обично неправилнијег облика и атипично локализоване у односу на идиопатске. Карактеришу се присуством неопластичних ћелија расутих у израженом фибрознам ткиву, прекидом или инфилтрацијом суседних мишићних влакана и костију. Инфламаторни инфилтрат може бити моноклоналан у случајевима лимфома, а присуство липобласта може сугерисати дијагнозу добро диферентованог липосаркома са склерозирајућим и инфламаторним карактеристикама (1).

1.4. КЛИНИЧКА СЛИКА

Клиничке манифестације ИРФ су неспецифичне и могу се поделити на локализоване, услед механичког компресивног ефекта фиброзног ткива, и системске манифестације, услед инфламаторне природе болести. Најчешћи локализовани симптом, који се и најраније јавља, је бол у абдомену, слабинама или доњем делу леђа. Овај бол пријављује преко 90% болесника, најчешће као туп, константан, без погоршања при кретању, а ублажава се транзиторно узимањем аспирина или других нестероидних антиинфламаторних лекова (4, 40). Уколико је захваћен уретер, бол може имати и карактер реналне колике. Оток доњих екстремитета и дубока венска тромбоза настају као последица спољне компресије на ретроперитонеалне лимфне судове и вене, укључујући и доњу шупљу вену. Ипак, синдром доње шупље вене, дубока венска тромбоза и плућна тромбоемболија не јављају се често, вероватно због споријег захватања вена, што дозвољава развој колатералне циркулације (41).

Оток скротума, варикоцеле, хидроцеле су честе и последица су притиска на гонадалне крвне судова. Опстипација није ретка, док је опструкција танког црева ређа и настаје услед захватања дуоденума. Хематурија, полурија и уринарне инфекције су такође присутне у неким случајевима, а у каснијим стадијумима јављају се симптоми прогресивне уретералне опструкције са олигоануријом и симптомима уремије. Фиброзно ткиво се типично развија око аорте и илијачних артерија, али је стеноза ових артерија веома ретка. ИРФ може захватити и хилус бубрега и узроковати компресију реналних вена, обично споро прогредирајућу тако да дозвољава развој колатерала, али и компресију реналних артерија са последичном реноваскуларном хипертензијом.

Новонастала артеријска хипертензија или погоршање већ постојеће, пријављена је у око трећине болесника у време постављања дијагнозе (41, 42). И друге артерије могу бити захваћене ширењем фиброзног ткива, као што су мезентеричне и целијачне артерије, што доводи до интестиналне исхемије и симптома који личе на мезентерични васкулитис (43), а описано је и захватање торакалне аорте, са формирањем анеуризме (5).

Системске манифестације претходе локализованим манифестацијама болести, или су истовремено присутне, и укључују конституционалне симптоме: замор, губитак апетита и телесне тежине, субфебрилност, мучнину и мијалгије (1).

Физикални преглед је обично неконклузиван, ретко постоји лумбална или абдоминална палпабилна осетљивост или патолошки васкуларни шумови периумбиликално у случају стенозе реналних артерија (44).

Због неспецифичне клиничке слике ИРФ дијагноза се обично поставља касно у односу на почетак симптома, због чега су често присутне компликације узнапредовалог фиброзног процеса. Најчешћа, али и најтежа компликација је хидронефроза услед уретералне опструкције која доводи до акутне или хроничне бубрежне инсуфицијенције. Захватање уретера је описано код 47-100% пацијената, као унилатерално или билатерално (45). У случајевима са унилатералном опструкцијом, контралатерална прогресија може настати недељама, али и годинама након иницијалне презентације (46). Код 30-70% пацијената већ у моменту постављања дијагнозе постоји бубрежна инсуфицијенција и иреверзибилно смањење величине бар једног бубрега односно његова хипо или афункција (9, 47).

1.5. ЛАБОРАТОРИЈСКЕ АНАЛИЗЕ

Лабораторијске анализе су неспецифичне за ИРФ. Концентрација реактаната акутне фазе: седиментације еритроцита (*SE*) и *C*-реактивног протеина (*CRP*) је повишена код преко 50% пацијената у моменту постављања дијагнозе (4, 44, 48). Ови параметри могу бити од помоћи при праћењу одговора на терапију, мада поједини аутори сматрају да њихове концентрације не корелирају увек са активношћу болести (49). Око 40-50% пацијената има повишене вредности урее и креатинина, у зависности од степена уретералне опструкције (44, 49). Нормоцитна, нормохромна анемија је такође честа и јавља се као последица хроничне инфламације и поремећене бубрежне

функције. Ређе се јављају леукоцитоза, еозинофилија, хипергамаглобулинемија, хипоалбуминемија, протеинурија и хематурија (1, 4).

Чест налаз у ИРФ су позитивна аутоантитела, посебно антинуклеарна антитела (ANA) која су детектована у око 60% пацијената, а без истовремених знакова неке од системских болести везивног ткива Друга, ређе присутна аутоантитела су антиероидна антитела (антииорепероксидазна - *ATPO*, антитиреоглобулинска - *ATG*), антиглаткомишићна антитела (*ASMA*), антикардиолипинска антитела (*ACA*), реуматоидни фактор (*RF*) и антинеутрофилна цитоплазматска антитела (*ANCA*). Титар ових антитела обично је низак и њихова позитивност је неспецифична, али код неких пацијената она могу указивати на истовремено присуство придружене аутоимунске системске болести. Присуство ових аутоантитела додатно иде у прилог хипотези о аутоимунским механизмима у патогенези ове болести (17, 50).

У *IgG4*-повезаној РФ повишена је концентрација *IgG4* у серуму као и однос *IgG4*/укупни *IgG*, али не код свих пацијената. Према новијим објављеним подацима око 30% пацијената нема повишене ове вредности (51). Већина аутора ипак, не анализира концентрацију *IgG4* у серуму рутински, уколико не постоје други знаци који би указивали на евентуалну *IgG4*-повезану РФ (лимфаденопатија или увећање панкреаса) (52).

1.6. ДИЈАГНОЗА

Дијагноза ИРФ се поставља радиолошким методама, обично током испитивања узрока опструктивне нефропатије. Ултразвучни преглед је прва дијагностичка метода којом се верификује постојање једностране или обостране хидронефрозе (Слика 3). Интравенска урографија, раније често примењивана, данас се ређе користи и карактерише је типична тријада знакова (Слика 4), мада медијалну девијацију уретера може имати и 20% здравих људи. Ретроградна и антероградна перкутана пијелографија (спољна дренажа – перкутаном нефростомом уз визуелизацију локализације и степена уретералне опструкције) се не користе рутински, мада у појединим случајевима налазе своју примену (1).

Слика 3. Уретерохидронефроза другог степена десно код пацијента са ИРФ
(Обренчевић К, 2005. год.)



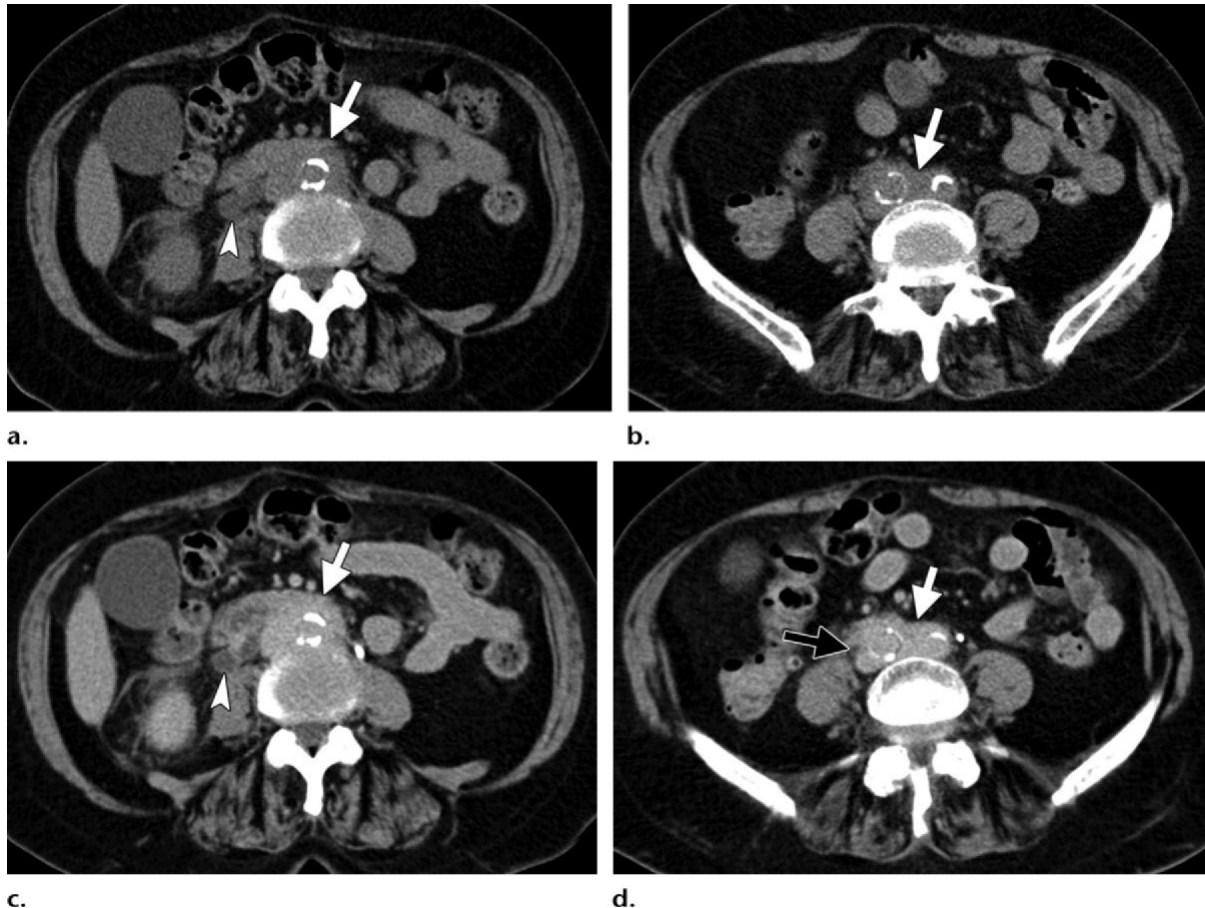
Слика 4. Интравенска урографија код пацијента са ИРФ показује типичну тријаду знакова: проксималну уретерохидронефрозу, медијалну девијацију уретера од нивоа *L3-L4*, спољну компресију на уретере (стрелице). Медијални и дистални сегмент уретера нису дилатирани. Постоји и спорије лучење контрастног средства из левог бубрега. (Обренчевић К, 2005. год.)



Методe избора су мултислајсна компјутеризована томографија (*MSCT*) и магнетна резонанца (*MR*) абдомена. Уз помоћ *MSCT* и *MR* абдомена може се визуелизовати и степен ширења фиброзног ткива, дефинисати степен активности (рана или касна фаза) болести на основу контрастног пребојавања и открити могуће

присуство тумора или лимфаденопатије, што је и најзначајнија диференцијална дијагноза ретроперитонеалне фиброзе (1, 53) (Слика 5).

Слика 5. MSCT абдомена код пацијента са ИРФ



(a, b): аксијални снимак без интравенског контрастног средства показује ретроперитонеалну масу (стрелица) изодензну са мишићним ткивом, која као „муф“ обавија напред и бочно абдоминалну аорту и илијачне артерије. Ова маса не врши дислокацију аорте напред, што је одлика секундарне фиброзе код малигних процеса. Мања стрелица показује десни проксимални хидроуретер. (c, d): снимак након 180 секунди од апликације интравенског контрастног средства показује значајно пребојавање масе (бела стрелица) што указује на рану фазу ИРФ. Десни проксимални хидроуретер је последица дисталног захватања уретера фиброзном масом (црна стрелица у d). Постоји и одложено лучење контрастног средства из бубрега.

Преузето из: *Caiafa RO, Vinuesa AS, Izquierdo RS, Brufau BP, Colella JRA, Molina CN.*

Retroperitoneal fibrosis: Role of imaging in diagnosis and follow-up. RadioGraphics

2013;33:535-52.

На *MSCT* прегледу абдомена ИРФ се приказује као хомогени „муф“ изодензан са мишићним ткивом, који окружује абдоминалну аорту и илијачне артерије и обично обухвата уретере и доњу шупљу вену. Администрација интравенског (и.в.) контрастног средства током *MSCT* прегледа у раним фазама болести омогућава бољу визуелизацију (пребојавање) фиброзне масе која је тада едематозна и богато васкуларизована. У каснијим стадијумима болести, овај феномен се не може видети јер у ткиву доминира склероза са колагеним влакнима. Ипак степен контрастног пребојавања је тешко квантификовати, те се не може са сигурношћу користити за одређивање метаболичке активности болести. У праћењу ефекта терапије *MSCT* показује високу сензитивност за детекцију промена у величини фиброзног ткива (1, 53).

MR преглед абдомена код ИРФ омогућава налаз компарабилан са *MSCT* налазом. Предност је избегавање нефротоксичног контрастног средства, али захтева опрез због описане повезаности гадолинијума са настанком нефрогене системске фиброзе код пацијената са тешким оштећењем бубрежне функције (јачина гломерулске филтрације мање од 30 ml/min) (54).

Позитронска емисиона томографија са 18-флуоридеоксиглукозом (*FDG-PET*) се не користи рутински у дијагностици ИРФ због ниске специфичности, али је неки аутори примењују у процени метаболичке активности ретроперитонеалног ткива (55).

Дефинитивна дијагноза се поставља биопсијом фиброзног ткива. Иако не постоје званични водичи, биопсија ретроперитонеалног ткива (као отворена хируршка, лапароскопска или перкутана иглена *MSCT*-вођена) се не примењује рутински као дијагностичко средство уколико постоји типичан налаз на *MSCT* или *MR* прегледу абдомена. Биопсија је, међутим, апсолутно индикована у случајевима атипичне локализације фиброзног ткива (пелвичне, перипанкреатичне) или када остали клинички или лабораторијски знаци указују на присуство неког малигнитета (1). Такође, код пацијената који нису одговорили на терапију, биопсија би била потребна, с тим да треба имати у виду и њене недостатке (неадекватан узорак аспириата при пункционој игленој биопсији) као и ризик саме интервенције (25, 56). Процент биопсијом потврђене дијагнозе значајно варира између објављених серија случајева, и креће се од 24% па до 77% (44, 57, 58).

До данас, ипак, нису усвојени стандардизовани критеријуми за дијагнозу ИРФ. Основни дијагностички критеријум је постојање фибро-инфламаторног ткива око абдоминалне аорте и/или илијачних артерија које се детектује *MSCT* или *MR*

прегледом абдомена (41), и којима се искључује малигнитет. Ово, уз присуство хидронефрозе, клиничких симптома и знакова, као и повишених вредности *SE* и/или *CRP*-а, према већини аутора, представља потребне елементе за постављање дијагнозе.

1.7. ДИФЕРЕНЦИЈАЛНА ДИЈАГНОЗА

Диференцијална дијагноза подразумева искључивање свих болести и стања која узрокују секундарну ретроперитонеалну фиброзу, посебно примарне и секундарне малигне болести (Табела 1).

1.8. ТЕРАПИЈА

Терапија ИРФ има за циљ отклањање блокаде уро-тракта, заустављање прогресије фибро-инфламаторне реакције и њених системских манифестација и превенцију релапса болести.

Терапија ИРФ је традиционално била хируршка и подразумева уретеролизу и поступке за спречавање поновног захватања уретера фиброзним ткивом – обмотавање уретера оментумом (оментизација), транспозиција уретера интраперитонеално или латерално са интерпозицијом ретроперитонеалног масног ткива између уретера и фиброзног ткива (59, 60). Предности хируршког лечења су могућност решавања механичке опструкције и могућности отворене биопсије којом се искључује малигна болест. Данас се хируршке методе лечења не сматрају првом линијом терапије због високог процента рекурентне уретералне опструкције који се, према различитим серијама, креће од 22% до 50% пацијената (9, 33, 61). Такође, хируршко лечење нема ефекта на системске манифестације болести. Због тога већина аутора примењује конзервативне процедуре: ендоуролошке ради деблокаде уринарног тракта, уз укључивање медикаментне терапије, остављајући хируршко лечење за рефрактерне случајеве (62, 63).

Од ендоуролошких процедура примењују се перкутане нефростоме и ендоуретерални стентови. Обе методе имају сличан степен компликација као што су инфекције, перфорације, стриктура уретера и рекурентна фиброза (64). Због тога већина аутора сматра да се у случајевима блаже уретералне опструкције без значајног поремећаја бубрежне функције, може започети медикаментна терапија без дренаже уринарног тракта (9, 47, 65).

У медикаментној терапији ИРФ коришћени су различити имуносупресивни лекови, али до сада није постигнут консензус о врсти и дужини трајања терапије. Примена имуносупресивних лекова заснована је на претпостављеној патогенези болести и њеним хистолошким карактеристикама. Познато је да рани стадијум ИРФ карактерише хистолошка слика са преминацијом ћелијског инфилтрата (лимфоцити, плазмоцити, еозинофили, макрофаги) над колагеним влакнима. Активирани макрофаги и њихова продукција интерлеукина 1 и 6 (*IL-1*, *IL-6*) би могла да објасни повећање реактаната акутне фазе и појаву системских манифестација болести. Као и у другим фиброзним болестима, имунска реакција посредована *T* лимфоцитима, и то субпопулација 2 „помоћничког“ фенотипа (*Th2*), може имати значајну улогу с обзиром на дифузан еозинофилни инфилтрат који је посредован цитокинима које продукују *Th2* (66). Стога би имуносупресивна терапија могла деловати на смањење броја и активацију *Th2* ћелија и индиректно, на смањивање ослобађања *IL-1* и *IL-6*. Из тих разлога може се претпоставити да би имуносупресивна терапија била успешнија у раним стадијумима обољења када је фиброзно ткиво богато инфламаторним ћелијама. У каснијим стадијумима постоји мања ћелијска активност, а у ткиву преовлађују снопови колагених влакана и расејане калцификације, због чега изостаје одговор на терапију.

Кортикостероиди су најчешће коришћени, било као монотерапија, или у комбинацији са другим имуносупресивним лековима: циклоспорином, циклофосфамидом, метотрексатом, азатиоприном и микофенолат мофетилом (1, 33, 49, 52, 62, 63, 66-69). Антиестроген тамоксифен такође је примењиван са различитим успехом (58), мада се у јединој рандомизованој студији показао инфериорним у односу на преднизон у превенцији релапса болести (57, 68). У новије време објављена је успешна примена биолошких агенаса код појединачних рефрактерних случајева ИРФ: ритуксимаба (антитело против *CD20* позитивних *B* лимфоцита), инфликсимаба (моноклонско антитело против *TNF- α*), и тоцилизумаба (антитело против рецептора *IL-6*), али се могућност примене ових лекова још испитује (27, 70, 71).

Ови подаци односе се углавном на појединачне случајеве и мале групе болесника. До сада нису објављене рандомизоване клиничке студије које би поредиле ефикасност ових различитих терапијских протокола, нити дужину њиховог трајања у циљу спречавања рецидива.

У нашој студији анализирали смо пацијенте лечене кортикостероидима у комбинацији са микофенолат мофетилом у једној, и азатиоприном у другој групи.

1.8.1. Кортикостероиди

Кортикостероиди се у терапији ИРФ примењују више од 35 година (72). Представљају најчешће коришћене лекове, било самостално, било након спроведеног хируршког лечења или заједно са другим имуносупресивима.

Ефикасност кортикостероида у ИРФ заснива се на њиховом антиинфламаторном и имуносупресивном дејству. Они инхибишу како рану фазу инфламације (вазодилатацију, миграцију леукоцита у место инфламације, фагоцитну активност, трансудацију, едем, депоновање фибрина), тако и касну фазу (пролиферација капилара и фибробласта, депоновање колагена и стварање ожиљног ткива (73).

Имуносупресивно дејство кортикостероиди остварују путем инхибиције *T* лимфоцита, смањеног стварања цитокина, као и антитела посредним деловањем на *B* лимфоците. Посебно је значајно дејство на лимфоците - директним дејством доводе до пролазне лимфопеније, али се значајнији ефекат остварује посредно, преко цитокина: смањују стварање *IL-2* и његов ефекат у пролиферацији *T* лимфоцита, као и продукцију *IL-1*, 3, 4 и 6, интерферона- γ и *TNF- α* . Преко инхибиције цитокина, кортикостероиди смањују настанак, пролиферацију и функцију помоћничких и супресорских *T* лимфоцита и инхибирају цитотоксични *T*-ћелијски одговор. Они, такође, ометају функцију макрофага која је повезана са презентацијом страног антигена *T* лимфоцитима. Треба напоменути да је ефекат кортикостероида на синтезу антитела дозно зависан, па мале дозе ових лекова немају утицаја на синтезу антитела, док велике ипак имају. Ова супресија антитела високим дозама кортикостероида је резултат повећања катаболизма имуноглобулинског споја, као и смањења активности помоћничких *T* ћелија и последичног изостанка кооперације *T* и *B* лимфоцита. У високим дозама, кортикостероиди могу инхибисати алтернативне и додатне путеве активације комплемената, што, преко имунокомплекса и измена у васкуларној пермеабилности изазваних цитокинима, може имати утицај на степен пропустљивости крвних судова и базалне мембране гломерула.

Веома важна улога у имуносупресивној активности кортикостероида се остварује преко инхибиције макрофагног миграционог фактора, који иначе, обнављањем продукције *IL-2* и *INF- γ* , може да поништи инхибиторни ефекат кортикостероида на *T* лимфоците и моноците (74).

Ове особине кортикостероида омогућавају, код већине пацијената, рапидно побољшање конституционалних симптома и инфламаторних маркера већ након

неколико дана као и повлачење блокаде уретера након неколико недеља (75). Редукција, чак и потпуно повлачење фиброзног ткива на *MSCT* прегледу абдомена описано је након 6 до 20 месеци терапије (33). Дужина трајања терапије није усаглашена, и креће се од 6 недеља, преко 6 месеци, па до 2 и 3 године (33, 62, 65, 66, 76). Такође, дозе кортикостероида варирају значајно између аутора. Већина као иницијални третман примењује преднизон у дози од 0,5-1,0 *mg/kg* дневно током 4-8 недеље, са постепеним смањењем до дозе одржавања 5-10 *mg* дневно током 6 до 9 месеци (57, 65). У случајевима тешке опструкције уро-тракта, кортикостероиди су примењивани и у облику „пулсне“ дозе од 250 *mg* или 500 *mg* метилпреднизолонa дневно интравенски током 3 узастопна дана (47, 75, 77). Стопа ремисије након примене кортикостероида креће се између 75% и 95%, уз просечну редукцију фиброзног ткива око 50% (57, 65). Примећено је, ипак, да је изванредан проценат пацијената резистентан на кортикостероиде. Такође, кортикостероиди сами морају бити ординирани у већим дозама да би контролисали инфламацију, што носи ризик од познатих нежељених ефеката. Додатни фактор је висока стопа релапса након обуставе њихове примене која се у различитим студијама креће од 18% до чак 72% (65, 76). У циљу да се избегну релапси, као и ризик од нежељених ефеката високих доза, кортикостероиди су комбиновани са другим имуносупресивним лековима.

Нежељени ефекти кортикостероида су добро познати, зависе од дозе и дужине трајања њихове примене. Дуготрајном употребом кортикостероида долази до супресије коре надбубрега и потенцијалних нежељених дејства у виду: Кушинговог синдрома, поремећаја у расту, болести коштаног мишићног система, бактеријских и микотичних инфекција, психоза, катаракте, дијабетеса, поремећаја ендогених стероида, дислипидемије, пептичког улкуса, хипертензије, повећања телесне масе, спорог зарастања рана, појави стрија, телеангијектазија, акни, пурпуре, хипокалиемије и хипохлоремичне алкалозе (78).

1.8.2. Микофенолат мофетил

Микофенолат мофетил је имуносупресивни лек који се у терапији ИРФ користи од 1998. године када је *Grotz* са сарадницима објавио његову успешну примену у комбинацији са кортикостероидима код ануричног пацијента са тешком опструктивном нефропатијом услед идиопатске ретроперитонеалне фиброзе (79).

Примењује се у профилакси одбацивања трансплантата бубрега, јетре и срца, али и у лечењу системског еритемског лупуса, лупус нефритиса, примарних гломерулонефритиса и системских васкулитиса (80).

Микофенолат мофетил представља 2-морфолиноетил естар микофенолне киселине. То је про-лек који се хидролизује у организму до микофенолне киселине која је активни облик лека (81). Основни механизам дејства је специфична инхибиција *T* и *B* лимфоцита путем реверзибилне некомпетитивне инхибиције ензима инозин-монофосфат дехидрогеназе, који је кључни ензим у *de novo* синтези пуринских база. Активирани лимфоцити су, више од других ћелија, зависни од синтезе пурина, те су првенствено погођени применом овог лека. Микофенолат мофетил инхибише стварање антитела, миграцију лимфоцита и моноцита на месту инфламације и смањује диференцијацију моноцита (82). У терапији ИРФ је значајан и његов антифибротички ефекат који је показан у не-имунским експерименталним моделима акутне и хроничне бубрежне болести (83, 84), као и у плућној фибрози (85).

У терапији ИРФ микофенолат мофетил је комбинован са кортикостероидима са добром ефикасношћу и толерабилношћу, без значајнијих нежељених ефеката. Примена микофенолат мофетила омогућила је краћу примену кортикостероида и мању стопу релапса у неколико описаних приказа случаја (79, 86, 87), мањој серији пацијената (62) и у пар већих серија случајева код 16, односно 31 пацијента (52, 88). Обично је примењиван у дози од 2 g дневно, а дужина трајања терапије је варијала код различитих аутора: најчешће од 10 до 30 месеци, мада је у појединачним случајевима терапија трајала и 63 месеца (52) односно 8 година (62).

Најчешћа нежељена дејства микофенолат мофетила су гастроинтестинални и хематолошки поремећаји, типа дијареје, повраћања, леукопеније и анемије. Могућа је појава и прогресивне мултифокалне леукоенцефалопатије. Његова употреба код трудница је повезана са конгениталним аномалијама и абортусом (89). Честе компликације су и опортунистичке инфекције, различити лабораторијски поремећаји, тромбоза и флебитис.

1.8.3. Азатиоприн

Азатиоприн се у терапији ИРФ користи преко 30 година, обично у комбинацији са кортикостероидима, у појединачним случајевима и на мањим серијама пацијената са добрим ефектом (47, 66, 77, 90, 91).

Азатиоприн представља имидазолски дериват меркаптопурина. Он је про-лек који се модификује у 6-меркаптопурин (6-МР) који је аналог пуринске базе хипоксантина. По механизму дејства, азатиоприн припада групи структурних аналога или антиметаболита. Имуносупресивно дејство остварује заустављањем пролиферације лимфоцита путем смањења синтезе пуринских нуклеотида и инхибицијом синтезе *DNK* и *RNK* различитих протеина и коензима. На тај начин, азатиоприн инхибише ћелијски и хуморални имунолошки одговор, при чему је ефекат много израженији на *T* лимфоците у односу на *B* лимфоците. Осим овога, лек блокира и препознавање антигена на мембрани *T* лимфоцита, смањује стварање антитела и *IL-2*, као и активност *NK* ћелија.

Азатиоприн је одобрен од стране Америчке управе за храну и лекове (*Food and Drug Administration, FDA*) за примену у трансплантацији органа, као и код реуматоидног артритиса који не реагује на мање агресивну терапију. Лек се користи и код псоријазе и псоријазног артритиса, дерматомиозитиса, полимиозитиса, за одржавање ремисије код системског еритемског лупуса и системских васкулитиса и код више типова гломерулонефритиса (92).

У овим индикацијама, азатиоприн се примењује у дози од д 1,5-3 *mg/kg* дневно. Као и у случају употребе других лекова у терапији ИРФ, ни код азатиоприна дозе нису усаглашене, па се тако лек користио у дозама од 1 *mg/kg*, 1,5 *mg/kg* и 2,5 *mg/kg* у различитим радовима (66, 93) и са различитом дужином примене: од 6 недеља, преко 3 месеца, до годину дана (66, 90, 93).

Најзначајнији нежељени ефекти током примене азатиоприна су везани за супресију коштане сржи, а ова компликација је дозно зависна. У ређим случајевима мијелотоксичност може бити веома озбиљна и независна од дозе азатиоприна, а тада је обично удружена са генским полиморфизмом за ниске вредности ензима тиопурин *S*-метил трансферазе (*TPMT*) који учествује у метаболизму лека. Леукопенија је веома честа, јавља се код око 27% пацијената, тромбоцитопенија се јавља код око 5% пацијената. Пошто се путем урина елиминише инактивни метаболит лека, бубрежна инсуфицијенција не доводи до акумулације активних метаболита. Међутим, извесна редукција дозе лека се ипак препоручује код пацијената са одмаклом бубрежном слабошћу због повећане осетљивости костне сржи на продукте метаболизма лека у стањима уремије. Азатиоприн може узроковати холестазу која се презентује реверзибилним повећањем серумских трансaminaза и билирубина, а хистолошки манифестује лобуларном некрозом и билијарном стазом. Гастроинтестиналне

компликације (мучнина, повраћање, дијареја, крварења) јављају се код око 10% пацијената, али су лакшег интензитета и ретко захтевају прекид терапије. Азатиоприн повећава ризик од малигнитета, који је повезан са дужином лечења и дозом лека. Најчешће се ради о сквамозелуларном карциному коже, ин ситу карциному цервикса, *non-Hodgkin* лимфому, карциномима усне, вулве и перинеума. Такође је повећан ризик од појаве Капошијевог саркома и мултипле склерозе (94).

1.9. ПАРАМЕТРИ АКТИВНОСТИ БОЛЕСТИ И УСПЕШНОСТИ ТЕРАПИЈЕ

Као што је већ наглашено ИРФ је ретка болест за коју до данас нису усвојени стандардизовани критеријуми за дијагнозу. Према свим ауторима који се баве испитивањем и лечењем ове болести, основни дијагностички критеријум је постојање фибро-инфламаторног ткива око абдоминалне аорте и/или илијачних артерија које се детектује *MSCT* или *MR* прегледом абдомена (41). Ово, уз присуство хидронефрозе, клиничких симптома и знакова, као и повишених вредности *SE* и/или *CRP*-а, представља потребне елементе за постављање дијагнозе.

Стандардизовани критеријуми такође не постоје ни за дефиницију клинички значајног одговора на терапију. Већина аутора се ипак слаже да је ремисија болести остварена када постоји значајна редукција фиброзног ткива на *MSCT/MR* прегледу абдомена, заједно са регресијом хидронефрозе и нормализацијом *SE* и/или *CRP*-а (41, 47, 58).

ИРФ се данас сматра болешћу са хронично-релапсирајућим током, код које је медикаментна терапија најефикаснија у раној-активној „хелијској“ фази насупрот слабијој ефикасности у касној-хроничној или „фиброзној“ фази. Због тога је одређивање активности болести код пацијената са ИРФ кључно у циљу предвиђања одговора на терапију (1, 65).

Покушај да се као параметар активности болести искористи степен пребојавања фиброзног ткива контрастним средством приликом *MSCT* прегледа описан је у појединачним случајевима. Фиброзна маса се у раним фазама болести јасно пребојава при администрацији и.в. контрастног средства због богате васкуларизације, док се у каснијим стадијумима болести, овај феномен не може видети због преминације склерозе и колагених влакана у ткиву. Ипак степен контрастног пребојавања је тешко квантификовати, те се не може са сигурношћу користити за одређивање метаболичке активности болести (1, 53).

С обзиром на инфламаторну природу болести, вредности *SE* и *CRP*-а су повишене код преко 50% пацијената у моменту постављања дијагнозе (4, 44, 48), док неки ранији радови описују и већу учесталост - 80% до 92% пацијената (1, 40). Према аналогiji са другим инфламаторним системским болестима (95-98) повишени реактанти акутне фазе, *SE* и *CRP*, су показатељи активне инфламације и, према томе, могу указивати да ће имуносупресивна терапија бити успешна. У неким системским болестима као што су полимијалгија реуматика и *Wegener*-ова грануломатоза реактанти акутне фазе могу бити од значаја као предиктори релапса (99, 100) Да ли је то заиста тако, тј. да ли се они могу сматрати параметрима активности болести, па самим тим и предикторима одговора на терапију, и даље је предмет дебате. Док једни аутори сматрају да се ова корелација не постоји, наводећи као аргумент да код 20-50% пацијената реактанти акутне фазе нису повишени упркос евидентно активној болести (40, 49, 62), други аутори у неколико радова потврђују позитивну повезаност са активношћу болести, а њихово смањење са редукцијом дебљине фиброзног ткива на *MSCT/MR* прегледу (52, 68, 69).

Такође, покушај дефинисања смањења вредности реактаната акутне фазе као показатеља ремисије болести испитиван је у само 2 студије у којима није нађена позитивна корелација између почетне концентрације *SE* и *CRP*-а, њиховог иницијалног смањења и одговора на терапију (48, 101).

Иако није доказана сензитивност и специфичност *SE* и *CRP*-а као параметара активности и ремисије болести, ипак се генерално сматра да су њихове повишене вредности знак активне инфламације. До сада нису рађене веће рандомизоване клиничке студије које би потврдиле или оповргле ову претпоставку.

2. ХИПОТЕЗЕ И ЦИЉЕВИ

2.1. Хипотезе

1. Нормализација или значајно смањење (енгл. „*near normalization*“) вредности *SE* и *CRP*-а након првих месец дана терапије је у доброј корелацији са постизањем ремисије болести.
2. Нормализација или значајно смањење (енгл. „*near normalization*“) вредности *SE* и *CRP*-а корелира са смањењем дебљине фиброзног ткива након 6 месеци терапије и након годину дана.
3. Смањење дебљине фиброзног ткива након 6 месеци терапије корелира са нормализацијом/побољшањем бубрежне функције.
4. Терапијски протокол који укључује кортикостероиде и микофенолат мофетил јесте ефикаснији у постизању брже ремисије болести.

2.2. Циљеви

1. Упоредна анализа пацијената са идиопатском ретроперитонеалном фиброзом на два различита терапијска протокола (кортикостероиди и микофенолат мофетил *vs.* кортикостероиди и азатиоприн) према:
 - полу, годинама живота у време постављања дијагнозе, као и према конституционалним симптомима: абдоминални бол и/или бол у леђима, губитак тежине, губитак апетита и повишена телесна температура;
 - лабораторијским параметрима: *SE*, *CRP*, концентрација хемоглобина, серумски креатинин у време започињања терапије, након месец дана, шест месеци, годину дана, две и четири године;
 - израчунатом степену проширености фиброзног ткива путем *MSCT/MR* прегледа абдомена на основу критеријума *Scheel*-а и сарадника (102), као и према степену смањења дебљине фиброзног ткива након шест месеци, годину дана, две и четири године од почетка терапије;
 - јачини гломерулске филтрације пре почетка терапије и током периода праћења и
 - степену релапса болести током периода праћења и брзини постизања ремисије болести.

2. Корелација вредности *SE* и *CRP*-а са:
 - са смањењем дебљине фиброзног ткива на основу налаза *MSCT/MR* прегледа абдомена током периода праћења и
 - са релапсом болести током периода праћења.
3. Корелација вредност серумског креатинина и јачине гломерулске филтрације након месец дана са редукцијом фиброзног ткива након шест месеци.
4. Анализа пацијената у односу на примену неке од ендо-уролошких процедура за декомпресију уро-тракта (пласирање перкутане нефростоме или ендоуретералног стента), као и у односу на компликације саме процедуре (инфекције, перфорације и друго) и време њихове екстракције у односу на почетак терапије.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

За спровођење истраживања добијена је сагласност Етичког одбора Војномедицинске академије. У истраживању су испоштовани принципи Добре клиничке праксе, Хелсиншке декларације и других етичких докумената битних у процесу истраживања и публикавања резултата.

3.1. Врста студије

У циљу истраживања спроведна је клиничка ретроспективна опсервациона студија типа серије случајева пацијената са идиопатском ретроперитонеалном фиброзом, на укупно 28 пацијената током периода од 2004. до 2017. год. Ретроспективна анализа је обухватала све податке из историја болести у току хоспиталног лечења, податке из извештаја лекара у току амбулантних контролних прегледа, налаза *MSCT* и *MR* абдомена, лабораторијских налаза и друге пратеће документације пацијената са идиопатском ретроперитонеалном фиброзом који су лечени на Клиници за нефрологију Војномедицинске академије

3.2. Популација која је анализирана

Комплетно испитивање је спроведено на Клиници за нефрологију Војномедицинске академије. Испитивање је вршено на пацијентима са идиопатском ретроперитонеалном фиброзом који испуњавају критеријуме за укључивање.

3.3. Узорковање

Укључени су сви пацијенти (укупно 28 пацијената) који су испунили критеријуме за укључење и искључење према типу „згодног узорка“ тј. сви они који су праћени и лечени у Војномедицинској академији. Пошто се ради о ретком обољењу, на овај начин је прикупљен довољан број пацијената како би се задовољили критеријуми снаге студије и величине узорка.

Критеријуми за укључивање у студију су:

1. Пацијенти са потврђеном дијагнозом идиопатске ретроперитонеалне фиброзе (клиничка слика, *MSCT/MR* преглед абдомена и мале карлице) код којих је у Клиници за нефрологију Војномедицинске академије започето лечење једним од два анализирана терапијска протокола: прва група пацијената је била на имуносупресивном протоколу који укључује комбинацију кортикостероида и микофенолат мофетила, док су другу групу чинили пацијенти на третману кортикостероидима у комбинацији са азатиоприном;
2. Пацијенти са идиопатском ретроперитонеалном фиброзом који су испуњавали критеријуме за активну болест на укључењу;
3. Пацијенти који су лечени и праћени од стране нефролога Војномедицинске академије најмање четири године након започињања једног од терапијских протокола;
4. Потписан формулар информисаног пристанка.

Критеријуми за искључење из студије:

1. Пацијенти који нису били на једном од ова два терапијска протокола;
2. Пацијенти који нису наставили лечење и праћење након започињања једног од два испитивана терапијска протокола у Војномедицинској академији.

3.4. Варијабле које се мере у студији

3.4.1. Током истраживања код свих пацијената одређено је следеће:

- Основне карактеристике: пол, животна доб у тренутку постављања дијагнозе.
- Анамнестички подаци на укључењу: присуство конституционалних симптома (абдоминални бол и/или бол у леђима, губитак тежине, губитак апетита и повишена телесна температура), дужина трајања симптома пре постављања дијагнозе, употреба лекова (метизергид, β -блокатори, ерготамин, метил-допа), као и евентуална претходна терапија ретроперитонеалне фиброзе, скорашње

инфекције, абдоминална траума, операције у абдомену и малој карлици, скорашња радијациона терапија абдомена и мале карлице.

- Комплетан физикални преглед.
- Основне хематолошке и биохемијске анализе на почетку истраживања, након месец дана, шест месеци, годину дана, две и четири године: *SE*, *CRP*, комплетна крвна слика, уреа, креатинин, калијум, гликемија. Пацијенти у време одређивања *SE* и *CRP*-а нису имали манифестне знаке инфекције било ког органског система.
- Имунолошке и хормонске анализе: антинуклеарна антитела (*ANA*), антикардиолипинска антитела (*ACA*), реуматоидни фактор (*RF*), антинеутофилна цитоплазматска антитела (*ANCA*), антитероидна антитела (антитиорепероксидазна - *ATPO*), *T4* (тироксин), *T3* (тријодтиронин), *TSH* (тиреостимулирајући хормон).
- Јачина гломерулске филтрације на почетку истраживања и током периода праћења.
- Ултразвучни преглед абдомена ради утврђивања постојања хидронефрозе и њеног степена, као и захватања једног или оба бубрега.
- Степен проширености фиброзног ткива путем *MSCT/MR* прегледа абдомена коришћењем критеријума *Scheel*-а и сарадника (102):
 1. Први степен: фиброзно ткиво обухвата инфраренални део абдоминалне аорте и/или илијачне крвне судове
 2. Други степен: фиброзно ткиво обухвата инфраренални део доње шупље вене
 3. Трећи степен: латерално ширење фиброзног ткива са компресијом на један или оба уретера и
 4. Четврти степен: проширеност фиброзног ткива на бубрежни хилус са компресијом на реналну артерију и/или реналну вену.
- Степен смањења дебљине фиброзног ткива након шест месеци, годину дана, две и четири године од почетка терапије.
- Степен релапса болести током периода праћења.
- Примена неке од ендо-уролошких процедура за декомпресију уро тракта (пласирање перкутане нефростоме или ендоуретералног стента), као и компликације саме процедуре (инфекције, перфорације и друго) и време њихове екстракције у односу на почетак терапије.

Хематолошке и биохемијске анализе спроведене су у Институту за биохемију ВМА:

1. *SE* је одређена је стандардном методом по *Westergreen*-у. Референтне вредности у односу на пол су: за мушкарце 0-15 *mm/h* (старости < 50 година) и 0-20 *mm/h* (старости >50 година). За жене 0-20 *mm/h* (старости <50 година) и 0-30 *mm/h* (старости > 50 година) (103)
2. *CRP* је одређен квантитативном методом на апарату *Advia 1800*, произвођача *Siemens*. Референтне вредности су 0-3 *mg/L*
3. Параметри крвне слике су анализирани на хематолошком бројачу *Advia 120*, *Siemens*. Референтна вредност хемоглобина за жене је износила: 115-165 *mg/L* и за мушкарце: 130-180 *mg/L*. Под анемијом се подразумевала свака вредност хемоглобина мања од 120 *mg/L* за жене, односно мања од 130 *mg/L* за мушкарце. Референтне вредности леукоцита су износиле $4-11 \times 10^9/L$.
4. Остале биохемијске анализе одређене су на апарату, *Dimension RxL Max*, произвођача *Siemens*. Референтне вредности су износиле: гликемија 4,1-5,9 *mmol/L*, уреа 2,5-7,5 *mmol/L*, креатинин за жене 44-88 $\mu\text{mol/L}$, а за мушкарце 62-115 $\mu\text{mol/L}$, калијум 3,5-5,1 *mmol/L*
5. Јачина гломерулске филтрације одређена применом *CKD-EPI* формуле:
 $(GFR = 141 \times \min(S_{cr} / \kappa, 1)^\alpha \times \max(S_{cr} / \kappa, 1)^{-1,209} \times 0,993 \text{ ж. доб} \times 1,018$ [ако је особа женског пола]) и изражен у *ml/min/1,73 m²* (55)
6. *T4*, *T3*, *TSH*, *ATPO* и *RF* одређени су на апарату *Cobas 6000*, *Roche*, у Институт за медицинску биохемију ВМА. Референтне вредности су износиле *T4*: 62,67-150,83 *nmol/L*, *T3*: 0,89-2,44 *nmol/L*, *TSH*: 0,350-4,94 *mIU/L*, *RF* <15 *IU/ml*

Имунолошке анализе спроведене су у Институту за медицинска истраживања, Одељење за експерименталну имунологију: антинуклеарна антитела (*ANA*, референтно без детекције), антикардиолипинска антитела (*ACA*, референтно до 12 *IU/ml*) и антинеутофилна цитоплазматска антитела (*ANCA*, референтно до 5 *IU/ml*).

3.4.2. Радиолошка испитивања

Ултразвучни преглед бубрега вршен је на ултразвучном апарату *Toshiba Aplio 300 ultrasound imaging system* Клинике за нефрологију ВМА.

Детекција фиброзног ткива у абдомену и његова проширеност вршени су путем 128 мулти слајсног скенера (*MSCT*) или путем апарата за магненту резонанцу од 1,5 T у Институту за радиологију Војномедицинске академије. Резултати су интерпретирани од стране истог радиолога Војномедицинске академије. Код пацијената са јачином гломерулске филтрације мањом од 30 ml/min, *MSCT* преглед је рађен без и.в. контраста. Код осталих спровођене су мере превенције контрастне нефропатије (105). Дебљина ретроперитонеалног фиброзног ткива изражавана је у виду највећег попречног дијаметра у милиметрима (*mm*) на почетку истраживања, и у свим периодима праћења: након шест месеци, годину дана, две и четири године од почетка терапије. Степен смањења дебљине фиброзног ткива у свим периодима праћења дефинисан је као процентуално смањење овог дијаметра у односу на почетну вредност.

3.5. Терапијски протокол

Сви пацијенти су подељени у две групе према врсти терапијског протокола. Прва група (13 пацијената) је примала терапијски протокол који је укључивао кортикостероиде у комбинацији са микофенолат мофетилом (*CellCept*[®], *Roche d.o.o.*), а друга група (15 пацијената) је примала кортикостероиде у комбинацији са азатиоприном (*Imuran*[®], *Clinres farmacija d.o.o.*). Кортикостероиди су у обе групе пацијената на почетку терапије ординирани парентерално - интравенски, или перорално у зависности од тежине опструктивне нефропатије и бубрежне инсуфицијенције у моменту започињања лечења. Код пацијената са тешком акутном бубрежном инсуфицијенцијом и олигуријом, примењена је једна од ендо-уролошких процедура за декомпресију уро тракта - перкутана нефростома или ендоуретерални стент, а потом започет орални облик кортикостероида, преднизон (*Pronison*[®], *Galenika a.d.*), у дози од 0,5 mg/kg/дан до краја првог месеца терапије. Код пацијената са неолигуријском акутном бубрежном инсуфицијенцијом нису примењиване ендоуролошке процедуре, већ је иницијално ординиран интравенски облик кортикостероида, метилпреднизолон (*Lemod Solu*[®], *Hemofarm a.d.*) у дози од 250 mg/дан, током 3 узастопна дана, а потом се прелази на орални облик кортикостероида, преднизон (*Pronison*[®], *Galenika a.d.*), у дози од 0,5 mg/kg/дан до краја првог месеца терапије. У оба случаја, након првог месеца терапије, доза преднизона је смањивана у наредна 2 месеца до дозе одржавања 10 mg/дан до краја прве године, а онда 10 mg сваки други дан до краја протокола.

Истовремено са кортикостероидима, пацијенти су започињали други имуносупресивни лек, микофенолат мофетил или азатиоприн.

Микофенолат мофетил (*CellCept*[®], *Roche d.o.o.*) је даван у дози од 1 g орално два пута на дан првих шест месеци терапије, а потом је доза смањивана на 750 mg односно 500 mg два пута дневно. У случајевима појаве неке од инфективних компликација, доза микофенолат мофетила је привремено смањивана за 50%.

Азатиоприн (*Imuran*[®], *Clinres farmacija d.o.o.*) је даван у дози 1,5 mg/kg/дан. У случајевима појаве нежељених реакција (хепатотоксичност, хематолошке компликације, инфекције) доза је привремено смањивана за 50%.

Кортикостероиди су ординирани у укупном трајању од 48 месеци, а микофенолат мофетил и азатиоприн у трајању од 18 месеци.

3.6. Клинички параметри праћења пацијената

Сви пацијенти су од започињања терапије контролисани након месец дана, потом једном месечно током првих шест месеци, потом свака три месеца до краја друге године. Након тога, контроле су обављане сваких четири до шест месеци до краја четврте године.

Пацијентима је током сваке контролне посете лекару рађен физикални преглед, биохемијске анализе, као и додатне претраге. Од биохемијских анализа рађена је комплетна крвна слика, као и општа биохемија: вредност *SE*, *CRP*, глукозе, урее, креатинина, калијума. Што се тиче испитивања урина, рађена је хемијска анализа урина (*pH*, специфична тежина, протеини, хемоглобин, леукоцити, глукоза, аскорбинска киселина, кетони, уробилиноген, билирубин и нитрити), седимент урина и његово микробиолошко испитивање.

Поред мерења крвног притиска, на свакој контроли је рађен рутински и ултразвучни преглед бубрега. Контролни *MSCT* или *MR* преглед абдомена рађени су након шест месеци, годину дана, две и четири године након започињања лечења, уз превенцију контрастне нефропатије.

Код пацијената са повишеним вредностима *SE* и *CRP*-а на почетку терапије, нормализација или значајно смањење (енгл. „*near normalization*“) у свим периодима праћења дефинисано је као вредност *SE* и *CRP*-а унутар референтних, или смањено на вредност мању од 30% од базалне - почетне вредности.

Одлука о екстракцији ендуретералних стентова или перкутаних нефростома, доношена је у сарадњи са урологом Војномедицинске академије, а на основу побољшања биохемијских параметара (нормализација реактаната акутне фазе, смањивање или нормализација креатинина) и радиолошког налаза смањења дебљине фиброзног ткива.

Активна болест је дефинисана као присуство периаортног фиброзног ткива које обухвата један или оба уретера са последичном хидронефрозом на *MSCT/MR* прегледу абдомена уз истовремено присуство повишене *SE* и/или *CRP*-а.

Ремисија је дефинисана као регресија хидронефрозе и редукција дебљине фиброзног ткива на *MSCT/MR* прегледу абдомена у поређењу са почетка терапије, уз истовремену нормализацију *SE* и/или *CRP*-а.

Релапс болести дефинисан је као поновна појава или повећање дебљине фиброзног ткива на *MSCT/MR* прегледу абдомена, са или без хидронефрозе, уз истовремено повећање вредности *SE* и/или *CRP*-а.

3.7. Статистичка обрада података

Комплетна статистичка анализа података је урађена у статистичком компјутерском програму, *PASW Statistics*, верзија 18. Све атрибутивне варијабле су представљене у облику фреквенци појединих категорија, а статистичка значајност између појединих категорија је тестирана *Chi-square* тестом. Све континуалне варијабле су представљене у облику медијане са интеркварталним распонем (распон од 25-75. перцентила), док су се разлике у континуалним варијаблама тестирале уз помоћ *Mann-Whitny* теста или *Kruskal Wallis* теста, јер се радило о малом узорку и расподели података која није испуњавала услове за нормалну расподелу. Веза између потенцијалних фактора ризика и исхода је била испитана униваријантном логистичком регресијом, и изражена је као *odds ratio* (OR) са 95% интервалом поверења. Повезаност између варијабли испитана је уз помоћ *Spearman's* корелације ранга и тумачена уз помоћ Коенових критеријума, према којима се сматра да је јака корелација када је r од 0,3-0,5, а веома јака када је $r > 0,5$. Нормалност расподеле података је проверена уз помоћ *Shapiro-Wilks Normality* теста (величина узорка мања од 50 јединица посматрања). Све анализе су биле процењене на нивоу статистичке значајности од $p < 0,05$. Након статистичке обраде података резултати су представљени табеларно и графички.

4. РЕЗУЛТАТИ

У студији је укупно анализирано 28 пацијената са идиопатском ретроперитонеалном фиброзом. Они су подељени у две групе. Прва група су били пацијенти који су били на терапији микофенолат мофетилом у комбинацији са кортикостероидима, њих 13 (група са микофенолатом), док је у другој групи било 15 пацијената који су примали азатиоприн и кортикостероиде (група са азатиоприном).

4.1. Социо-демографске карактеристике

У групи пацијената који су били на терапији микофенолат мофетилом укупно је било 8 пацијената мушког пола а 5 женског пола (Табела 2). Слична дистрибуција према полу је била и у групи која је била на азатиоприну, 9 пацијената мушког пола, а 6 женског. У односу на пол у дистрибуцији пацијената по групама није нађена статистички значајна разлика (*Chi square test*; $p=1,000$).

У односу на старост у тренутку постављања дијагнозе болести такође није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената (*Mann-Whitney U test*; $p=0,432$) (Табела 2). У првој групи најмлађи пацијент је имао 36 година, а најстарији 60, док је у другој групи распон година био од 42 до 72. У обе групе медијана старости је била у шестој деценији живота.

Табела 2. Социо-демографске карактеристике пацијената

Група са:	Пол		Укупно	Старост; медијана (<i>IQR</i>)
	Мушкарци	Жене		
Микофенолатом	8 (61,5%)	5 (38,5%)	13 (100%)	57,00 (51,00-59,00)
Азатиоприном	9 (60,0%)	6 (40,0%)	15 (100%)	53,00 (47,00-58,00)
р вредност	p=0,1000*			p=0,432**

*- *Chi square test*; **- *Mann-Whitney U test*; *IQR*- интерквартални распон (25-75.

перцентил)

4.2. Клиничке карактеристике пацијената- симптоми и знаци болести

Најчешћи симптом у време постављања дијагнозе је био бол који је био присутан код 12 пацијената (92,3%) из прве групе и 12 (80,0%) пацијената из друге групе. У односу на присуство и локализацију бола није нађена статистички значајна разлика између две групе анализираних пацијената (*Chi square test*; $p=0,245$) (Табела 3). У преко 80% случајева у обе групе пацијената бол је присутан у пределу леђа и/или абдомена у тренутку постављања дијагнозе болести.

Табела 3. Дистрибуција пацијената у односу на локализацију бола

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност
Одсуство бола	1 (7,7%)	3 (20,0%)	p=0,245*
Бол у леђима	8 (61,5%)	4 (26,7%)	
Бол у абдомену	3 (23,1%)	4 (26,7%)	
Бол у леђима и у абдомену	1 (7,7%)	4 (26,7%)	

*- *Chi square test*

У односу на остале симптоме и знаке болести није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената (Табела 4). Најчешће присутни симптоми и знаци болести су били губитак телесне масе, замор и оток ногу. Са мањом учесталашћу јављали су се мучнина, повраћање, повишена телесна температура, слабост, губитак апетита, главобоља, хидроцела, дубока венска тромбоза и новонастала артеријска хипертензија. Дужина трајања симптома пре постављања дијагнозе кретала се од 3 до 15 месеци у првој групи и од 2 до 12 месеци у другој.

Табела 4. Дистрибуција пацијената у односу на друге симптоме болести

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Губитак телесне масе	2 (15,4%)	7 (46,7%)	p=0,173
Повишена температура	-	3 (20,0%)	p=0,274
Замор	8 (61,5%)	10 (66,7%)	p=1,000
Оток ногу	4 (30,8%)	5 (33,3%)	p=1,000
Дубока венска тромбоза	-	2 (13,3%)	p=0,528
Хидроцела	1 (7,7%)	2 (13,3%)	p=1,000
Мучнина	3 (23,1%)	1 (6,7%)	p=0,486
Повраћање	1 (7,7%)	2 (13,3%)	p=1,000
Слабост	2 (15,4%)	2 (13,3%)	p=1,000
Губитак апетита	1 (7,7%)	4 (26,7%)	p=0,416
Главобоља	1 (7,7%)	-	p=0,942
Новонастала хипертензија	2 (15,4%)	1 (6,7%)	p=1,000

*- *Chi square test*; приказани су само позитивни налази

У односу на стање бубрежне функције и очуваност диурезе у моменту укључења у студију није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената (Табела 5). Акутна бубрежна слабост је била присутна у великом уделу код пацијената у тренутку постављања дијагнозе: у првој групи код 69,2% а у другој код 66,7% пацијената, са олигоануријом код 38,5% односно 20,0% ових пацијената. По 3 пацијента из обе групе су иницијално, у моменту започињања лечења терапијским протоколима у нашој студији, имали већ изванредан степен хроничне бубрежне инсуфицијенције, са афункцијом једног бубрега код 2 пацијента у првој и код сва три у другој групи (Табела 5).

Табела 5. Дистрибуција пацијената у односу на бубрежну функцију и диурезу

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Акутна бубрежна слабост	9 (69,2%)	10 (66,7%)	p=1,000
Олигоанурија	5 (38,5%)	3 (20,0%)	p=0,510
Хронична бубрежна слабост од раније	3 (23,1%)	3 (20,0%)	p=1,000
Афункција једног бубрега од раније	2 (15,4%)	3 (20,0%)	p=1,000

*- *Chi square test*; приказани су само позитивни налази

4.3. Присуство коморбидитета, фактора ризика и налаз имунолошких анализа

У односу на присуство коморбидитета није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената (Табела 6). Код пацијената у обе групе је најчешће била присутна хипертензија, и то код 76,9% у првој групи и код 60,0% пацијената у другој групи. Потом су по учесталости били заступљени шећерна болест (23,1%) у првој групи и Хашимото тиреоидитис (26,7%) у другој групи. Мањи број пацијената је имао дубоку венску тромбозу (13,3%), тромбофилију и епилепсију (по 6,7%), сви у другој групи.

Табела 6. Дистрибуција коморбидитета

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Хипертензија	10 (76,9%)	9 (60,0%)	p=0,582
Шећерна болест	3 (23,1%)	2 (13,3%)	p=0,860
Хашимото тиреоидитис	2 (15,4%)	5 (33,3%)	p=0,792
Дубока венска тромбоза	-	2 (13,3%)	p=0,528
Тромбофилија	-	1 (6,7%)	p=1,000
Епилепсија	-	1 (6,7%)	p=1,000

*- *Chi square test*; приказани су само позитивни налази

Од претпостављених фактора ризика за настанак ретроперитонеалне фиброзе, регистрована је употреба β -блокатора у лечењу хипертензије, и то код 2 пацијента из прве групе (15,4%) и код једног из друге групе (6,7%).

У односу на присуство позитивних имунолошких налаза није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената (*Chi square test*; p=0,090) (Табела 7).

Табела 7. Налази имунолошких анализа

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Имунологија	2 (15,4%)	8 (53,3%)	p=0,090
ANA	-	3 (20,0%)	p=0,274
ATPO	2 (15,4%)	5 (33,3%)	p=0,274
ACA	-	1 (6,7%)	p=1,000

*- *Chi square test*; ANA - антинуклеарна антитела; ATPO - антитероидна антитела; ACA - антикардиолипинска антитела; приказани су само позитивни налази

У првој групи су само 2 пацијента имала позитивна аутоантитела и то *АТРО*, док је у другој групи укупно 8 пацијената имало детектована аутоантитела: најчешће *АТРО*, потом *ANA* и *АСА*, мада разлика није била статистички значајна. Сем Хашимото тиреоидитиса, друге аутоимунске болести нису дијагностиковане код наших пацијената.

4.4. Ранија терапија

Седам пацијената (25%) од укупног броја испитиваних је пре укључивања у нашу студију лечено у другим установама због суспектне или дијагностиковане идиопатске ретроперитонеалне фиброзе. Код ових пацијената примењена терапија није била успешна, тако да су при укључивању у нашу студију сви имали активну болест, односно испуњавали критеријуме за укључење.

У односу на терапију коју су ови пацијенти добијали пре започињања терапијских протокола у студији, није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената (Табела 8).

У првој групи 3 пацијента (23,1%) су претходно лечена: комбинацијом медикаментне терапије (азатиоприн, тамоксифен) и хируршке интервенције (1 пацијент), само хируршком интервенцијом (1 пацијент) и један пацијент само пласирањем ендуретералног стента током 13 месеци.

У другој групи претходно су лечена 4 пацијента (26,7%): комбинацијом медикаментне терапије (тамоксифен, односно кортикостероиди) и ендуретералним стентом (по 1 пацијент), само медикаментном терапијом – кортикостероиди (1 пацијент) и само пласирањем ендуретералног стента током 12 месеци (1 пацијент).

Хемодијализа је примењена као краткотрајна интермитентна процедура због тешке акутне бубрежне инсуфицијенције код 1 пацијента (5 процедура) у првој и код 3 пацијента у другој групи (од 5 до 13 процедура).

Табела 8. Ранија терапија ових пацијената

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Претходно лечени:	3 (23,1%)	4 (26,7%)	p=1,000
Медикаментна терапија	1 (7,7%)	3 (20,0%)	p=0,699
Хируршка интервенција	2 (15,4%)	-	p=0,400
Стент	1 (7,7%)	2 (13,3%)	p=1,000
Хемодијализа	1 (7,7%)	3 (20,0%)	p=0,699

*- *Chi square test*; приказани су само позитивни налази

4.5. Примена ендуроолошких процедура и компликације

У односу на примену ендуроолошких процедура током терапије ових пацијената није нађена значајна разлика између две групе пацијената (Табела 9). Код пацијената из групе са микофенолат мофетилом најчешће је примењиван уретерални стент (53,8%), једнострано или обострано, док у групи са азатиоприном најчешће није била примењивана ниједна од ендуроолошких процедура (73,3%). Медијана времена екстракције ових процедура је била дужа код микофенолата у односу на азатиоприн (медијана 16 vs. 3 недеље), али разлика није била статистички значајна (*Mann-Whitney U test*; p=0,059). Слично се добија и када се из анализе изостави пацијент из групе са микофенолат мофетилом, који је све време имао пласиран обострано стент: медијана 8 недеља (*IQR* 4,00-32,00 недеље) у групи са микофенолатом у односу на медијану 3 (*IQR* 2,00-5,50 недеље) у групи са азатиоприном (*Mann-Whitney U test*; p=0,085).

Табела 9. Примена ендуроолошких процедура током терапије ових пацијената

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност
Није примењена ниједна	5 (38,5%)	11 (73,3%)	p=0,139*
Нефростома	1 (7,7%)	-	
Уретерални стент	7 (53,8%)	4 (26,7%)	
Једнострана примена	4 (30,8%)	1 (6,7%)	p=0,131*
Обострана примена	4 (30,8%)	3 (20,0%)	
Време екстракције- у недељама#	16 (4,00-32,00)	3 (2,00-5,50)	p=0,059**

*- *Chi square test*; **- *Mann-Whitney U test*; #-медијана (*IQR*)- интерквартални распон (25-75. перцентил)

Што се тиче компликација ендуролошких процедура, није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената (*Chi square test*; $p=0,134$) (Табела 10). Међутим, компликације су биле чешће код примене микофенолата у односу на групу која је била на терапији азатиоприном (46,2% vs. 13,3%). Што се тиче врсте компликација, једино је била присутна уринарна инфекција.

Табела 10. Компликације након примене ендуролошких процедура

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност
Није било компликација	7 (53,8%)	13 (86,7%)	p=0,134*
Присутна компликација-инфекција	6 (46,2%)	2 (13,3%)	

*- *Chi square test*; приказани су само позитивни налази

4.6. Исходи терапије

Што се тиче брзине постизања ремисије, није нађена статистички значајна разлика између група, али је нађена клинички значајна разлика (Табела 11). Код микофенолата медијана је дупло краћа, око 4 недеље, док је код азатиоприна 8 недеље (*Mann-Whitney U test*; $p=0,082$). Такође, није нађена статистички значајна разлика код времена за које се симптоми губе након постављања дијагнозе и отпочињања терапије. Медијане су исте код обе групе болесника, 4 недеље (*Mann-Whitney U test*; $p=0,785$).

Табела 11. Време до појаве ремисије болести

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Време до појаве ремисије болести (у недељама); медијана (<i>IQR</i>)	4 (4,00-20,00)	8 (6,00-24,00)	p=0,082
Губитак симптома (у недељама); медијана (<i>IQR</i>)	4 (4,00-4,00)	4 (4,00-4,00)	p=0,785

*- *Mann-Whitney U test*; *IQR*- интерквартални распон (25-75. перцентил)

Након четворогодишњег циклуса терапије новонастала хронична бубрежна слабост је регистрована код већег броја пацијената из групе са микофенолатом, али разлика није била статистички значајна (Табела 12). Нова афункција једног бубрега је

била чешћа у групи са микофенолатом, а код два пацијената са микофенолатом је дошло и до прекида терапије пре времена, али разлике нису биле статистички значајне. До прекида терапије је дошло након годину и 6 месеци (медијана је била 18,5 месеци).

Табела 12. Дистрибуција пацијената у односу на новонасталу хроничну бубрежну слабост, нову афункцију бубрега и прекид терапије пре времена након четворогодишњег циклуса терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Новонастала хронична бубрежна слабост- да	4 (30,8%)	1 (6,7%)	р=0,244
Новонастала хронична бубрежна слабост- не	9 (69,2%)	14 (93,3%)	
<hr/>			
Нова афункција једног бубрега- да	4 (30,8%)	2 (13,3%)	р=0,509
Нова афункција једног бубрега- не	9 (69,2%)	13 (86,7%)	
<hr/>			
Стоп терапије пре времена- да	2 (15,4%)	-	р=0,400
Стоп терапије пре времена- не	11 (84,6%)	15 (100%)	
Стоп терапије пре времена (у месецима); медијана	18,5	-	-

*- *Chi square test*

Табела 13. Дистрибуција пацијената у односу на релапс болести

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност
Релапс болести- да	3 (23,1%)	-	р=0,175*
Релапс болести – не	10 (76,9%)	15 (100%)	
<hr/>			
Време до појаве релапса од момента обуставе терапије (у месецима); медијана	11,5	-	-
Време до појаве релапса од почетка терапије (у месецима); медијана	36	-	-

*- *Chi square test*

Релапс болести се јавио код три пацијента на микофенолату, док код пацијената на азатиоприну није било релапса (Табела 13). Два пацијента код којих се јавио релапс болести су обуставили терапију пре предвиђеног времена, први после 6 месеци, а други после 31 месец. Појава релапса код првог дијагностикована је након 18 месеци од обуставе (2 године од почетка праћења), а код другог само 5 месеци након обуставе (односно 3 године од почетка праћења). Након дијагностикованог релапса, код оба пацијента је настављена терапија према протоколу групе за микофенолат уз кортикостероиде, са постизањем комплетне, односно парцијалне ремисије до краја периода праћења. Трећи пацијент није обуставио терапију, а релапс болести је регистрован на крају спроведеног протокола, односно након 4 године од почетка праћења. Код њега је протокол поново започет, са добрим иницијалним одговором. Медијана до појаве релапса од момента обуставе терапије била је 11,5 месеци, док је медијана од почетка терапије била 36 месеци.

Из табеле 14 видимо да су сва три пацијента у моменту релапса болести имала пораст седиментације и *C*-реактивног протеина, два пацијента поновну појаву хидронефрозе, од којих је један имао и значајно погоршање бубрежне функције. Релапс је потврђен и поновном појавом фиброзног ткива у ретроперитонеуму (*MSCT* абдомена), које је пре тога било у потпуној регресији код прва два пацијента, као и повећањем његове дебљине код трећег пацијента.

Табела 14. Карактеристике пацијената код којих се јавио релапс болести (група са микофенолатом)

	Пацијент 1	Пацијент 2	Пацијент 3
Симптоми и знаци у моменту релапса	Бол у леђима, замор	Бол у абдомену, замор, оток ногу	Бол у леђима
<i>SE</i> (mm/h); пре релапса / релапс	15 / 46	15 / 74	32 / 52
<i>CRP</i> (mg/L); пре релапса / релапс	3,2 / 6,3	4,5 / 26	5,5 / 9,5
Креатинин ($\mu\text{mol/L}$); пре релапса / релапс	85 / 92	110 / 372	80 / 67
ЈГФ (ml/min); пре релапса / релапс	87 / 79	64 / 15	70 / 90
Степен хидронефрозе	Други	Трећи	-
Једнострана / обострана	једнострана	Обострана	-
Фиброзно ткиво; % пораст у односу на базалну вредност	40	100	90
Терапија	Микофенолат кортикостероиди	Микофенолат Кортикостероиди Стент	Микофенолат Кортикостероиди
Исход	Ремисија	Парцијална ремисија	Лечење у току

SE - седиментација еритроцита; *CRP* - С-реактивни протеин; ЈГФ - јачина гломерулске филтрације.

4.7. Нежељени ефекти терапије

Током студије нису забележени значајни нежељени ефекти код оба терапијска протокола. Пацијенти са шећерном болешћу нису имали значајно погоршање гликорегулације, односно нису захтевали промену већ постојеће терапије. Два пацијента из микофенолат групе и један из азатиоприн групе су остали на терапији пероралним хипогликемцима, а по један пацијент из сваке групе је пре укључења у студију лечен инсулином. У групи са азатиоприном 2 пацијента су имала блаже нежељене ефекте у виду леукопеније и пораста трансaminaза (1 пацијент) и само пораста трансaminaза (1 пацијент) који су се повукли на транзиторно смањење дозе.

4.8. Степен хидронефрозе током периода праћења

У тренутку започињања терапије, сви су имали већ изражену хидронефрозу осим једног пацијента у групи са микофенолатом (Табела 15). Најчешћи је у обе групе био други степен хидронефрозе, и то обострано, али разлика није била статистички значајна између група.

Табела 15. Степен хидронефрозе у тренутку започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Нема хидронефрозу	1 (7,7%)	-	р=0,117
Први степен	-	4 (26,7%)	
Други степен	11 (84,6%)	11 (73,3%)	
Трећи степен	1 (7,7%)	-	
Четврти степен	-	-	
Једнострана	1 (8,3%)	2 (13,3%)	р=1,000
Обострана	11 (91,7%)	13 (86,7%)	

*- *Chi square test*

Месец дана након започињања терапије микофенолат је показао статистички значајно боље резултате, јер је код 69,2% пацијената дошло до повлачења

хидронефрозе, док је у групи са азатиоприном то било код свега 26,7% (*Chi square test*; $p=0,046$) (Табела 16).

Табела 16. Степен хидронефрозе након месец дана од започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Нема хидронефрозу	9 (69,2%)	4 (26,7%)	p=0,046
Први степен	1 (7,7%)	7 (46,7%)	
Други степен	2 (15,4%)	4 (26,7%)	
Трећи степен	1 (7,7%)	-	
Четврти степен	-	-	
Једнострана	3 (75,0%)	6 (54,5%)	p=0,905
Обострана	1 (25,0%)	5 (45,5%)	

*- *Chi square test*

Након шест месеци терапије скоро 85% пацијената са микофенолатом није имало хидронефрозу, док је тај проценат био мањи у групи са азатиоприном, око 73%, али разлика није била статистички значајна (*Chi square test*; $p=0,201$) (Табела 17).

Табела 17. Степен хидронефрозе након шест месеци од започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Нема хидронефрозу	11 (84,6%)	11 (73,3%)	p=0,201
Први степен	2 (15,4%)	1 (6,7%)	
Други степен	-	3 (20,0%)	
Трећи степен	-	-	
Четврти степен	-	-	
Једнострана	2 (100%)	3 (75,0%)	p=1,000
Обострана	-	1 (25,0%)	

*- *Chi square test*

Годину дана након започињања терапије сви пацијенти са микофенолатом су били без хидронефрозе, док је у групи са азатиоприном и даље био један пацијент са једностраном хидронефрозом (*Chi square test*; $p=1,000$) (Табела 18).

Табела 18. Степен хидронефрозе након годину дана од започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Нема хидронефрозу	13 (100%)	14 (93,3%)	p=1,000
Први степен	-	1 (6,7%)	
Други степен	-	-	
Трећи степен	-	-	
Четврти степен	-	-	
<hr/>			
Једнострана	-	1 (100%)	-
Обострана	-	-	

*- *Chi square test*

Табела 19. Степен хидронефрозе након две године од започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Нема хидронефрозу	12 (92,3%)	14 (93,3%)	p=0,364
Први степен	-	1 (6,7%)	
Други степен	1 (7,7%)	-	
Трећи степен	-	-	
Четврти степен	-	-	
<hr/>			
Једнострана	1 (100%)	1 (100%)	-
Обострана	-	-	

*- *Chi square test*

Након две године од започињања терапије један пацијент на микофенولاتу је опет имао други степен једностране хидронефрозе. Овај пацијент је обуставио терапију пре времена (након 6 месеци), а релапс је регистрован након 18 месеци, односно две године од започињања терапије, у моменту студијске анализе. У групи са азатиоприном један пацијент је и даље имао једнострану првостепену хидронефрону,

непромењено у односу на период после једне године терапије (*Chi square test*; $p=0,364$) (Табела 19).

Четири године након започињања терапије код једног пацијента на микофенолату регистрован је трећи степен једностране хидронефрозе, док су сви пацијенти на азатиоприну били без хидронефрозе (*Chi square test*; $p=0,274$) (Табела 20). Овај пацијент је имао релапс болести који се манифестовао обостраном хидронефрозом трећег степена, након што је прекинуо терапију пре времена, односно након 31 месец лечења. Код њега је релапс наступио 5 месеци након обуставе терапије, односно 3 године од започињања протокола. У табели су приказани резултати након 4 године од започињања лечења, односно резултат терапије насталог релапса.

Табела 20. Степен хидронефрозе након четири године започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Нема хидронефрозу	12 (92,3%)	15 (100%)	p=0,274
Први степен	-	-	
Други степен	-	-	
Трећи степен	1 (7,7%)	-	
Четврти степен	-	-	
<hr/>			
Једнострана	1 (100%)	-	-
Обострана	-	-	

*- *Chi square test*

4.9. Лабораторијски налази током периода праћења

У тренутку започињања терапије, у лабораторијским анализама региструју се повишене вредности седиментације и С-реактивног протеина код 12 пацијената (92,3%) у групи са микофенолатом (код једног пацијента седиментација, а код другог С-реактивни протеин нису били повишени), док је свих 15 пацијената (100%) у другој групи, са азатиоприном, имало повишене вредности оба параметра. Медијана вредности седиментације у првој групи је била 65 а у другој 88, што није достигло статистичку значајност, док је значајна разлика између група добијена код С-реактивног протеина - вредности су биле више у групи са азатиоприном (медијана

вредности износила 18,6 у првој групи, односно 25 у другој). У обе групе забележена је блажа анемија, повишена вредност урее и креатинина, док је јачина гломерулске филтрације (ЈГФ) била снижена у обе групе: у првој групи 36 *ml/min*, а у другој 12 *ml/min* (приказане су медијане), мада разлике нису достигле статистичку значајност (Табела 21). Значајна разлика показана је у вредностима калијума. Клинички гледано је, међутим, већина налаза била лошија у групи са азатиоприном.

Табела 21. Лабораторијски налази у тренутку започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
	Медијана (<i>IQR</i>)		
Седиментација (<i>mm/h</i>)	65 (43,50-91,00)	88 (50,00-104,00)	p=0,134
<i>CRP</i> (<i>mg/L</i>)	18,6 (8,7-30,25)	25 (16,60-51,20)	p=0,050
Хемоглобин (<i>g/L</i>)	112 (105,00-129,00)	104 (95,00-135,00)	p=0,661
Креатинин ($\mu\text{mol/L}$)	156 (139,00-505,50)	364 (128,00-763,00)	p=0,447
ЈГФ (<i>ml/min</i>)	36 (11,00-48,00)	12 (5,00-50,00)	p=0,580
Гликемија (<i>mmol/L</i>)	5 (4,25-6,00)	5 (4,50-6,20)	p=0,611
Калијум (<i>mmol/L</i>)	4,4 (4,05-5,10)	4,8 (4,50-5,90)	p=0,047
Уреа (<i>mmol/L</i>)	9,8 (7,50-20,05)	16,7 (8,20-23,90)	p=0,475
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	8,5 (7,31-9,28)	9,8 (7,90-13,70)	p=0,084

*- *Mann-Whitney test*; *IQR*- интерквартални распон (25-75. перцентил); *CRP* - *C*-реактивни протеин; ЈГФ - јачина гломерулске филтрације.

Месец дана након започињања терапије у обе групе долази до пада вредности седиментације и *C*-реактивног протеина, корекције анемије и пада вредности серумског креатинина уз пораст ЈГФ (у првој групи ЈГФ расте са 36 *ml/min* на 54 *ml/min*, а у другој са 12 *ml/min* на 63 *ml/min*). Ипак, није нађена значајна разлика у лабораторијским налазима између две групе пацијената (Табела 22).

Табела 22. Лабораторијски налази након месец дана од започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	p вредност*
	Медијана (<i>IQR</i>)		
Седиментација (<i>mm/h</i>)	16 (8,50-20,50)	20 (11,00-42,00)	p=0,111
<i>CRP</i> (<i>mg/L</i>)	3,47 (3,12-4,05)	5,4 (3,00-15,00)	p=0,112
Хемоглобин (<i>g/L</i>)	133 (112,00-139,00)	125 (119,00-135,00)	p=0,747
Креатинин ($\mu\text{mol/L}$)	115 (103,00-138,00)	105 (96,00-126,00)	p=0,222
ЈГФ (<i>ml/min</i>)	54 (44,00-62,50)	63 (53,00-74,00)	p=0,249
Гликемија (<i>mmol/L</i>)	4,9 (4,20-6,50)	4,6 (4,20-5,30)	p=0,854
Калијум (<i>mmol/L</i>)	4,5 (4,30-4,75)	4,3 (4,10-4,70)	p=0,459
Уреа (<i>mmol/L</i>)	7,6 (6,05-8,70)	7,5 (6,00-10,20)	p=0,782
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	11 (10,20-12,16)	10,1 (9,00-12,80)	p=0,446

*- *Mann-Whitney test*; *IQR*- интерквартални распон (25-75. перцентил); *CRP* - C-реактивни протеин; ЈГФ - јачина гломерулске филтрације.

Након шест месеци терапије није нађена значајна разлика између лабораторијских анализа у ове две групе (Табела 23). Бубрежна функција је у групи са азатиоприном у побољшању у односу на једномесечни период, док је у групи са микофенолатом практично на истом нивоу.

Годину дана након започињања терапије нађена је значајна разлика у вредностима седиментације, креатинина и клиренса креатинина између група (Табела 24). Седиментација је била значајно већа у групи са азатиоприном (медијана 25, док је у групи са микофенолатом била 14). Бубрежна функција је била статистички значајно боља у групи са азатиоприном, односно креатинин је био нижи ($82 \mu\text{mol/L}$ према $114 \mu\text{mol/L}$), а ЈГФ већа (80 ml/min према 56 ml/min) него у групи са микофенолатом. Вредности осталих параметара се нису значајно разликовале.

Табела 23. Лабораторијски налази након шест месеци од започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
	Медијана (<i>IQR</i>)		
Седиментација (<i>mm/h</i>)	15 (7,00-26,50)	25 (24,00-34,00)	p=0,097
<i>CRP</i> (<i>mg/L</i>)	3,2 (2,38-4,69)	4,4 (3,40-6,00)	p=0,112
Хемоглобин (<i>g/L</i>)	140 (114,50-143,50)	133 (125,00-142,00)	p=0,533
Креатинин ($\mu\text{mol/L}$)	113 (94,50-144,00)	90 (79,00-114,00)	p=0,059
ЈГФ (<i>ml/min</i>)	53 (46,00-66,00)	77 (55,00-84,00)	p=0,076
Гликемија (<i>mmol/L</i>)	4,8 (4,40-5,60)	4,8 (4,50-5,30)	p=0,764
Калијум (<i>mmol/L</i>)	4,5 (4,20-4,80)	4,3 (4,20-4,70)	p=0,282
Уреа (<i>mmol/L</i>)	7,2 (6,60-7,75)	5,6 (5,30-7,70)	p=0,065
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	10 (9,09-12,16)	8,8 (8,10-11,30)	p=0,222

*- *Mann-Whitney test*; *IQR*- интерквартални распон (25-75. перцентил); *CRP* - C-реактивни протеин; ЈГФ - јачина гломерулске филтрације.

Табела 24. Лабораторијски налази након годину дана од започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
	Медијана (<i>IQR</i>)		
Седиментација (<i>mm/h</i>)	14 (7,00-23,00)	25 (14,00-38,00)	p=0,007
<i>CRP</i> (<i>mg/L</i>)	3,5 (2,60-5,08)	3,2 (1,57-3,20)	p=0,310
Хемоглобин (<i>g/L</i>)	140 (122,00-151,00)	140 (131,00-142,00)	p=0,628
Креатинин ($\mu\text{mol/L}$)	114 (89,50-128,00)	82 (74,00-98,00)	p=0,007
ЈГФ (<i>ml/min</i>)	56 (51,50-63,00)	80 (60,00-91,00)	p=0,009
Гликемија (<i>mmol/L</i>)	4,9 (4,45-5,90)	4,8 (4,40-5,40)	p=0,595
Калијум (<i>mmol/L</i>)	4,5 (4,23-4,50)	4,4 (4,20-4,60)	p=0,851
Уреа (<i>mmol/L</i>)	7,2 (5,84-7,60)	6,5 (5,60-7,50)	p=0,519
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	8,97 (7,95-10,60)	7,8 (7,30-9,30)	p=0,134

*- *Mann-Whitney test*; *IQR*- интерквартални распон (25-75. перцентил); *CRP* - C-реактивни протеин; ЈГФ - јачина гломерулске филтрације.

Две године након започињања терапије ниво креатинина и леукоцита је био статистички значајно већи у групи са микофенолатом (Табела 25). Медијана вредности креатинина у групи са микофенолатом износила је 103 $\mu\text{mol/L}$, наспрам 89 $\mu\text{mol/L}$ у

групи са азатиоприном. Ово је пратила и нижа ЈГФ у микофенолат групи (58 *ml/min* у поређењу са 79 *ml/min*), али разлика није достигла статистичку значајност. Регистрована значајна разлика у броју леукоцита, није била праћена разликом у медијанама седиментације и С-реактивног протеина, иако је медијана вредности седиментације у групи са микофенолатом била нешто већа него након годину дана трајања терапије, могуће као последица релапса који је настао након 2 године од почетка праћења код једног пацијента у овој групи.

Табела 25. Лабораторијски налази након две године од започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
	Медијана (<i>IQR</i>)		
Седиментација (<i>mm/h</i>)	16 (12,00-36,00)	25 (16,00-35,00)	p=0,344
<i>CRP</i> (<i>mg/L</i>)	3,2 (2,25-7,93)	3,1 (2,50-5,00)	p=0,695
Хемоглобин (<i>g/L</i>)	141 (132,50-153,50)	138 (128,00-148,00)	p=0,406
Креатинин ($\mu\text{mol/L}$)	103 (91,00-131,50)	89 (80,00-105,00)	p=0,029
ЈГФ (<i>ml/min</i>)	58 (47,00-69,50)	79 (55,00-92,00)	p=0,056
Гликемија (<i>mmol/L</i>)	5,4 (4,75-6,30)	5,1 (4,80-5,60)	p=0,475
Калијум (<i>mmol/L</i>)	4,4 (4,25-4,60)	4,3 (4,20-4,60)	p=0,626
Уреа (<i>mmol/L</i>)	6,7 (5,60-7,35)	5,6 (5,20-6,30)	p=0,072
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	10,1 (8,60-11,05)	8,7 (6,70-9,10)	p=0,021

*- *Mann-Whitney test*; *IQR*- интерквартални распон (25-75. перцентил); *CRP* - С-реактивни протеин; ЈГФ - јачина гломерулске филтрације.

Након четири године трајања терапије нађена је статистички значајна разлика између група у нивоу С-реактивног протеина који је био нижи у групи са азатиоприном, као и креатинина чија је медијана вредности износила 86 $\mu\text{mol/L}$ (Табела 26). ЈГФ је такође била боља у овој групи 80 *ml/min* у поређењу са 60 *ml/min* у групи са микофенолатом, али разлика није била статистички значајна. Медијане вредности гликемије се током четворогодишњег периода у обе групе нису погоршавале, имајући у виду да оба протокола укључују и кортикостероиде.

Табела 26. Лабораторијски налази четири године од започињања терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
	Медијана (<i>IQR</i>)		
Седиментација (<i>mm/h</i>)	12 (10,00-22,00)	20 (20,00-29,00)	p=0,080
<i>CRP</i> (<i>mg/L</i>)	4,78 (2,83-8,75)	3,1 (1,47-4,50)	p=0,041
Хемоглобин (<i>g/L</i>)	146 (125,50-155,00)	137 (125,00-150,00)	p=0,628
Креатинин ($\mu\text{mol/L}$)	92 (86,50-140,00)	86 (80,00-92,00)	p=0,050
ЈГФ (<i>ml/min</i>)	60 (48,00-78,50)	80 (64,00-84,00)	p=0,065
Гликемија (<i>mmol/L</i>)	5,3 (4,15-6,00)	4,8 (4,50-6,00)	p=0,817
Калијум (<i>mmol/L</i>)	4,5 (4,25-4,95)	4,4 (4,30-4,50)	p=0,146
Уреа (<i>mmol/L</i>)	7,3 (5,40-8,00)	5,7 (5,00-7,10)	p=0,123
Леукоцити ($\times 10^9/L$)	8,5 (7,50-9,81)	8,5 (7,50-9,00)	p=0,945

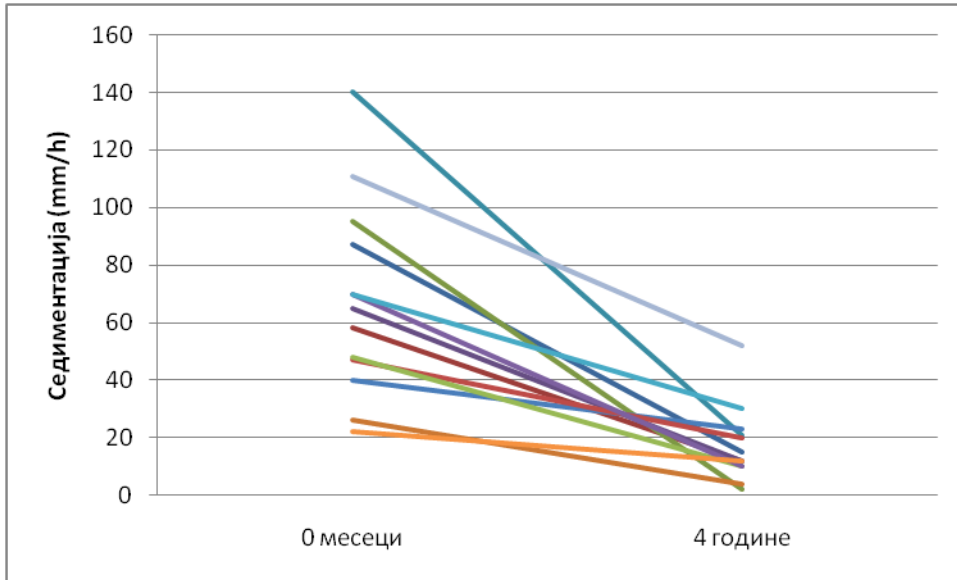
*- *Mann-Whitney test*; *IQR*- интерквартални распон (25-75. перцентил); *CRP* - *C*-реактивни протеин; ЈГФ - јачина гломерулске филтрације.

4.9.1 Вредност седиментације и *C*-реактивног протеина током терапије

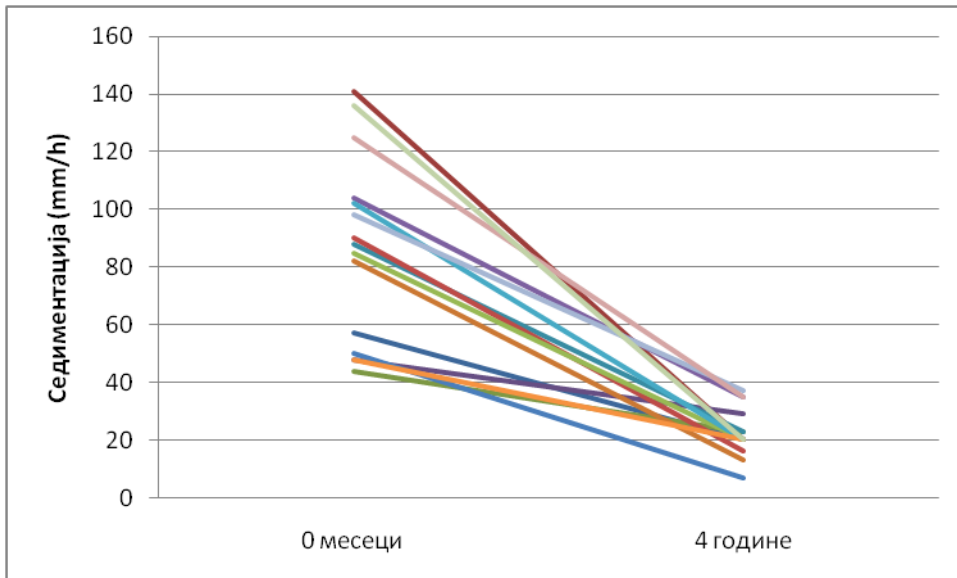
Ако погледамо вредности седиментације и *C*-реактивног протеина на почетку и на крају оба терапијска протокола, видимо да се оба параметра значајно смањују (Графикони 1-4).

У првој групи, са микофенолатом, један пацијент (7,7%) није имао повишену седиментацију на почетку терапије, док је код осталих 12 пацијената (92,3%) она била повишена у опсегу од најмање 22 *mm/h* до највеће 140 *mm/h*. На крају четворогодишње терапије, седиментација се нормализује код 11 пацијената (84,6%), док код 2 (15,4%) пацијента није регистрована нормализација. Од ова два пацијента, код првог постоји пад вредности седиментације са 70 *mm/h* на 30 *mm/h*, али не и њена нормализација што би се могло објаснити значајним степеном оштећења бубрежне функције на уласку у студију који је остао практично на истом нивоу (ЈГФ на почетку 16 *ml/min* и на крају периода 18 *ml/min*). Код другог пацијента је дошло до поновног пораста седиментације на 52 *mm/h*, што је коинцидирало са релапсом болести у који је овај пацијент ушао на крају периода праћења (Графикон 1).

Графикон 1. Смањење вредности седиментације након 4 године у групи са микофенолатом



Графикон 2. Смањење вредности седиментације након 4 године у групи са азатиоприном



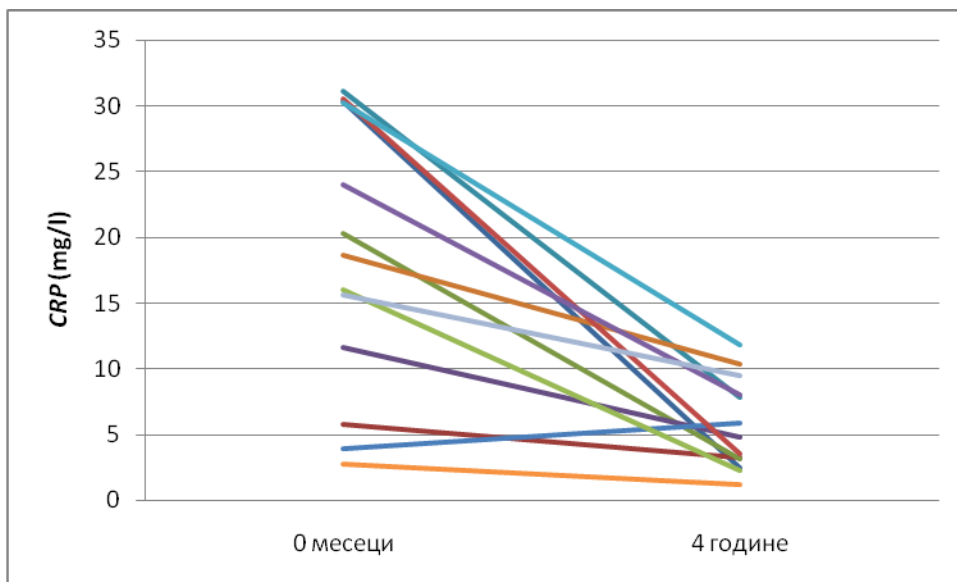
У групи са азатиоприном седиментација је била повишена код свих 15 пацијената на укључењу у студију, а нормализује се код 13 (86,7%). Као што се може видети из Графикона 2 - два пацијента која нису нормализовала седиментацију на крају периода су такође имали пад вредности са 44 *mm/h* на 37 *mm/h* и са 104 *mm/h* на 35 *mm/h*. Оба су на почетку студије имали од раније хроничну бубрежну инсуфицијенцију која се није погоршала до краја испитиваног периода (ЈГФ код првог 50 *ml/min* у тренутку

отпочињања терапије а 55 ml/min на крају четворогодишњег периода праћења; код другог 11 ml/min на почетку а 20 ml/min на крају).

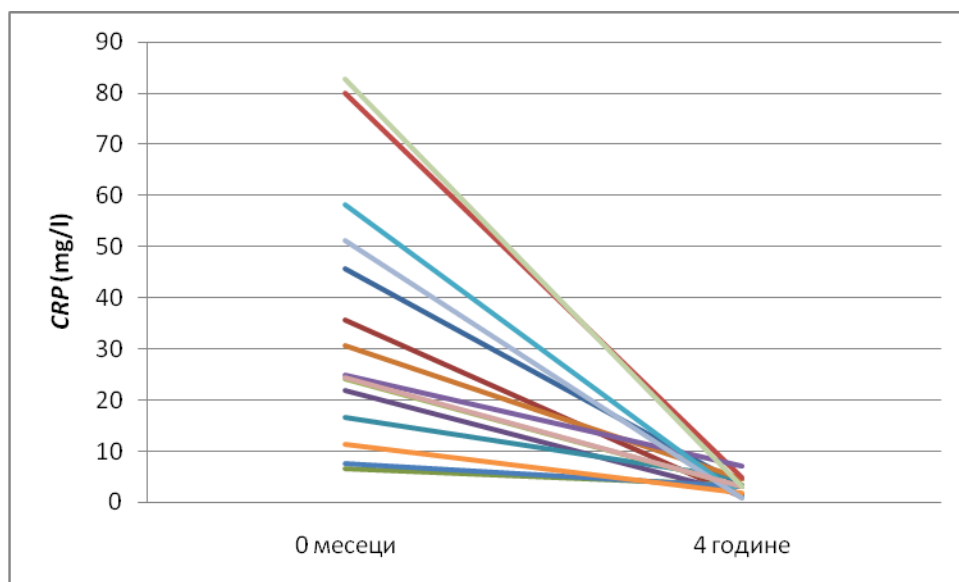
Што се тиче вредности С-реактивног протеина, 7 пацијената (53,8%) из прве групе је нормализовало, односно значајно смањило вредност (*near normalization*, смањење на мање од 30% базалне вредности), док је 6 пацијената (46,2%) имало вредности изнад нормале (Графикон 3). Ипак, и код њих је дошло до значајног смањивања вредности овог параметра у поређењу са почетком испитиваног периода (показано касније у тексту).

У групи са азатиоприном свих 15 пацијената (100%) је на крају четворогодишњег периода имало нормализоване или значајно смањене (*near normalization*, смањење на мање од 30% базалне вредности) вредности С-реактивног протеина (Графикон 4).

Графикон 3. Смањење вредности С-реактивног протеина (CRP) након 4 године у групи са микофенолатом



Графикон 4. Смањење вредности С-реактивног (CRP) протеина након 4 године у групи са азатиоприном

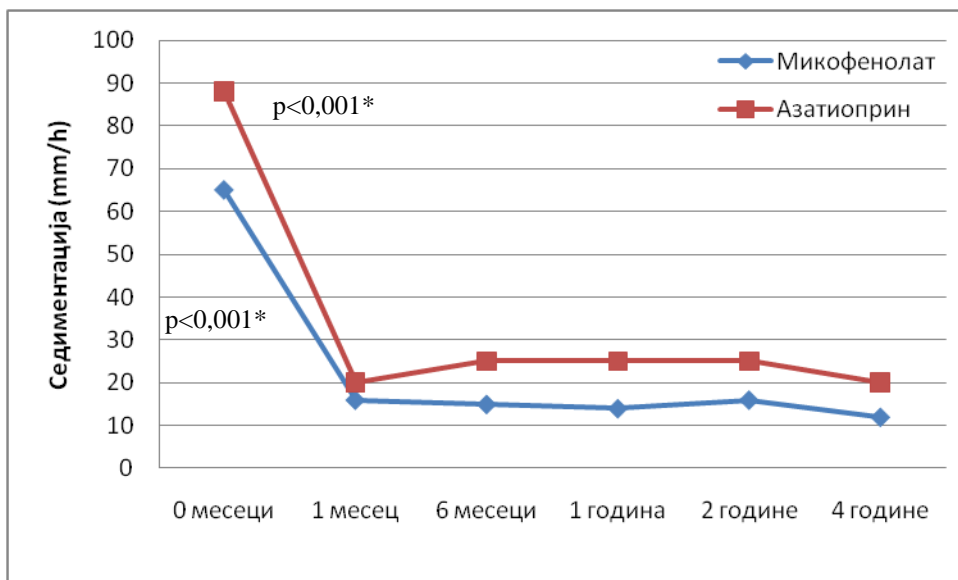


У циљу испитивања ефикасности оба терапијска протокола, посматране су промене вредности кључних лабораторијских показатеља: седиментације, С-реактивног протеина, креатинина и ЛГФ, током лечења.

Ако сагледамо кретање ова четири показатеља од момента започињања терапије, онда видимо да су код оба терапијска протокола добијени значајни клинички резултати (Графикони 5-8). Код сва четири параметара је дошло до значајних промена након увођења терапије, односно до значајног побољшања ових показатеља (*Kruskal Wallis test*; $p < 0,05$), и то већ након месец дана терапије.

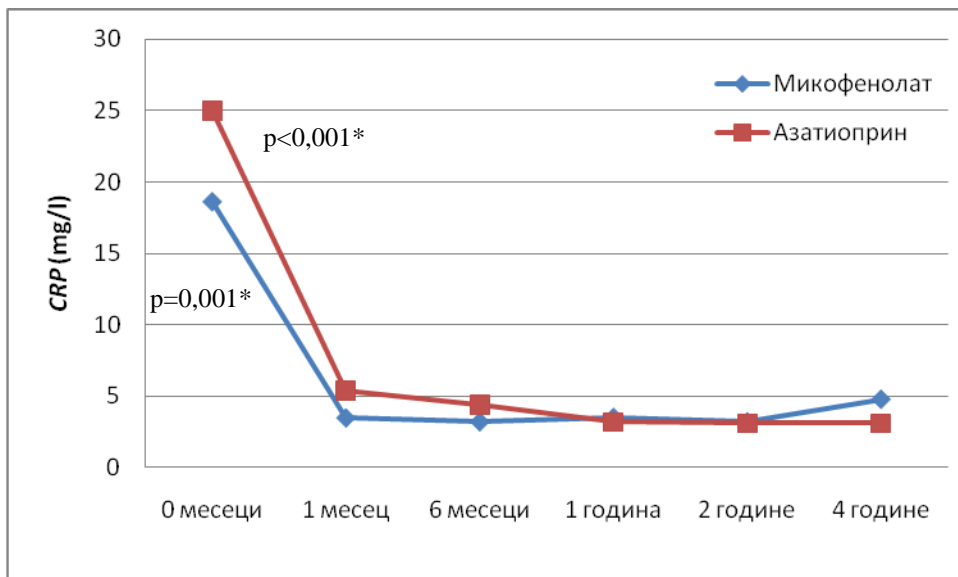
На Графикону 5. видимо да у обе групе постоји пад вредности седиментације еритроцита већ након првих месец дана терапије: у групи са микофенолатом седиментација пада са 65 mm/h на 16 mm/h , док је у групи са азатиоприном смањење са 88 mm/h на 20 mm/h , што је достигло високу статистичку значајност ($p < 0,001$). Такође, и у осталим периодима праћења, смањење вредности седиментације је у обе групе статистички значајно, тако да је на крају 4 године у првој групи медијана вредности на 12 mm/h , а у другој на 20 mm/h . Између самих група на крају четворогодишње терапије, међутим, нема значајне разлике у вредностима овог параметра (раније приказано у Табели 26).

Графикон 5. Седиментација током периода праћења (приказане су медијане)



*- *Kruskal Wallis test*

Графикон 6. С-реактивни протеин (CRP) током периода праћења (приказане су медијане)



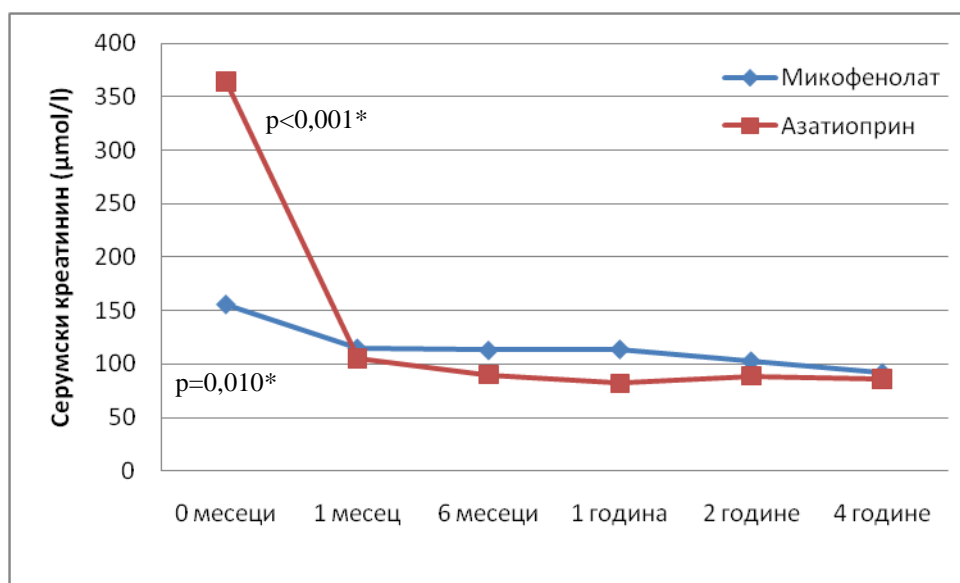
*- *Kruskal Wallis test*

Ако погледамо кретање С-реактивног протеина видимо да код оба терапијска протокола долази до статистички високо значајног пада вредности овог параметра већ после месец дана терапије: у микофенолат - групи са 18,6 mg/L на 3,47 mg/L, а у азатиоприн - групи са 25 mg/L на 5,4 mg/L ($p < 0,001$) (Графикон 6). Значајан пад вредности у односу на почетак лечења показан је и у свим испитиваним периодима. На

крају периода, између самих протокола, добијена је значајна разлика у вредности C-реактивног протеина, наиме он је био мањи у азатиоприн - групи (Табела 26).

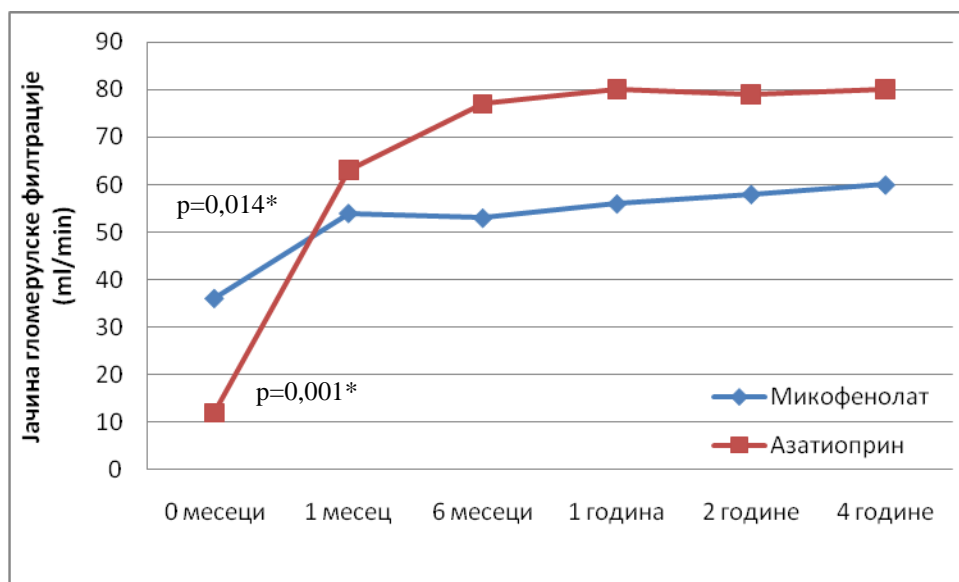
Графикони 7 и 8 показују побољшање бубрежне функције применом оба терапијска протокола. Серумски креатинин у обе групе се значајно смањује већ после првих месец дана терапије, што одговара такође значајном повећању ЈГФ. У микофенолат - групи се види да се после месец дана вредност креатинина смањује са $156 \mu\text{mol/L}$ на $115 \mu\text{mol/L}$ ($p=0,010$) док се ЈГФ побољшава са 36 ml/min на 54 ml/min ($p=0,014$). У азатиоприн - групи иницијална вредност креатинина је већа него у микофенолат - групи, и значајно се смањује након месец дана са $364 \mu\text{mol/L}$ на $105 \mu\text{mol/L}$ ($p<0,001$), што прати повећање ЈГФ са 12 ml/min на 63 ml/min ($p=0,001$). На крају четворогодишњег периода региструје се даље побољшање ових параметара које такође достиже статистичку значајност у односу на почетак терапије: у микофенолат - групи серумски креатинин је у паду до $92 \mu\text{mol/L}$, а ЈГФ у порасту до 60 ml/min , док је у азатиоприн - групи креатинин $86 \mu\text{mol/L}$, а ЈГФ 80 ml/min . Када се пореде ова два протокола међусобно, на крају испитиваног периода вредност серумског креатинина је статистички значајно мања у азатиоприн - групи. ЈГФ је била већа у овој групи, односно бубрежна функција боља, али то није достигло статистичку значајност (раније приказано у Табели 26.)

Графикон 7. Серумски креатинин током периода праћења (приказане су медијане)



*- *Kruskal Wallis test*

Графикон 8. Јачина гломерулске филтрације током периода праћења (приказане су медијане)



*- *Kruskal Wallis test*

4.10. Проширеност фиброзног ткива током периода праћења

Анализирали смо степен проширености ретроперитонеалног фиброзног ткива у моменту започињања терапије, добијеног *MSCT/MR* прегледом абдомена према критеријуму *Scheel*-а и сарадника (102). Највећи број пацијената у микофенолат - групи имао је I+II+III степен - њих 7 (53,8%), док је у азатиоприн - групи најчешће био присутан I+III степен - код 8 (53,3%). У односу на проширеност фиброзног ткива, није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената (Табела 27).

Табела 27. Проширеност фиброзног ткива

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
Степен фиброзе			
I+II+III	7 (53,8%)	5 (33,3%)	p=0,412
I+III+IV	2 (15,4%)	1 (6,7%)	
I+III	4 (30,8%)	8 (53,3%)	
I+II+III+IV	-	1 (6,7%)	

*- *Chi square test*

Такође није нађена статистички значајна разлика ни у односу на процентуално смањење дебљине фиброзног ткива током времена до краја периода праћења (Табела 28). Из приказане табеле се види да је у микофенолат - групи ефекат бржи, односно већ након 6 месеци дебљина фиброзног ткива је мања за скоро 60% (57%, приказане су медијане) док је тај проценат мањи у азатиоприн - групи – 35%, где се редукција фиброзног ткива за 60% постиже након годину дана терапије. На крају периода праћења медијана процентуалног смањења фиброзног ткива је била 100% код пацијената микофенолат - групе, док је у азатиоприн - групи била 80%. Иако разлика између група није достигла статистичку значајност, са клиничког аспекта је значајан брз ефекат микофенолата већ после 6 месеци као и чињеница да је 7 пацијената на овом протоколу након 4 године имало потпуно повлачење фиброзног ткива (100% редукције) док је код азатиоприн - групе то постигнуто код 5 пацијената.

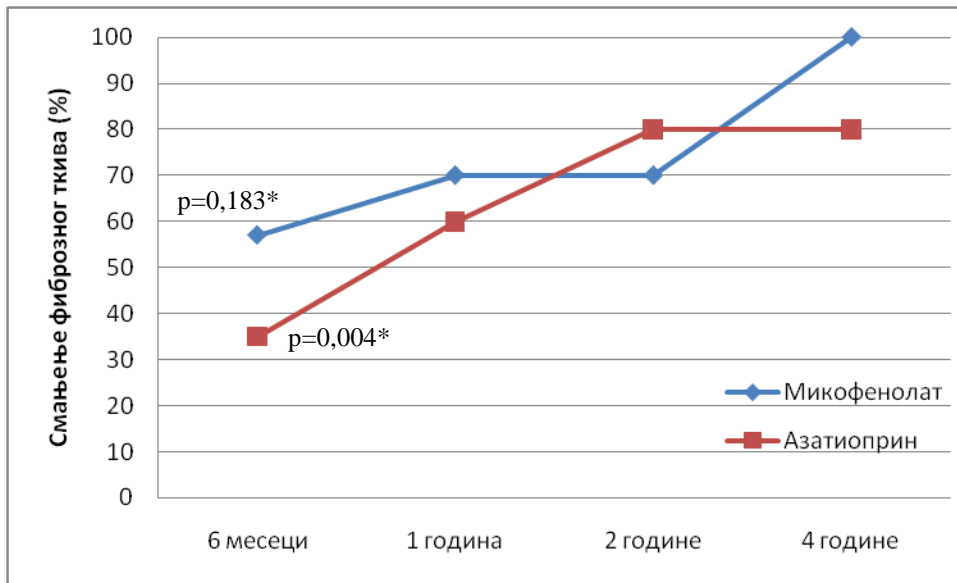
Табела 28. Процентуално смањење фиброзног ткива након уведене терапије

Група са:	Микофенолатом	Азатиоприном	р вредност*
	Медијана (<i>IQR</i>)		
Након 6 месеци	57 (14,00-90,00)	35 (20,00-50,00)	p=0,342
Након 1 годину	70 (60,00-100,00)	60 (20,00-80,00)	p=0,192
Након 2 године	70 (60,00-100,00)	80 (40,00-100,00)	p=0,405
Након 4 године	100 (52,00-100,00)	80 (70,00-100,00)	p=0,717

*- *Mann-Whitney test*; *IQR*- интерквартални распон (25-75. перцентил)

На Графикону 9 је приказан временски тренд смањења фиброзног ткива код ова два протокола лечења почев од шестог месеца до краја 4 године. У микофенолат - групи ова разлика није била статистички значајна (p=0,183), док је у азатиоприн - групи ова разлика значајна (p=0,004). Међутим када се погледа крај испитиваног периода, очигледна је боља медијана повлачења фиброзног ткива у микофенолат - групи у односу на групу са азатиоприном.

Графикон 9. Процентуално смањење фиброзног ткива након започињања терапије (приказане су медијане)



*- *Kruskal Wallis test*

Слика 6 приказује смањење дебљине фиброзног ткива на *MSCT* абдомена код пацијента из микофенолат - групе у моменту започињања терапије, затим након 6 месеци терапије када је постигнута редукација фиброзног ткива за 60% и на крају терапијског протокола, након 48 месеци, где је степен редукације фиброзног ткива 100%

Слика 6. Смањење дебљине фиброзног ткива на *MSCT* абдомена код пацијента из микофенолат - групе: Класа I, II и III ретроперитонеалне фиброзе: А) у моменту започињања терапије, В) након 6 месеци, С) након 48 месеци терапије. Стрелице показују фиброзни „муф“ око абдоминалне аорте

А)



В)



С)

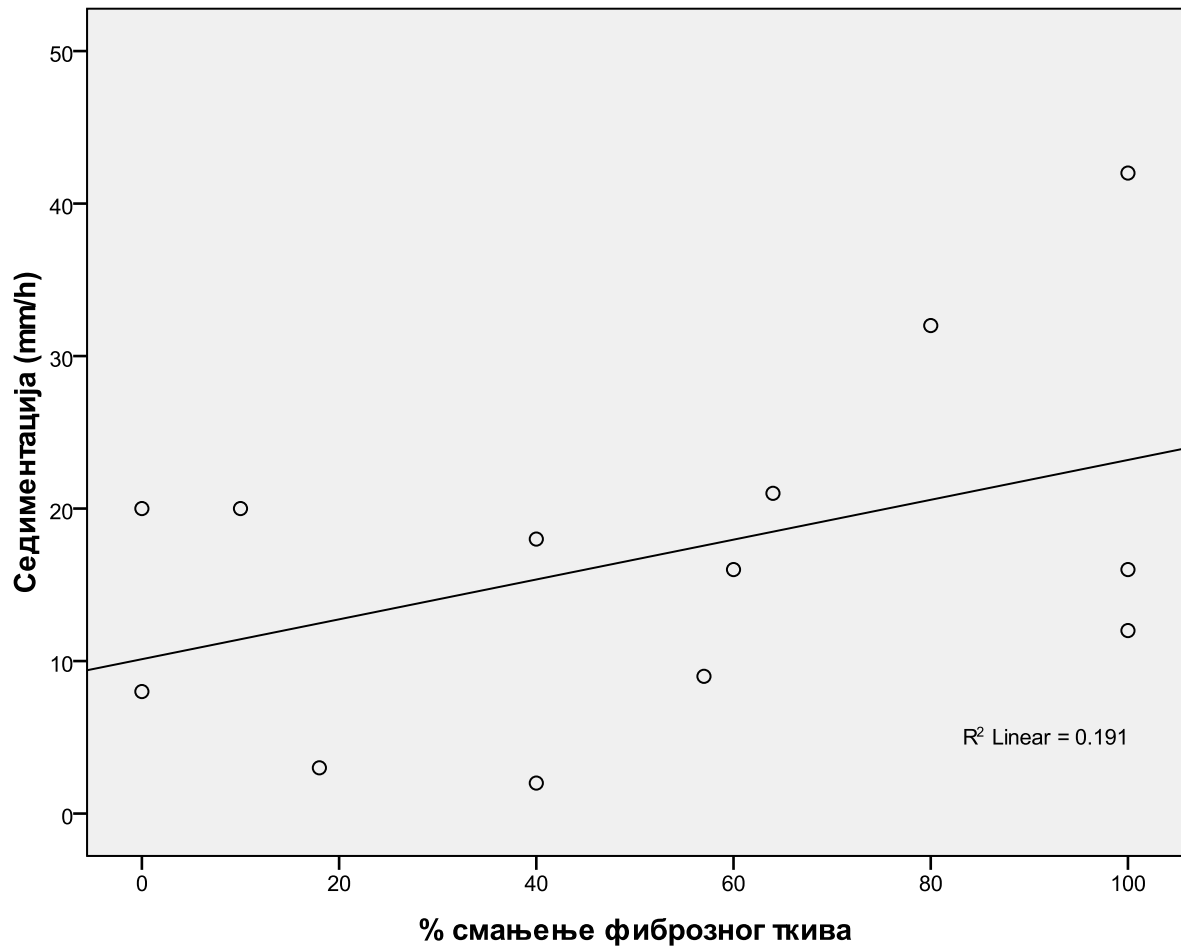


4.11. Повезаност лабораторијских и клиничких налаза

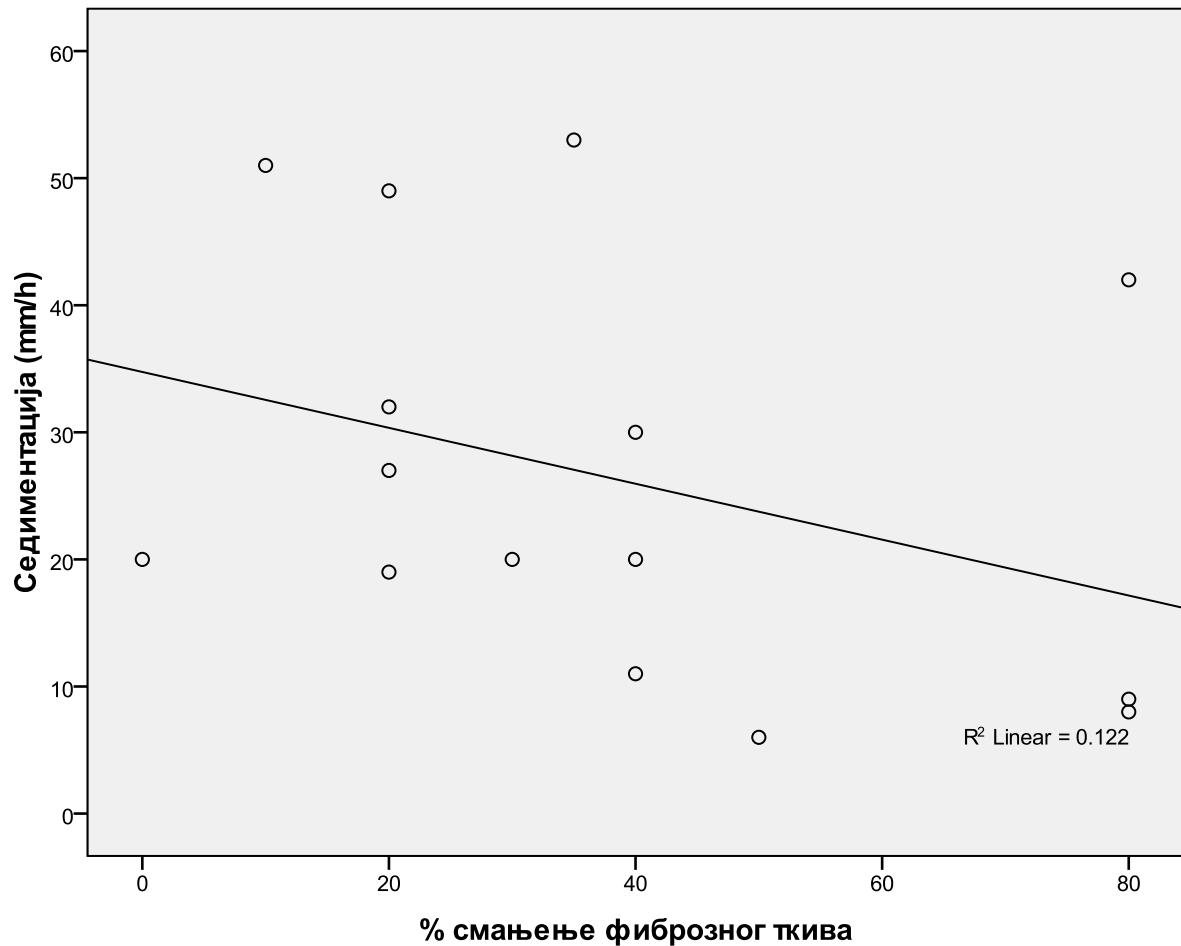
Имајући у виду претпоставку да смањење вредности реактаната акутне фазе, односно седиментације еритроцита и С-реактивног протеина, после месец дана терапије корелира са процентуалним смањењем дебљине фиброзног ткива након 6 месеци терапије, спровели смо регресиону анализу и корелацију ових параметара.

У групи са микофенолатом (Графикон 10) седиментација није показала значајну корелацију са процентуалним смањењем дебљине фиброзног ткива након 6 месеци терапије (*Spearman's rho* = 0,338; $p=0,259$), док је у групи са азатиоприном (Графикон 11) ова корелација потврђена и статистички значајна (*Spearman's rho* = -0,455; $p=0,088$) што указује да смањење вредности седиментације корелира са повећањем процента смањења дебљине фиброзног ткива (односно његовом редукцијом).

Графикон 10. Регресиона линија и корелација између седиментације након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци у групи са микофенолатом (*Spearman's rho* = 0,338; $p=0,259$)

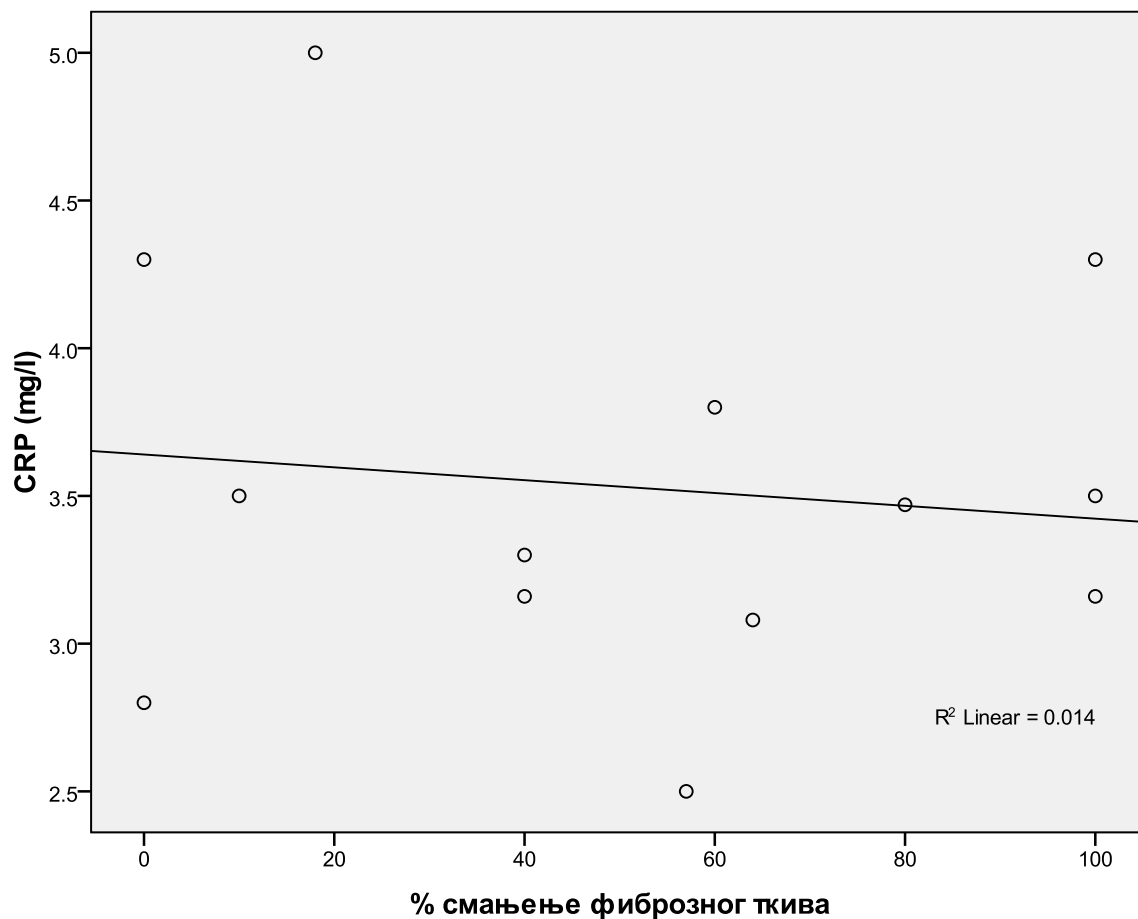


Графикон 11. Регресиона линија и корелација између седиментације након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци у групи са азатиоприном (*Spearman's rho* = -0,455; *p*=0,088)

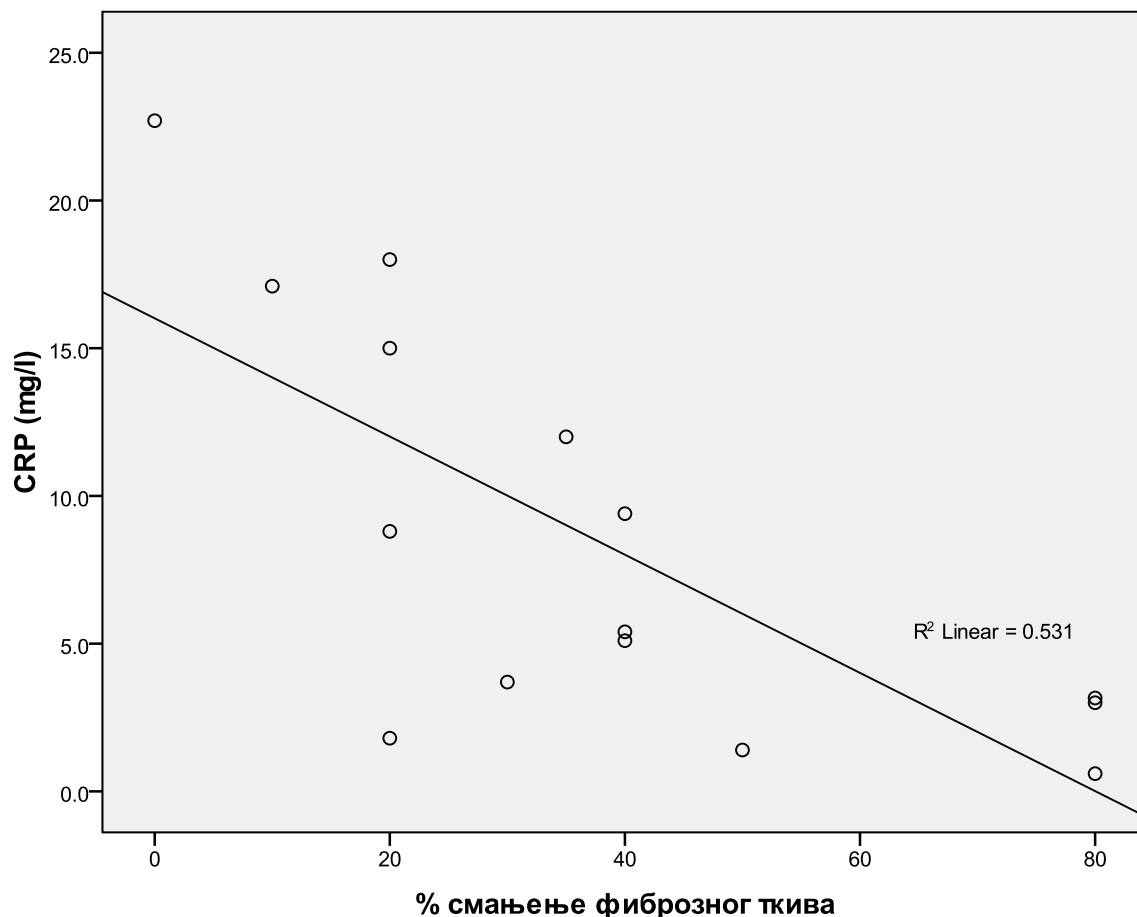


Ако анализирамо корелацију између смањења вредности *C*-реактивног протеина и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци видимо да у обе групе постоји корелација, с тим да је она веома слаба у групи са микофенолатом (Графикон 12), док је у групи са азатиоприном веома јака (*Spearman's rho* = -0,741; *p*=0,002; Графикон 13).

Графикон 12. Регресиона линија и корелација између C-реактивног протеина (CRP) након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци у групи са микофенолатом (*Spearman's rho* = -0,019; $p=0,950$)



Графикон 13. Регресиона линија и корелација између *C*-реактивног протеина (*CRP*) након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци у групи са азатиоприном (*Spearman's rho* = -0,741; *p*=0,002)



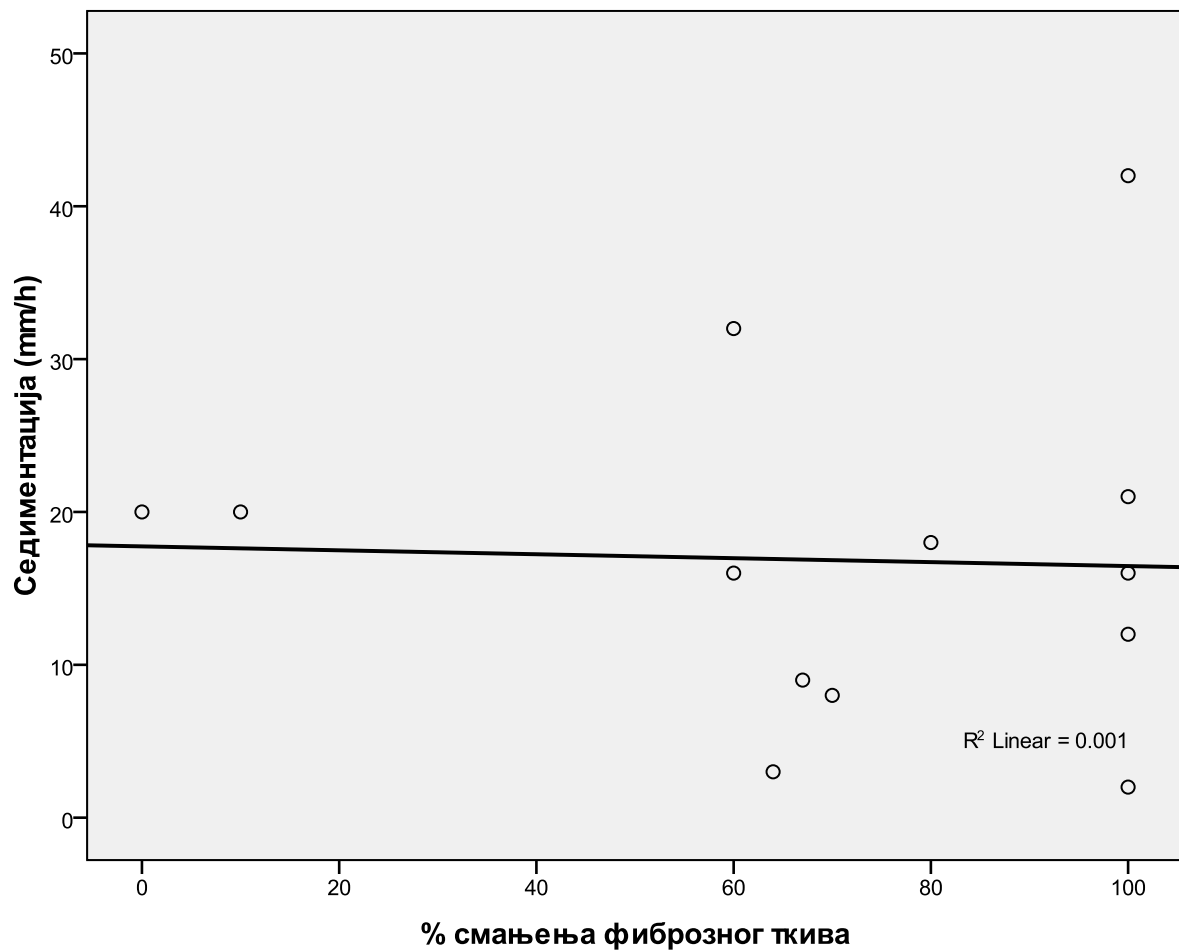
У групи са азатиоприном, дакле, смањење вредности оба параметра, и седиментације и *C*-реактивног протеина, после месец дана показује јаку корелацију са смањењем дебљине фиброзног ткива после 6 месеци терапије.

С обзиром да у групи са микофенолатом није добијена значајна корелација између седиментације еритроцита и *C*-реактивног протеина после месец дана терапије и процентуалног смањења дебљине фиброзног ткива након 6 месеци терапије, желели смо да испитамо да ли корелација постоји уколико се посматра процентуално смањење фиброзног ткива након годину дана терапије.

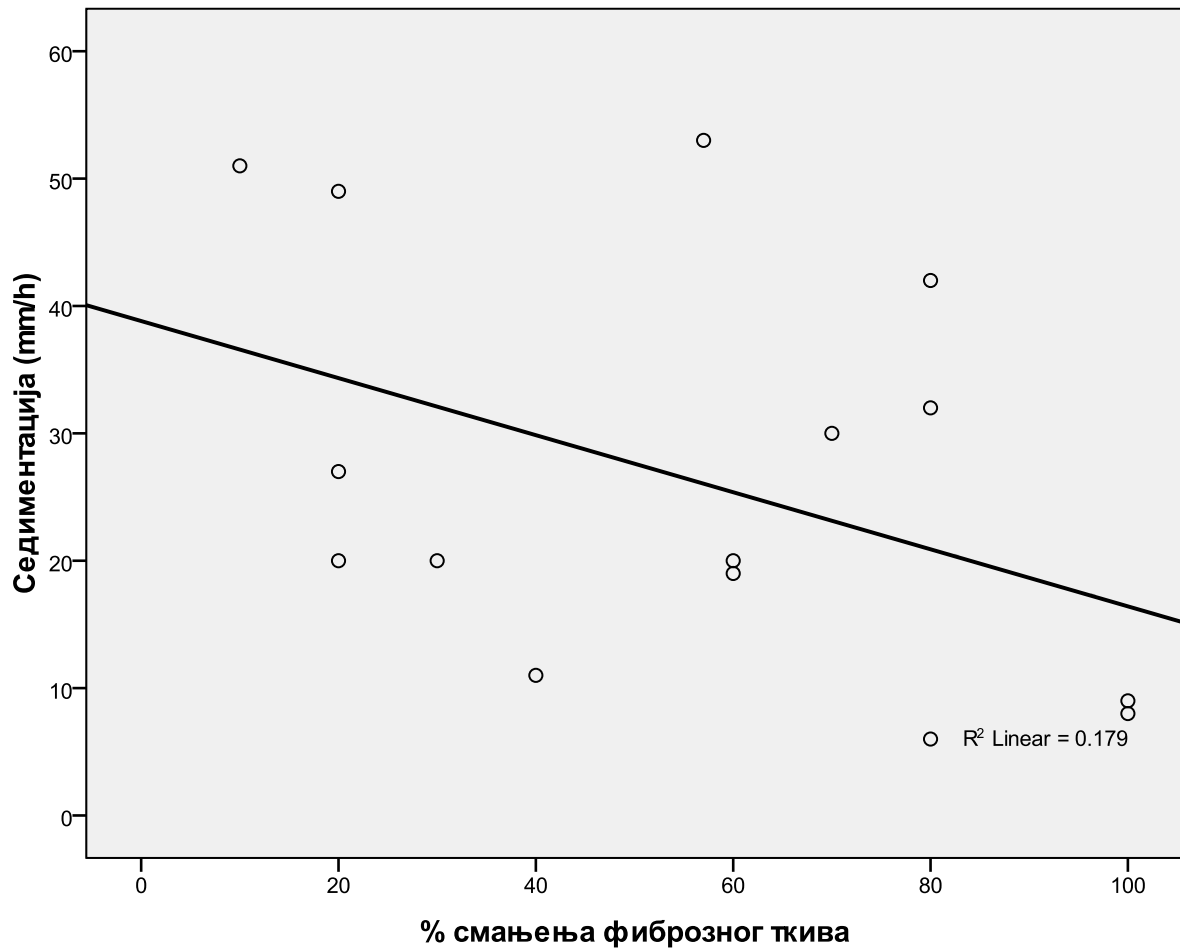
У групи са микофенолатом (Графикон 14) седиментација поново није показала значајну корелацију са процентуалним смањењем дебљине фиброзног ткива након годину дана терапије (*Spearman's rho* = -0,132; *p*=0,667), док је у групи са азатиоприном

(Графикон 15) ова корелација потврђена и статистички значајна (*Spearman's rho* = -0,479; $p=0,071$) што указује да смањење вредности седиментације корелира са повећањем процента смањења дебљине фиброзног ткива (односно његовом редукцијом).

Графикон 14 . Регресиона линија и корелација између седиментације након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након годину дана у групи са микофенолат мофетиллом (*Spearman's rho* = -0,132; $p=0,667$)

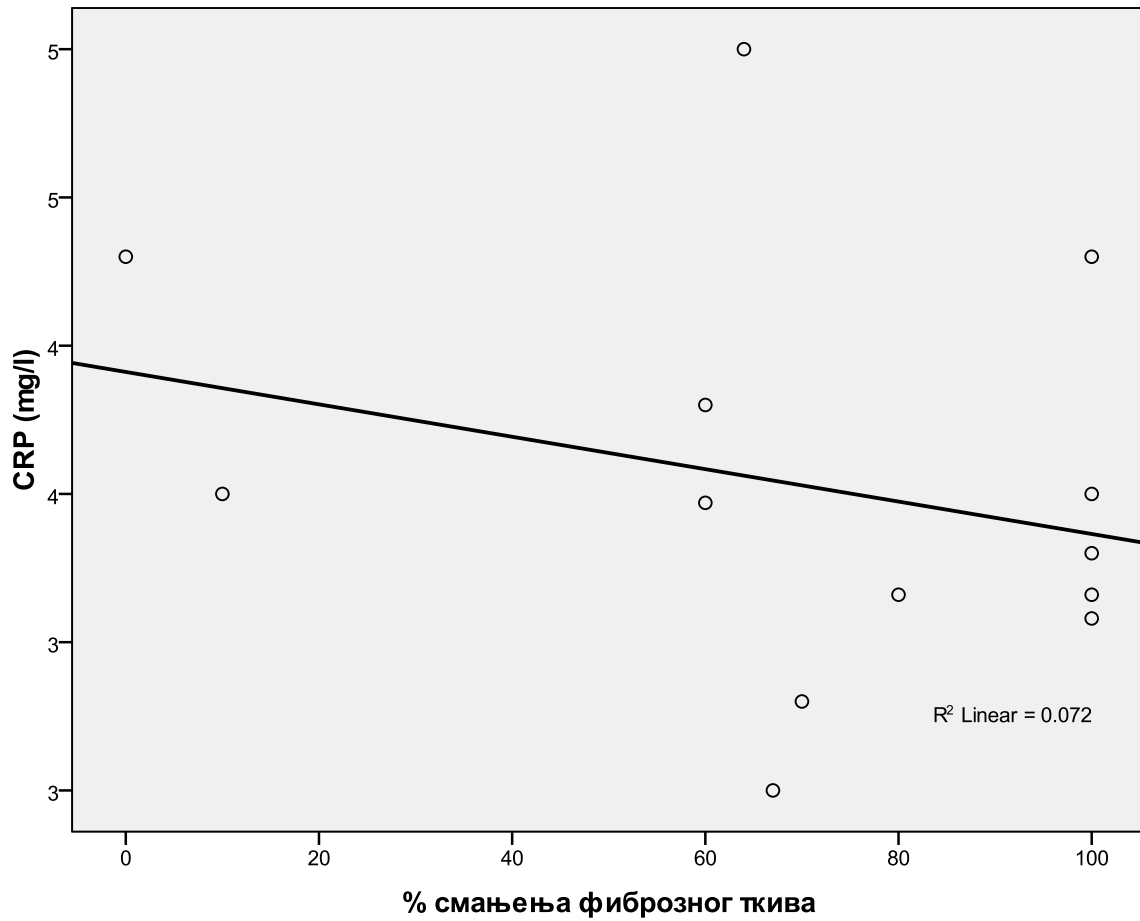


Графикон 15. Регресиона линија и корелација између седиментације након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након годину дана у групи са азатиоприном (*Spearman's rho* = -0,479; $p=0,071$)

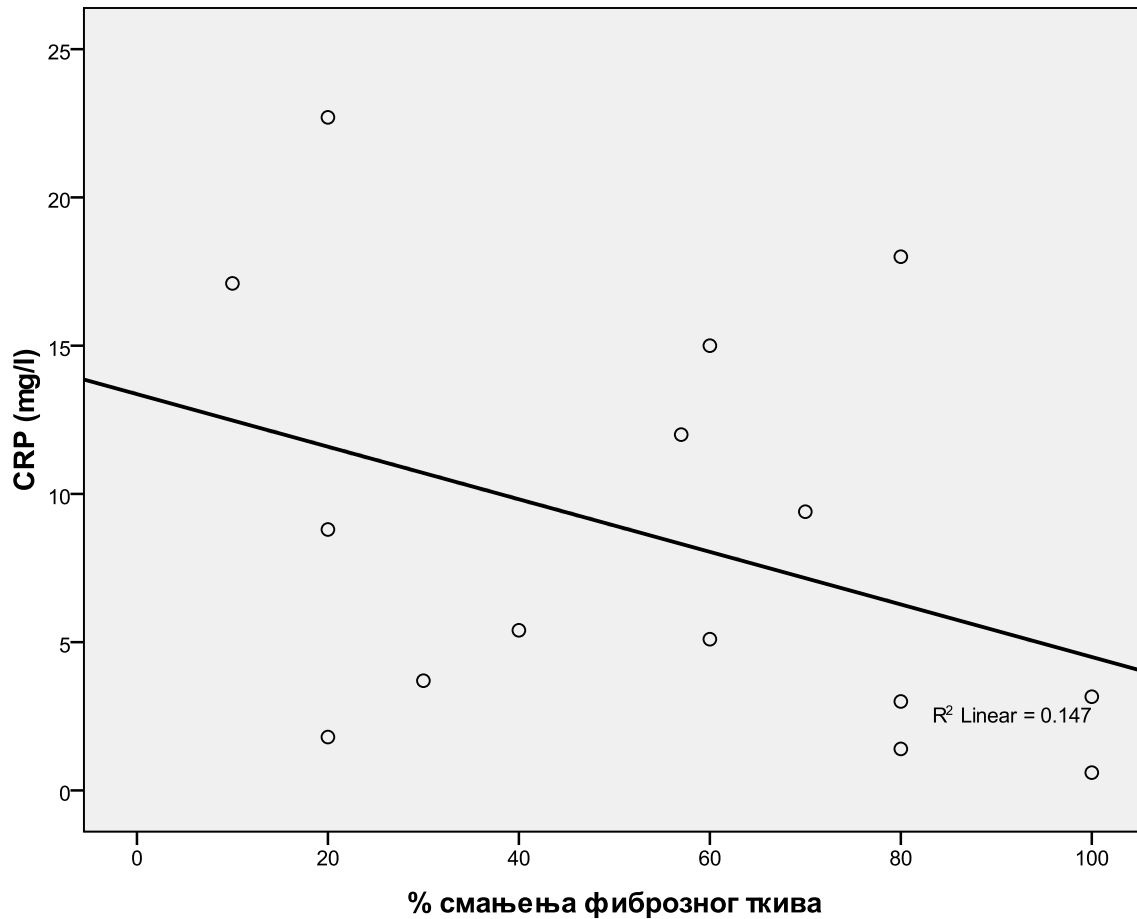


Ако се посматра вредности *C*-реактивног протеина након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након годину дана онда видимо да у обе групе постоји значајна корелација ових параметара: у микофенолат групи (*Spearman's rho* = -0,338; $p=0,258$; Графикон 16) и у азатиоприн групи (*Spearman's rho* = -0,441; $p=0,099$; Графикон 17).

Графикон 16 . Регресиона линија и корелација између *C*-реактивног протеина (*CRP*) након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након годину дана у групи са микофенолат мофетилом (*Spearman's rho* = -0,338; *p*=0,258)

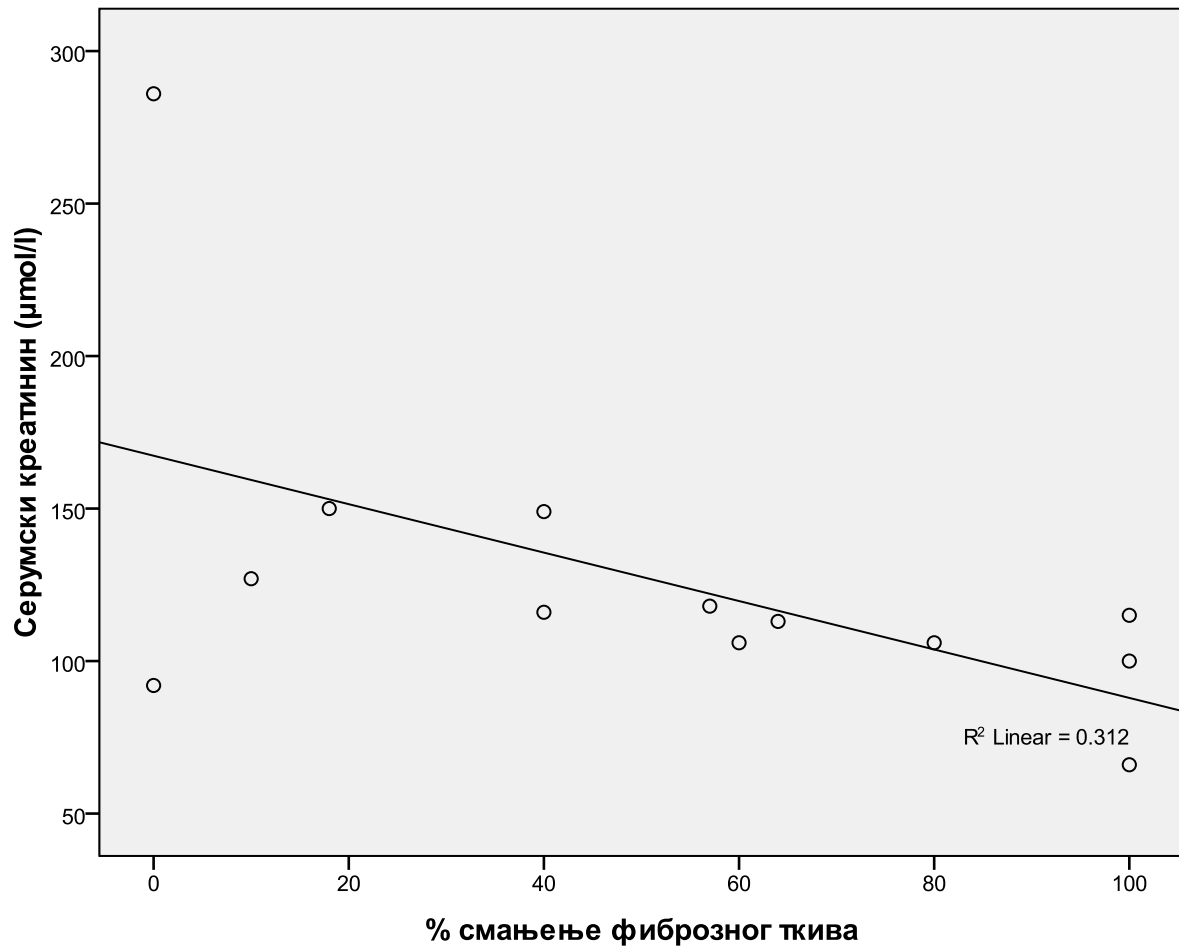


Графикон 17. Регресиона линија и корелација између *C*-реактивног протеина (*CRP*) након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након годину дана у групи са азатиоприном (*Spearman's rho* = -0,441; *p*=0,099)

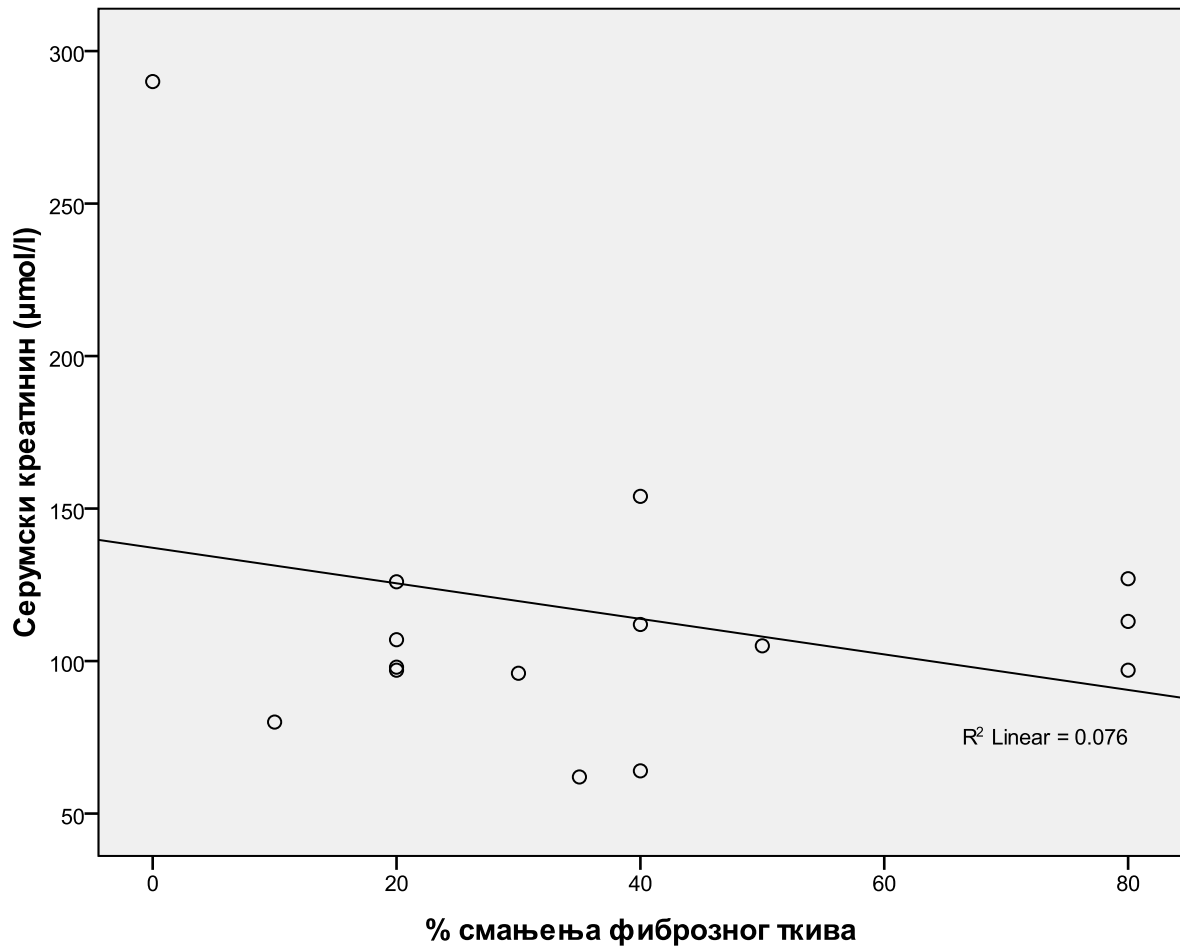


У циљу да проценимо да ли процентуално смањење дебљине фиброзног ткива корелира са побољшањем бубрежне функције остварене на оба терапијска протокола, урадили смо регресиону анализу и корелацију смањења вредности серумског креатинина и повећање ЈГФ након месец дана са редукцијом фиброзног ткива након шест месеци. С обзиром да након првих месец дана терапије имамо значајан пад у вредностима креатинина уз последични пораст ЈГФ, а да се први *MSCT/MR* преглед абдомена ради праћења ефекта терапије ради након 6 месеци, анализирали смо да ли ово рано побољшање бубрежне функције корелира са раним смањењем дебљине фиброзног ткива и упућује на постизање ремисије болести.

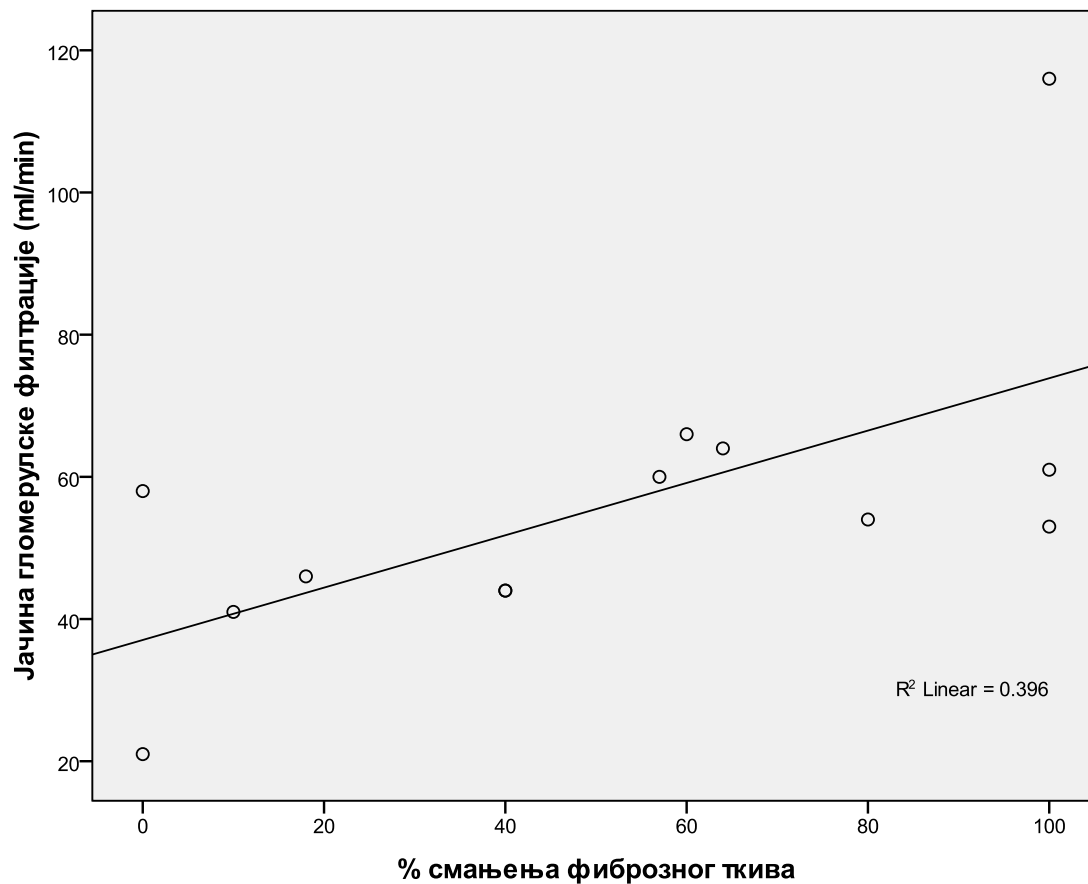
Графикон 18. Регресиона линија и корелација између серумског кратинина након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци у групи са микофенолатом (*Spearman's rho* = -0,566; *p*=0,044)



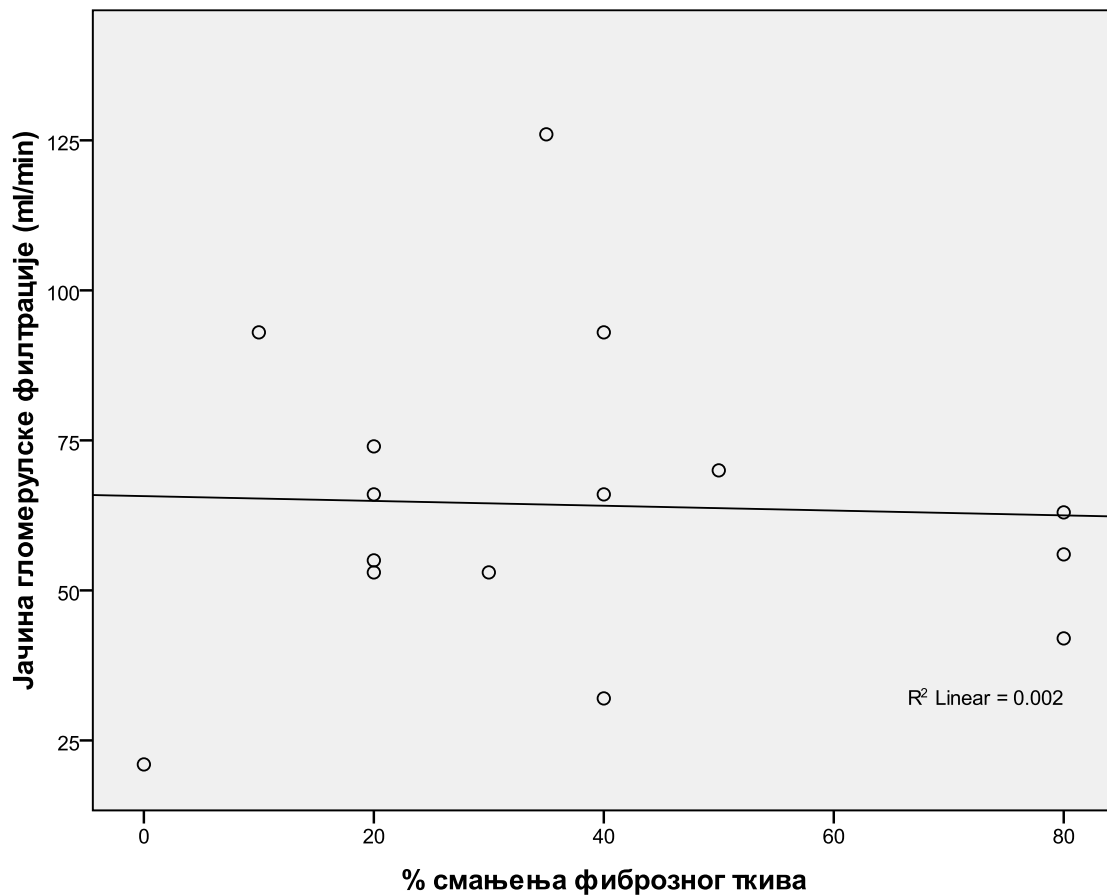
Графикон 19. Регресиона линија и корелација између серумског кратинина након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци у групи са азатиоприном (*Spearman's rho* = 0,061; *p*=0,829)



Графикон 20. Регресиона линија и корелација између јачине гломерулске филтрације након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци у групи са микофенолатом (*Spearman's rho* = 0,649; $p=0,016$)



Графикон 21. Регресиона линија и корелација између јачине гломерулске филтрације након месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци у групи са азатиоприном (*Spearman's rho* = -0,009; *p*=0,974)



Анализом повезаности између вредности серумског креатинина и јачине гломерулске филтрације у првих месец дана и процентуалног смањења фиброзног ткива након 6 месеци, видимо да постоји јака корелација која је статистички значајна код микофенолат групе, односно пад вредности креатинина и раст ЈГФ корелирају са редукцијом фиброзног ткива (Графикони 18 и 20). У групи са азатиоприном добијена је слаба корелација која није статистички значајна (Графикони 19 и 21). Објашњење за изостанак ове корелације би се могло пронаћи у већ показаној споријој редукцији дебљине фиброзног ткива код ове групе (Табела 28) са значајним порастом процентуалног смањења фиброзног ткива тек после годину дана.

Ако збирно анализирамо претходне параметре, можемо видети да је у групи са микофенолатом одговор на терапију у смислу побољшања бубрежне функције брз и добар, али да вредност седиментације и С-реактивног протеина нису у корелацији са

редукцијом фиброзног ткива после 6 месеци. Нешто боља корелација ових параметара је добијена са редукцијом фиброзног ткива после годину дана (статистички значајно за С-реактивни протеин, док за седиментацију без значајности).

У групи са азатиоприном одговор на терапију је спорији, али се ремисија такође постиже, а смањење вредности седиментације и С-реактивног протеина добро корелирају са редукцијом фиброзног ткива и после 6 месеци и после годину дана терапије.

Целокупном анализом оба терапијска протокола видимо да је С-реактивни протеин већ након месец дана терапије у бољој корелацији са постизањем ремисије болести (целокупна редукција фиброзног ткива након годину дана) него седиментација еритроцита.

Ако сада погледамо да ли поједине варијабле могу бити предиктори ремисије болести након шест месеци од почетка терапије (Табела 29), онда видимо да ни једна варијабла није показала као значајан предиктор ремисије болести, нити код микофенолат групе, нити код азатиопринске групе, што се може објаснити релативно малим узорком у обе групе испитаника.

Табела 29. Предиктори ремисије болести након шестомесечне терапије (Униваријантна логистичка регресија)

Група са:	Микофенолатом		Азатиоприном	
	OR (95% CI)	р вредност	OR (95% CI)	р вредност
Седиментација	1,123 (0,929-1,358)	р=0,231	1,049 (0,958-1,149)	р=0,298
С-реактивни протеин	1,213 (0,159-9,238)	р=0,852	0,903 (0,759-1,075)	р=0,253
Старост	0,635 (0,301-1,342)	р=0,234	0,966 (0,827-1,129)	р=0,664
% смањења фиброзног ткива	1,065 (0,988-1,148)	р=0,098	1,006 (0,959-1,056)	р=0,800
Почетни степен хидронефрозе	0,746 (0,072-7,761)	р=0,806	0,000 (0,000--)	р=0,999

OR- odds ratio; 95% CI- 95% интервал поверења: доња и горња граница поверења

5. ДИСКУСИЈА

Идиопатска ретроперитонеална фиброза је ретко обољење чији узрок и патогенеза до данас нису довољно разјашњене. У новије време преовлађује мишљење да је болест имунолошки посредована односно да представља системску аутоимунску болест (1, 9). Основна карактеристика је присуство фибро-инфламаторног ткива око абдоминалне аорте и илијачних артерија, које својим ширењем обухвата и друге ретроперитонеалне структуре. Уретери су најчешће захваћени овим ткивом, са последичним настанком опструктивне нефропатије и различитог степена оштећења бубрежне функције.

Рано откривање болести отежано је због подмуклог клиничког тока, неодређених и неспецифичних симптома, као и одсутних симптома поремећене бубрежне функције све до касних стадијума. Око 75% пацијената већ има значајан степен бубрежне инсуфицијенције и смањење величине бар једног бубрега у моменту постављања дијагнозе (47). Болест има прогресивни карактер и, уколико се не лечи, доводи до иреверзибилног оштећења бубрежне функције са потребом за хроничним дијализним лечењем.

Због тога је рано препознавање и започињање адекватне терапије кључно у третману ове болести. Међутим, до данас нису установљени стандардизовани дијагностички критеријуми, а исто тако не постоје ни званичне препоруке за врсту и дужину трајања терапије, као ни за параметре праћења њене ефикасности (102). У литератури се могу наћи подаци везани за приказе појединачних случајева, мањих или већих серија случајева, док је евидентан недостатак проспективних и рандомизованих клиничких студија. Генерално је усвојено мишљење да је за дијагнозу ове болести неопходно присуство фибро-инфламаторног ткива око абдоминалне аорте и/или илијачних артерија које се детектује *MSCT* или *MR* прегледом абдомена, уз хидронефрозу, клиничке симптоме и знакове, као и повишене вредности *SE* и/или *CRP*-а (41). Стандардизовани критеријуми такође не постоје ни за дефиницију клинички значајног одговора на терапију. Већина аутора се ипак слаже да је ремисија болести остварена када постоји значајна редукција фиброзног ткива на *MSCT/MR* прегледу абдомена, заједно са регресијом хидронефрозе и нормализацијом *SE* и/или *CRP*-а (41, 47, 58). Да ли се повишене вредности *SE* и *CRP*-а могу сматрати параметрима активности болести, па самим тим и предикторима одговора на терапију, и даље је предмет дебате. Док једни аутори сматрају да се ова корелација не постоји,

јер код 20-50% пацијената реактанти акутне фазе нису повишени упркос евидентно активној болести (40, 49, 62), други аутори у неколико радова потврђују позитивну повезаност са активношћу болести, а њихово смањење са редукцијом дебљине фиброзног ткива на *MSCT/MR* прегледу (52, 68, 69). Иако није доказана сензитивност и специфичност *SE* и *CRP*-а као параметара активности и ремисије болести, ипак се генерално сматра да су њихове повишене вредности знак активне инфламације у почетној фази болести и стога би могли представљати сензитивне предикторе одговора на терапију имуносупресивним лековима. Међутим, рандомизоване клиничке студије које би потврдиле или оповргле ову претпоставку до сада нису спроведене.

С обзиром на претпостављену имунолошку природу болести, у терапији су са добрим ефектом коришћени различити имуносупресивни лекови, најчешће кортикостероиди, сами или у комбинацији са другим „*steroid sparing*“ имуносупресивом: микофенолат мофетилом, азатиоприном, циклоспорином, циклофосфамидом, метотрексатом, или са антиестрогеним леком тамоксифеном (1, 33, 49, 52, 62, 63, 66-69, 58). Најчешће је ова медикаментна терапија била комбинована са уролошким процедурама за брзо отклањање опструкције, док су хируршке методе лечења у новије време резервисане за рефрактерне случајеве (9). Ипак званичне препоруке за терапију нису установљене, као што до сада није вршено ни поређење различитих терапијских протокола. Једина објављена рандомизована клиничка студија поредила је ефикасност преднизона и тамоксифена у одржавању ремисије болести (57). Због тога се клиничари опредељују, на основу личног искуства и стања њихових пацијената, за један од терапијских модалитета описаних у досадашњој литератури.

Ми смо у нашој студији за лечење ИРФ користили комбинацију кортикостероида и микофенолат мофетила у једној групи, и комбинацију кортикостероида и азатиоприна у другој групи пацијената. Познато је да код већине пацијената, кортикостероиди доводе до рапидног побољшања конституционалних симптома и инфламаторних маркера већ након неколико дана, као и до повлачења уретералне опструкције након неколико недеља (75). Такође, кортикостероиди сами морају бити ординирани у већим дозама да би контролисали инфламацију, што носи ризик од нежељених ефеката. Због тога смо кортикостероиде комбиновали са имуносупресивним лековима. Примена микофенолат мофетила базирана је на његовим имуносупресивним и антифибротичким својствима (83, 84), као и литературним подацима о доброј ефикасности у ИРФ и малој токсичности. Примена микофенолат мофетила омогућила је краћу примену кортикостероида и мању стопу релапса у

неколико описаних приказа случаја (79, 86, 87), мањој серији пацијената (62) и у пар већих серија случајева код 16, односно 31 пацијента (52, 88). У студији са 31 пацијентом леченим преднизоном и микофенолат мофетилом 89% пацијената је имало 25% и већу редукцију периаортног фиброзног ткива, са просечним степеном редукције од 54,42%. Стопа релапса је била ниска 9,6% а подношљивост лека добра. Дужина трајања терапије преднизоном је била 6 месеци, док је микофенолат ординирао просечно 23,38 месеци (од 6 до 63 месеца) (52).

Азатиоприн се такође користи у терапији ИРФ због својих имуносупресивних и антиинфламаторних својстава. У појединачним случајевима (91) и на мањим серијама пацијената (47, 66, 77) примењиван је са кортикостероидима за постизање или одржавање ремисије постигнуте другим имуносупресивима (49). Показао је добар ефекат на смањивање инфламаторних маркера, нормализацију бубрежне функције и редукцију фиброзног ткива (са 13,4 *mm* на 6,4 *mm*). Подношљивост је била добра, а стопа релапса је била нешто већа него код микофенолата - од 16,6% до 26,6% у различитим студијама (47, 66, 91).

У нашој студији трајање кортикостероидне терапије је било дуже него у неким објављеним серијама (33, 47, 62, 65). За овај приступ смо се определили због чињенице да је код неких пацијената под кортикостероидном терапијом било потребно дуже време (6-20 месеци) за постизање редукције фиброзног ткива (33) као и због пријављене високе стопе релапса након њихове обуставе. Стопа релапса се кретала и до 72% пацијената (65), најчешће 5 година након постављања дијагнозе, мада су ретки случајеви описивани и после 9 и 10 година праћења (61, 106). Релапс се јављао како после краће примене кортикостероида – 3 до 6 месеци (62, 66), тако и после годину и више дана (33, 47, 65). Примена микофенолат мофетила је, са друге стране, била ограничена чињеницом да лек није регистрован за ову индикацију, те га пацијенти након извесног времена нису могли добијати на терет Здравственог фонда. Из тих разлога није могла бити могућа примена овог лека као у наведеним студијама (2 и више година). Због тога смо, узимајући у обзир значајан број релапса након обуставе кортикостероида, време појаве релапса најчешће 3 до 5 година након започињања терапије, озбиљне последице на бубрежну функцију у овој болести и ограничење у примени микофенолат мофетила, покушали терапију кортикостероидима током 48 месеци са брзим иницијалним смањивањем у комбинацији са микофенолатом током 18 месеци. У другој групи азатиоприн смо давали у истом трајању као и микофенолат мофетил.

5.1. Социо-демографске карактеристике

У нашој студији је укупно праћено 28 пацијената са идиопатском ретроперитонеалном фиброзом. Они су подељени у две групе. У првој групи је било 13 пацијената који су били на терапији микофенолат мофетиллом у комбинацији са кортикостероидима (група са микофенолатом), док је у другој групи било 15 пацијената који су примали азатиоприн и кортикостероиде (група са азатиоприном).

Демографске карактеристике наших пацијената нису се разликовале између група. У обе групе мушкарци су били бројнији са 61,5% у првој и 60% у другој групи, што је у складу са већином објављених радова (40, 41). Дијагноза је најчешће постављана у шестој деценији живота у обе групе (медијане 57 година и 53 године), као и у светским студијама (1, 40, 44). Најмлађи пацијент у првој групи је у време дијагностиковања болести имао 36 година, а најстарији 60 година, док је у другој групи распон година био од 42 до 72.

5.2. Клиничке карактеристике пацијената- симптоми и знаци болести

У односу на учесталост конституционалних симптома у време постављања дијагнозе није било разлике између две групе. Такође је слично било време од појаве првих симптома до постављања дијагнозе: од 3 до 15 месеци у првој групи и од 2 до 12 месеци у другој.

Најчешће се јављао бол који је пријавило 92,3 % пацијента из прве групе и 80% пацијената друге групе. Бол је код највећег броја, у преко 80% случајева, био локализован у пределу леђа и/или абдомена. Овакву учесталост од 90% и локализацију бола пријављују и други аутори – амерички и холандски у две веће ретроспективне студије на 48 и 53 пацијента (4, 41). Бол је био праћен другим конституционалним симптомима, од којих су се најчешће јављали губитак телесне масе, замор, оток ногу и губитак апетита. Код наших пацијената губитак телесне масе је био нешто ређи - 32% од укупног броја пацијента, у поређењу са 54% у раду америчких аутора (41) и није био толико изражен: просечно до 5 kg, на супрот 13 kg. Замор (64%), оток ногу (32%) и губитак апетита (17%) били су слични као у неведеној студији. Оток ногу у ИРФ настаје као последица компресије на доњу шупљу вену или илијачне и феморалне вене, што припада II групи радиографске класификације ИРФ (41). Од укупно 9 пацијената са отоком ногу, 5 (17,8%) је припадало II групи, што је значајно мање у поређењу са

америчким ауторима (60%). Такође, дубока венска тромбоза (ДВТ) доњих екстремитета није била честа – само код 2 пацијента из групе са азатиоприном (7,1% од укупног броја пацијената). Ниједан од њих није припадао II класификационој групи, а код једног је утврђена коегзистентна тромбофилија, тако да је ДВТ била последица компресије на ретроперитонеалне лимфне судове и вене, односно тромбофилије, а без компресије на доњу шупљу вену, што је одлика II класификационе групе.

Повишена телесна температура, мучнина, повраћање, слабост, главобоља, хидроцела и новонастала артеријска хипертензија били су заступљени код наших пацијената у мањем проценту. У поменутој студији (41) новонастала артеријска хипертензија се јавила код 33% пацијената, док је у нашој студији та учесталост била мања – свега 10% или 3 пацијента. Када смо анализирали ове пацијенте према радиографској класификацији, видели смо да само 1 од ова три пацијента припада класи IV (компресија на реналну артерију и/или вену). Овај пацијент је имао стенозу десне реналне артерије која је успешно третирана имплантацијом ендоваскуларног стента. Код друга 2 пацијента артеријска хипертензија се јавила у склопу бубрежне инсуфицијенције и код њих није било знакова захватања реналних артерија фиброзним ткивом. Хидроцела није била тако честа у нашој групи пацијената (10%), док је амерички аутори налазе у 27% случајева. Хидроцела настаје као последица компресије на ретроперитонеалне крвне судове и може бити један од раних знакова болести. (41)

Анализом иницијалне бубрежне функције није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената. Велики број је имао акутну бубрежну слабост, укупно 67,85% пацијената, од тога 69,2% пацијената прве и 66,7% друге групе. Акутна бубрежна слабост је била тешког степена, са олигоануријом код 38,5% односно 20,0% ових пацијената. Слични су и подаци других аутора: 44-50% (57) односно 66% пацијената (4) се презентовало акутном бубрежном инсуфицијенцијом.

У тренутку започињања терапије, групе се нису разликовале по присуству хидронефрозе нити њеном степену. 92,3% наших пацијената је имало хидронефрозу која је најчешће била другог степена (код 78,6%) и обострана (код 85,7%). Хидронефрозу није имао један пацијент из прве групе. И у другим студијама хидронефроза је иницијално присутна код 78% до 89% пацијената, и најчешће обострана код преко 60% (40, 57, 62).

У обе наше групе, по 3 пацијента су имала већ изванредан степен хроничне бубрежне инсуфицијенције (ХБИ) узрокован афункцијом једног бубрега код 2

пацијента у првој и код сва три у другој групи. Сви пацијенти са ХБИ су пре укључења у нашу студију били неуспешно лечени неким од других терапијских модалитета.

5.3. Присуство коморбидитета, фактора ризика и налаз имунолошких анализа

Код наших пацијената у обе групе је најчешће била присутна артеријска хипертензија, код 67,85% од укупног броја. Када се посматрају групе појединачно, артеријска хипертензија је такође била најчешћи коморбидитет - код 76,9% у првој групи и код 60,0% пацијената у другој групи. Слично је и у радовима других аутора где се учесталост артеријске хипертензије креће од 33% до 57% (4, 41, 68). Потом су по учесталости били заступљени шећерна болест (23,1%) у првој групи и Хашимото тироидитис (26,7%) у другој групи. Мањи број пацијената је имао тромбофилију и епилепсију (по 6,7%), сви у другој групи. У односу на присуство коморбидитета није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената.

Од претпостављених фактора ризика за настанак ИРФ, регистрована је употреба β -блокатора у лечењу хипертензије, и то код 2 пацијента из прве групе (15,4%) и код једног из друге групе (6,7%). β -блокатори, како неселективни (пропранолол, соталол) тако и β 1-селективни (метопролол, атенолол), се у неколико објављених радова доводе у везу са настанком ИРФ, упркос оскудним подацима који би доказали њихову каузалну улогу. Имајући у виду да је ова повезаност описана у малом броју приказа случајева у литератури (1, 22, 23) као и на огроман број пацијената који користе ове лекове а немају ИРФ, мишљења смо да се ни код наших пацијената они не могу сматрати етиолошким фактором. Овакав став није усамљен и већ су га изнели амерички, холандски и италијански аутори (24-26, 41, 44). У прилог овоме иде и чињеница да је један наш пацијент из прве групе самоиницијативно почео поново да узима бета блокатор након постигнуте ремисије и није имао релапс болести током 74 месеца праћења.

Познато је да је ИРФ често удружена са другим аутоимунским болестима (Хашимото тироидитис, Грејвсова болест, ANCA позитивни васкулитис, системски еритемски лупус, псоријаза (13-16). Такође се често налазе и позитивна аутоантитела, најчешће антинуклеарна антитела (ANA) која су детектована у око 60% пацијената, а без истовремених знакова неке од системских болести везивног ткива. Присуство ових

аутоантитела додатно иде у прилог хипотези о аутоимунским механизмима у патогенези ове болести (17, 50).

Приликом анализе наших пацијената видели смо да су у првој групи само 2 пацијента имала позитивна аутоантитела и то *АТРО*, док је у другој групи укупно 8 пацијената имало детектована аутоантитела: најчешће *АТРО* (5 пацијената), потом *ANA* (3 пацијента) и *АСА* (1 пацијент), У односу на присуство позитивних имунолошких налаза није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената. Сем Хашимото тиреоидитиса, друге аутоимунске болести нису дијагностиковане у нашој студији. Хашимото тиреоидитис је регистрован код 25% од укупног броја наших пацијената, што је у складу са ранијим опсервацијама да је то најчешћа аутоимунска болест удружена са ИРФ (1, 13).

5.4. Лабораторијски налази на укључењу

Што се тиче лабораторијских налаза у тренутку започињања терапије, 92,3% свих пацијената је имало повишене реактанте акутне фазе. То је у складу са литературним подацима да преко 50% пацијената у моменту постављања дијагнозе име повишене вредности седиментације и *С*-реактивног протеина (4, 44, 48). Наше вредности су ипак ближе подацима из радова италијанских аутора у којима је та учесталост већа и креће се од 80% до 92% пацијената (1, 40). Код наших пацијената повишене вредности седиментације и *С*-реактивног протеина имало је 12 пацијената (92,3%) у групи са микофенолатом (код једног пацијента седиментација, а код другог *С*-реактивни протеин нису били повишени), док је свих 15 пацијената (100%) у другој групи, са азатиоприном, имало повишене вредности оба параметра. У обе групе забележена је блажа анемија, повишена вредност урее и креатинина, док је јачина гломерулске филтрације (ЈГФ) била снижена у обе групе: у првој групи 36 *ml/min*, а у другој 12 *ml/min* мада разлике нису достигле статистичку значајност. Када се пореде наше две групе, иницијално је већина налаза била „лошија“ у групи са азатиоприном, мада је разлика била значајна само код *С*-реактивног протеина који је у тој групи био виши.

5.5. Ранија терапија

Седам пацијената (25%) од укупног броја испитиваних је пре укључивања у нашу студију лечено у другим установама због суспектне или дијагностиковане идиопатске

ретроперитонеалне фиброзе. Код ових пацијената примењена терапија није била успешна, тако да су при укључивању у нашу студију сви имали активну болест, односно испуњавали критеријуме за укључење.

У односу на терапију коју су ови пацијенти добијали пре започињања терапијских протокола у студији, није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената. У првој групи 3 пацијента (23,1%) су претходно лечена: комбинацијом медикаментне терапије (азатиоприн, тамоксифен) и хируршке интервенције (1 пацијент), само хируршком интервенцијом (1 пацијент) и један пацијент само пласирањем ендуретералног стента током 13 месеци. У другој групи претходно су лечена 4 пацијента (26,7%): комбинацијом медикаментне терапије (тамоксифен, односно кортикостероиди) и ендуретералним стентом (по 1 пацијент), само медикаментном терапијом – кортикостероиди (1 пацијент) и само пласирањем ендуретералног стента током 12 месеци (1 пацијент).

Из ових података се може видети потврда раније изнетих ставова да оперативно лечење није довољно да контролише болест, а повезано је и са значајном стопом рецидива који се према различитим серијама креће од 22% до 50% пацијената. Уз то, операција не ослобађа пацијента тегоба јер не делује на системске манифестације болести (9, 33, 61). Пацијент из групе са микофенолатом, лечен само хируршком интервенцијом је након операције имао болове у леђима, а након 4 месеца поново активну болест са обостраном хидронефрозом другог степена. Ни комбинација оперативног лечења, азатиоприна и тамоксифена, код другог пацијента није резултирала дуготрајном ремисијом. Медикаментни третман се базирао на тамоксифену који је пацијент примао укупно 4 године, уз азатиоприн током првих годину дана. Прву ремисију болести постигао је након 15 месеци терапије, али је релапс је настао након непуне три године (33 месеца) терапије само тамоксифеном. Тамоксифен није био успешан ни у постизању ремисије код пацијента из наше друге групе код кога након 6 месеци терапије није било никаквог ефекта. Ови подаци су у складу са досада објављеним искуствима у терапији тамоксифеном. Овај антиестрогени лек је примењиван у лечењу ИРФ због својих ефеката на регресију дезмоидних тумора које, као и ИРФ, карактерише локално инвазивна фибробластна пролиферација. Међутим, у рандомизованој клиничког студији тамоксифен се показао инфериорним у односу на преднизон у одржавању ремисије ИРФ која је постигнута једномесечним давањем високих доза преднизона као индукционе терапије. Релапси су били чешћи у групи са тамоксифеном - 39%, према 6% у групи са преднизеном (57).

Такође, степен радиолошке регресије тј. смањења дебљине фиброзног ткива се показао мањим у односу на кортикостероиде. У другој студији која је укључивала 31 пацијента са ИРФ лечених тамоксифеном, код 22,5% није било ефекта, а радиолошка регресија је постигнута код 70%, док је уклањање ендоуретралних стентова било могуће само код 58,6% пацијената (107). Због овога су генералне препоруке да терапија тамоксифеном буде резервисана за пацијенте код којих су кортикостероиди из било ког разлога контраиндиковани (57).

Два наша пацијента из групе са азатиоприном лечена су претходно кортикостероидима: један током 2 године малим дозама - без постизања ремисије, а други 4 месеца уз уретералне стентове, са релапсом након смањења дозе кортикостероида. Иако су ови лекови најчешће коришћени у терапији ИРФ, познато је да као монотерапија морају бити ординирани у већим дозама да би контролисали инфламацију (62), па ниске дозе којима су ови наши пацијенти лечени нису биле довољне за постизање односно одржавање ремисије. Стопа релапса након обуставе терапије кортикостероидима није мала и креће се у различитим студијама од 18% до чак 72% (65, 76) због чега се они најчешће комбинују са другим имуносупресивом.

Два пацијента третирана само унилатералнином деблокадом бубрега уретералним стентом током 13, односно 12 месеци су, уз све знаке активне болести, имали и афункцију тог бубрега. Због тога је рана дијагноза и рано започињање адекватне терапије кључно у третману ове болести.

Због тешке акутне бубрежне инсуфицијенције примењена је и хемодијализа као краткотрајна интермитентна процедура код 1 пацијента (5 процедура) у првој и код 3 пацијента у другој групи (од 5 до 13 процедура).

5.6. Примена ендоуролошких процедура и компликације

Од ендоуролошких процедура ради отклањања блокаде уро тракта код наших пацијената примењиване су перкутана нефростома и уретерални стент. Групе се нису значајно разликовале међу собом према типу ендоуролошке процедуре иако је код пацијената из групе са микофенолатом чешће вршена деблокада на овај начин - код 61,5% пацијената, наспрам 26,7% у групи са азатиоприном. Пацијенти у првој групи су и дуже носили пласиран уретерални стент или перкутану нефростому – просечно 16 недеља наспрам 3 недеље у групи са азатиоприном, али разлика није била статистички значајна. Већа учесталост примене ових процедура у првој групи последица је и што је

код извесног броја пацијената морало бити хитно започето лечење у месту становања, тако да су по доласку у нашу установу већ имали пласиране или стентове или нефростоме. Један пацијент из прве групе, који је раније лечен само хируршком интервенцијом - уретеролизом, захтевао је све време континуирану декомпресију због развоја фокалне уретералне стриктуре и код њега перкутана нефростома није могла бити екстрахована до краја периода праћења. Група са микофенолатом имала је чешће и компликације ових процедура, мада без статистичке значајности. Инфекције су се јавиле код 46,2% пацијената, наспрам 13,3% у групи, као последица дужег ношења стентова или нефростома.

Иако ове процедуре омогућавају брзу декомпресију уринарног тракта, компликације као што су инфекције, перфорације, стриктура уретера и рекурентна фиброза нису ретке (64). Због тога већина аутора сматра да се у случајевима блаже уретералне опструкције, без значајног поремећаја бубрежне функције, може започети медикаментна терапија без дренаже уринарног тракта (9, 47, 65). Имајући у виду већ описани ефекат кортикостероида у смислу рапидног побољшања конституционалних симптома и инфламаторних маркера већ након неколико дана, као и повлачење блокаде уретера након неколико недеља (75), ми смо код наших пацијената применили „медикаментну“ деблокаду уретера пулсним дозама кортикостероида. Овакав приступ је врло чест у радовима италијанских, али и других аутора (47, 75, 77). На овај начин код пацијената са неолигуријском акутном бубрежном инсуфицијенцијом нисмо примењивали ендоуролошке процедуре, већ је иницијално ординирао интравенски метилпреднизолон у дози од 250 mg/дан, током 3 узастопна дана, а потом је настављено са преднизолоном. У првој групи ова пулсна терапија примењена је код 5 пацијената, а у другој групи код 11 пацијената, што је у другој групи код ових пацијената резултирало одсуством потребе за пласирањем стентова или перкутаних нефростома, па самим тим и превенирало евентуалне компликације.

5.7. Ефекти терапије

5.7.1. Повлачење хидронефрозе

Након 4 године терапије код 92,3% свих пацијената се потпуно повукла хидронефроза, док је код једног пацијента из прве групе заостала једнострана хидронефроза тежег степена (III) као последица парцијалне ремисије леченог релапса

(један од два пацијента са испољеном не-адхеренцијом на терапију). Ако погледамо брзину повлачења хидронефрозе, видимо да микофенолат мофетил има бржи ефекат јер већ после месец дана 69,2% пацијената нема опструкцију док је код азатиоприна тај проценат битно мањи 26,7% ($p=0,046$). Ово је значајно и са гледишта екстракције уретералних стентова и перкутаних нефростома и превенције њихових компликација. У каснијим периодима праћења ова два протокола се нису разликовала у брзини и проценту регресије хидронефрозе, мада је 100% пацијената у микофенолат групи после 1 године било без опструкције, док се код азатиоприна то постиже након 2 године лечења.

5.7.2. Промене вредности лабораторијских параметара током терапије

У циљу да испитамо ефикасност оба терапијска протокола, посматране су промене вредности кључних лабораторијских показатеља: седиментације, С-реактивног протеина, креатинина и ЈГФ, од момента започињања терапије до краја периода праћења од 4 године.

Код оба терапијска протокола добијени су значајни клинички резултати јер је код сва четири параметара је дошло до значајног побољшања након увођења терапије, и то већ након месец дана терапије.

Смањење вредности седиментације еритроцита у обе групе постоји већ након првих месец дана терапије: у групи са микофенолатом седиментација пада са 65 *mm/h* на 16 *mm/h*, а у групи са азатиоприном са 88 *mm/h* на 20 *mm/h* ($p<0,001$). Такође, и у осталим периодима праћења, постоји значајно смањење вредности седиментације у обе групе, тако да је на крају 4 године у првој групи медијана вредности на 12 *mm/h* а у другој на 20 *mm/h*.

С-реактивни протеин се такође код оба терапијска протокола значајно смањује већ после месец дана терапије: у микофенолат - групи са 18,6 *mg/L* на 3,47 *mg/L*, а у азатиоприн - групи са 25 *mg/L* на 5,4 *mg/L* ($p<0,001$). Значајан пад вредности у односу на почетак лечења показан је и у свим испитиваним периодима, тако да је на крају 4 године у првој групи медијана вредности на 4,78 *mg/L*, а у другој 3,1 *mg/L*.

У погледу смањења вредности седиментације оба протокола су била подједнако успешна. Што се тиче вредности С-реактивног протеина - код протокола са азатиоприном он је био значајно нижи после 4 године терапије.

Бубрежна функција се применом оба терапијска протокола значајно побољшава. Серумски креатинин у обе групе се смањује већ после првих месец дана терапије, што одговара такође значајном повећању ЈГФ. У микофенолат - групи се вредност креатинина смањује са почетних $156 \mu\text{mol/L}$ на $92 \mu\text{mol/L}$ на крају периода праћења, док се ЈГФ побољшава са 36 ml/min на 60 ml/min . У азатиоприн - групи иницијална вредност креатинина је већа него у микофенолат групи, и значајно се смањује са $364 \mu\text{mol/L}$ на $86 \mu\text{mol/L}$ што прати повећање ЈГФ са почетних 12 ml/min на 80 ml/min на крају четворогодишњег периода. Када се пореде ова два протокола међусобно, на крају испитиваног периода вредност серумског креатинина је статистички значајно мања у азатиоприн - групи. ЈГФ је била већа у овој групи, односно бубрежна функција боља, али то није достигло статистичку значајност. Могуће објашњење за боље стање бубрежне функције може се наћи у броју пацијената са релапсом у микофенолат – групи, укупно троје, од којих је двоје имало пораст креатинина, док у азатиоприн групи није било релапса болести. Такође, већи проценат уринарних инфекција $46,2\%$ у првој групи, који се може довести у везу и са чешћом применом ендуроолошких процедура код $61,5\%$ свакако утиче на лошију крајњу бубрежну функцију када се пореди са азатиоприном у коме је $26,6\%$ пацијената имало пласиран уретерални стент, а уринарна инфекција је била присутна код само $13,3\%$ случајева.

5.7.3. Проширеност фиброзног ткива током периода праћења

У анализи проширености ретроперитонеалног фиброзног ткива добијеног *MSCT/MR* прегледом абдомена у моменту започињања терапије, користили смо радиографску класификацију коју су 2009. године предложили *Scheel*-а и сарадници (102). Сматрамо да је овакав начин класификације ИРФ изузетно користан у стандардизацији критеријума за постављање дијагнозе, као и степена проширености болести. Према дефиницији, сви пацијенти са ИРФ морају имати I степен, односно фиброзно ткиво које обухвата инфраренални део абдоминалне аорте и/или илијачне крвне судове. Без овог критеријума не би се могла поставити дијагноза ИРФ. Такође, различити степен проширености би могао имати и различит клинички исход или компликације. Тако, пацијенти са II степеном, где фиброзно ткиво обухвата инфраренални део доње шупље вене, могу имати чешће тромбоемболијске компликације, што би захтевало профилактичку примену антикоагулантних лекова. *Scheel* и сарадници налазе да у серији од 48 пацијента, 60% оних који су се

презентовали отоком ногу припада II степену, а 18% је имало и плућне тромбоемболијске компликације. Степен III подразумева латерално ширење фиброзног ткива са компресијом на један или оба уретера и, према истом аутору, овакви пацијенти спорије реагују на имуносупресивну терапију од оних са I и II степеном. Код њих би се, сходно томе, разматрало дуже лечење. IV степен подразумева захватање бубрежног хилуса са компресијом реналних артерија и вена. Иако је овај степен најређе заступљен, у серији ауторових пацијената, 14% је захтевало пласирање ендоваскуларног стента због стенозе реналне артерије (102).

Наши пацијенти су сви имали I степен по овој класификацији и тиме испуњавали основни критеријум за дијагнозу. У односу на проширеност фиброзног ткива, није нађена значајна разлика између ове две групе пацијената. У микофенолат - групи највећи број пацијената имао је I+II+III степен - њих 7 (53,8%), док је у азатиоприн - групи најчешће био присутан I+III степен - код 8 (53,3%). I+II+III степен је са 33 % био најчешћи и код *Scheel-a* и сарадника (102) док други аутори пријављују као најчешћи I+III степен – код 37% пацијената (91). Од 4 наша пацијента са IV степеном проширености фиброзног ткива, један је имао стенозу реналне артерије која је успешно третирана пласирањем стента. Ми нисмо, за разлику од *Scheel-a*, нашли повезаност II степена са тромбоемболијским компликацијама: од 2 пацијента са дубоком венском тромбозом доњих екстремитета ниједан није припадао II класификационој групи а код једног је утврђена коегзистентна тромбофилија.

Ако погледамо процентуално смањење дебљине фиброзног ткива током времена оба протокола су била ефикасна, с тим да је у микофенолат - групи ефекат бржи. У овој групи је већ након 6 месеци дебљина фиброзног ткива мања за скоро 60% док је у азатиоприн – групи тај проценат мањи - 35%. У овој, другој групи, редукција фиброзног ткива за 60% постиже се тек након годину дана терапије. На крају периода праћења медијана процентуалног смањења фиброзног ткива је била 100% код пацијената микофенолат групе, а у азатиоприн групи 80%. Иако разлика између група није достигла статистичку значајност, са клиничког аспекта је значајан брз ефекат микофенолата већ после 6 месеци, као и чињеница да је 53,8% пацијената на овом протоколу након 4 године имало потпуно повлачење фиброзног ткива (100% редукције) док је код азатиоприн групе то постигнуто код 33,3% пацијената. Слични резултати су добијени и у једној од ретких студија која је пратила проценат редукције фиброзног ткива под терапијом микофенолатом и кортикостероидима - 89% пацијената је постигло 25% или већу редукцију, а просечан степен редукције је био 54,2% (52).

Комплетна регресија фиброзног ткива се сматра, ипак, веома ретком и танак слој метаболнички неактивног ткива може перзистирати и код пацијената са комплетном ремисијом (55), што се показало и у нашој студији.

5.8. Повезаност лабораторијских и клиничких налаза

Одређивање активности болести код пацијената са ИРФ сматра се кључним у циљу предвиђања одговора на терапију (1, 65). Имуносупресивни лекови су најефикаснији у раној - активној „ћелијској“ фази када је ткиво едематозно и добро васкуларизовано са активном хроничном инфламацијом у виду бројних моноклеарних ћелија. У касној - хроничној „фиброзној“ фази израженија је склероза, врло мало ћелијског инфилтрата, због чега је имуносупресивна терапија мање ефикасна (1). Да ли се реактанти акутне фазе, седиментација и *C*-реактивни протеин, могу сматрати параметрима активности болести па самим тим и предикторима одговора на терапију, до сада није јасно прецизирано. *Warnatz* и сарадници у свом истраживању нису нашли значајну корелацију активности болести и *CRP*-а, али су показали повезаност *CRP*-а са степеном инфламације на *MSCT* прегледу (49). *Adler* такође није нашао значајну корелацију јер је извештај број болесника имао нормалан *CRP* упркос радиолошки детектованој инфламацији (62). Кинески аутори су показали статистичку значајност корелације смањивања вредности *SE* и *CRP*-а са трансверзалним дијаметром фиброзног ткива на *MSCT/MR* прегледу (68). У хистопатолошкој анализи *Corradi*-ја и сарадника није нађена корелација између *SE* и *CRP*-а са интензитетом инфламаторног инфилтрата нити са преваленцом одређеног типа ћелија у имунохистохемијској анализи. Иако је *SE* била више код пацијената са знацима васкулитиса (медијана 91 *mm/h*) него код пацијената без ових знакова (медијана 30 *mm/h*), ова разлика ипак није била статистички значајна. (40). Насупрот њима, *Scheel* и сарадници у неколико радова потврђују позитивну повезаност *CRP*-а и *SE* са активношћу болести (52, 69).

Такође, до сада је само две студије испитивано смањења вредности реактаната акутне фазе као показатеља ремисије болести. У ретроспективној студији на 37 пацијената аутори нису нашли позитивну корелацију између почетне концентрације *SE* и *CRP*-а, њиховог иницијалног смањења и одговора на терапију (101). Исти резултат добијен је и у проспективној студији на 57 пацијената (48). Ипак, ова последња студија је показала да болесници са повишеним вредностима *SE* и *CRP* имају израженије

конституционалне симптоме, као и да смањење *CRP*-а после периода дужег од месец дана, тј. после 4 и 8 месеци терапије корелира са редукцијом фиброзног ткива на *MSCT* прегледу (48).

Ми смо у нашој студији, имајући у виду претпоставку да смањење вредности реактатната акутне фазе после месец дана терапије корелира са процентуалним смањењем дебљине фиброзног ткива након 6 месеци и након годину дана терапије, спровели регресиону анализу и корелацију ових параметара.

У групи са азатиоприном смањење вредности оба параметра, и седиментације и *C*-реактивног протеина после месец дана показује јаку корелацију са смањењем дебљине фиброзног ткива у оба периода: и после 6 месеци и после годину дана терапије

Међутим у групи са микофенолатом је добијена значајана корелација само између вредности *C*-реактивног протеина након месец дана и процентуалног смањења дебљине фиброзног ткива након годину дана, док нису потврђене корелације у овој групи између седиментације и редукције фиброзног ткива у оба периода, као ни *C*-реактивног протеина са редукцијом фиброзног ткива после 6 месеци.

Даље смо желели да испитамо да ли процентуално смањење дебљине фиброзног ткива корелира са побољшањем бубрежне функције остварене на оба терапијска протокола. Због тога смо урадили регресиону анализу и корелацију смањења вредности серумског креатинина и повећање ЈГФ након месец дана са редукцијом фиброзног ткива након шест месеци. С обзиром да након првих месец дана терапије имамо значајан пад у вредностима креатинина уз последични пораст ЈГФ, а да се први *MSCT/MR* преглед абдомена ради праћења ефекта терапије ради након 6 месеци, анализирали смо да ли ово рано побољшање бубрежне функције корелира са раним смањењем дебљине фиброзног ткива и упућује на постизање ремисије болести. У групи са микофенолатом ова корелација је веома јака, док је у групи са азатиоприном добијена слаба корелација која није статистички значајна. Објашњење за изостанак ове корелације би се могло пронаћи у већ показаној споријој редукцији дебљине фиброзног ткива код ове групе са значајним порастом процентуалног смањења фиброзног ткива тек после годину дана. Са клиничког аспекта ово је битан податак јер код пацијената на терапији микофенолатом, омогућава екстракцију уретералних стентова и перкутаних нефростома након месец дана терапије, без потреба за чекањем потврде о редукцији фиброзног ткива путем *MSCT/MR* прегледа након 6 месеци. То би

значајно убрзало време екстубације уретера које се према различитим студијама креће од просечних 5,6 месеци до 18 месеци (52, 62).

Ако збирно анализирамо претходне параметре, можемо видети да је у групи са микофенолатом одговор на терапију у смислу побољшања бубрежне функције брз и добар, али да вредност седиментације и С-реактивног протеина нису у корелацији са редукцијом фиброзног ткива после 6 месеци. Нешто боља корелација ових параметара је добијена са редукцијом фиброзног ткива после годину дана (статистички значајно за С-реактивни протеин). У групи са азатиоприном одговор на терапију је спорији, али се ремисија такође постиже, а смањење вредности седиментације и С-реактивног протеина добро корелирају са редукцијом фиброзног ткива и после 6 месеци и после годину дана терапије.

Целокупном анализом оба терапијска протокола видимо да је С-реактивни протеин, односно смањење његове вредности, већ након месец дана терапије у бољој корелацији са постизањем ремисије болести (целокупна редукција фиброзног ткива након 6 месеци и годину дана терапије) него седиментација еритроцита.

Међутим, униваријантна логистичка регресија да ли поједини параметри могу бити предиктори ремисије болести након шест месеци од почетка терапије није потврдила претходно добијену корелацију за С-реактивни протеин. Ниједна од анализираних варијабли (седиментација, С-реактивни протеин, старост, проценат смањења фиброзног ткива, почетни степен хидронефрозе) се није показала као значајан предиктор ремисије болести, нити код микофенолат - групе, нити код азатиопринске групе, што се може објаснити релативно малим узорком у обе групе испитаника.

5.9. Нежељени ефекти терапије

Оба терапијска протокола показала су добру подношљивост без значајнијих нежељених ефеката. Пацијенти са шећерном болешћу нису имали значајно погоршање гликорегулације, односно нису захтевали промену већ постојеће терапије. Два пацијента из микофенолат групе и један из азатиоприн групе су остали на терапији пероралним хипогликемицима, а по један пацијент из сваке групе је пре укључења у студију лечен инсулином. У студији *Scheel-a* и сарадника 1 пацијент (3,2%) је морао да пређе на инсулинску терапију, а код 3 (9,6%) је било неопходно да се привремено обустави микофенолат мофетил због развоја херпес зостера (52). Код наших пацијената

није било значајних инфективних ни хематолошких компликација, а гастроинтестинална подношљивост микофенолат мофетила је била добра.

У групи са азатиоприном укупно су 2 пацијента (13,3%) имала блаже нежељене ефекте, код једног се јавила леукопенија и пораст трансминаза, а код другог само пораст трансминаза који су се повукли на транзитрно смањење дозе. Слични нежељени ефекти се описују и у литератури са нешто већом учесталošћу 25% -37,5% (49, 91). Најзначајнији нежељени ефекти током примене азатиоприна су везани за супресију коштане сржи, а ова компликација је дозно зависна. У ређим случајевима мијелотоксичност може бити веома озбиљна и независна од дозе азатиоприна, а тада је обично удружена са генским полиморфизмом за ниске вредности ензима тиопурин S-метил трансферазе (*TPMT*) који учествује у метаболизму лека. Недостатак *TPMT* има за последицу да се метаболит азатиоприна, 6-меркаптопурин (6-*MP*) преодминантно метаболише према 6-тиогуанину који има највећег удела у токсичности 6-*MP*. У популацији постоје велике разлике у експресији гена за *TPMT* (генски полиморфизам). Хетерозиготни и хомозиготни носиоци нефункционалног *TPMT* алела имају врло низак или немерљив ниво овог ензима. Код 13% популације нађен је низак ниво овога ензима, док око 0,3% популације садржи веома ниске концентрације овога ензима (108). С обзиром да су пацијенти са ниском заступљеношћу ензима *TPMT* веома склони токсичним ефектима азатиоприна, многи аутори препоручују пре његове примене тестирање пацијента на генски полиморфизам за експресију *TPMT* (109, 110).

5.10. Исход, ремисија, и релапс болести

Сви пацијенти су постигли ремисију болести. Примена оба протокола довела је до губитка конституционалних симптома брзо након започињања терапије, просечно након 4 недеље у обе групе, што пријављују и други аутори (52, 66, 79). Што се тиче брзине постизања ремисије, није нађена статистички значајна разлика између група. Запажа се, међутим, клинички значајна разлика, јер је код микофенолата медијана је дупло краћа, око 4 недеље, док је код азатиоприна 8 недеље.

Након четворогодишњег циклуса терапије није било разлике између група по питању настанка хроничне бубрежне слабости са ЈГФ мањом од 60 *ml/min*, иако је она била присутна код већег броја пацијената из групе са микофенолатом (4 пацијента, 30,8%) наспрам 1 пацијента (6,7%) у групи са азатиоприном. Разлог за ово се може наћи у настанку афункције једног бубрега код пацијената у групи са микофенолатом,

као и релапсима због прекида терапије пре времена код 2 пацијента. Шест пацијената односно 21,4% од укупног броја (по 3 из сваке групе) који су на укључењу у студију већ имали хроничну бубрежну слабост, нису погоршали бубрежну функцију на крају периода праћења. Преживљавање наших пацијената је било 100%. Стопа смртности је иначе код ове болести ниска од 3,3% до 7,3% током праћења од 48-61 месец (44, 57), а хронична бубрежна слабост различитог степена је забележена у око 32% (44). Код наших пацијената је са 17,8% од укупног броја, учесталост хроничне бубрежне слабости била нижа од наведеног просека. Такође, ниједан наш пацијент није развио терминалну бубрежну инсуфицијенцију која би захтевала хронични програм хемодијализе.

Релапс болести је регистрован код 3 наша пацијента (23,1%), који су сви били у микофенолат групи. Разлог за релапс у нашој групи са микофенолатом може се наћи у прекиду терапије пре времена код 2 пацијента, и то због не-адхеренције. Први пацијент је самоиницијативно престао са терапијом после 6 месеци, а други после 31 месец. Појава релапса код првог дијагностикована је након 18 месеци од обуставе (2 године од почетка праћења), а код другог само 5 месеци након обуставе (односно 3 године од почетка праћења). Након дијагностикованог релапса, код оба пацијента је започета терапија према истом протоколу, са постизањем комплетне, односно парцијалне ремисије до краја периода праћења. Трећи пацијент није обуставио терапију, а релапс болести је регистрован на крају спроведеног протокола, односно након 4 године од почетка праћења. Код њега је протокол поново започет, са добрим иницијалним одговором. У сва три случаја релапс се манифестовао порастом седиментације и *S*-реактивног протеина, у два случаја поновном појавом хидронефрозе, са значајним погоршањем бубрежне функције код једног. Релапс је потврђен и поновном појавом фиброзног ткива у ретроперитонеуму (*MSCT* абдомена), које је пре тога било у потпуној регресији код прва два пацијента, као и повећањем његове дебљине код трећег пацијента. Пријављена стопа релапса на различитим терапијским протоколима варира од мање од 10% па до 30%, мада је у једној серији болесника стопа релапса износила и до 72% (44, 65). Када се погледају подаци из литературе стопа релапса пацијената лечених микофенолатом и кортикостероидима износи од 9,6% до 22,2% (52, 62), док се код пацијената лечених азатиоприном и кортикостероидима креће од 16,7% до 26,6% (47, 66). Стога се може рећи да се учесталост релапса у нашој студији не разликује од објављених података, чак је и мања ако би се из анализе искључили

неадхерентни пацијенти. У том случају је, практично само један пацијент, односно 3,6% од укупног броја, имао релапс и то из микофенолат - групе.

Релапс болести који је настао након прекида терапије после 6 месеци код пацијента са не-адхеренцијом може бити снажан аргумент за трајање терапије дуже од овог периода, док би релапс настао након комплетирања протокола, тј. после 4 године, могао указати на потребу и за дужим трајањем лечења.

ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата могу се извести следећи закључци:

1. Идиопатска ретроперитонеална фиброза се чешће јављала код особа мушког пола, обично у шестој деценији живота. Најчешћи симптом у време почетка болести је био бол у пределу леђа и/или абдомена. Хашимото тиреоидитис био је једина придружена аутоимунска болест код наших пацијената.
2. Већина пацијената (92,3%) је у моменту постављања дијагнозе имала повећане вредности седиментације и С-реактивног протеина, обострану хидронефрозу другог степена и значајан степен поремећене бубрежне функције.
3. „Медикаментна“ деблокада уретера пулсним дозама кортикостероида (интравенски метилпреднизолон у дози од 250 mg/дан, током 3 узастопна дана) код пацијената са неолитуријском акутном бубрежном инсуфицијенцијом отклања потребу за применом ендуролошких процедура и превенира њихове потенцијалне компликације.
4. Вредност седиментације и С-реактивног протеина се значајно смањује месец дана од почетка терапије и до краја периода праћења у оба терапијска протокола.
5. Бубрежна функција се применом оба терапијска протокола значајно побољшава. Концентрација креатинина у серуму у обе групе испитаника се смањује већ после првих месец дана од почетка терапије, што одговара значајном повећању јачине гломерулске филтрације. У групи испитаника који су лечени микофенолатом вредност серумског креатинина је на крају испитиваног периода била већа, што је проузроковано појавом релапса код 3 пацијента у овој групи.
6. У групи испитаника лечених микофенолат мофетилом редукција фиброзног ткива била је бржа, тако да је смањење од 60% постигнуто након 6 месеци, док је исти степен редукције у групи са азатиоприном постигнут након годину дана. На крају периода праћења у групи испитаника лечених микофенолат мофетилом код већег броја болесника (53,8%) постигнуто је потпуно повлачење фиброзног ткива (100% редукција) док је код испитаника лечених азатиоприном таква редукција постигнута код 33,3% оболелих.

7. Вредности оба реактанта акутне фазе, седиментације и С-реактивног протеина, које су измерене месец дана од почетка терапије азатиоприном значајно корелирају са смањењем дебљине фиброзног ткива које је детектовано 6 месеци и годину дана од увођења терапије. У групи испитаника лечених микофенолатом једино вредност С-реактивног протеина која је измерена месец дана од почетка терапије значајно корелира са редукцијом фиброзног ткива која је детектована након годину дана.
8. С-реактивни протеин се показао као добар параметар који у оба терапијска протокола корелира са постизањем ремисије болести јер смањење његове вредности након месец дана корелира са редукцијом фиброзног ткива након годину дана.
9. Оба терапијска протокола су ефикасна у постизању ремисије болести и побољшања бубрежне функције. Терапија микофенолат мофетилом има бржи и потпунији ефекат на повлачење хидронефрозе и комплетну редукцију фиброзног ткива. Терапија азатиоприном има спорији ефекат и комплетна редукција фиброзног ткива углавном се не постиже, али се ремисија одржава, без иједног релапса.
10. Релапс болести се јавио код 3 испитаника (23,1%) лечена микофенолат мофетилом. Код 2 пацијента се радило о не-адхеренцији, док је трећи пацијент имао релапс болести након 48 месеци терапије, што би могло указати на потребу за дужим трајањем лечења.
11. С обзиром на хронично-релапсирајући ток болести, неопходно је дуготрајно контролисање и праћење болесника након постигнуте ремисије.

7. ЛІТЕРАТУРА

1. *Vaglio A, Salvarani C, Buzio C.* Retroperitoneal fibrosis. *Lancet* 2006; 367(9506): 241-51.
2. *Miller OF, Smith LJ, Ferrara EX, McAleer IM, Kaplan GW.* Presentation of idiopathic retroperitoneal fibrosis in the pediatric population. *J Pediatr Surg* 2003; 38(11): 1685-8.
3. *Parums DV, Brown DL, Mitchinson MJ.* Serum antibodies to oxidized low-density lipoprotein and ceroid in the chronic periaortitis. *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114(4): 383-7.
4. *van Bommel EF, Jansen I, Hendriksz TR, Aarnoudse AL.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis: prospective evaluation of incidence and clinicoradiologic presentation. *Medicine (Baltimore)* 2009; 88(4): 193-201.
5. *Palmisano A, Urban ML, Corradi D, et al.* Chronic periaortitis with thoracic aorta and epiaortic artery involvement: A systemic large vessel vasculitis? *Rheumatol (United Kingdom)* 2015; 54: 2004-2009.
6. *Parums DV.* The spectrum of chronic periaortitis. *Histopathology* 1990; 16: 423-431.
7. *Vaglio A, Palmisano A, Corradi D, Salvarani C, Buzio C.* Retroperitoneal fibrosis: evolving concepts. *Rheum Dis Clin North Am* 2007; 33:803–17.
8. *Parums DV, Chadwick DR, Mitchinson MJ.* The localisation of immunoglobulin in chronic periaortitis. *Atherosclerosis* 1986; 61: 117-123.
9. *Vaglio A, Maritati F.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27(7): 1880-9.
10. *Pipitone N, Vaglio A, Salvarani C.* Retroperitoneal fibrosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2012; 26:439–48.
11. *Takahashi H, Yamamoto M, Suzuki C, Naishiro Y, Shinomura Y, Imai K.* The birthday of a new syndrome: IgG4-related diseases constitute a clinical entity. *Autoimmun Rev* 2010; 9: 591–4.
12. *Salvarani C, Calamia KT, Matteson EL, Hunder GG, Pipitone N, Miller DV, et al.* Vasculitis of the gastrointestinal tract in chronic periaortitis. *Medicine (Baltimore)* 2011; 90:28–39.
13. *Ceresini G, Urban ML, Corradi D, Lauretani F, Marina M, Usberti E, et al.* Association between idiopathic retroperitoneal fibrosis and autoimmune thyroiditis: a case-control study. *Autoimmun Rev* 2015; 14(1): 16-22.

14. *Vaglio A, Manenti L, Allegri L, Ferrozzi F, Corradi D, Buzio C.* ANCA-positive periaortic vasculitis: does it fall within the spectrum of vasculitis? *J Intern Med* 2002; 251(3): 268-71.
15. *Demko TM, Diamond JR, Groff J.* Obstructive nephropathy as a result of retroperitoneal fibrosis: a review of its pathogenesis and associations. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8(4): 684–8.
16. *Famularo G, Palmisano A, Afeltra A, Buzzulini F, Versari A, Minisola G, et al.* Retroperitoneal fibrosis associated with psoriasis: a case series. *Scand J Rheumatol* 2009; 38(1): 68–9.
17. *Martorana D, Vaglio A, Greco P, et al.* Chronic periaortitis and HLA-DRB1*03: Another clue to an autoimmune origin. *Arthritis Care Res* 2006; 55: 126-130.
18. *Uibu T, Oksa P, Auvinen A, et al.* Asbestos exposure as a risk factor for retroperitoneal fibrosis. *Lancet* 2004; 363: 1422-1426.
19. *Goldoni M, Bonini S, Urban ML, et al.* Asbestos and smoking as risk factors for idiopathic retroperitoneal fibrosis: A case-control study. *Ann Intern Med* 2014; 161: 181-188.
20. *Ahmad S.* Methyldopa and retroperitoneal fibrosis. *Am Heart J* 1983; 105:1037–8.
21. *Alberti C.* Drug-induced retroperitoneal fibrosis: short aetiopathogenetic note, from the past times of ergot-derivatives large use to currently applied bio-pharmacology. *G Chir* 2015; 36: 187-191.
22. *Bullimore DW.* Retroperitoneal fibrosis associated with atenolol. *Br Med J* 1980; 281(6232): 59-60.
23. *Thompson J, Julian D.* Retroperitoneal fibrosis associated with metoprolol. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982; 284(6309): 83-4.
24. *Pryor JP, Castle WM, Dukes DC, Smith JC, Watson ME, Williams JL.* Do beta-adrenoceptor blocking drugs cause retroperitoneal fibrosis? *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 287(6393): 639-41.
25. *van Bommel EF.* Retroperitoneal fibrosis. *Neth J Med* 2002; 60(6): 231-42.
26. *Urban ML, Palmisano A, Nicastro M, Corradi D, Buzio C, Vaglio A.* Idiopathic and secondary forms of retroperitoneal fibrosis: A diagnostic approach. *Rev Med Interne* 2015; 36(1): 15-21.
27. *Catanoso MG, Spaggiari L, Magnani L, Pipitone N, Versari A, Boiardi L, et al.* Efficacy of infliximab in a patient with refractory idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Clin Exp Rheumatol* 2012; 30:776–8.

28. *Couderc M, Mathieu S, Dubost JJ, Soubrier M.* Retroperitoneal fibrosis during etanercept therapy for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2013; 40:1931–3.
29. *Greco P, Vaglio A, Corradi D, Cobelli R, Zompatori M, Buzio C.* Tuberculosis as a trigger of retroperitoneal fibrosis. *Clin Infect Dis* 2005; 41: e72–5.
30. *Amis ES.* Retroperitoneal fibrosis. *AJR Am J Roentgenol* 1991; 157: 321-329.
31. *Moul JW.* Retroperitoneal fibrosis following radiotherapy for stage I testicular seminoma. *J Urol* 1992;147(1):124-6.
32. *Kottra JJ, Dunnick NR.* Retroperitoneal fibrosis. *Radiol Clin North Am* 1996; 34(6): 1259–75.
33. *Kardar AH, Kattan S, Lindstedt E, Hanash K.* Steroid therapy for idiopathic retroperitoneal fibrosis: dose and duration. *J Urol* 2002; 168(2): 550-5.
34. *Modlin IM, Shapiro BS, Kidd M.* Carcinoid Tumors and Fibrosis: An association with no explanation. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2466-78.
35. *Haroche J, Arnaud L, Cohen-Aubart F, Hervier B, Charlotte F, Emile JF, et al.* Erdheim-Chester disease. *Rheum Dis Clin North Am* 2013; 39(2): 299-311.doi: 10.1016/j.rdc.2013.02.011.
36. *Kamisawa T, Zen Y, Pillai S, Stone JH.* IgG4-related disease. *Lancet* 2015; 385: 1460-1471.
37. *Zen Y, Onodera M, Inoue D, et al.* Retroperitoneal fibrosis: a clinicopathologic study with respect to immunoglobulin G4. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1833-1839.
38. *Fujimori N, Ito T, Igarashi H, Oono T, Nakamura T, Niina Y, et al.* Retroperitoneal fibrosis associated with immunoglobulin G4-related disease. *World J Gastroenterol* 2013; 19(1): 35-41.
39. *Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, et al.* Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. *Mod Rheumatol* 2012; 22: 21-30.
40. *Corradi D, Maestri R, Palmisano A, Bosio S, Greco P, Manenti L, et al.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis: Clinicopathologic features and differential diagnosis. *Kidney Int* 2007;72: 742-53.
41. *Scheel PJ Jr, Feeley N.* Retroperitoneal fibrosis: the clinical, laboratory and radiographic presentation. *Medicine* 2009; 88(4): 202-7.
42. *Palmisano A, Cobelli R, Buzio C, Vaglio A.* Peri-renal collateral circles. *Urology* 2009; 74: 292–3.

43. *Salvarani C, Calamia KT, Matteson EL, Hunder GG, Pipitone N, Miller DV, Warrington KJ.* Vasculitis of the gastrointestinal tract in chronic periaortitis. *Medicine (Baltimore)* 2011; 90: 28–39.
44. *Kermani TA, Crowson CS, Achenbach SJ, Luthra HS.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis: a retrospective review of clinical presentation, treatment, and outcomes. *Mayo Clin Proc* 2011; 86(4): 297-303.
45. *Brandt AS, Kamper L, Kukuk S, et al.* Associated findings and complications of retroperitoneal fibrosis in 204 patients: Results of a urological registry. *J Urol* 2011; 185: 526-531.
46. *Surcel C, Mirvald C, Pavelescu C, Gingu C, Carmen S, Emre H, et al.* Management of idiopathic retroperitoneal fibrosis from the urologist's perspective. *Ther Adv Urol* 2015; 7(2): 85-99.
47. *Moroni G, Faricciotti A, Cappelletti M, Ponticelli C.* Retroperitoneal fibrosis and membranous nephropathy. Improvement of both diseases after treatment with steroids and immunosuppressive agents. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14(5): 1303–5.
48. *Pelkmans LG, Aarnoudse AJ, Hendriksz TR, van Bommel EF.* Value of acute-phase reactants in monitoring disease activity and treatment response in idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(7): 2819-25.
49. *Warnatz K, Keskin AG, Uhl M, Scholz C, Katzenwadel A, Vaith P, et al.* Immunosuppressive treatment of chronic periaortitis: a retrospective study of 20 patients with chronic periaortitis and a review of the literature. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(6): 828-33.
50. *Vaglio A, Corradi D, Manenti L, Ferretti S, Garini G, Buzio C.* Evidence of autoimmunity in chronic periaortitis: a prospective study. *Am J Med* 2003; 114(6): 454-62.
51. *Rossi GM, Rocco R, Accorsi Buttini E, Marvisi C, Vaglio A.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis and its overlap with IgG4-related disease. *Intern Emerg Med* 2017; 12(3):287-299.
52. *Scheel PJ Jr, Sozio SM, Feeley N.* Medical management of retroperitoneal fibrosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2012; 123: 283-90.

53. *Caiafa RO, Vinuesa AS, Izquierdo RS, Brufau BP, Colella JRA, Molina CN.* Retroperitoneal fibrosis: Role of imaging in diagnosis and follow-up. *RadioGraphics* 2013; 33: 535-52.
54. *Grobner T.* Gadolinium--a specific trigger for the development of nephrogenic fibrosing dermopathy and nephrogenic systemic fibrosis? *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(4):1104-1108.
55. *Vaglio A, Greco P, Versari A, Filice A, Cobelli R, Manenti L, et al.* Post-treatment residual tissue in idiopathic retroperitoneal fibrosis: active residual disease or silent "scar"? A study using 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23(2): 231-4.
56. *Jogai S, Al-Jassar A, Temmin L.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis--a potential pitfall for fine needle aspiration cytology. *Cytopathology* 2005 Feb;16(1):49-50.
57. *Vaglio A, Palmisano A, Alberici F, Maggiore U, Ferretti S, Cobelli R, et al.* Prednisone versus tamoxifen in patients with idiopathic retroperitoneal fibrosis: an open-label randomised controlled trial. *Lancet* 2011; 378(9788): 338-46.
58. *van Bommel EF, Pelkmans LG, van Damme H, Hendriksz TR.* Long-term safety and efficacy of a tamoxifen-based treatment strategy for idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Eur J Intern Med* 2013; 24(5): 444-50.
59. *Jois RN, Gaffney K, Marshall T, Scott DG.* Chronic periaortitis. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43: 1441.
60. *Srinivasan AK, Richstone L, Permpongkosol S, Kavoussi LR.* Comparison of laparoscopic with open approach for ureterolysis in patients with retroperitoneal fibrosis. *J Urol* 2008; 179(5): 1875-8.
61. *Baker LR, Mallinson WJ, Gregory MC, Menzies EA, Cattell WR, Whitfield HN, et al.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis. A retrospective analysis of 60 cases. *Br J Urol* 1987; 60(6): 497-503.
62. *Adler S, Lodermeier S, Gaa J, Heemann U.* Successful mycophenolate mofetil therapy in nine patients with idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Rheumatology* 2008; 47(10): 1535-8.
63. *Scheel PJ Jr, Feeley N:* Retroperitoneal fibrosis. *Rheum Dis Clin North Am* 2013; 39: 365–81.
64. *Mertens S, Zeegers AG, Wertheimer PA, Hendriksz TR, van Bommel EF:* Efficacy and complications of urinary drainage procedures in idiopathic retroperitoneal fibrosis complicated by extrinsic ureteral obstruction. *Int J Urol* 2014; 21: 283–8.

65. *van Bommel EF, Siemes C, Hak LE, van der Veer SJ, Hendriksz TR.* Long-term renal and patient outcome in idiopathic retroperitoneal fibrosis treated with prednisone. *Am J Kidney Dis* 2007; 49(5): 615-25.
66. *Marcolongo R, Tavolini IM, Laveder F, Busa M, Noventa F, Bassi P, et al.* Immunosuppressive therapy for idiopathic retroperitoneal fibrosis: a retrospective analysis of 26 cases. *Am J Med* 2004; 116(3): 194–7.
67. *Binder M, Uhl M, Wiech T, Kollert F, Thiel J, Sass JO, et al.* Cyclophosphamide is a highly effective and safe induction therapy in chronic periaortitis: a long-term follow-up of 35 patients with chronic periaortitis. *Ann Rheum Dis* 2012; 71(2): 311-2.
68. *Zhou HJ, Yan Y, Zhou B, Lan TF, Wang XY, Li CS.* Retroperitoneal fibrosis: a retrospective clinical data analysis of 30 patients in a 10-year period. *Chin Med J (Engl)* 2015; 128(6): 804-10.
69. *Scheel PJ Jr, Feeley N, Sozio SM.* Combined prednisone and mycophenolate mofetil treatment for retroperitoneal fibrosis: a case series. *Ann Intern Med* 2011; 154(1): 31-6.
70. *Maritati F, Corradi D, Versari A, Casali M, Urban ML, Buzio C, et al.* Rituximab therapy for chronic periaortitis. *Ann Rheum Dis* 2012; 71:1262–4.
71. *Vaglio A, Catanoso MG, Spaggiari L, Magnani L, Pipitone N, Macchioni P, et al.* Interleukin-6 as an inflammatory mediator and target of therapy in chronic periaortitis. *Arthritis Rheum* 2013; 65:2469–75.
72. *Wagenknecht LV, Hardy JC.* Value of various treatments for retroperitoneal fibrosis. *Eur Urol* 1981; 7: 193-200.
73. *Rhen T, Cidrowski JA.* Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. *N Engl J Med.* 2005;353(16):1711-23.
74. *Ponticelli C.* Glucocorticoids and immunomodulating agents. In: Ponticelli C, Glasscock R, editors. *Treatment of Primary Glomerulonephritis*. Second edition. USA: Oxford clinical nephrology series; 2009: 47-123.
75. *Moroni G, Dore R, Colini P.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis. *J Nephrol* 2005; 18(6): 794-808.
76. *Fry AC, Singh S, Gunda SS, et al.* Successful use of steroids and ureteric stents in 24 patients with idiopathic retroperitoneal fibrosis: A retrospective study. *Nephron - Clin Pract* 2008; 108: 213-220.

77. *Harreby M, Bilde T, Helin P, Meyhoff HH, Vinterberg H, Nielsen VA.* Retroperitoneal fibrosis treated with methylprednisolon pulse and disease-modifying antirheumatic drugs. *Scand J Urol Nephrol* 1994; 28(3): 237-42.
78. *Huscher D, Thiele K, Gromnica-Ihle E, Hein G, Demary W, Dreher R, Zink A, Buttgereit F.* Dose-related patterns of glucocorticoid-induced side effects. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(7):1119-24.
79. *Grotz W, Von Zedtwitz I, Andre M, Schollmeyer P.* Treatment of retroperitoneal fibrosis by mycophenolate mofetil and corticosteroids. *Lancet* 1998; 352(9135): 1195.
80. *Appel AS, Appel GB.* An update on the use of mycophenolate mofetil in lupus nephritis and other primary glomerular diseases. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2009;5(3):132-42.
81. *Gurwitz JH, Bohn RL, Glynn RJ, Monane M, Mogun H, Avorn J.* Glucocorticoids and the risk for initiation of hypoglycemic therapy. *Arch Intern Med.* 1994;154(1):97-101.
82. *Pelletier RP, Akin B, Henry ML, Bumgardner GL, Elkhammas EA, Rajab A, et al.* The impact of mycophenolate mofetil dosing patterns on clinical outcome after renal transplantation. *Clin Transplant* 2003; 17(3): 200–5.
83. *Gonçalves RG, Biato MA, Colosimo RD, Martinusso CA, Pecly ID, Farias EK, et al.* Effects of mycophenolate mofetil and lisinopril on collagen deposition in unilateral ureteral obstruction in rats. *Am J Nephrol* 2004; 24(5): 527-36.
84. *Morath C, Schwenger V, Beimler J, Mehrabi A, Schmidt J, Zeier M, et al.* Antifibrotic actions of mycophenolic acid. *Clin Transplant* 2006; 20 Suppl 17: 25-9.
85. *Plastiras SC, Vlachoyiannopoulos PG, Tzelepis GE:* Mycophenolate mofetil for interstitial lung disease in scleroderma. *Rheumatology* 2006; 45:1572.
86. *Jois RN, Kerrigan D, Scott I.* Mycophenolate mofetil for maintenance of remission in idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Rheumatology* 2007; 46(4): 717-8.
87. *Khalil F, Mir MA, Venuto RC.* Mycophenolate mofetil in the treatment of retroperitoneal fibrosis. *Clin Rheumatol* 2008; 27(5): 679-81.
88. *Swartz RD, Lake AM, Roberts WW, Faerber GJ, Wolf JS Jr.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis: a role for mycophenolate mofetil. *Clin Nephrol* 2008; 69(4): 260-8.
89. *McEvoy GK,* editor. *AHFS drug information* 2011. Bethesda (MD): American Society of Health-System Pharmacists; 2011.

90. *Cogan E, Fastrez R.* Azathioprine. An alternative treatment for recurrent idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Arch Intern Med* 1985; 145(4):753-5.
91. *Ha YJ, Jung SJ, Lee KH, Lee SW, Lee SK, Park YB.* Retroperitoneal Fibrosis in 27 Korean Patients: Single Center Experience. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 985-90.
92. *McKendry RJR.* Purine analogues. In: *Second Line Agents in the Treatment of Rheumatic Diseases.* Dixon J, Furst BE, editors. New York: Marcel Decker; 1991: 223-37.
93. *Heidenreich A, Derakhshani P, Neubauer S, Krug B.* Treatment outcomes in primary and secondary retroperitoneal fibrosis. *Urologie A* 2000; 39(2): 141–8.
94. *Woodson LC, Dunnette JH, Weinshilboum RM.* Pharmacogenetics of human thiopurine methyltransferase: kidney-erythrocyte correlation and immunotitration studies. *J Pharmacol Exp Ther.* 1982;222(1):174-81.
95. *Kyle V, Cawston TE, Hazleman BL.* Erythrocyte sedimentation rate and C reactive protein in the assessment of polymyalgia rheumatica/giant cell arteritis on presentation and during follow up. *Ann Rheum Dis* 1989; 48: 667–71.
96. *Cantini F, Salvarani C, Olivieri I.* Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in the diagnosis of polymyalgia rheumatica. *Ann Intern Med* 1998;128: 873–4.
97. *Hind CR, Savage CO, Winearls CG et al.* Objective monitoring of disease activity in polyarteritis by measurement of serum C reactive protein concentration. *B Med J* 1984; 288: 1027–30.
98. *Park JR, Jones JG, Hazleman BL.* Relationship of the erythrocyte sedimentation rate to acute phase proteins in polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Ann Rheum Dis* 1981; 40: 493–5.
99. *Kalsch AI, Csernok E, Munch D et al.* Use of highly sensitive C reactive protein for followup of Wegener's granulomatosis. *J Rheumatol* 2010; 37: 2319–25.
100. *Salvarani C, Cantini F, Niccoli L et al.* Acute-phase reactants and the risk of relapse/recurrence in polymyalgia rheumatica: a prospective followup study. *Arthritis Rheum* 2005; 53: 33–8.
101. *Magrey MN, Husni ME, Kushner I, et al.* Do acute-phase reactants predict response to glucocorticoid therapy in retroperitoneal fibrosis?. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 674–679.
102. *Scheel PJ Jr, Feeley N.* Retroperitoneal fibrosis: the clinical, laboratory and radiographic presentation. *Medicine* 2009; 88(4): 202-7.

103. *McPherson RA, Matthew R. Pincus MR.* Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011. 254-5.
104. *Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang Y (Lucy), Castro AF, Feldman HI, et al.* A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med* 2009; 150(9):604–12.
105. *Davenport MS, Khalatbari S, Cohan RH, Dillman JR, Myles JD, Ellis JH.* Contrast material-induced nephrotoxicity and intravenous low-osmolality iodinated contrast material: risk stratification by using estimated glomerular filtration rate. *Radiology.* 2013;268(3):719-728.
106. *Moudy TE, Vaughan ED Jr.* Steroids in the treatment of retroperitoneal fibrosis. *J Urol* 1979; 121(1): 109-11.
107. *Brandt A.S, Kamper L, Kukuk S, Haage P, Roth S.* Tamoxifen monotherapy in the treatment of retroperitoneal fibrosis. *Urol Int* 2014; 93: 320–5.
108. *Lennard L, Van Loon JA, Weinshilboum RM.* Pharmacogenetics of acute azathioprine toxicity: relationship to thiopurine methyltransferase genetic polymorphism. *Clin Pharmacol Ther.* 1989;46(2):149-54.
109. *Black AJ, McLeod HL, Capell HA, Powrie RH, Matowe LK, Pritchard SC, Collie-Duguid ES, Reid DM.* Thiopurine methyltransferase genotype predicts therapy-limiting severe toxicity from azathioprine. *Ann Intern Med.* 1998;129(9):716-8.
110. *Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui CH, Yee SW, et al.* Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2011 ; 89(3): 387–91.

ПРИЛОГ

БИОГРАФИЈА

Др Катарина Обренчевић, специјалиста интерне медицине, субспецијалиста нефролог, рођена је 10.04.1970. године у Београду. Дипломирала је на Медицинском факултету Универзитета у Београду 1996. године са просечном оценом 9,37 (девет и тридесет седам). Специјализацију из интерне медицине завршила је у Војномедицинској академији 2001. године, где је 2006. године завршила и последипломске студије облика уже специјализације из нефрологије. Школске 2009/2010. год. уписала је академске докторске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Експериментална и клиничка интерна медицина, модул нефрологија, где је положила усмени докторски испит, са оценом 10 (десет). Од 2001. до 2011. године била је стално запослена као лекар специјалиста у Клиници за нефрологију ВМА. Од 2011. године стално је запослена као лекар субспецијалиста нефролог у Центру за трансплантацију солидних органа ВМА, а од децембра 2017. године у Одељењу за клиничку нефрологију и трансплантацију бубрега Клинике за нефрологију ВМА. Члан је Нефролошке секције Српског лекарског друштва, Удружења нефролога Србије, Удружења за трансплантацију органа Србије и Европског удружења за нефрологију, дијализу и трансплантацију. Учествовала је на бројним домаћим и међународним научним скуповима и објавила је више научних радова. Стручно се усавршавала из области трансплантације бубрега у Италији и Француској. Поседује активно знање енглеског и италијанског језика и пасивно знање француског језика.

БИБЛИОГРАФИЈА:

1. **Obrenčević K**, Petrović D, Aleksić P, Petrović M, Rančić N, Jovanović D, Nikolić B, Mijušković M, Vavić N, Ignjatović Lj, Maksić Đ. Successful treatment of idiopathic retroperitoneal fibrosis with combined immunosuppressive therapy. *Vojnosanit Pregl* 2018; doi: 10.2298/VSP170714008O. **M23**
2. Mijušković M, Vavić N, Rusović S, Ignjatović Lj, **Obrenčević K**, Radojević M, Kovačević Z, Čukić Z, Petrović M, Pilčević D, Pilčević-Tadić J, Terzić B. Percutaneous transluminal renal angioplasty application effect on renal function in patients with renal artery stenosis - a case report on 4 patients. *Vojnosanit Pregl* 2013; 70(4): 411-6. **M23**
3. Terzić B, Maksić Dj, Škuletić V, Pilčević D, Mijušković M, Čukić Z, **Obrenčević K**, et al. Myeloma multiplex with pulmonary dissemination. *Vojnosanit Pregl* 2014; 71(6): 596-9. **M23**
4. Mijušković M, Milović N, Kovačević B, Jovanović D, Ignjatović Lj, Terzić B, Tadić Pilčević J, Petrović M, Pilčević D, **Obrenčević K**, et al. Acquired cystic disease and renal cell carcinoma in hemodialysis patients-a case report on three patients. *Vojnosanit Pregl* 2015; 72(10): 932-6. **M23**
5. Vavić N, Rančić N, Cikota-Aleksić B, Magić Z, Cimeša J, **Obrenčević K**, et al. The distribution of genetic polymorphism of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 in patients subjected to renal transplantation. *Vojnosanit Pregl* 2016; 73(7): 663-7. **M23**
6. Petrović M, Dragović T, Petrović S, **Obrenčević K**, Rančić N, Đurašinović T, Petrović D, Ignjatović Lj, Rabrenović V, Nenezić N, Marinković D, Maksić Đ. Effect of vitamin D on proteinuria, lipid status, glycoregulation and C-reactive protein in patients with type-2 diabetes mellitus. *Vojnosanit Pregl* 2018; doi: 10.2298/VSP180525113P. **M23**
7. **Obrenčević K**, Jovanović D, Kovačević Z, Hrvačević R, Ignjatović Lj, Mijušković M. Mikofenolat mofetil u kombinaciji sa kortikosteroidima: nova iskustva u terapiji idiopatske retroperitonealne fibroze. *Vojnosanit Pregl* 2007; 64 (6): 385-90. **M51**
8. **Obrenčević K**, Jovanović D, Kovačević Z, Ignjatović Lj. Belgrade Hantavirus infection is associated with the most severe clinical form of hemorrhagic fever with renal syndrome. *BANTAO Journal* 2007; 5(2): 84-8. **M51**

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број:	
Идентификациони број - ИБР:	
Тип документације - ТД:	Монографска публикација
Тип записа - ТЗ:	Текстуални штампани материјал
Врста рада - ВР:	Докторска дисертација
Аутор - АУ:	Катарина Обренчевић
Ментор/коментор - МН:	др сци.мед. Дејан Петровић, ванредни професор
Наслов рада - НР:	Процена активности и ремисије током лечења идиопатске ретроперитонеалне фиброзе
Језик публикације - ЈП:	Српски / ћирилица
Језик извода - ЈИ:	Српски / Енглески
Земља публикавања - ЗП:	Република Србија
Уже географско подручје - УГП:	Шумадијски округ
Година - ГО:	2019.
Издавач - ИЗ:	Ауторски репринт
Место и адреса - МС:	34000 Крагујевац, Светозара Марковића 69, Република Србија
Физички опис рада - ФО:	Дисертација има 152 стране, 8 поглавља, 29 табела, 21 графикон, 6 слика и 110 цитиране библиографске јединице
Научна област - УДК:	Медицина
Научна дисциплина - ДИ:	Клиничка и експериментална интерна медицина - Нефрологија
Предметна одредница / кључне речи - ПО:	Идиопатска ретроперитонеална фиброза, седиментација еритроцита, С-реактивни протеин, кортикостероиди, микофенолат мофетил, азатиоприн
Чува се - ЧУ:	У библиотеци Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, Србија
Важна напомена - ВН:	
Извод - ИД:	Увод/Циљ рада: Идиопатска ретроперитонеална фиброза је ретко обољење, које се карактерише фиброинфламаторним ткивом и захватањем уретера, доводећи до опструктивне нефропатије и бубрежне инсуфицијенције. Болест је највероватније аутоимунске природе. Терапија укључује имunosупресиве, али оптимални приступ до сада није

дефинисан. Седиментација (SE) и С-реактивни протеин (CRP) представљају маркере активне инфламације у почетној фази болести и стога би могли представљати сензитивне предикторе одговора на терапију имуносупресивним лековима.

Методe: Ретроспективна клиничка опсервациона студија типа серије случајева обухватила је пацијенте са идиопатском ретроперитонеалном фиброзом код којих су примењена два различита терапијска протокола: кортикостероиди у комбинацији са микофенолат мофетилом и кортикостероиди у комбинацији са азатиоприном. Укупно је укључено 28 пацијената (13 у првој, 15 у другој групи) који су лечени у Клиници за нефрологију Војномедицинске академије.

Резултати: 92,3% пацијената је иницијално имало повишене вредности SE и CRP-а, а 67,8% акутну бубрежну инсуфицијенцију. Код свих пацијената се губе општи симптоми након 4 недеље терапија. Бубрежна функција се у обе групе значајно побољшава, већ после првих месец дана, с тим да је креатинин на крају био виши у у групи са микофенолатом, као последица релапса код 23,1% пацијената у овој групи. Редукција фиброзног ткива је била бржа под терапијом микофенолатом након 6 месеци, а 100% редукције на крају постиже 53,8% пацијената у првој и 33,3% у другој групи. Вредност SE и CRP-а после месец дана у групи са азатиоприном значајно корелира са смањењем дебљине фиброзног ткива после 6 месеци и после годину дана терапије. У групи са микофенолатом једино вредност CRP-а након месец дана значајно корелира са редукцијом фиброзног ткива након годину дана.

Закључак: Микофенолат мофетил има бржи и потпунији ефекат на повлачење хидронефрозе и комплетну редукцију фиброзног ткива, у односу на азатиоприн, који делује спорије, и не постиже комплетну редукцију. CRP се показао као добар параметар који у оба терапијска протокола корелира са постизањем ремисије болести.

Датум прихватања теме од стране ННВ

28.06.2016. год.

- ДП:

Датум одбране - ДО:

Чланови комисије - КО:

Председник

Проф. др Снежана Живанчевић Симоновић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија

Члан

Проф. др Драган Јовановић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина

Члан

Доц. др Весна Станковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија

KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC, FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC

Accession Number - ANO:

Identification number - INO:

Document type - DT: Monographic publication

Type of record – TR: Textual material, printed

Contens code - CC: Ph.D. Thesis

Author - AU: Katarina Obrencevic

Menthor/co-menthor - MN: Assistant Professor, Dejan Petrovic, M.D, Ph.D

Title - TI: Assessment of disease activity and remission of idiopathic retroperitoneal fibrosis

Language of text - LT: Serbian /Cyrillic

Language of abstract - LA: Serbian / English

Country of publication - CP: Republic of Serbia

Locality of publication - LP: Shumadia Administrative District

Publication year - PY: 2019

Publisher - PU: Author reprint

Publication place - PP: 34000 Kragujevac, Svetozar Markovic 69, Republic of Serbia

Physical description - PD: Thesis contains 152 pages, 8 chapters, 29 tables, 21 graphs, 6 figures and 110 citations

Scietific field - SF: Medicine

Scientific discipline - SD: Clinical and experimental Internal medicine- Nephrology

Subject / Key words - SKW: Idiopathic retroperitoneal fibrosis, Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, Corticosteroids, Mycophenolate mofetil, Azathioprine

UDC

Holding data - HD: Library of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Republic of Serbia

Note - N:

Abstract - AB: Background/Aim: Idiopathic retroperitoneal fibrosis (IRF) is a rare disease characterized by fibroinflammatory periaortic tissue that affects the ureters, causing obstructive nephropathy and impairment of renal function. Findings strongly suggest an autoimmune etiology. Medical treatment includes immunosuppressive drugs, but the optimal treatment has not been established. Erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) represent markers of active inflammation in the early phase of the disease, and hence could be sensitive predictors of the treatment response.
Methods: This retrospective case series study includes patients with IRF treated with two different protocols: corticosteroids in combination with

mycophenolate mofetil (MMF) and corticosteroids combined with azathioprine (AZA). The total number of 28 patients (13 in the first group and 15 in the second group) were treated and followed in the Clinic of nephrology in Military Medical Academy.

Results: At presentation 92.3% of patients had elevated levels of ESR and CRP, and 67.8% of them had acute renal insufficiency. Systemic symptoms resolved after 4 weeks in all patients. The kidney function improved significantly in both groups after first month of treatment, although the creatinine level was higher in the MMF group because of the disease recurrence in 23% of the patients. In MMF group was observed faster reduction in the periaortic mass after six months and 53.8% of patients achieve 100% of the mass reduction at the end of the treatment while 33.3% in AZA group. The levels of ESR and CRP after one month of treatment in AZA group correlated with the fibrotic mass reduction after 6 months and after 1 year. In MMF group, only the CRP level after 1 month correlated with the fibrotic mass reduction achieved after 1 year.

Conclusion. MMF had more rapid and complete effect in hydronephrosis withdrawal and total reduction of the fibrotic tissue, comparing with AZA whose effect was slower and without complete mass reduction. CRP strongly correlated with the remission of the disease in both therapeutic protocols.

June 28th, 2016

Accepted by the Scientific Board on -

ASB:

Defended on - DE:

Thesis defended Board

(Degree/name/surname/title/faculty) -

DB:

Chairman

Professor, Snezana Zivancevic Simonovic, M.D, Ph.D, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

Member

Professor, Dragan Jovanovic, M.D, Ph.D, Medical Faculty of the Military Medical Academy, University of Defence, Belgrade

Member

Assistant Professor, Vesna Stankovic, M.D, Ph.D, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Катарина Обренчевић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Процена активности и ремисије током лечења идиопатске ретроперитонеалне фиброзе

која је одбрањена на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 26.12.2018. године,

потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Катарина Обренчевић _____,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Процена активности и ремисије током лечења идиопатске ретроперитонеалне фиброзе

која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу _____, 10.12.2018. године,

потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>

Belgrade Hantavirus Infection is Associated With the most Severe Clinical Form of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome

Katarina Obrencevic, Dragan Jovanovic, Zoran Kovacevic and Ljiljana Ignjatovic

Clinic of Nephrology, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

Abstract

Background. Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) is an acute viral disease characterized by fever, hemorrhage and acute renal failure and is caused by closely related zoonotic viruses of genus Hantavirus of the family Bunyaviridae. Hantaviruses produce a spectrum of illnesses with specific manifestations depending on the particular virus involved. Hantaan and Belgrade/Dobrava viruses cause the most severe disease, Puumala the least severe, and Seoul produces disease of intermediate severity. While Hantaan, Puumala and Seoul may cause a wide disparity in disease manifestations even with the same serotype, Belgrade virus, which is found in the former Yugoslavia, is associated only with severe form of illness.

Methods. 128 patients with HFRS have been treated in our unit during the period from 1989 to 2004. We retrospectively analyzed 108 of them and 20 followed prospectively.

Results. The disease is serologically confirmed in all 128 patients: Hantaan in 45%, Belgrade in 35% and Puumala in 20%. Clinical course of the disease followed up by six phases: prodromal phase in 45%, febrile in all patients, hypotensive in 30,5%, oliguric phase in 90,6%, diuretic and convalescent phase in all patients. All patients had acute renal failure (ARF), which was anuric at 30% of them, and treatment with dialysis was necessary in 55%. We observed favorable effect of "an early dialysis" to the course of the disease and its outcome. More than half of those treated with dialysis were infected with Belgrade virus-62%. Acute respiratory distress syndrome (ARDS) was presented in 11%. The cause of the disease in 8 of them was Belgrade, and in 6 Hantaan virus. 3 patients (2,3%) died, in 2 infected with Belgrade the cause of death was cerebral hemorrhage, and 1 infected with Hantaan died of shock. After the convalescent phase we noted a chronic renal failure in 8 patients (6,25%) who had a severe form of the disease. All of them had hypovolemic shock, severe ARF, ARDS, visceral haemorrhage and disseminated intravascular coagulation (DIC). The cause of the disease in 5 patients was Belgrade, and in 3 Hantaan virus. In 4 of them infected with Belgrade we noted a progression to terminal renal failure. Other chronic sequelae were hypertension in 3 patients, hypothyreosis in 2, hypocorticism in 1, sterility in 2, and acute myocardial infarction in 1.

Conclusions. According to clinical characteristic and syndromes that follow HFRS, most of our patients had severe form of illness. Belgrade virus infection is associated with a more severe disease type and development of chronic renal

failure as a sequela of the disease. The long term follow up of renal function in these patients is recommended.

Keywords: Acute renal failure, Belgrade/Dobrava virus, hantaviruses, hemorrhagic fever with renal syndrome

Introduction

Hemorrhagic fever with renal syndrome is an acute viral disease characterized by fever, hemorrhage and acute renal failure and is caused by closely related zoonotic viruses of genus Hantavirus of the family Bunyaviridae [1]. Hantaviruses have single-stranded, negative-sense RNA genomes that are divided into three segments: small (S), medium (M) and large (L) segment, which encode the nucleocapsid protein, the glycoprotein precursor and the putative RNA polymerase, respectively [2]. Each hantavirus is maintained in nature by infecting a single rodent species, which serves as its primary natural reservoir. Transimission to humans occur predominately through inhalation of aerosols of contaminated rodent excreta [3]. More than 30 different hantaviruses have been distinguished so far, at least half are related to disease in humans. One of the main features of hantaviruses is the close association between the virus type and the host species. This results in the circulation of distinct hantaviruses in the Old and New World and in geographical clusters of hantavirus genetic variants [4]. These viruses cause two types of disease in humans: hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Asia and Europe and hantavirus pulmonary syndrome (HPS) in North and South America. HFRS is caused by Hantaan, Belgrade/Dobrava, Seoul and Puumala viruses, while HPS is caused by Sin Nombre and related viruses (New World hantaviruses). Hantaviruses produce a spectrum of illnesses with specific manifestations depending on the particular virus involved. Hantaan and Belgrade/Dobrava virus causes the most severe disease, Puumala the least severe- called nephropathia epidemica, and Seoul produces disease of intermediate severity [5]. While Hantaan, Puumala and may cause a wide disparity in disease manifestations even with the same serotype, Belgrade virus, which is found in the former Yugoslavia and the Balkan Peninsula, is associated predominately with severe form of illness [6]. It has been estimated that hantaviruses cause over 200 000 cases of clinically manifested disease world-wide, with contribution of China and Korea with more than 100 000 cases. The lethality of hantavirus infection is known to be 0,1-1% for

Puumala virus associated disease, 5-15% for Hantaan and Belgrade virus associated disease, and 25-50% for hantaviruses causing HPS [7].

The aim of this study is to present clinical manifestations and laboratory findings in patients with HFRS with particular analysis of those infected with Belgrade virus.

Patients and methods

128 patients with HFRS have been treated in our unit during the period from 1989 to 2004. There were 126 males and 2 females, aged from 18 to 62 years. We retrospectively analyzed 108 patients treated in Military Medical Academy during the period from 1989 to 2000 with all data received from available medical records. Another 20 patients hospitalized in the period from 2000 to 2004 were followed prospectively, during the acute phase of illness. Diagnosis in both groups was made from the clinical symptoms and signs, laboratory findings, and confirmed by serologic tests to detect specific anti hantavirus antibodies: enzyme linked immunosorbent assays (ELISA) IgM and indirect immunofluorescence assay IgG (performed in Torlak Institute of Immunology and Virology). In 24 patients renal biopsy was done and tissue samples were analysed by light microscopic, electron microscopic and immunohistochemical methods in Institute of pathology Military Medical Academy. Typical clinical symptoms and signs, as well as clinical syndromes that follow HFRS and the laboratory findings

were analysed in all patients. We compared results obtained in our study with results of two other author groups about HFRS caused by Hantaan and Seoul viruses in Korea and by Puumala in Sweden with noted differences and similarities.

Results

Hantavirus infections occur in two main seasonal outbreaks: in the beginning of the spring (from second half of March until the end of May) and in the end of summer (August). During the largest epidemic in 1994/95, frequency of the disease was equal trough the whole year, without seasonal changing.

The patients came to our unit in different phases of the disease. Only two of them were hospitalized in the febrile phase (1,6%), 26 in hypotensive (20,3%), and most of them were in oliguric phase - 80 patients (62,5%). In polyuric phase there was 16 patients (12,5%), and 4 (3,1%) in convalescence phase.

The disease was serologically confirmed in all 128 patients: Hantaan in 45%, Belgrade in 35% and Puumala in 20%.

Clinical course of the disease followed up by six phases (Table 1). Clinical manifestations and frequency of some symptoms and signs are shown in Table 2 with comparison to clinical picture of HFRS in other part of the world. All our patients had acute renal failure (ARF), which was anuric at 30% of them.

Table 1. Comparison of clinical course of the HFRS in patients treated in Military Medical Academy and those presented by Lee JS (5)

Phase	Frequency	Frequency	Average duration	Average duration
	Korea % of patients	MMA* % of patients	Korea (days)	MMA* (days)
Prodromal	10-20	45	3-10	3-10
Febrile	100	100	3-6	3-8
Hypotensive	37	30,5	1	few hours-1 day
Oliguric	60	90,6	3-5	3
Polyuric	95	100	7-14	10
Convalescence	100	100	4-8 weeks	3-12 weeks

* MMA- Military Medical Academy

Table 2. Comparison of clinical manifestations in HFRS in patients treated in Military Medical Academy and those presented by Lee JS (5), and Settergren B et al (18)

Symptoms and signs	Korea- HTN [†] (229 pts*) % of pts*	Korea-SEO [‡] (40 pts*) % of pt*	Sweden-PUU [§] (355 pts*) % of pts*	Serbia, Montenegro 3 serotypes (128 pts*) % of pts*
Fever	100	100	94	100
Headache	96	45	45	100
Anorexia	96	95	95	100
Myalgia	69	51	37	82
Abdominal pain	90	72	48	100
Back pain	92	28	66	95
Blurred vision	54	9	7	25
Subconjunctival hemorrhage	14	8	3	75
Melena	16	5	< 1	32
Hematemesis	3	5	< 1	30
Hypertension	60	36	10	65
Shock	24	-	-	25
Hypotension	34	10	30	30
ARDS	-	-	-	11

* Pts- patients, [†] HTN- Hantaan virus, [‡] SEO- Seoul virus, [§] PUU- Puumala virus

Belgrade virus was serologically confirmed as etiologic agent in 45 patients (35%). All of these patients had severe ARF which was anuric in more than half (20 patients of total number of 38 anuric patients). Dialysis was necessary for the treatment of ARF in 43 (95,5%) patients infected with Belgrade. Among these patients, 45% had hypotension, 33% developed shock, in 74% severe visceral hemorrhage were presented (melena, hematemesis, bleeding into central nervous system) and 28% had disseminated intravascular coagulation (DIC). Eight patients infected with Belgrade (17,7%) developed acute respiratory distress syndrome (ARDS). In another 6 with ARDS, Hantaan virus was the cause of the disease (Table 3).

Laboratory findings are similar to those in Korean HFRS (Table 4). All patients had acute renal failure (ARF) with elevation of serum creatinine from 135 to 1700 $\mu\text{mol/l}$, and serum blood urea nitrogen (BUN) from 11 to 70 mmol/l . Proteinuria was presented in all patients with average values of 7,2g per day and the largest of 22g per day.

Table 3. The most important clinical and laboratory characteristics of patients with HFRS caused by three serotypes treated in Military Medical Academy

Symptoms and signs	BGD [†] (45 pts*) % of pts*	HTN [‡] (58 pts*) % of pts*	PUU [§] (25 pts*) % of pts*
Fever	100	100	100
Headache	100	100	100
Abdominal pain	100	100	100
Back pain	100	86	80
Hypotension	45	29	4
Shock	33	29	-
Visceral hemorrhage	74	69	-
ARF	100	100	100
Anuric ARF	45	31	-
Treatment with dialysis	95	46	-
DIC	28	19	-
ARDS ^{**}	18	10	-
CRF ^{††}	11	5	-

*Pts- patient, [†]BGD- Belgrade virus, [‡]HTN- Hantaan virus, [§]PUU- Puumala virus, ^{||}ARF- acute renal failure, [¶]HBI- hronična bubrežna insuficijencija, ^{**}ARDS- acute respiratory distress syndrome, ^{††}CRF- chronic renal failure

Table 4. Comparison of laboratory findings in HFRS in patients treated in Military Medical Academy and those presented by Lee JS (5), and Settergren B et al (18)

	Korea HTN [‡] (229 pts [†]) % of pts [†]	Korea SEO [§] (40 pts [†]) % of pts [†]	Sweden PUU (355 pts [†]) % of pts [†]	MMA [*] HTN [‡] ,BGD [¶] ,PUU (128 pts [†]) % of pts [†]
Leukocytosis	91	75	57	95
Thrombocyto-penia	96	80	62	91
Elevated BUN	98	90	99	100
Elevated creatinine	98	90	99	100
DIC	20	3	< 1	19
Elevated AST, ALT	5	22	-	55
Hematuria	85	-	73	95
Proteinuria	100	100	89	100

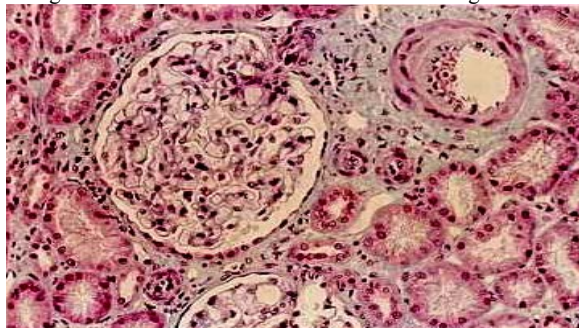
*MMA- Military Medical Academy, [†]Pts- patients, [‡]HTN- Hantaan virus, [§]SEO- Seoul virus, ^{||}PUU- Puumala virus, [¶]BGD- Belgrade virus

Major histopathologic findings on renal biopsy tissue samples were: interstitial nephritis with hemorrhage into medullary interstitium, edema and inflammatory cell infiltrations followed by tubular epithelial and luminal alterations. There were slight glomerular mesangial changes and mild swelling of epithelial cells of Bowman's capsule. The vessels showed endothelial cell damage and reaction (Figure 1).

Treatment of HFRS consists of symptomatic and supportive care and strict management of fluid and electrolytes. Patients who developed ARDS treated with oxygenation and mechanical ventilation. Treatment with dialysis was necessary in 70 patients with ARF (55%). Indications for starting this method of treatment have been moved to lower values of serum creatinine of 400-500 $\mu\text{mol/l}$. Dialysis were performed once daily, with average 3 to 4 procedures by patient.

Fig. 1. Histopathologic findings in HFRS show interstitial nephritis with hemorrhage into medullary interstitium, edema and inflammatory cell infiltrations followed by tubular epithelial and

luminal alterations. There were slight glomerular mesangial changes. The vessels showed endothelial cell damage and reaction



Three patients (2,3%) died, in 2 infected with Belgrade the death was caused by cerebral hemorrhage, and 1 infected with Hantaan died of shock. After the convalescent phase we noted chronic renal failure in 8 patients (6,25%) who had severe form of the disease. All of them had hypovolemic shock, severe ARF, ARDS, visceral haemorrhage and disseminated intravascular coagulation (DIC). Cause of the disease in 5 patients was Belgrade, and

in 3 Hantaan virus. In 4 patients infected with Belgrade we noted progression to terminal renal failure, in 2 of them kidney transplantation has been done, another two are on chronic dialysis program.

Other chronic sequelae were hypertension in 3 patients (2,34%), hypothyreosis in 2 (1,56%), hypocorticism in 1 (0,78%), sterility in 2 (1,56%), and acute myocardial infarction in 1 (0,78%).

Discussion

HFRS is endemic in the Balkan Peninsula and former Yugoslavia, where sporadic cases and outbreaks have been reported. Hantaviruses associated with disease in humans in Balkans are Belgrade/Dobrava virus carried by the yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*), and Puumala carried by red bank vole (*Clethrionomys glareolus*). Dobrava was originally isolated in Slovenia where a number of severe cases of HFRS had occurred [8], and genetic analyses showed that Dobrava is a unique hantavirus type. Belgrade virus was isolated from blood and urine specimens collected from Yugoslavian patients (in central and south Serbia) with clinically severe HFRS [9]. Nucleotide sequencing of the G2-encoding region in the medium segment of the viral genome, reverse transcribed and amplified by polymerase chain reaction, revealed Belgrade virus to be substantially different from Hantaan and other major serotypes, but identical to Dobrava virus [10]. It has been reported that Belgrade/Dobrava virus carried by yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*) is associated with severe clinical form of HFRS with a fatality rate up to 10 % [8,9]. Recently, another host for Belgrade/Dobrava virus was reported- striped field mice (*Apodemus agrarius*), causing a milder disease than that associated with *A. flavicollis* in Estonia, Russia, Slovakia and Balkans. [11,12]. These findings suggest that striped field mice (*Apodemus agrarius*), which are known to be natural host for Hantaan in Asia, also carry Dobrava in Central and Eastern Europe [13]. Puumala virus causes nephropathia epidemica, a milder form of HFRS, with a fatality rate less than 1% [14] (Table 5). It has been reported that Hantaan virus, which is endemic for Asia, causes HFRS in Balkans and the former Yugoslavia [6].

Table 5. Relationship between rodent host, hantaviruses related to human disease, and severity of clinical form of the disease

Genus	Rodent host	Clinical form
Hantaan (HTN)	<i>Apodemus agrarius</i> (Asia, Europe)	Severe
Seoul (SEO)	<i>Rattus norvegicus</i> (World wide)	Moderate
	<i>Clethrionomys glareolus</i> (Scandinavia, Europe, Balkans)	Mild
Belgrade/Dobrava (BGD/DOB)	<i>Apodemus flavicollis</i> (Balkans)	Severe
	<i>Apodemus agrarius</i> (Balkans, Estonia, Russia, Slovakia)	Mild

We serologically confirmed three serotypes of hantaviruses as etiologic agents of HFRS in our patients: Hantaan in 45%, Belgrade in 35% and Puumala in 20%. The disease

showed two main seasonal outbreaks: in the beginning of the spring and in the end of the summer, like other reported cases [4]. During the largest epidemic in 1994/95, frequency of the disease was equal trough the whole year, without seasonal changing, because of the war and large migrations of army forces and population. Patients were hospitalized in later phases of the disease, mostly in oliguric phase with manifested ARF. Clinical manifestations and laboratory findings of Hantaan and Puumala associated disease are similar to these in other parts of the world. There is a wide disparity in disease manifestations from asymptomatic, mild, to severe form, even with the same serotype [5]. This is reported for Hantaan and Puumala viruses, but Belgrade virus is associated mostly with more severe disease type [6,15]. Clinical course of the HFRS in our patients followed up by six phases, similar to Korean HFRS caused by Hantaan virus. We noted higher frequency of prodromal and oliguric phase (Table1), also as a more frequent anuric ARF in 30% of patients, in opposite to 10% in Korean HFRS due to Hantaan [5]. Treatment with dialysis was necessary in 70 patients with ARF (55%). Indications for starting dialysis have been moved to lower values of serum creatinine of 400-500 $\mu\text{mol/l}$. We observed favorable effect of "an early dialysis" to the course of the disease and outcome, with normalisation of BUN and creatinine in average 14 days. Dialysis was performed once daily, with average 3 to 4 procedures by patient. More than half of those treated with dialysis were infected with Belgrade virus-62%. Most of these patients infected with Belgrade developed severe clinical manifestation with high frequency of hypotension, shock, visceral hemorrhage (melena, hematemesis, bleeding into central nervous system) and DIK. Eight patients infected with Belgrade and six infected with Hantaan developed acute respiratory distress syndrome (ARDS). It is well known that ARDS is associated with HPS, but it can be part of the severe clinical form of HFRS.

We noted long duration of the convalescent phase, over 3 months in half of our patients. After the convalescent phase we noted chronic renal failure in 8 patients (6,25%) who had severe form of the disease. All of them had hypovolemic shock, severe ARF, ARDS, visceral haemorrhage and disseminated intravascular coagulation (DIK). The cause of the disease in 5 patients was Belgrade, and in 3 Hantaan virus. In 4 patients infected with Belgrade we noted progression to terminal renal failure, in 2 of them kidney transplantation has been done, another two are on chronic dialysis program. These results agree with studies that show an association between past hantaviral infection and chronic renal disease [16,17]. Other chronic sequelae were hypertension in 3 patients (2,34%), hypothyreosis in 2 (1,56%), hypocorticism in 1 (0,78%), sterility in 2 (1,56%), and acute myocardial infarction in 1 (0,78%).

Conclusion

According to clinical characteristic and syndromes that follow HFRS, most of our patients had severe form of illness. Belgrade virus infection is associated with a more severe disease type and development of chronic renal

failure as a sequela of the disease. The long term follow up of renal function in these patients is recommended.

Conflict of interest statement. None declared.

References

1. Cosgriff TM. Mechanisms of disease in Hantavirus infection: pathophysiology of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Rev Infect Dis* 1991; 13: 97-107.
2. Mackow ER, Gavrilovskaya IN. Cellular receptors and hantavirus pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 2001; 256: 91-115.
3. McCaughey C, Hart CA. Hantaviruses. *J Med Microbiol* 2000; 49(7): 587-99.
4. Hart CA, Bennet M. Hantavirus infections: epidemiology and pathogenesis. *Microb Infect* 1999; 1 (14): 1229-37.
5. Lee JS. Clinical features of hemorrhagic fever with renal syndrome in Korea. *Kidney International* 1991; 64 Suppl 35: S 86-93.
6. Avsic-Zupanc T, Poljak M, Furlan P, Kaps R, Xiao SY, LeDuc JW. Isolation of a strain of a Hantaan virus from a fatal case of hemorrhagic fever with renal syndrome in Slovenia. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51 (4): 393-400.
7. Schmaljohn C, Hjelle B. Hantaviruses: a global disease problem. *Emerg Infect Dis* 1997; 3:95.
8. Avsic-Zupanc T, Xiao SY, Gligic A, Van der Groen G, LeDuc JW. Characterization of Dobrava virus: a hantavirus from Slovenia. *J Med Virol* 1992; 38: 132-7.
9. Gligić A, Dimković N, Shye-Yuan X, *et al.* Belgrade virus: A New Hantavirus Causing Severe Hemorrhagic fever with Renal Syndrome in Yugoslavia. *J Infect Dis* 1992; 166: 113-20.
10. Taller AM, Xiao SY, Godec MS, *et al.* Belgrade virus, a cause of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Balkans, is closely related to Dobrava virus of field mice. *J Infect Dis* 1993; 168(3): 750-3.
11. Avsic-Zupanc T, Nemirov K, Petrovec M, *et al.* Genetic analysis of wild-type Dobrava hantavirus in Slovenia: co-existence of two distinct genetic lineages within the same natural focus. *J Gen Virol* 2000; 81 (Pt 7): 1747-55.
12. Klempa B, Stanko M, Labuda M, Ulrich R, Meisel H, Kruger DH. Central European Dobrava Hantavirus isolate from a striped field mouse (*Apodemus agrarius*). *J Clin Microbiol* 2005; 43(6): 2756-63.
13. Sibold C, Ulrich R, Labuda M, *et al.* Dobrava hantavirus causes hemorrhagic fever with renal syndrome in central Europe and is carried by two different *Apodemus* mice species. *J Med Virol* 2001; 63(2): 158-67.
14. Kuzman I. Clinical picture of hemorrhagic fever with renal syndrome in Croatia. *Acta Med Croatica* 2003; 57 (5): 393-7.
15. Cebalo L, Dusek T, Kuzman I, Markotic A. Grading of severity of disease in patients with Puumala or Dobrava virus infections from 1995 to 2000 in Croatia. *Acta Med Croatica* 2003; 57(5): 355-9.
16. Glass GE, Watson AJ, LeDuc JW, Childs JE. Domestic cases of hemorrhagic fever with renal syndrome in the United States. *Nephron* 1994; 68(1): 48-51.
17. Ledina D, Bradaric N, Ivic I, *et al.* Is permanent renal function damage possible after hemorrhagic fever with renal syndrome? *Acta Med Croatica* 2003; 57 (5): 365-8.
18. Settergren B, Juto P, Trollfors B, Wadell G, Norrby SR. Hemorrhagic complications and other clinical findings in nephropathia epidemica in Sweden: a study of 355 serologically verified cases. *The Journal of Infectious diseases* 1988; 157(2): 380-2.



VOJNOSANITETSKI PREGLED

VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA

Crnotravska 17, 11 000 **Beograd, Srbija**

Tel/faks: +381 11 2669689

vsp@vma.mod.gov.rs

ACCEPTED MANUSCRIPT

Accepted manuscripts are the articles in press that have been peer reviewed and accepted for publication by the Editorial Board of the *Vojnosanitetski Pregled*. They have not yet been copy edited and/or formatted in the publication house style, and the text could still be changed before final publication.

Although accepted manuscripts do not yet have all bibliographic details available, they can already be cited using the year of online publication and the DOI, as follows: article title, the author(s), publication (year), the DOI.

Please cite this article: **SUCCESSFUL TREATMENT OF IDIOPATHIC RETROPERITONEAL FIBROSIS WITH COMBINED IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY**

Authors: **Obrenčević Katarina***, **Petrović Dejan†**, **Aleksić Predrag‡**, **Petrović Marijana||**, **Rančić Nemanja§**, **Jovanović Dragan||**, **Nikolić Bojan||**, **Mijušković Mirjana||**, **Vavić Neven***, **Ignjatović Ljiljana||**, **Maksić Đoko||**; *Vojnosanitetski pregled* (2018); Online First January, 2018.

UDC:

DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP170714008O>

When the final article is assigned to volumes/issues of the Journal, the Article in Press version will be removed and the final version appear in the associated published volumes/issues of the Journal. The date the article was made available online first will be carried over.

SUCCESSFUL TREATMENT OF IDIOPATHIC RETROPERITONEAL FIBROSIS WITH COMBINED IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY

Obrenčević Katarina*, **Petrović Dejan†**, **Aleksić Predrag‡**, **Petrović Marijana||**,
Rančić Nemanja§, **Jovanović Dragan||**, **Nikolić Bojan¶**, **Mijušković Mirjana||**, **Vavić
Neven***, **Ignjatović Ljiljana||**, **Maksić Đoko||**

*Solid Organ Transplantation Center, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

†Department of Internal medicine; Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac,
Serbia

‡Clinic for Urology; Medical Faculty Military Medical Academy, University of Defence,
Belgrade, Serbia

||Clinic for Nephrology, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

§Centre for Clinical Pharmacology; Medical Faculty Military Medical Academy,
University of Defence, Belgrade, Serbia

¶Institute of Radiology, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

Corresponding author: Obrenčević Katarina; Solid Organ Transplantation Center,
Military Medical Academy, Belgrade, Serbia; E-mail: katarina.obrencevic@gmail.com

Abstract

Background/Aim. Idiopathic retroperitoneal fibrosis (IRF) is characterized by fibroinflammatory periaortic tissue that affects the ureters, causing obstructive nephropathy and variable impairment of renal function. Findings strongly suggest an autoimmune etiology. The optimal treatment has not been established. The aim of this study was to analyze long-term efficacy of combined corticosteroid therapy with mycophenolate mofetil (MMF) in patients with IRF.

Methods. We retrospectively followed 13 patients (8 males and 5 females) with IRF. All patients received corticosteroids and MMF. For the patients with severe renal failure initial ureteral decompression was made and prednisone was started orally 0.5 mg/kg with fast tapering. In cases with mild renal failure corticosteroids were administered as intravenous methylprednisolone pulses for 3 days, followed by oral prednisone. The dose of MMF was 1000 mg twice daily. MMF was stopped after 18 months and prednisone after 48 months.

Results. Systemic symptoms resolved in all patients. Erythrocyte sedimentation rate declined from a mean 67.6 to 26.3 mm/h and C-reactive protein from a mean 18.5 to 6.3 mg/L. In 7 out of 8 patients, ureteral stents were successfully removed in average 13 weeks. Seven patients had 100% of reduction in the periaortic mass, and the average percent reduction was 76.9%. The kidney function improved and remained normal in 6 treated patients. In 4 patients remained mild chronic renal failure due to a function of one kidney. 3 patients with prior chronic renal failure did not worsened renal function. The disease recurred in 3 patients. There were no treatment related side effects.

Conclusion. Combination of corticosteroids and MMF is a potentially effective treatment in restoring the renal function and reducing the fibrotic tissue in patients with idiopathic retroperitoneal fibrosis. It could prevent the need for ureteral stenting and surgery. Longer treatment may reduce the possibility of recurrence.

Key words: Idiopathic retroperitoneal fibrosis; Retroperitoneal fibrosis; Mycophenolate mofetil; Corticosteroids; Erythrocyte sedimentation rate; C-reactive protein.

USPEŠNA TERAPIJA IDIOPATSKE RETROPERITONEALNE FIBROZE KOMBINOVANOM IMUNOSUPRESIVNOM TERAPIJOM

Apstrakt

Uvod/Cilj: Idiopatska retroperitonealna fibroza (IRF) se karakteriše periaortnim fibroinflamatornim tkivom koje zahvata uretere dovodeći do opstruktivne nefropatije i različitog stepena bubrežne insuficijencije. Oboljenje je najverovatnije autoimune etiologije. Optimalna terapija do sada nije definisana. Cilj ovog rada je analiza dugoročne efikasnosti kombinovane imunosupresivne terapije kortikosteroidima i mikofenolat mofetilom u lečenju IRF.

Metode: Retrospektivno je praćeno 13 pacijenata (8 muškaraca i 5 žena) sa IRF. Svi pacijenti su primili kortikosteroide i mikofenolat mofetil (MMF). Kod pacijenata sa izraženom bubrežnom insuficijencijom, prvo je učinjena dekompresija urinarnog trakta i potom započeta terapija peroralnim prednizonom 0,5 mg/kg sa brzim smanjivanjem doze. Pacijenti sa umerenom bubrežnom slabošću su primili inicijalno tri pulsne doze metilprednizolona intravenski, a potom je nastavljeno sa prednizonom. Doza MMF je bila 1000 mg dva puta dnevno. MMF je obustavljen nakon 18 meseci, a prednizon nakon 48 meseci.

Rezultati: Kod svih pacijenata je došlo do povlaćenja opštih simptoma bolesti. Vrednost sedimentacije eritrocita je smanjena sa prosečnih 67,6 na 26,3 mm/h, a C-reaktivnog proteina sa prosečnih 18,5 na 6,3 mg/L. Kod 7 od ukupno 8 pacijenata, ureteralni stentovi su uspešno izvadjeni nakon prosečno 13 nedelja. 7 pacijenata je imalo 100% redukciju periaortnog tkiva, a prosečni stepen redukcije je bio 76,9%. Bubrežna funkcija je poboljšana, kod 6 pacijenata je normalizovana, dok je kod 4 zaostala umerena hronična bubrežna slabost usled afunkcije jednog bubrega. 3 pacijenta sa prethodnom hroničnom bubrežnom insuficijencijom nisu pogoršala funkciju. Rekurenciju bolesti je imalo 3 pacijenta. Nisu registrovani neželjeni efekti terapije.

Zaključak: kombinovana primena kortikosteroida i mikofenolat mofetila je potencijalno efikasna terapija u poboljšanju bubrežne funkcije i smanjenju debljine fibroznog tkiva kod pacijenata sa IRF. Ona bi mogla otkloniti potrebu za plasiranjem ureteralnih stentova i hirurškim lečenjem. Duže trajanje terapije bi moglo smanjiti mogućnost rekurencije bolesti.

Ključne reči: idiopatska retroperitonealna fibroza, retroperitonealna fibroza, kortikosteroidi, mikofenolat mofetil, sedimentacija eritrocita, C-reaktivni protein

Introduction

Retroperitoneal fibrosis (RF) is characterized by development of inflammatory fibrotic tissue surrounding the infrarenal aorta, the iliac arteries and other retroperitoneal structures. The fibrotic tissues spread laterally and entrap one or both ureters causing obstructive uropathy and variable impairment of renal function. About one-third of all cases of RF are secondary to certain drugs, malignant disease, infection, radiation therapy or surgery. The remaining two-third cases of RF are considered idiopathic as no specific cause can be identified¹.

Idiopathic retroperitoneal fibrosis (IRF) is a rare disorder with an estimated annual incidence of 0.1 - 1.3 cases per 100,000 persons². Males are affected twice to three times more frequently than females with the mean age at presentation between 50 and 60 years, but it has been reported also in children and other adults^{1,3}.

The pathogenesis is not clear. Parum et al postulated that the disease could be the result of an inflammatory state triggered by autoimmune response to some antigens in atherosclerotic plaques of the abdominal aorta⁴. Recent findings suggest a systemic nature of the disease with the presence of constitutional symptoms, elevated acute phase reactants, often positive autoantibodies (especially antinuclear antibodies) and concomitance of other autoimmune conditions^{1,5}. Current researches consider IRF as a part of the IgG4-related disease, but this association has been proved only in 30-60% of cases^{6,7}.

The clinical presentation of idiopathic retroperitoneal fibrosis (IRF) is often insidious with localized symptoms due to compressive effects of the retroperitoneal mass (abdominal

or back pain, leg oedema, oligoanuria and uraemia) and systemic symptoms (fatigue, fever, anorexia, weight loss) due to the inflammatory nature of the disease ¹.

The diagnosis is usually made by either computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging (MRI) of the abdomen. These techniques can visualize the extent of the fibrosis and determine the possible presence of the tumour or lymphadenopathy. Confirmatory biopsy is sometimes needed (atypical localisation, therapy nonresponding cases) ⁸.

Considering the possible autoimmune etiology, various immunosuppressive (IS) drugs have been successfully used in nonsurgical management of IRF ^{1, 9-13}. However, the experiences in treatment are mainly based on observations of case reports or small groups of patients. So far, the optimal IS agent, the dose and the length of the treatment have not been established ¹.

The aim of this retrospective study was to analyze long-term efficacy of combined steroid therapy with mycophenolate mofetil (MMF) in patients with IRF.

Methods

Patient Population

From January 2004 to May 2016, 13 patients were referred to the Nephrology clinic for management of IRF. All patients underwent CT or MRI, intravenous urography and ultrasound examination (US).

Patients were asked about past or current use of methysergide, β blockers, ergotamine, methyldopa or a history of recent infections, abdominal trauma, pelvic or abdominal surgery and external beam radiation. All underwent appropriate cancer screening, according to the gender and age. The IRF diagnosis was based on characteristic clinical and CT findings. 2 patients had prior histological confirmation from the biopsy material taken during ureterolysis.

Baseline laboratory screening included the erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), complete blood count, chemistry profile with creatinine, anti-thyroid peroxidase antibodies (anti-TPO antibodies), thyroglobulin antibodies, thyroid stimulating hormone (TSH), testing for antinuclear antibodies (ANA), antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and rheumatoid factor (RF).

Treatment

All patients received steroids with MMF. The patients with severe acute renal failure received double-J ureteral stent (DJS) or percutaneous nephrostomy (PNS). After that, steroids were started as oral prednisone 0.5 mg/kg/day for one month, then tapered to maintenance of 10-5 mg/day. In patients with mild renal failure with no placement of DJS/PNS, steroids were given as an intravenous methylprednisolone pulses: 250 mg/day each for three consecutive days, followed by oral prednisone 0.5 mg/kg/day for one month, with tapering the dose as mention above. MMF was administered orally in a dose of 1000 mg twice daily for the first 6 months, then reduced to 500-750 mg twice daily, as maintenance dose, till the end of 18 months. Steroids were stopped after 48 months from the start of the therapy.

Follow-up

All patients were followed monthly in the first 6 months, then every 3 months till the end of the second year. After that, patients were seen once in 4-6 months. At each control patients were submitted to the clinical examination, US examination and to the following laboratory tests: ESR, CRP, serum creatinine level, complete blood count and urine analysis.

Normal range for ESR according to gender was: 0-25 mm/h in males, 0-30 in females, and for CRP 0-5 mg/L.

CT scan or MRI of the abdomen was performed at 6, 12, 24 and 48 months after the initiation of the therapy. After that, CT scan or MRI was performed in the case of suspected recurrence of the disease.

Decision to remove ureteral stents or PNS was made in collaboration with the urologist. It was based on improvement in laboratory parameters and radiographic evidence that the fibrotic mass no longer encased the affected ureter.

Active disease was defined by the presence of a periaortic mass surrounding one of both ureters with hydronephrosis at CT/MRI associated with an increase in CRP and/or ESR.

Remission of the disease was defined by regression of hydronephrosis and by reduction of the fibrotic tissue at CT/MRI in comparison with the basal examination together with the normalization of CRP and/or ESR.

Recurrence of the disease was defined by CT/MRI-proven increase of the periaortic mass with or without entrapment of the one or both ureters associated with a new increase in CRP and/or ESR.

Radiographic Review

Abdominal cross-sectional imaging either by contrast enhanced CT or MRI was reviewed by a single radiologist. Patients were classified based on the extent of the soft-tissue mass verified on the first visit using a classification previously described by Scheel¹⁴.

- Class I: soft-tissue density surrounding the infrarenal aorta and/or iliac vessels;
- Class II: soft-tissue density surrounding the infrarenal vena cava;
- Class III: lateral extension of the inflammation/fibrosis with compression of one or both ureters;
- Class IV: extension of fibrosis to include the renal hilum with compression of the renal artery and/or renal vein.

Patients could be categorized in multiple classes based on extent of disease seen on imaging.

The temporal change in disease was determined by measuring the thickness of the soft tissue relative to the aorta on CT scan or MRI.

Statistical Analysis

The complete statistical analysis of data was done using the statistical software package, PASW Statistics 18[®] [SPSS (Hong Kong) Ltd., Hong Kong]. All variables were presented as frequency of certain categories. Chi-square test was used for analysing the significance of differences of categorical variables. Continuous variables were presented as means and standard deviations or median with range and were compared using Mann-Whitney U test or Kruskal Wallis test. Distribution normality was tested using the Shapiro-Wilk test (number of subjects was less than 50). All the analyses were estimated at $p < 0.05$ level of the statistical significance.

The principles of ICH Good Clinical Practice were strictly followed and ethical approval from the Ethics Committee of the Military Medical Academy was obtained for the study protocol on January 21st, 2016.

Results

Of the 13 patients, there were 8 males and 5 females (Table 1). The mean age at the time of diagnosis was 54.0 ± 6.9 years (range 36-60). The patients were followed for a mean period of 99.1 ± 34.6 months (median 99.4, range 41.6-150.1).

The most frequent symptoms at the time of diagnosis were weight loss, back pain, fatigue, nausea, leg oedema, abdominal pain, new onset of hypertension and both pains: abdominal and back (Table 1). The other symptoms were hydrocele, headache, appetite loss and weakness. The duration of symptoms before diagnosis ranged from 3-15 months.

Only 2 of 13 patients had an identified risk factor for RPF (use of β blockers). Ten patients had a history of prior comorbidities: hypertension in 10, diabetes mellitus in 3 and hypothyroidism in two patients.

At presentation 12 of 13 patients had ureteral obstruction which was bilateral in 11 of them. In 8 out of 12 patients with hydronephrosis, ureteral obstruction was relieved by placement of the DJS in 7 and PNS in one patient. These procedures were done in the other hospital in 7 of these patients.

As a complication of this procedure, 6 patients (75%) had a urinary tract infection which resolved with appropriate antibiotics.

Figure 1 shows the radiographic classification of the patient population at presentation. All patients had active disease. 12 patients had renal dysfunction with a mean serum creatinine of $334 \mu\text{mol/L}$ (range was from 108-1022 $\mu\text{mol/L}$). Out of these, 9 patients presented as acute renal failure which was oligoanuric in 5 (38.5%). One was treated with hemodialysis before the admission to our hospital. Initially three patients have already had chronic renal failure. They were admitted for recurrent disease, after previous treatment with surgical and/or IS therapy.

Table 2 shows initial and follow-up laboratory data. ESR and CRP were elevated in 11 patients (range 26-140 and 5.8-31 respectively). The mean hemoglobin level was 114 g/L (range 78-140).

Two patients with hypothyroidism had positive anti-TPO antibodies. Other autoantibodies were negative in all patients.

The remission occurred in all patients in average 12.7 ± 15.9 weeks (median 4 weeks). Relief of pain and systemic symptoms was achieved in average 4 weeks.

Obstruction relief was observed after 4 weeks in 8 patients (61.5%), after 6 months in 10 (77%) and at the end of the follow-up in 12 patients (92%). In 7 patients DJS and PNS were successfully removed in average 13 weeks (range from 3 to 32 weeks) after insertion. In one patient, previously treated by ureterolysis, bilateral DJS were replaced by bilateral PNS due to the persistent obstruction and was successfully removed after one year from one side. The other side required continued decompression due to the focal ureteral stricture for the total of 4 years. After that period, he stopped coming for the control examination and he was lost from the follow-up.

ESR values declined from a mean 67.6 to 26.3 and CRP values declined from a mean 18.5 to 6.3 (Table 2, Figure 2). The kidney function improved with increasing the GFR from a mean 33.3 to 59.2 ml/min (Figure 3). In 4 patients remained chronic renal failure with GFR lower than 60 ml/min due to a function of one kidney and 3 patients with chronic renal failure before treatment did not worsen renal function.

All patients had reduction of the fibrotic tissue on MSCT/MR imaging. Seven patients had 100% of reduction in the periaortic mass, and the average percent reduction was 76.9%. Figure 4 shows a representative baseline and follow-up MSCT scan of this study population.

The recurrence of the disease was observed in 3 patients (23%). Two of them have stopped the therapy after 6 months and after 31 months, respectively. The recurrence of the disease occurred 18 and 4 months after cessation, respectively. They were retreated, and one fully responded to the therapy, the second did not and received ureterolysis. In the third patient, the recurrence occurred after completed the protocol at the end of 48th month, she was retreated with complete remission.

There were no serious side effects of the treatment. Three patients with previous diagnose of diabetes mellitus did not require change of the current therapy: 2 stayed on oral hypoglycaemic, the third one was already on insulin therapy without significant worsening of glycaemia.

Discussion

We retrospectively examined the medical outcome of 13 patients with IRF, receiving combined immunosuppressive therapy with corticosteroids and mycophenolate mofetil.

The demographics of our patient population were similar to those of other reported series. Males were affected more often (61%) with diagnose made mostly in the fifth decade of life ¹⁴. The most frequent constitutional symptom was weight loss in 84.6% of the patients. The less frequent were fatigue, nausea, appetite loss and weakness. The total of 92% of the patients reported pain (back, abdominal or both) which is consistent with other reports ^{9, 14, 15}.

The etiology of IRF is not known, but several factors such as medications (β blockers, hydralazine, methysergide, ergotamine), surgery, radiation, infections and exposure to asbestos have been described as predisposing factors for developing retroperitoneal fibrosis, despite a scarcity of data to establish clear causal relationship ¹. In our study two patients had a prior use of β blockers. Considering this association was described in the limited case reports in the literature ^{16, 17}, and the large number of patients taking β blockers worldwide, we agree with some authors observation that this connection seems unlikely ^{14, 15, 18-20}. Additionally, one patient from our series decided to restart with β blockers after entered remission, and he did not experience recurrence of the disease for 74 months of follow-up.

Some studies reported frequent association of IRF with other autoimmune diseases (Hashimoto's thyroiditis, Graves' disease ²¹, ANCA-associated vasculitis ²², membranous nephropathy ²³, rheumatoid arthritis ²⁴, systemic lupus erythematosus ²⁵, psoriasis ²⁶) or autoantibody positivity which emphasizes the autoimmune mechanisms in the pathogenesis of the disease ⁵. ANA was the most frequent antibodies, detected in 60% of patients with IRF without evidence of connective tissue disease ⁵. In our group we observed two patients with Hashimoto's thyroiditis and positive anti-TPO antibodies. This is consistent with the previous observations that autoimmune thyroiditis is the most frequent autoimmune disease associated with IRF ^{1, 21}. Other autoantibodies (ANA, ANCA, RF) were negative in all patients.

Idiopathic retroperitoneal fibrosis is a progressive disease for which consistent therapeutic recommendations have not been devised. Encasement of the ureters by

retroperitoneal fibrous tissue leads to the obstructive nephropathy and serious complication including the end stage renal failure¹. Because of the insidious clinical course and absent signs of impaired renal function until the late stage of the disease, about 75% of the patients had renal failure and an irreversible shrinking of at least one kidney when diagnosis was made²⁷.

The treatment goals are to relieve ureteral obstruction, to stop the fibroinflammatory reaction and to prevent the recurrence of the disease.

Nowadays, surgical treatment alone (ureterolysis with intraperitonealization and omental wrapping of the ureters) is not considered the first - line approach because of the high recurrence rate of the ureteral obstruction in up to 50% of patients^{28, 29, 30}. Also, surgical treatment has no effect on the systemic manifestation of the disease. As such, conservative procedures – DJS or PCN placement followed by medical therapy is usually recommended, with surgery reserved for refractory cases^{10, 31}.

Considering the hypothesis that IRF represents a systemic autoimmune disease, various immunosuppressive (IS) agents have been successfully used in medical treatment of IRF. Some case studies and small series reported treatment with corticosteroids alone, or in a combination with cyclosporine, cyclophosphamide, methotrexate, azathioprine, mycophenolate mofetil and antiestrogen drug tamoxifen^{1, 9-13, 29, 32-36}.

Corticosteroids are the most used IS drugs with the rapid improvement of the symptoms and obstruction relieve²⁸. However, corticosteroids alone must be given in a high dose to control the inflammation, with the risk of known side effects. Additionally, there has been no agreement in the literature about the dose and duration of the steroid therapy. Numerous duration of 6 weeks, 6 months and up to 2 years have been proposed, but a significant number of patients have relapses after discontinuation of therapy and require additional treatment^{10, 27, 29, 30, 37, 38}. To avoid relapses, as well as to reduce the risk of side effects associated with long-term intake of high doses, steroids were combined with other IS agents. The use of mycophenolate mofetil was based on its known immunosuppressive and anti-fibrotic action^{39, 40}. Combination of mycophenolate mofetil (MMF) and steroids have been described in several case reports⁴¹⁻⁴³, small series¹⁰ and a few larger series of 16⁴⁰, and 31 patients¹¹. In the study of prednisone and MMF 89% of the patients have a 25% or greater reduction in periaortic fibrotic mass with the average percent reduction of 52.42%. Ureteral stents were successfully removed in 93% of

obstructed ureters; only three patients (9.6%) had a recurrence of the disease. The duration of prednisone therapy in this study was 6 months, and MMF was given on average 23 months (range 6 to 63 months) ¹¹.

In our study the duration of steroid treatment was longer than in some published series ^{10, 27, 29, 37}. Our decision to use this approach was based on the observation that some patients needed a longer time (6 to 20 months) to achieve reduction of the size of the retroperitoneal mass ²⁹, as well as on reported high recurrence rate after discontinuation of steroids. The relapsing rate was observed in up to 72% of the patients ³⁷, with the usual time of recurrence within 5 years after the diagnosis, although rare case of recurrence has been reported even after 9 and 10 years of follow-up ^{30, 45}. The recurrence of the disease appeared after a shorter time of steroid treatment (3 - 6 months) ^{10, 36} as well as after giving steroids for a year or longer ^{27, 29, 37}. Use of MMF, on the other hand, was limited by the fact that this drug is not registered for the treatment of IRF. Considering the significant number of relapsing patients, the usual time of the recurrence within 3-5 years, the serious complication of impaired renal function in this disease, and limitation in MMF use, we tried with steroid therapy for total of 48 months, with faster initial tapering, in combination with MMF for 18 months.

The initial management of our patients depends on the level of renal impairment. In cases of severe renal failure, with oligoanuria and elevated serum creatinine, DJS or PNS are usually placed to achieve immediate upper urinary tract decompression. Although no guidelines exist, in mild ureteral obstruction without severe kidney function impairment, it seems advisable to start medical therapy without urinary drainage ^{27, 38, 46}. We treated five patients with mild acute renal failure and preserved diuresis with i.v. corticosteroid pulses in 3 consecutive days with rapid relief of the obstruction. This allowed avoidance of the complication DJS or PNS placement, especially urinary tract infections which can be persistent and recurrent. In 8 of our patient with urinary drainage 75% had urinary tract infection.

In all our patients, the combination of corticosteroids and MMF was successful in achieving the relief of the symptoms and correcting the laboratory abnormalities (ESR, CRP and haemoglobin level).

Whether ESR and CRP levels are reliable parameters for monitoring the disease activity is still unclear. Warnatz et al. could not find a good correlation of disease activity with CRP

levels but with contrast enhancing lesions on CT ⁹, as well as Adler concerning that some patients had normal CRP values despite radiologically detectable inflammation and a good response to IS therapy ¹⁰. Pelkmans et al found that long-term decrease in ESR and CRP correlate with CT – documented mass regression ⁴⁷. Like Scheel et al ¹⁴, we observed a positive correlation of ESR as well as CRP with disease activity.

All patients had reduction of the fibrotic tissue on MSCT/MR imaging, with the average 76.9% of reduction. Six patients didn't achieve 100% of the mass reduction. The complete regression of the fibrotic tissue after therapy is very infrequent and a thin layer persist even in the patients who maintain complete remission. This residual mass was in most cases probably represents metabolically inactive tissue ⁴⁸.

Additionally, the kidney function improved and remained normal in 6 treated patients. In 4 patients remained mild chronic renal failure due to a function of one kidney. Three patients with prior chronic renal failure did not worsened renal function. All were previously treated for IRF with different strategies: in one, treated only with ureterolysis, disease was reoccurred after 4 months, in second-treated with ureterolysis and IS agents (azathioprine and tamoxifen) the relapse occurred 33 months after cessation of IS therapy, and the third one was treated with ureteral stenting for 12 months. None of the patients died during the follow-up.

The recurrence rate in our study was 23% (3 patients). Two didn't finish the protocol and stopped the therapy after 6 months and 31 months, respectively. Third patient has completed the protocol and the recurrence occurred at the end of 48th month. This could indicate a need for longer duration of the treatment.

We did not observe serious side effects of the treatment. 3 patients with prior diagnose of diabetes mellitus did not worsen the glycaemia, and MMF was well tolerated without gastrointestinal, hematologic or other abnormalities.

In this study, we used a radiographic classification system based on anatomic location of the disease proposed by Scheel and Feely ¹⁴ which we find useful in making a correct diagnose and standardizing the extent of disease. Also, different classes could have different clinical outcomes or complications. By definition all patients should have class I disease. In our series, the majority of patients, 7 of them, had class I + II + III, 4 patients had class I + III, and 2 patients had I + III + IV class. Class IV usually has the lowest

frequency, but these patients should be carefully monitor for the renal artery stenosis and placing the endovascular stent, like it was required in one of our patients.

Limitation study

As our study, like many others, is limited by small number of patients; the optimal management of IRF needs to be determined by prospective clinical trials in large patient cohorts.

Conclusion

Combined corticosteroid and MMF therapy appears to be effective in restoring the renal function and reducing the fibrotic tissue in this small number of patients with IRF. It could prevent the need for ureteral stenting and surgery. Longer treatment may reduce the possibility of recurrence. The long-term follow up is strongly recommended to estimate this regimen of treatment.

REFERENCES

1. *Vaglio A, Salvarani C, Buzio C.* Retroperitoneal fibrosis. *Lancet* 2006; 367(9506): 241-51.
2. *van Bommel EF, Jansen I, Hendriksz TR, Aarnoudse AL.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis: prospective evaluation of incidence and clinikoradiologic presentation. *Medicine (Baltimore)* 2009; 88(4): 193-201.
3. *Miller OF, Smith LJ, Ferrara EX, McAleer IM, Kaplan GW.* Presentation of idiopathic retroperitoneal fibrosis in the pediatric population. *J Pediatr Surg* 2003; 38(11): 1685-8.
4. *Parum DV, Brown DL, Mitchinson MJ.* Serum antibodies to oxidized low-density lipoprotein and ceroid in the chronic periaortitis. *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114(4): 383-7.

5. *Vaglio A, Corradi D, Manenti L, Ferretti S, Garini G, Buzio C.* Evidence of autoimmunity in chronic periaortitis: a prospective study. *Am J Med* 2003; 114(6): 454-62.
6. *Fujimori N, Ito T, Igarashi H, Oono T, Nakamura T, Niina Y, et al.* Retroperitoneal fibrosis associated with immunoglobulin G4-related disease. *World J Gastroenterol* 2013; 19(1): 35-41.
7. *Rossi GM, Rocco R, Accorsi Buttini E, Marvisi C, Vaglio A.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis and its overlap with IgG4-related disease. *Intern Emerg Med* 2017; 12(3):287-299.
8. *Jogai S, Al-Jassar A, Temmin L.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis--a potential pitfall for fine needle aspiration cytology. *Cytopathology* 2005 Feb;16(1):49-50.
9. *Warnatz K, Keskin AG, Uhl M, Scholz C, Katzenwadel A, Vaith P, et al.* Immunosuppressive treatment of chronic periaortitis: a retrospective study of 20 patients with chronic periaortitis and a review of the literature. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(6): 828-33.
10. *Adler S, Lodermeier S, Gaa J, Heemann U.* Successful mycophenolate mofetil therapy in nine patients with idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Rheumatology* 2008; 47(10): 1535-8.
11. *Scheel PJ Jr, Sozio SM, Feeley N.* Medical management of retroperitoneal fibrosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2012; 123: 283-90.
12. *Binder M, Uhl M, Wiech T, Kollert F, Thiel J, Sass JO, et al.* Cyclophosphamide is a highly effective and safe induction therapy in chronic periaortitis: a long-term follow-up of 35 patients with chronic periaortitis. *Ann Rheum Dis* 2012; 71(2): 311-2.
13. *Zhou HJ, Yan Y, Zhou B, Lan TF, Wang XY, Li CS.* Retroperitoneal fibrosis: a retrospective clinical data analysis of 30 patients in a 10-year period. *Chin Med J (Engl)* 2015; 128(6): 804-10.
14. *Scheel PJ Jr, Feeley N.* Retroperitoneal fibrosis: the clinical, laboratory and radiographic presentation. *Medicine* 2009; 88(4): 202-7.
15. *Kermani TA, Crowson CS, Achenbach SJ, Luthra HS.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis: a retrospective review of clinical presentation, treatment, and outcomes. *Mayo Clin Proc* 2011; 86(4): 297-303.

16. *Bullimore DW*. Retroperitoneal fibrosis associated with atenolol. *Br Med J* 1980; 281(6232): 59-60.
17. *Thompson J, Julian D*. Retroperitoneal fibrosis associated with metoprolol. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982; 284(6309): 83-4.
18. *Pryor JP, Castle WM, Dukes DC, Smith JC, Watson ME, Williams JL*. Do beta-adrenoceptor blocking drugs cause retroperitoneal fibrosis? *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 287(6393): 639-41.
19. *van Bommel EF*. Retroperitoneal fibrosis. *Neth J Med* 2002; 60(6): 231-42.
20. *Urban ML, Palmisano A, Nicastro M, Corradi D, Buzio C, Vaglio A*. Idiopathic and secondary forms of retroperitoneal fibrosis: A diagnostic approach. *Rev Med Interne* 2015; 36(1): 15-21.
21. *Ceresini G, Urban ML, Corradi D, Lauretani F, Marina M, Usberti E, et al*. Association between idiopathic retroperitoneal fibrosis and autoimmune thyroiditis: a case-control study. *Autoimmun Rev* 2015; 14(1): 16-22
22. *Vaglio A, Manenti L, Allegri L, Ferrozzi F, Corradi D, Buzio C*. ANCA-positive periaortic vasculitis: does it fall within the spectrum of vasculitis? *J Intern Med* 2002; 251(3): 268-71.
23. *Moroni G, Faricciotti A, Cappelletti M, Ponticelli C*. Retroperitoneal fibrosis and membranous nephropathy. Improvement of both diseases after treatment with steroids and immunosuppressive agents. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14(5): 1303-5.
24. *Vaglio A, Palmisano A, Ferretti S, Alberici F, Casazza I, Salvarani C, et al*. Peripheral inflammatory arthritis in patients with chronic periaortitis: report of five cases and review of the literature. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47(3): 315-8.
25. *Demko TM, Diamond JR, Groff J*. Obstructive nephropathy as a result of retroperitoneal fibrosis: a review of its pathogenesis and associations. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8(4): 684-8.
26. *Famularo G, Palmisano A, Afeltra A, Buzzulini F, Versari A, Minisola G, et al*. Retroperitoneal fibrosis associated with psoriasis: a case series. *Scand J Rheumatol* 2009; 38(1): 68-9.

27. *Moroni G, Gallelli B, Banfi G, Sandri S, Messa P, Ponticelli C.* Long-term outcome of idiopathic retroperitoneal fibrosis treated with surgical and/or medical approaches. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(9): 2485-90.
28. *Vaglio A, Maritati F.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27(7): 1880-9.
29. *Kardar AH, Kattan S, Lindstedt E, Hanash K.* Steroid therapy for idiopathic retroperitoneal fibrosis: dose and duration. *J Urol* 2002; 168(2): 550-5.
30. *Baker LR, Mallinson WJ, Gregory MC, Menzies EA, Cattell WR, Whitfield HN, et al.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis. A retrospective analysis of 60 cases. *Br J Urol* 1987; 60(6): 497-503.
31. *Scheel PJ Jr, Feeley N.* Retroperitoneal fibrosis. *Rheum Dis Clin North Am* 2013; 39: 365–81.
32. *Vaglio A, Palmisano A, Alberici F, Maggiore U, Ferretti S, Cobelli R, et al.* Prednisone versus tamoxifen in patients with idiopathic retroperitoneal fibrosis: an open-label randomised controlled trial. *Lancet* 2011; 378(9788): 338-46.
33. *Scheel PJ Jr, Feeley N, Sozio SM.* Combined prednisone and mycophenolate mofetil treatment for retroperitoneal fibrosis: a case series. *Ann Intern Med* 2011; 154(1): 31-6.
34. *Labidi J, Ben Ariba Y, Chargui S, Bousetta N, Louzir B, Othmani S.* Retroperitoneal fibrosis: a retrospective review of clinical presentation, treatment and outcomes. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2015; 26(4): 816-22.
35. *van Bommel EF, Pelkmans LG, van Damme H, Hendriksz TR.* Long-term safety and efficacy of a tamoxifen-based treatment strategy for idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Eur J Intern Med* 2013; 24(5): 444-50.
36. *Marcolongo R, Tavolini IM, Laveder F, Busa M, Noventa F, Bassi P, et al.* Immunosuppressive therapy for idiopathic retroperitoneal fibrosis: a retrospective analysis of 26 cases. *Am J Med* 2004; 116(3): 194–7.
37. *van Bommel EF, Siemes C, Hak LE, van der Veer SJ, Hendriksz TR.* Long-term renal and patient outcome in idiopathic retroperitoneal fibrosis treated with prednisone. *Am J Kidney Dis* 2007; 49(5): 615-25.

38. *Harreby M, Bilde T, Helin P, Meyhoff HH, Vinterberg H, Nielsen VA.* Retroperitoneal fibrosis treated with methylprednisolon pulse and disease-modifying antirheumatic drugs. *Scand J Urol Nephrol* 1994; 28(3): 237-42.
39. *Gonçalves RG, Biato MA, Colosimo RD, Martinusso CA, Peçly ID, Farias EK, et al.* Effects of mycophenolate mofetil and lisinopril on collagen deposition in unilateral ureteral obstruction in rats. *Am J Nephrol* 2004; 24(5): 527-36.
40. *Morath C, Schwenger V, Beimler J, Mehrabi A, Schmidt J, Zeier M, et al.* Antifibrotic actions of mycophenolic acid. *Clin Transplant* 2006; 20 Suppl 17: 25-9.
41. *Grotz W, Von Zedtwitz I, Andre M, Schollmeyer P.* Treatment of retroperitoneal fibrosis by mycophenolate mofetil and corticosteroids. *Lancet* 1998; 352(9135): 1195.
42. *Jois RN, Kerrigan D, Scott I.* Mycophenolate mofetil for maintenance of remission in idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Rheumatology* 2007; 46(4): 717-8.
43. *Khalil F, Mir MA, Venuto RC.* Mycophenolate mofetil in the treatment of retroperitoneal fibrosis. *Clin Rheumatol* 2008; 27(5): 679-81.
44. *Swartz RD, Lake AM, Roberts WW, Faerber GJ, Wolf JS Jr.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis: a role for mycophenolate mofetil. *Clin Nephrol* 2008; 69(4): 260-8.
45. *Moudy TE, Vaughan ED Jr.* Steroids in the treatment of retroperitoneal fibrosis. *J Urol* 1979; 121(1): 109-11.
46. *Moroni G, Dore R, Colini P.* Idiopathic retroperitoneal fibrosis. *J Nephrol* 2005; 18(6): 794-808.
47. *Pelkmans LG, Aarnoudse AJ, Hendriksz TR, van Bommel EF.* Value of acute-phase reactants in monitoring disease activity and treatment response in idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(7): 2819-25.
48. *Vaglio A, Greco P, Versari A, Filice A, Cobelli R, Manenti L, et al.* Post-treatment residual tissue in idiopathic retroperitoneal fibrosis: active residual disease or silent "scar"? A study using 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23(2): 231-4.

Table 1

Demographic and clinical characteristics in the patients with retroperitoneal fibrosis

<i>Patient characteristics</i>	
Age, mean \pm SD (range)	54 \pm 6.9 (36-60)
Male, number (%)	8 (61.5)
Female, number (%)	5 (38.5)
<i>First presentation/recurrence; number</i>	11/2
<i>Symptoms on presentation; cumulative number (%)</i>	
Weight loss	11 (84.6)
Back pain	8 (61.5)
Fatigue	7 (53.8)
Nausea	4 (30.8)
Leg edema	4 (30.8)
Abdominal pain	3 (23.1)
New onset of hypertension	2 (15.4)
Both (abdominal, back) pain	1 (7.7)
Hydrocele	1 (7.7)

SD- standard deviation

Table 2

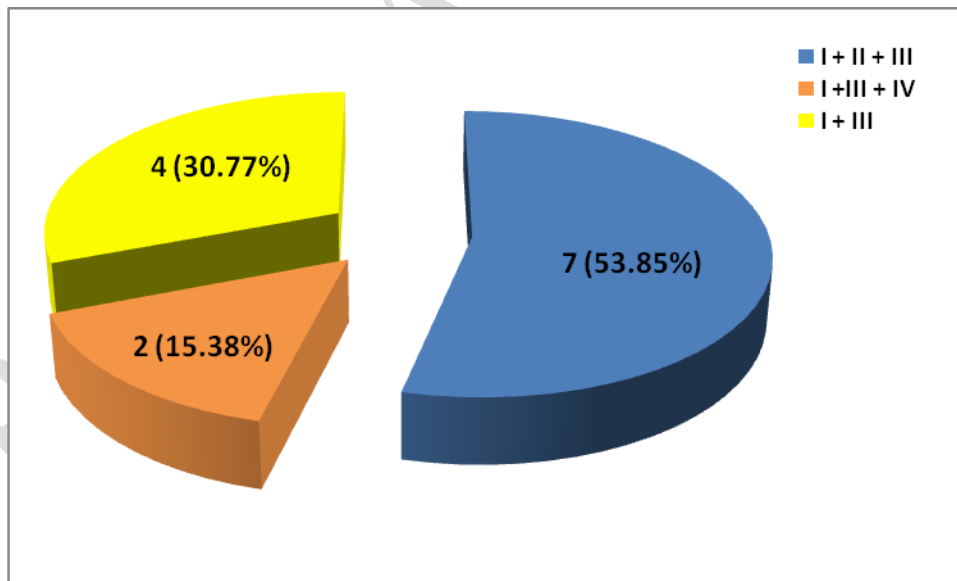
Baseline and follow-up laboratory parameters

<i>Variables</i>	<i>Baseline Mean ± SD</i>	<i>Follow-up Mean ± SD</i>	<i>p value*</i>
ESR (mm/hr)	67.6 ± 33.8	26.3 ± 30.2	p<0.001
CRP (mg/L)	18.5 ± 10.4	6.3 ± 5.2	p<0.001
WBC (x10 ⁹ /L)	8.3 ± 1.7	8.6 ± 1.6	p=0.001
Hgb (g/L)	113.7 ± 18.1	141.1 ± 17.2	p<0.001
Serum creatinine (μmol/L)	334.5 ± 326.3	124.5 ± 69	p=0.010
GFR (ml/min)	33.3 ± 21.6	59.2 ± 20.8	p=0.014

ESR- Erythrocyte sedimentation rate; CRP- C-reactive protein; WBC- White blood cells; Hgb- Hemoglobin; GFR- Glomerular filtration rate; SD- standard deviation; *- Kruskal Wallis test

Figure 1

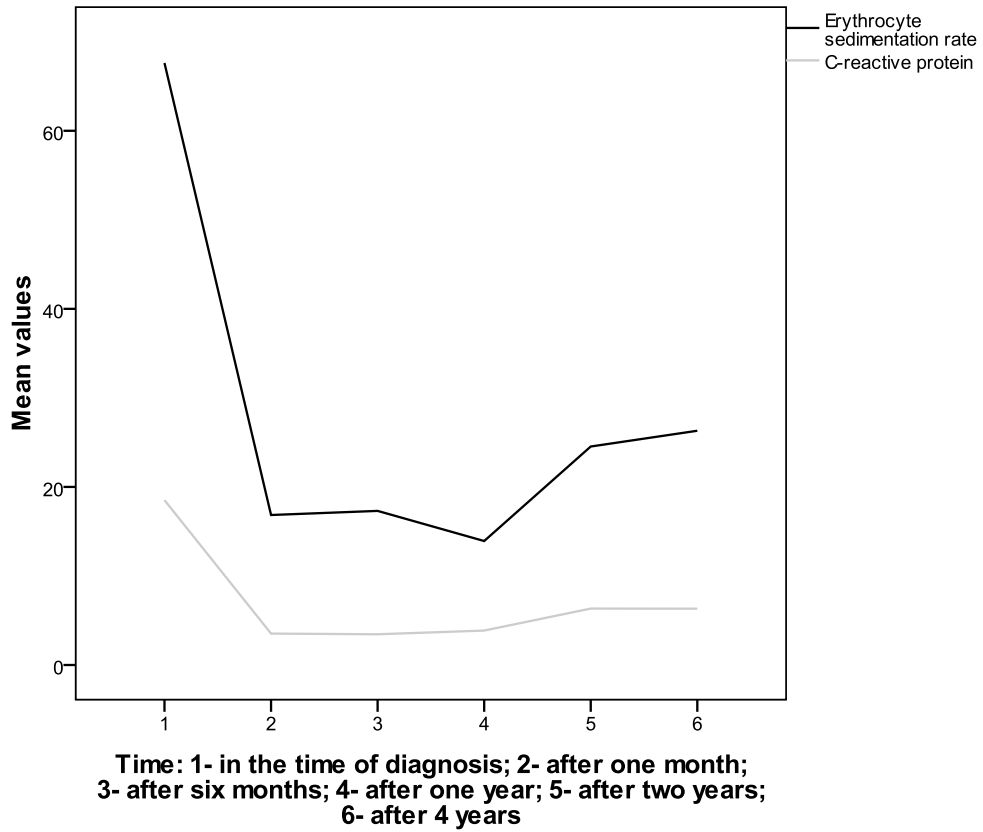
Radiographic classification at initial visit



Class I: soft-tissue density surrounding the infrarenal aorta and/or iliac vessels; Class II: soft-tissue density surrounding the infrarenal vena cava; Class III: lateral extension of the inflammation/fibrosis with compression of 1 or both ureters; Class IV: extension of fibrosis to include the renal hilum with compression of the renal artery and/or renal vein.

Figure 2

Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein values during the 4-year follow-up



PA

Figure 3

Serum creatinine, glomerular filtration rate and hemoglobin values during the 4-year follow-up

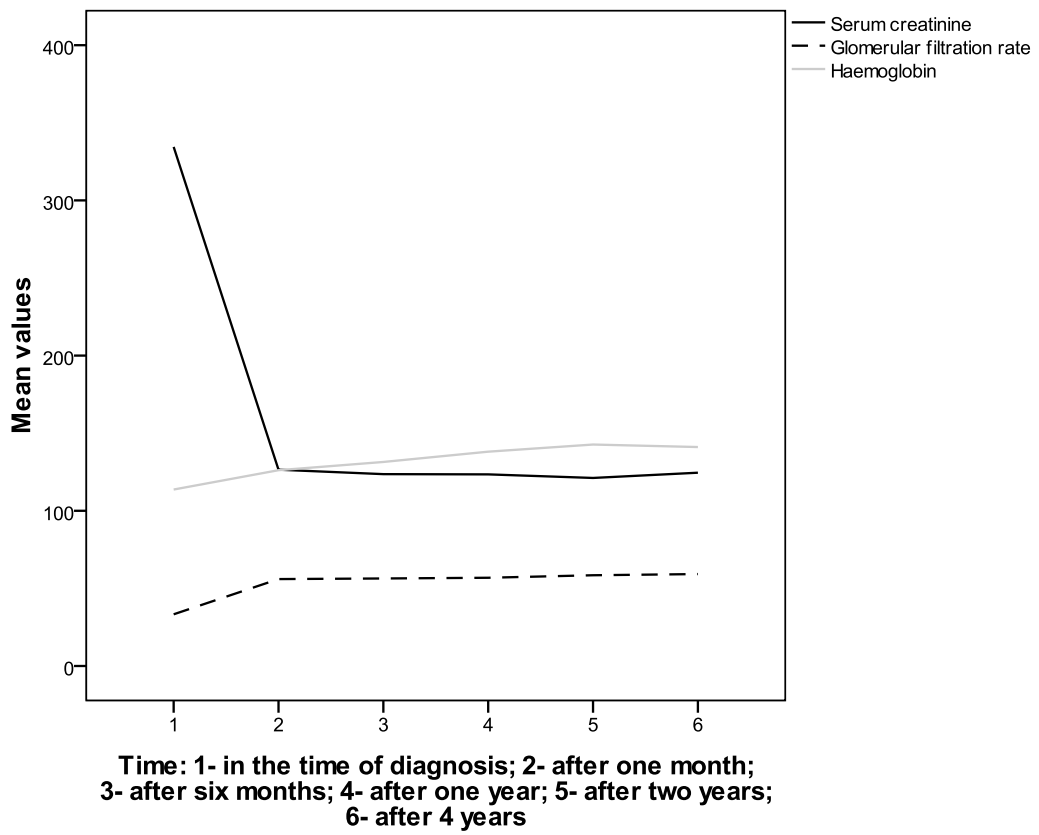
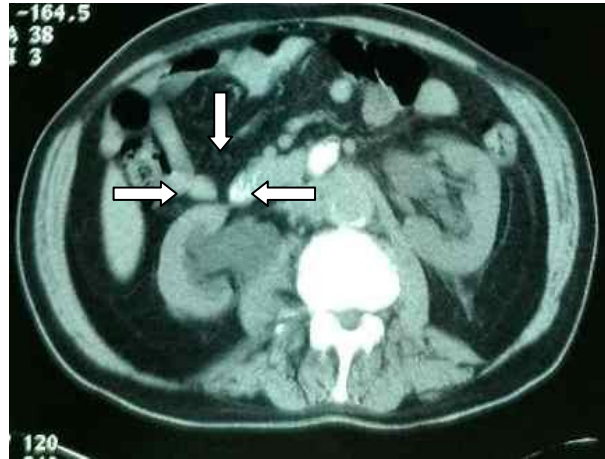


Figure 4

The reduction of the fibrotic tissue: Class I, II and III retroperitoneal fibrosis: A) before treatment, B) after 6 months and C) after 48 months of treatment

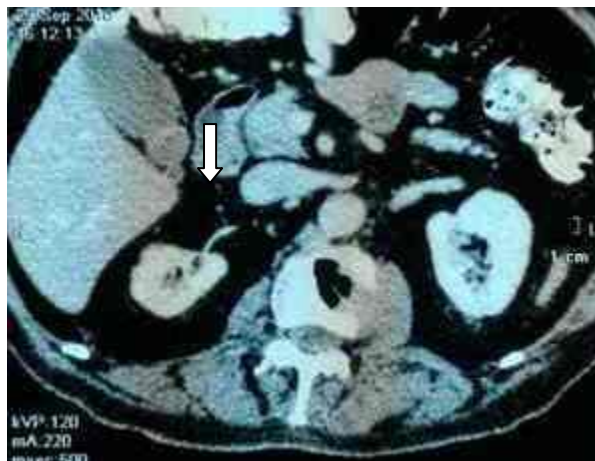
A)



B)



C)



Received on July 14, 2017.
Revised on November 17, 2017.
Accepted on January 09, 2018.
Online First January, 2018.

PAPER ACCEPTED



The distribution of genetic polymorphism of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 in patients subjected to renal transplantation

Distribucija polimorfizma gena koji kodiraju CYP3A5, CYP3A4 i P-glikoprotein kod bolesnika podvrgnutih transplantaciji bubrega

Neven Vavić*, Nemanja Rančić†‡, Bojana Cikota-Aleksić§†, Zvonko Magić§§, Jelena Cimeša‡, Katarina Obrenčević*, Milorad Radojević*, Momir Mikov||, Viktorija Dragojević-Simić†‡

*Center for Transplantation of Solid Organs, †Center for Clinical Pharmacology, §Institute for Medical Research, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia; ‡Faculty of Medicine of the Military Medical Academy, University of Defence, Belgrade, Serbia; ||Institute for Pharmacology, Clinical Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Serbia

Abstract

Background/Aim. Polymorphisms of genes which encode transporter P-glycoprotein and most important enzymes for tacrolimus pharmacokinetics can have significant influence reflecting on blood concentrations of this drug. The aim of this study was to examine the distribution of polymorphisms of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 genes in patients subjected to renal transplantation, for the first time in our transplantation center. **Methods.** The research was designed as a prospective cross-sectional study which included 211 patients subjected to renal transplantation in the Centre for Solid Organ Transplantation of the university tertiary health care hospital, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia. Patients of both genders, 22–69-year-old, Caucasians, subjected to immunosuppressive regimen, including tacrolimus, were recruited for the study. CYP3A5 6986A>G (the *3 or *1, rs776746), CYP3A4 -392A>G (the *1 or *1B, rs2740574) and ABCB1 3435C>T (rs1045642) genotypes were determined by TaqMan® SNP

genotyping assays. **Results.** Most of our patients (94.8%) had functional CYP3A4 enzyme, while 87.7% of all the patients had diminished CYP3A5 enzymatic activity. On the other hand, about one third of them, 31.3%, had functional ABCB1 transporter. **Conclusion.** A total of 84.8% of our patients were found to express both the CYP3A5*3*3 genotype (associated with diminished CYP3A5 enzymatic activity) and CYP3A4*1*1/*1*1B (associated with functional CYP3A4 enzymatic activity), while out of all the patients with diminished CYP3A5 enzymatic activity, 68.7% had diminished activity of ABCB1 transporter. However, further studies are necessary in order to show the influence of these genetic polymorphisms on tacrolimus blood concentrations in patients after renal transplantation.

Key words: tacrolimus; kidney transplantation; polymorphism, genetic; cyp3a4 protein, human; cyp3a5 protein, human; abcb1 protein, human.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Polimorfizmi gena koji kodiraju transporter P-glikoprotein i najvažnije enzime za farmakokinetiku takrolimusa mogu imati značajan uticaj koji se odražava na koncentracije ovog leka u krvi. Cilj ovog ispitivanja bio je da se ispita učestalost polimorfizma gena CYP3A5, CYP3A4 i ABCB1 kod bolesnika sa transplantiranim bubregom, po prvi put u našem centru za transplantaciju. **Metode.** Urađena je prospektivna studija preseka koja je obuhvatila 211 bolesnika sa urađenom transplantacijom bubrega u Centru za transplantaciju solidnih organa Vojnomedicinske

akademije u Beogradu. U studiju su bili uključeni bolesnici oba pola, starosti od 22 do 69 godina, bele rase i na imunosupresivnom režimu koji uključuje takrolimus. Urađena je genotipizacija CYP3A5 6986A>G (*3 ili *1, rs776746), CYP3A4 -392A>G (*1 ili *1B, rs2740574) i ABCB1 3435C>T (rs1045642) korišćenjem TaqMan® eseja za određivanje pojedinačnih nukleotidnih polimorfizama. **Rezultati.** Većina naših bolesnika (94,8%) imala je funkcionalan CYP3A4 enzim, dok je kod 87,7% od svih naših bolesnika CYP3A5 bio sa oštećenom aktivnošću. S druge strane, kod oko trećine (31,3%) bolesnika ABCB1 transporter bio je funkcionalan. **Zaključak.** Ukupno 84,8%

naših bolesnika imalo je istovremeno CYP3A5*3*3 genotip, povezan sa smanjenom CYP3A5 aktivnošću, i CYP3A4*1*1/*1*1B genotip, povezan sa funkcionalnom formom CYP3A4 enzima, dok je od svih bolesnika sa smanjenom CYP3A5 enzimskom aktivnošću 68,7% imalo smanjenu aktivnost ABCB1 transportera. Međutim, buduće studije su neophodne kako bi se pokazao uticaj ovih genskih

polimorfizama na koncentraciju takrolimusa u krvi bolesnika nakon transplantacije bubrega.

Ključne reči:

takrolimus; transplantacija bubrega; polimorfizam, genetički; cyp3a4 protein, humani; cyp3a5 protein, humani; abcb1 protein, humani.

Introduction

Kidney transplantation presents the best way of treating patients with end-stage renal disease. The success of kidney transplantation depends on a delicate balance between the level of immunosuppression, graft rejection and occurrence of adverse effects of immunosuppressive drugs^{1,2}.

Tacrolimus (Tac) is one of the most important immunosuppressive drugs which significantly improve the results of kidney transplantation³. However, despite its long-standing and wide applications, there are still difficulties in the optimal dosing of this drug due to significant inter- and intraindividual variability of Tac⁴. Among numerous factors that have been identified as contributors to Tac variability, bioavailability of the drug is a prominent one^{5,6}. The bioavailability may largely be due to the presence of genetic polymorphisms which are responsible for synthesis of the enzymes and transporter P-glycoprotein involved in the pharmacokinetics of the drug. It is believed that in the general population genetic is responsible for 20–95% of variability of Tac bioavailability⁷. Recently, there has been a great interest in determination of genetic polymorphisms which could predict a degree of Tac bioavailability in each patient individually⁶. Identification of genetic polymorphisms of enzymes and P-glycoprotein is a rather attractive option for individualized and efficient implementation of Tac in clinical practice. This is more important if we take into account that the genotype is stable and the immutable characteristic needs to be determined only once for a particular gene^{2,7}. Currently, the prospective clinical studies need to demonstrate if determinations of genetic polymorphisms for enzymes and the transporter involved in the pharmacokinetics of Tac before transplantation may contribute to better efficiency and safety of this drug after kidney transplantation.

Since several studies have already shown that differences in the expression of certain genes that affect Tac pharmacokinetics may result in large and unexpected variations in Tac blood concentrations in patients after the equal dose of this drug, the aim of this study was to examine the distribution of polymorphisms of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 genes in patients subjected to renal transplantation, for the first time in our transplantation center.

Methods

This prospective cross-sectional study included 211 patients, 136 (64.45%) men, and 75 (35.55%) women, subjected to kidney transplantation and follow-up procedures in the Center for Transplantation of Solid Organs in the Military Medical Academy (MMA), Belgrade, Serbia. All the pa-

tients were Caucasians, aged from 22 to 69 (median 45). The patients received triple immunosuppression regimen including Tac, mycophenolate mofetil and prednisone, in usual doses^{8,9}.

Informed consent was obtained from all the patients. The study was approved by the Ethics Committee of MMA (Ethical approval N° 01/31-01-13, the study protocol N° 910-1).

Peripheral blood was collected in EDTA tubes and stored at -40°C. DNA was extracted from blood by a Pure Link™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, USA) according to manufacturer's instructions.

The 211 adult patients were genotyped for single nucleotide polymorphism (SNP) of CYP3A5 at position 6986A>G (the *3 or *1, rs776746), CYP3A4 at position -392A>G (the *1 or *1B, rs2740574) and ABCB1 at exon 26 (3435C>T, rs1045642). The genotyping was detected by TaqMan® SNP genotyping assays (Life Technologies, USA) on a 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA).

For CYP3A4, ABCB1 and CYP3A5, the observed genotype (allele) frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$).

Data statistical analysis was done using the statistical software package, IBM SPSS Statistics version 19. All variables were presented as a frequency of certain categories.

Results

In the present study, 187/211 (87.7%) patients with kidney allograft were homozygous carriers of the variant CYP3A5*3 allele. Wild type CYP3A5*1 (homozygous or heterozygous carriers) allele was found in 26/211 (12.3%) patients. The CYP3A4 genotyping showed that the majority of patients (210/211; 95.5%) had the wild type *1 allele as homozygous or heterozygous carriers of this variant. Analysis of ABCB1 showed that 66/211 (31.3%) patients were CC homozygote, 92/211 (43.6%) were CT heterozygote and 53 (25.1%) were homozygous carriers of the variant T allele. The frequencies of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 genotypes are summarized in Table 1.

The results of the present study revealed that the majority of patients were found to express both CYP3A4*1*1/*1*1B genotype, associated with functional CYP3A4 enzymatic activity, and the CYP3A5*3*3 genotype, associated with diminished CYP3A5 enzymatic activity. However, six patients had both CYP3A4*1B and CYP3A5*3 genotype, associated with diminished CYP3A5 and CYP3A4 enzymatic activity (Table 2). Considering CYP3A5 and ABCB1, the majority of patients (68.7%) had diminished both CYP3A5 enzymatic activity and ABCB1 transporter activity (homozygous and heterozygous carriers of the variant T allele) (Table 3).

Table 1
Distribution of genetic polymorphisms significant for tacrolimus pharmacokinetics in the patients subjected to renal transplantation

Gene	Genotype	n (%)
CYP3A5 6986	AA (*1*1)	1 (0.5)
	AG (*1*3)	25 (11.8)
	GG (*3*3)	185 (87.7)
CYP3A4 -392	AA (*1*1)	200 (94.8)
	AG (*1*1B)	10 (4.7)
	GG (*1B*1B)	1 (0.5)
ABCB1 3435	CC	66 (31.3)
	CT	92 (43.6)
	TT	53 (25.1)

Table 2
Distribution of genetic polymorphisms encoding CYP3A4 and CYP3A5 enzymes in renal transplant recipients

Gene	Genotype	4 -392A>G, n (%)		
		C'	AG (*1B)	GG (*1B)
CYP3A5 6986A>G	AA (*1*1)	1 (0.5)	-	-
	AG (*1*3)	20 (9.5)	4 (1.9)	1 (0.5)
	GG (*3*3)	179 (84.8)	6 (2.8)	-

Table 3
The distribution of genetic polymorphisms encoding enzyme CYP3A5 and transporter P-glycoprotein in the patients subjected to renal transplantation

Gene	Genotype	CBI 3435C>T, n (%)		
		A	CT	TT
CYP3A5 6986A>G	AA (*1*1)	-	-	1 (0.5)
	AG (*1*3)	5 (2.4)	14 (6.6)	6 (2.8)
	GG (*3*3)	61 (31.3)	78 (43.6)	46 (25.1)

Discussion

The genes that are primarily involved in the pharmacokinetics of Tac are those encoding CYP3A family of enzymes and P-glycoprotein. Tacrolimus undergo substantial intestinal and liver metabolism after absorption from the gut lumen, and it is believed that CYP3A and P-glycoprotein are largely responsible for poor oral bioavailability of this drug¹⁰. The most important enzymes for Tac metabolism which belong to CYP3A family are CYP3A5 and CYP3A4. Since polymorphic CYP enzyme family is the most important system involved in Tac biotransformation, genotyping of these CYP polymorphisms provides important information that can predict its bioavailability.

While functional CYP3A4 is located in the liver and small intestine of each individual, functionally active CYP3A5 only exists in some individuals ("CYP3A5 expressers"). In our study 12.3% of patients were CYP3A5 expressers. Expressers have at least one wild-type allele (CYP3A5*1), and carry CYP3A5*1*1 or CYP3A5*1*3 genotype. On the other hand, 87.7% of our patients had CYP3A5*3*3 genotype. According to Provenzani et al.², it means that they are "CYP3A5 non-expressers" since they are homozygote for mutant allele CYP3A5*3. Homozygous carriers of CYP3A5*3 do not express the enzyme due to creation of a cryptic splice site¹¹. Almost all studies have confirmed that carriers of CYP3A5*3*3 genotype require lower doses of

Tac than carriers of CYP3A5*1*1 and CYP3A5*1*3 genotype in order to maintain drug level in optimal range¹². On the other hand, CYP3A5*1 carriers, from all ethnic groups, had around 1.5–2 fold lower blood concentrations for a given dose of Tac than CYP3A5*3 homozygote, what could result in serious therapeutic failure and early acute rejection episodes¹³. We consider that it can be said that CYP3A5 expressers need higher Tac doses, rather that CYP3A5 non-expressers need lower doses of this drug.

Our results are also in accordance with the ones reported by other authors who have examined the frequency of this polymorphism in different ethnic groups¹⁴. The frequency of CYP3A5 variant alleles shows significant interethnic differences, with the wild-type CYP3A5*1 allele more common in Africans than in Caucasians and Asians¹⁵. Namely, percentage of non-expresser state occurs in 85% to 95% Caucasians, while in African-Americans this ratio is reversed¹⁴. Thus, the empirical observation that patients of African-American race required higher Tac doses in order to achieve the same blood concentration in comparison to Caucasians received its theoretical explanation¹⁶.

CYP3A4 is the major cytochrome P450 isoform present in adult liver. There is a large inter-individual variability in hepatic CYP3A4 expression¹⁷, since more than 20 mutations in the CYP3A4 gene have been identified, most of them with unclear clinical importance so far. Some recent studies have demonstrated that primary CYP3A4 polymorphism impli-

cated in Tac metabolism was A > G substitution at position -392 that produced variant allele referred as CYP3A4*1B with diminished enzymatic activity and reduced Tac clearance¹⁴. Therefore, pre-transplantation genotyping of the CYP3A4*1B, along with CYP3A5*3, could potentially bring benefit to the patients by reducing initial Tac doses among CYP3A poor metabolizers and thereby reduce the risk of reaching over therapeutic Tac concentrations¹⁸.

Most of our patients (95.5%) were homozygous or heterozygous carriers of the variant CYP3A4*1, which were associated with the functional state of the enzyme CYP3A4. The other authors also have pointed out that enzyme CYP3A4 is predominantly active in Caucasians, in whom the presence of this polymorphism ranges from 90–98%^{14,19}.

If we consider CYP3A5*3 and CYP3A4*1B polymorphism together, most of our patients (84.7%) were characterized by functional form of the CYP3A4 enzyme and diminished CYP3A5 enzymatic activity. However, since six patients had both diminished enzymatic activities of these enzymes, overexposure of them to Tac could have been expected, if the usual doses of drug were used.

Regarding ABCB1 3435C > T polymorphism alone, over 68% of patients in our study had variant T allele (CT or TT genotype), which was associated with diminished activity of P-glycoprotein. P-glycoprotein, which is encoded by the ABCB1 gene, is a large ATP-dependent transmembrane protein involved in the extracellular extrusion of many drugs, including Tac¹⁰. More than 700 variations in the nucleotide sequences of ABCB1 gene have been described, and some of them seem to influence the pharmacokinetics of Tac. The most extensively investigated single nucleotide polymorphisms of ABCB1 were 3435 C > T (rs1045642) in exon 26, 1236 C > T (rs128503) in exon 12, and 2677 G > T/A (rs2032582) in exon 21²⁰. It was shown that patients with wild-type genotype ABCB1 (CC) had stable Tac blood concentrations, while patients with CT or TT genotypes had up to 60% higher Tac blood levels²¹. However, many authors showed that genetic polymorphisms for P-glycoprotein *per se* had no major clinical impact on Tac metabolism, except when it existed in combination with genetic polymorphisms for CYP3A5, such as CYP3A5*3²². Therefore, the effect of ABCB1 polymorphisms should be best estimated considering its association with CYP3A5 non expressers and CYP3A5 expresser's status separately²¹.

Considering CYP3A5 and ABCB1 polymorphism together, most of our patients (68.7%) had CYP3A5*3*3 genotypes, associated with diminished CYP3A5 enzymatic activity, and diminished activity of ABCB1 transporter (CT or TT genotypes). Overexposure of these patients to Tac can also be expected.

In addition to these genetic polymorphisms, some authors have found that genetic polymorphisms of P450 oxidoreductase (POR) *28 and CYP3A4*22 may potentially influence Tac pharmacokinetics in patients subjected to renal transplantation², as well as CYP3A5 polymorphism²³.

Namely, POR is essential for the electron donation in the microsomal-CYP450-mediated mono-oxygenation, and about 40 SNPs have been identified in the POR gene². POR*28 C > T mutations can increase activity of this

enzyme and alter the baseline metabolic capacity of several CYP isoforms. The Tac bioavailability in patients who were CYP3A5 expressers, as well as carriers of the wild type CC POR genotype was higher than that observed in patients carrying POR allelic variants. No significant differences were observed between POR*28 CC homozygote and POR*28 T carriers in CYP3A5 non-expressers^{24,25}. Therefore, the POR genotype is important in influencing Tac metabolism only in CYP3A5 expressers.

On the other hand, CYP3A4*22 allele (rs35599367 C > T in intron 6) can also have significant influence on the Tac pharmacokinetics in renal transplant recipients². The patients carrying one or two T alleles required significantly lower Tac doses comparing with the patients who were homozygous for the wild-type C allele^{18,26}. This CYP3A4*22 SNP is significantly linked to reductions in CYP3A4 mRNA production and enzyme activity in human livers¹⁸.

Finally, it appears that CYP3A5 genotyping both in organ recipient and donor is very important for establishing personalized Tac dosage regimen. Namely, CYP3A5*3 polymorphism both in pediatric liver recipients and donors has influence on Tac dosing requirement²³. Therefore, it was suggested that early determination of this genotype in both recipients and donors would be very helpful for adequate immunosuppressive regimen which included Tac.

Obviously, there are real expectations that genetic testing before organ transplantation can predict individual response to certain immunosuppressive drugs. This would lead to improved treatment, as well as better graft survival after renal transplantation in future.

Conclusion

The present study is the first analysis of the distribution of gene polymorphisms encoding CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 in patients subjected to renal transplantation in our transplantation center. A total of 84.8% of our patients were found to express both the CYP3A5*3*3 genotype, associated with diminished CYP3A5 enzymatic activity, and CYP3A4*1*1/*1*1B, associated with functional CYP3A4 enzymatic activity, while out of all the patients with diminished CYP3A5 enzymatic activity, 68.7% had diminished activity of ABCB1 transporter. However, further studies are needed which would actually show the influence of these genetic polymorphisms on Tac blood concentrations in patients after renal transplantation.

Acknowledgements

The authors would like to express their gratitude to pharmaceutical company Astellas Pharma Inc. for donation of all the necessary laboratory material used to determine gene polymorphisms in patients subjected to renal transplantation.

The authors would also like to express their gratitude to the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia for Grant numbers 175014 and 175093, out of which this research project was partially financed.

R E F E R E N C E S

- Ponticelli C. Present and future of immunosuppressive therapy in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2011; 43(6): 2439–40.
- Provenzano A, Santeusano A, Mathis E, Notarbartolo M, Labozzetta M, Poma P, et al. Pharmacogenetic considerations for optimizing tacrolimus dosing in liver and kidney transplant patients. *World J Gastroenterol* 2013; 19(48): 9156–73.
- Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 1995; 29(6): 404–30.
- Undre N, Stevenson P, Schäfer A. Pharmacokinetics of tacrolimus: clinically relevant aspects. *Transplant Proc* 1999; 31(7A): 21S–4S.
- Krensky MA, Bennett MW, Vincenti F. Immunosuppressants, tolerogens and immunostimulants. In: Brunton LL, editor. Goodman & Gilman's The pharmacological Basis of Therapeutics. New York: McGraw-Hill Book Company; 2011. p. 1005–31.
- Danesi R, Mosca M, Boggi U, Mosca F, del Tacca M. Genetics of drug response to immunosuppressive treatment and prospects for personalized therapy. *Mol Med Today* 2000; 6(12): 475–82.
- Yağil Y, Yağil C. Insights into pharmacogenomics and its impact upon immunosuppressive therapy. *Transpl Immunol* 2002; 9(2–4): 203–9.
- Varić N, Rancić N, Dragojević-Simić V, Drasković-Pavlović B, Bokonić D, Ignjatović L, et al. The influence of comedication on tacrolimus blood concentration in patients subjected to kidney transplantation: a retrospective study. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2014; 39(4): 243–53.
- Rancić N, Dragojević-Simić V, Varić N, Konacenić A, Segrt Z, Drasković-Pavlović B, et al. Tacrolimus concentration/dose ratio as a therapeutic drug monitoring strategy: The influence of gender and comedication. *Vojnosanit Pregl* 2015; 72(9): 813–22.
- Hesselink DA, van Schaik RH, van der Heiden IP, van der Werf M, Gregoor PJ, Lindemans J, et al. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 74(3): 245–54.
- Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001; 27(4): 383–91.
- Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part II. *Clin Pharmacokinet* 2010; 49(4): 207–21.
- Tang H, Xie H, Yao Y, Hu Y. Lower tacrolimus daily dose requirements and acute rejection rates in the CYP3A5 non-expressers than expressers. *Pharmacogenet Genomics* 2011; 21(11): 713–20.
- Lamba JK, Lin YS, Thummel K, Daly A, Watkins PB, Strom S, et al. Common allelic variants of cytochrome P4503A4 and their prevalence in different populations. *Pharmacogenetics* 2002; 12(2): 121–32.
- Božina N, Bradamante V, Lovrić M. Genetic polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity, and cancer risk. *Arh Hig Rada Toksikol* 2009; 60(2): 217–42.
- Chakkerla HA, Chang Y, Bodner JK, Behmen S, Heilman RL, Reddy KS, et al. Genetic differences in Native Americans and tacrolimus dosing after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2013; 45(1): 137–41.
- Westlind A, Löjberg L, Tindberg N, Andersson TB, Ingelman-Sundberg M. Interindividual differences in hepatic expression of CYP3A4: relationship to genetic polymorphism in the 5'-upstream regulatory region. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 259(1): 201–5.
- Elens L, Bouamar R, Hesselink DA, Haufroid V, van der Heiden IP, van Gelder T, et al. A new functional CYP3A4 intron 6 polymorphism significantly affects tacrolimus pharmacokinetics in kidney transplant recipients. *Clin Chem* 2011; 57(11): 1574–83.
- Sinues B, Vicente J, Fanlo A, Vasquez P, Medina JC, Mayayo E, et al. CYP3A5*3 and CYP3A4*1B allele distribution and genotype combinations: differences between Spaniards and Central Americans. *Ther Drug Monit* 2007; 29(4): 412–6.
- Macphée LA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, et al. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation* 2002; 74(11): 1486–9.
- Herrero MJ, Sánchez-Plumed J, Galiana M, Bea S, Marqués MR, Aliño SF. Influence of pharmacogenetic polymorphisms in routine immunosuppression therapy after renal transplantation. *Transplant Proc* 2010; 42(8): 3134–6.
- Cheung CY. Pharmacogenetics and renal transplantation. In: Trzciński M, editor. Kidney transplantation- new perspectives. Rijeka, Croatia: InTech; 2011. p. 147–62.
- Chen Y, Han L, Xue F, Shen C, Lu J, Yang T, et al. Personalized Tacrolimus Dose Requirement by CYP3A5 but Not ABCB1 or ACE Genotyping in Both Recipient and Donor after Pediatric Liver Transplantation. *PLoS ONE* 2014; 9(10): e109464.
- Zhang J, Zhang H, Ding X, Ma S, Miao L. Effect of the P450 oxidoreductase 28 polymorphism on the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese healthy male volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 2013; 69(4): 807–12.
- de Jonge H, Metalidis C, Naesens M, Lambrechts D, Kuypers DR. The P450 oxidoreductase *28 SNP is associated with low initial tacrolimus exposure and increased dose requirements in CYP3A5-expressing renal recipients. *Pharmacogenomics* 2011; 12(9): 1281–91.
- Elens L, Capron A, van Schaik RH, De MM, De PL, Eddour DC, et al. Impact of CYP3A4*22 allele on tacrolimus pharmacokinetics in early period after renal transplantation: toward updated genotype-based dosage guidelines. *Ther Drug Monit* 2013; 35(5): 608–16.

Received on May 5, 2015.

Revised on May 6, 2015.

Accepted on May 7, 2015.

Online First February, 2016.