

Odbacivanje bubrega posredovano protutijelima u primatelja bubrega senzibiliziranih na HLA antigene

Pfeifer, Luka

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:991535>

Rights / Prava: [In copyright](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2020-12-01**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Luka Pfeifer

**Odbacivanje bubrega posredovano protutijelima
u primatelja bubrega senzibiliziranih na HLA
antigene**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Kliničkoj bolnici Merkur, u Klinici za unutarnje bolesti, Zavodu za nefrologiju pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Mladena Knoteka, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2016./2017.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Mladen Knotek, dr. med.

Popis kratica

HLA (eng. human leukocyte antigen)

humani leukocitni antigen

DSA (eng. donor-specific antibodies)

donor specifična protutijela

AMR (eng. antibody-mediated rejection)

odbacivanje posredovano protutijelima
(humoralno odbacivanje)

CDC (eng. complement dependent
cytotoxicity)

citotoksičnost posredovana komplementom

ATG (eng. anti-thymocyte globulin)

antitimocitni globulin

IVIg (eng. intravenous immunoglobulin)

intravenski imunoglobulin

Sadržaj rada

1. Sažetak	
2. Summary	
3. Uvod	1
4. Hipoteza	5
5. Ciljevi rada	5
6. Ispitanici i metode	6
6.1. <i>Ispitanici</i>	6
6.2. <i>Metode</i>	6
7. Rezultati.....	8
8. Rasprava	17
9. Zaključci	19
10. Zahvale.....	20
11. Literatura	21
12. Životopis	25

1. Sažetak

Odbacivanje bubrega posredovano protutijelima u primatelja bubrega senzibiliziranih na HLA antigene

Luka Pfeifer

Uvod: Studije su pokazale da je transplantacija bubrega u senzibiliziranih primatelja povezana s većom učestalošću odbacivanja presatka. Cilj ovog istraživanja bio je usporediti značajke odbacivanja bubrega u senzibiliziranih bolesnika u odnosu na standardne primatelje bubrega.

Ispitanici i metode: Retrospektivno je analizirano ukupno 217 bolesnika s presađenim bubregom, od kojih je 101 bio senzibiliziran na HLA antigene donora. Ispitanici su praćeni od 8. mjeseca 2007. do 4. mjeseca 2016. godine. Analizirani su broj pojedinačnih epizoda i učestalost tipova odbacivanja presatka, preživljenje presatka te primijenjeno liječenje odbacivanja.

Rezultati: Broj pojedinačnih epizoda odbacivanja u senzibiliziranih bolesnika iznosio je $0,4 \pm 1,37$, a u nesenzibiliziranih $0,41 \pm 0,93$ na 100 dana praćenja, bez statistički značajne razlike među navedenim skupinama ($p = 0,34$). U skupini senzibiliziranih bolesnika, granično odbacivanje bilo je prisutno u 58,49 %, T-stanično u 28,30 %, a odbacivanje posredovano protutijelima u 13,21 % biopsija bubrega. U nesenzibiliziranih bolesnika, granično odbacivanje bilo je prisutno u 61,65 %, T-stanično u 32,33 %, a odbacivanje posredovano protutijelima u 6,02 % biopsija bubrega ($p = 0,15$). Odbacivanje posredovano protutijelima bilo je granično učestalije u senzibiliziranih primatelja presatka ($p = 0,056$). Usporedbom ovisnosti gubitka presatka o vremenu proteklom od transplantacije nije pronađena značajna razlika ni u ranom ni u srednjem ni u kasnom posttransplantacijskom razdoblju, a analizom primijenjene terapije odbacivanja nije uočena značajna razlika u liječenju pojedinačne epizode odbacivanja među navedenim skupinama bolesnika.

Zaključak: Broj pojedinačnih epizoda odbacivanja presatka na 100 dana praćenja između skupine bolesnika senzibiliziranih na HLA antigene i nesenzibiliziranih bolesnika istovjetan je. Senzibilizirani bolesnici imaju granično veću učestalost odbacivanja posredovanog protutijelima. Ne postoji značajna razlika u preživljenju presatka ovisno o vremenu proteklom od transplantacije među navedenim skupinama. Također, nema značajne razlike u primijenjenom liječenju pojedinačne epizode odbacivanja među istraživanim skupinama.

Ključne riječi: transplantacija bubrega, odbacivanje presatka, HLA antigeni, senzibiliziranost

2. Summary

Antibody-mediated kidney transplant rejection in HLA-sensitised patients

Luka Pfeifer

Introduction: Studies have shown that kidney transplantation in HLA-sensitized patients is associated with the higher frequency of kidney rejection. The aim of this study is to compare the characteristics of kidney rejection between patients sensitised to HLA-antigens and standard kidney recipients.

Participants and methods: A retrospective study including 217 participants, 101 of which were HLA-sensitised, was conducted. The follow-up period lasted from August 2007 to April 2016. The total number of kidney rejection episodes, the frequency of different types of rejection, time-dependent graft survival, and therapy used in rejection treatment were analysed.

Results: The total number of kidney rejection episodes per 100 days of the follow-up was 0.4 ± 1.37 for the sensitised patients group and 0.41 ± 0.93 for the non-sensitised patients group, with no statistically significant difference between the two studied groups ($p = 0.34$). In the group of participants sensitised to HLA-antigens, borderline rejection occurred in 58.49%, T-cell rejection in 28.30%, and humoral rejection in 13.21% of kidney biopsies. In the group of non-sensitised patients, borderline rejection occurred in 61.65%, T-cell rejection in 32.33%, and humoral rejection in 6.02% of kidney biopsies ($p = 0.15$). Humoral rejection was marginally more frequent in patients sensitised to HLA-antigens ($p = 0.056$). There were no statistically significant differences found in time-dependent graft survival between the abovementioned groups of patients, neither in the early, nor in the intermediate or the late posttransplantation period. Between the two groups of patients which were the basis of the analysis, no significant difference was found in the medicines given to treat a single episode of kidney rejection.

Conclusion: The two analysed group of patients exhibit no statistical difference in the number of episodes of kidney rejection per 100 days of the follow-up. Patients sensitised to HLA-antigens have marginally higher proportion of humoral kidney rejection. Furthermore, there is no significant difference in the time-dependent graft survival and no significant difference in the medicines given to treat a single episode of rejection between the two abovementioned groups of patients.

Keywords: kidney transplantation, graft rejection, HLA-antigens, sensitisation

3. Uvod

Transplantacija bubrega metoda je liječenja završnog stadija bubrežne bolesti s najvećim potencijalom produljenja i unaprjeđenja kvalitete života primatelja presatka (1). Međutim, budući da je transplantacija bubrega postupak s određenim imunološkim rizikom, jedna od komplikacija transplantacije je razvoj odbacivanja bubrega. Pojednostavljeno govoreći, odbacivanje bubrega dijeli se u tri velike skupine: granično, T-stanično i odbacivanje posredovano protutijelima (2). Prema rezultatima nekih istraživanja odbacivanje presatka posredovano protutijelima (AMR) prisutno je u 0 - 8,9 % svih transplantacija bubrega (3). Međutim, iako je odbacivanje posredovano protutijelima prisutno u relativno malom broju transplantacija, ono je odgovorno i za do 30 % slučajeva gubitka presatka (4).

Odbacivanje posredovano T-stanicama i protutijelima usko je povezano sa sustavom HLA antigena čovjeka. HLA antigeni najvažniji su uzrok imunizacije primatelja bubrega na transplantirani organ. Oni su i uzrok nastanka donor specifičnih protutijela (DSA), a navedena protutijela imaju važnu ulogu u razvoju AMR-a. Poznato je da su glavna meta djelovanja DSA-a endotelne stanice u bubrežnoj cirkulaciji, a promjene u mikrovaskulaturi bubrega očituju se prvenstveno kao peritubularni kapilaritis i glomerulitis. Patofiziološki mehanizam AMR-a obuhvaća razvoj citotoksičnosti posredovane komplementom, ali i druge mehanizme, poput citotoksičnosti neovisne o razvoju komplementa te endotelne aktivacije i proliferacije (5). Prisutnost mikrovaskularne upale, podvostručenja glomerularne kapilarne membrane i zadebljanje peritubularnih kapilara, potvrđeni nalazom biopsije, dobri su prediktivni faktori za prisutnost *de novo* DSA u primatelja (6).

Govoreći o patohistologiji bubrega i definiranju AMR-a, ali i drugih oblika odbacivanja bubrega, bitno je napomenuti da se ono provodi prvenstveno na temelju patohistološke klasifikacije po Banffu. Prema Banff klasifikaciji nalaz biopsije bubrega svrstava se u 6 kategorija: 1) normalni nalaz biopsije, 2) promjene povezane s djelovanjem protutijela koje obuhvaćaju sljedeće kategorije: a) prisutnost depozita C4d komponente komplementa, ali bez jasnog dokaza postojanja aktivnog odbacivanja, b) akutno humoralno odbacivanje te c) kronično humoralno odbacivanje, 3) granično odbacivanje, tj. odbacivanje koje sadrži neke od dijagnostičkih kriterija potrebnih za postavljanje dijagnoze odbacivanja posredovanog stanicama, 4) T-stanično odbacivanje, koje se može podijeliti na a) akutno T-stanično odbacivanje te b) kronično T-

stanično odbacivanje, 5) prisutnost intersticijske fibroze i tubularne atrofije bez jasne specifične etiologije te 6) ostale promjene koje nisu povezane s odbacivanjem presatka (7). Prikaz navedenoga nalazi se u tablici 1.

Tablica 1. Klasifikacija nalaza biopsije bubrega prema Banff 2015. klasifikaciji

1. Normalni nalaz
2. Promjene povezane s djelovanjem protutijela
 - a.) Prisutnost depozita C4d komponente komplementa
 - b.) Akutno humoralno odbacivanje
 - c.) Kronično humoralno odbacivanje
3. Granično odbacivanje
4. T-stanično odbacivanje
 - a.) Akutno T-stanično odbacivanje
 - b.) Kronično T-stanično odbacivanje
5. Intersticijska fibroza i tubularna atrofija nejasne etiologije
6. Ostale promjene

Uz Banff dijagnostičke kriterije za klasifikaciju promjena povezanih s djelovanjem protutijela kriteriji potrebni za dijagnozu odbacivanja posredovanog protutijelima su i pozitivan nalaz C4d komponente komplementa i/ili nalaz imunoglobulina u peritubularnim kapilarama bubrega (2, 8). Zbog toga je preporučeno da se svaka biopsija bubrežnog presatka testira, uz ostalo, i na C4d pozitivnost (9). Međutim, ne treba zanemariti činjenicu da se C4d depoziti mogu pronaći i u 2 – 26 % patohistološki normalnih uzoraka biopsije bubrega te njihova prisutnost ne znači nužno razvoj AMR-a, a njihov dugotrajan utjecaj na preživljenje presatka ostaje nepoznat (10).

Učinak navedenih protutijela na bubrežni predstavljaju spektar patohistološki i klinički različitih stanja, od akutnog odbacivanja posredovanog protutijelima do kroničnog odbacivanja posredovanog protutijelima (11, 12). Dok neka istraživanja pokazuju da se navedena protutijela razvijaju kasno nakon transplantacije (13, 14), druga istraživanja pokazuju da se ona razvijaju i znato ranije, čak i unutar prvih 6 mjeseci nakon transplantacije (15). Međutim, čini se da je rizik od oštećenja i gubitka presatka neovisan o vremenu razvoja DSA-a (16).

Ovisno o prisutnosti donor specifičnih protutijela u trenutku transplantacije, odbacivanje bubrega posredovano protutijelima klasifikacijski može se podijeliti u dva oblika. U tipu 1 AMR-a, odbacivanje bubrega uzrokovano je prisutnošću DSA-a u trenutku transplantacije i najčešće se pojavljuje u ranom posttransplantacijskom razdoblju. S druge strane, u tipu 2 AMR-a,

odbacivanje je posljedica razvoja *de novo* DSA-a, obično više od jedne godine nakon transplantacije. Iako značajke odbacivanja bubrega u ovisnosti o vremenu razvoja DSA-a nisu još dovoljno istražene, čini se da je tip 2 AMR-a povezan s lošijim preživljenjem presatka (17).

Među vodećim uzrocima senzibilizacije na HLA antigene donora ističu se opetovane transfuzije krvi, graftektomije prethodnih presadaka te prekid imunosupresivne terapije (18), što može dovesti do razvoja senzibilizacije na antigene donora u 55 % prethodno nesenzibiliziranih primatelja presatka (19). Također, nepodudarnost u AB0 antigenima krvnih grupa između primatelja i donora važan je faktor u razvoju DSA-a, a time i rizika od razvoja AMR-a (6).

Kao što je prethodno navedeno, prisutnost *de novo* DSA-a u krvotoku primatelja povećava rizik razvoja AMR-a presatka (20 – 22), prema nekim istraživanjima i dvostruko (23). Također, pacijenti kod kojih su prisutna *de novo* DSA i u kojih se razvio AMR, imaju višu razinu serumskog kreatinina i lošije preživljenje presatka, u odnosu na one bez DSA-a (15). Međutim, nastanak *de novo* DSA-a, nije uvijek povezan s lošijim ishodom presatka, nego samo onda kada prisutnost DSA-a dovede do razvoja AMR-a (15).

Nadalje, uspoređujući senzibilizirane i nesenzibilizirane primatelje presatka, čini se da otprije senzibilizirani primatelji imaju veći rizik nastanka *de novo* DSA-a i razvoja AMR-a u odnosu na nesenzibilizirane primatelje (24, 25). Međutim, istraživanja o utjecaju otprije prisutnih DSA na funkciju i preživljenje presatka pokazuju različite rezultate, ovisno o vremenu proteklom od transplantacije do pojave oštećenja funkcije ili gubitka presatka. Iako se oštećenje funkcije i gubitak presatka u prvoj godini poslije transplantacije učestalije pojavljuju u skupini senzibiliziranih primatelja (24, 26), dugotrajno ne postoji značajna razlika u učestalosti gubitka presatka između navedene dvije skupine primatelja (24, 25). Drugo pak istraživanje pokazuje da je i do 63 % kasnih gubitaka funkcije presatka povezano s promjenama u mikrocirkulaciji bubrega uzrokovanih prisutnošću protutijela (27), što dodatno naglašava ulogu HLA antigena i protutijela u razvoju disfunkcije presatka. S obzirom na navedeno, značenje DSA-a u promjenama funkcije, a posebno u razvoju gubitka presatka, ostaje još uvijek nedovoljno definirano.

Uzevši u obzir prethodno izneseno, odabir donora trebao bi se temeljiti, kad god je moguće, na nepostojanju DSA-a u primatelja presatka. Također, primatelji presatka senzibilizirani na HLA antigene donora trebali bi biti pomnije praćeni u posttransplantacijskom razdoblju upravo zbog

veće mogućnosti razvoja odbacivanja posredovanog protutijelima, a samim time i lošijeg ishoda presatka u ranom posttransplantacijskom razdoblju (23, 28).

S razvojem znanosti i tehnoloških mogućnosti, razvijeni su različiti testovi za detekciju DSA-a, od testa citotoksičnosti posredovane komplementom (eng. *CDC crossmatch assay*), preko osjetljivijih testova, prvenstveno protočne citometrije, a u novije vrijeme i metode Luminex (29). Navedene metode, usprkos činjenici što još uvijek nisu dovoljno osjetljive i specifične u prepoznavanju DSA-a (30), i dalje ostaju nezaobilazne metode, kako u procjeni rizika razvoja AMR-a, tako i u prilagodbi imunosupresije u posttransplantacijskom razdoblju.

Govoreći o predtransplantacijskoj dijagnostici i kriterijima za transplantaciju bubrega u senzibiliziranih primatelja, pozitivan *CDC crossmatch* apsolutna je kontraindikacija, a pozitivna protočna citometrija smatra se samo relativnom kontraindikacijom za transplantaciju bubrega (31). Predtransplantacijska plazmafereza i upotreba rituksimaba ili plazmafereza i splenektomija te primjena timoglobulina smanjuju učestalost razvoja *de novo* DSA-a (32, 33) te i dalje ostaju metoda izbora u predtransplantacijskoj obradi primatelja.

Uvođenjem u prvom redu ciklosporina, a kasnije i takrolimusa i mikofenolat mofetila, kao metode liječenja odbacivanja presatka, učestalost T-staničnog odbacivanja značajno je pala, a jednogodišnje preživljenje presatka premašilo je 90 – 95 % (34, 35).

Naprotiv, liječenje odbacivanja posredovanog protutijelima nije se značajno mijenjalo tijekom vremena. I dalje se, kao potvrđeno dobra prva opcija liječenja AMR-a, koristi plazmafereza i upotreba intravenskih imunoglobulina (4, 36 – 38). Uz navedeno, metode su liječenja i primjena monoklonskih protutijela, u prvom redu rituksimaba te inhibitora proteasoma, kao što je bortezomib. Čini se da upotreba rituksimaba i bortezomiba u liječenju nije značajno pridonijela dugotrajnom preživljenju presatka (39, 40). Međutim, druga istraživanja pokazuju da funkcija i preživljenje presatka mogu biti značajno unaprijeđeni primjenom bortezomiba i visokih doza intravenskih imunoglobulina u terapiji AMR-a (41, 42).

4. Hipoteza

Primatelji presatka senzibilizirani na HLA antigene donora imaju više pojedinačnih epizoda odbacivanja, veću učestalost odbacivanja posredovanog protutijelima te kraće preživljenje presatka u odnosu na standardne primatelje presatka.

5. Ciljevi rada

Opći cilj rada bio je istražiti učestalost epizoda odbacivanja presatka u skupini senzibiliziranih i standardnih primatelja presatka.

Specifični ciljevi rada bili su:

1. odrediti učestalost odbacivanja na 100 dana praćenja u navedenim skupinama bolesnika i utvrditi postoji li statistički značajna razlika u pojavnosti pojedinačnih epizoda odbacivanja među navedenim skupinama
2. odrediti postoji li razlika u učestalosti prema vrsti odbacivanja po Banff 2015. histopatološkoj klasifikaciji između navedenih skupina bolesnika
3. analizirati preživljenje presatka u ovisnosti o vremenu proteklom od transplantacije u navedenim skupinama
4. analizirati vrstu primijenjene terapije u liječenju odbacivanja u navedenim skupinama bolesnika.

6. Ispitanici i metode

6.1. Ispitanici

Retrospektivno je analizirano ukupno 217 bolesnika, od kojih je 101 bolesnik bio senzibiliziran na HLA antigene donora. Svi bolesnici podvrgnuti su transplantaciji bubrega u Kliničkoj bolnici Merkur u razdoblju od 8. mjeseca 2007. do 4. mjeseca 2016. godine. Bolesnici su svrstani u dvije skupine: senzibilizirani i standardni primatelji presatka (nesenzibilizirani primatelji, kontrole). Prilikom svrstavanja u skupine bolesnici su upareni prema spolu i vremenu transplantacije, a početak praćenja bolesnika započeo je s prvim danom transplantacije. Istraživanje je odobrilo etičko povjerenstvo KB-a Merkur.

6.2. Metode

Analizirani su demografski pokazatelji primatelja presatka (dob i spol), broj pojedinačnih epizoda odbacivanja presatka na 100 dana praćenja, učestalost tipova odbacivanja prema Banff 2015. histopatološkoj klasifikaciji, preživljenje presatka u ovisnosti o vremenu proteklom od transplantacije te vrsta imunosupresivne terapije korištene prilikom liječenja odbacivanja presatka. U određivanju broja pojedinačnih epizoda odbacivanja korišteni su sljedeći kriteriji: 1) zasebna je epizoda odbacivanja ako između dvije epizode odbacivanja postoji patohistološki potvrđen normalni nalaz kontrolne biopsije, 2) ako prethodni kriterij nije zadovoljen, tada je zasebna epizoda odbacivanja svaka ona s potvrđenim patohistološkim nalazom odbacivanja, a vremenski razmak između dva potvrđena nalaza odbacivanja dulji je od mjesec dana te 3) ako je, neovisno o vremenskom razmaku između biopsija, prisutno patohistološki potvrđeno kronično odbacivanje, tada su takva odbacivanja analizirana kao jedna epizoda odbacivanja. Prema Banff klasifikaciji, odbacivanja su podijeljena u tri skupine: granično odbacivanje, T-stanično odbacivanje i odbacivanje posredovano protutijelima (koje je obuhvaćalo izolirano humoralno odbacivanje te kombinaciju staničnog i humoralnog odbacivanja). U skupinu odbacivanja posredovanog protutijelima svrstana su definitivna i suspektna humoralna odbacivanja, u skladu s Banff 2015. klasifikacijom. Zbog relativno manjega broja pojedinačnih epizoda odbacivanja posredovanih protutijelima, izolirano humoralno odbacivanje te kombinacija staničnog i humoralnog odbacivanja svrstani su u zajedničku skupinu da bi se dobilo na statističkoj

značajnosti testa prilikom obrade podataka. Distribucije su prikazane grafički i tablično. Učestalost pojedinačnih epizoda odbacivanja na 100 dana praćenja analizirana je pomoću Mann-Whitney U testa. Preživljenje presatka u ovisnosti o vremenu proteklom od transplantacije analizirano je pomoću Kaplan-Meierove metode, a usporedba primijenjene imunosupresivne terapije pomoću hi-kvadrat testa. Razina statističke značajnosti određena je na $p < 0.05$. U statističkoj analizi korišteni su Microsoft Excel 2007, Real Statistics 2007, Statistica v.12 i IBM SPSS Statistics 23.

7. Rezultati

Na početku istraživanja, tj. u trenutku transplantacije bubrega u ispitivanoj populaciji bolesnika prosječna dob bolesnika bila je 50 ± 12 godina, pri čemu je najmlađi primatelj presatka imao 17, a najstariji 74 godine. Na kraju razdoblja praćenja, u 5. mjesecu 2016. godine, prosječna dob ispitanika bila je 53 ± 12 godina, s rasponom od 19 do 77 godina. Karakteristike primatelja i donora prikazane su u tablici 2.

Tablica 2. Karakteristike primatelja i donora

		PRIMATELJI		DARIVATELJI
		POČETAK ISTRAŽIVANJA	KRAJ ISTRAŽIVANJA	
DOB (u godinama)	PROSJEK	50 ± 12	53 ± 12	46 ± 15
	NAJMLAĐI	17	19	6
	NAJSTARIJI	74	77	75
SPOL	MUŠKI (n)	114		134
	ŽENSKI (n)	103		83
SENZIBILIZIRANOST	SENZIBILIZIRANI	101		–
	NESENZIBILIZIRANI	116		
	ŽIVI	–		8
	PREMINULI	–		209

Promatrajući raspodjelu ispitanika prema spolu, muškarci su činili 53 % ispitanika, a žene 47 %. Od ukupnog broja ispitanika senzibilizirani bolesnici činili su 47 %, a standardnih primatelja presatka bilo je 53 %.

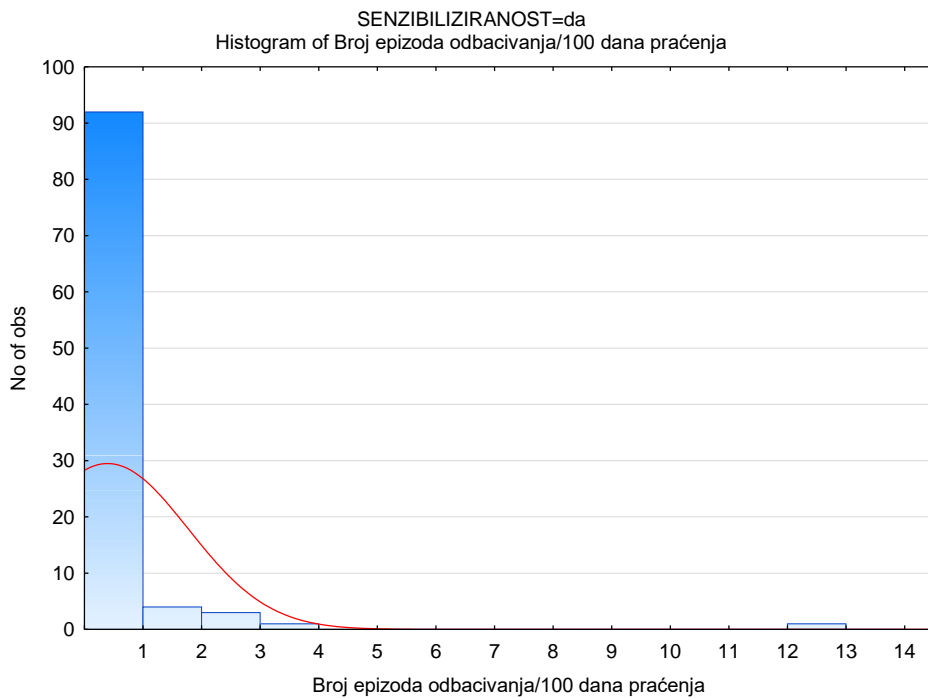
Ukupno vrijeme praćenja ispitanika iznosilo je 929 ± 751 dana. U skupini senzibiliziranih primatelja presatka vrijeme praćenja iznosilo je 919 ± 717 dana, dok je u skupini standardnih primatelja to vrijeme iznosilo 938 ± 782 dana. Pregled navedenih podataka o vremenu praćenja nalazi se u tablici 3.

Tablica 3. Raspodjela bolesnika po skupinama i vremena praćenja (u danima) ovisno o skupini kojoj bolesnici pripadaju

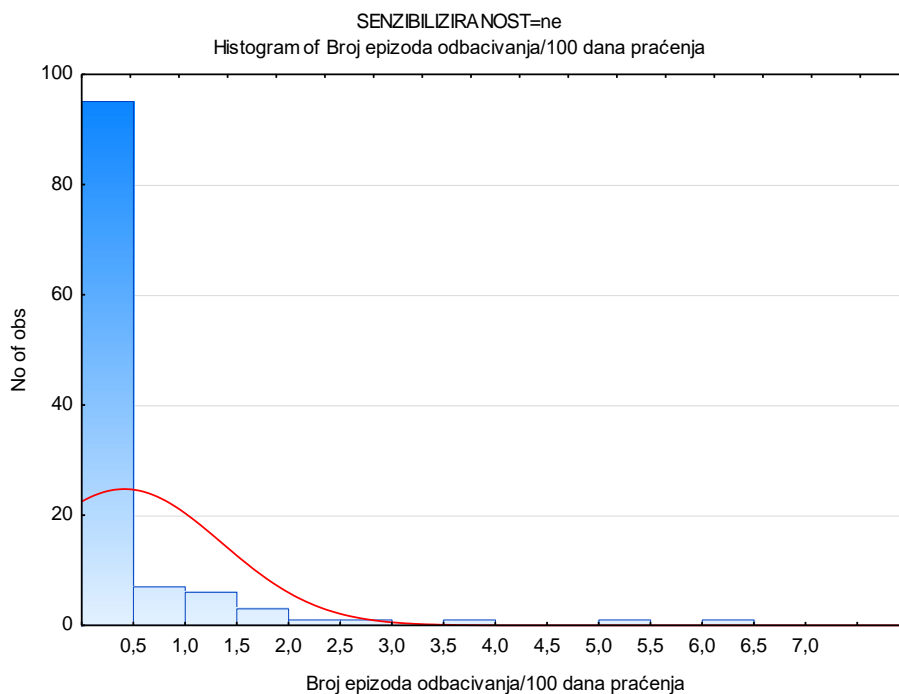
	SENZIBILIZIRANI	KONTROLE	UKUPNO	p
BROJ OSOBA	101	116	217	–
VRIJEME PRAĆENJA (u danima)	919 ± 717	938 ± 782	929 ± 751	0,85
MINIMALNO VRIJEME PRAĆENJA	0	2	–	–
MAKSIMALNO VRIJEME PRAĆENJA	3183	2944	–	–

Broj pojedinačnih epizoda odbacivanja u senzibiliziranih bolesnika iznosio je $0,4 \pm 1,37$ na 100 dana praćenja, a u nesenzibiliziranih bolesnika $0,41 \pm 0,93$ na 100 dana praćenja bez statistički značajne razlike između navedenih skupina bolesnika ($p = 0,34$).

Histogram raspodjele broja epizoda odbacivanja na 100 dana praćenja u skupini senzibiliziranih bolesnika prikazan je na slici 1., a u skupini nesenzibiliziranih bolesnika na slici 2.



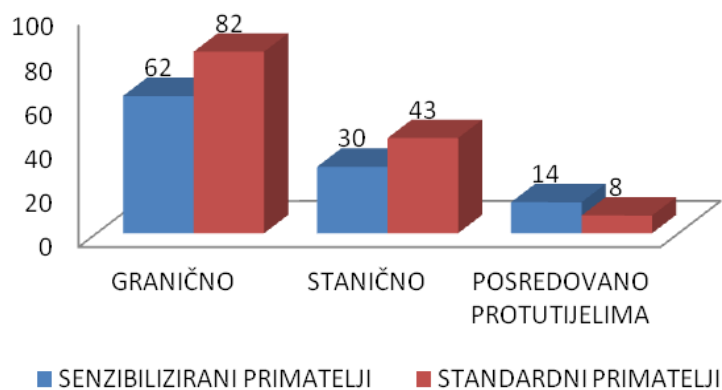
Slika 1. Histogram raspodjele broja epizoda odbacivanja na 100 dana praćenja u skupini senzibiliziranih primatelja



Slika 2. Histogram raspodjele broja epizoda odbacivanja na 100 dana praćenja u skupini nesenzibiliziranih primatelja

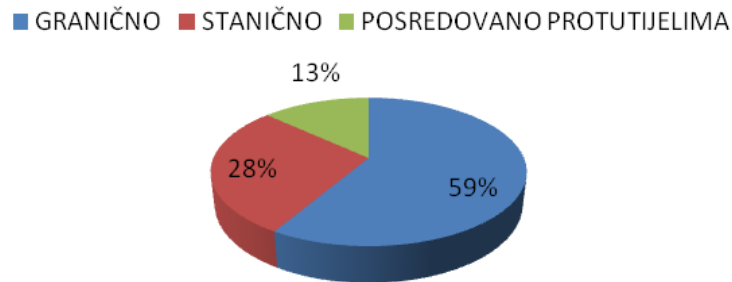
U skupini senzibiliziranih bolesnika ukupan broj epizoda odbacivanja prema klasifikaciji po Banffu iz 2015. godine bio je 106, od čega je granično odbacivanje bilo prisutno u 58,49 %, T-stanično odbacivanje u 28,30 %, a odbacivanje posredovano protutijelima u 13,21 % biopsija bubrega. U skupini standardnih primatelja presatka od ukupnog broj epizoda odbacivanja, koji je iznosio 133, granično je odbacivanje bilo prisutno u 61,65 %, T-stanično odbacivanje u 32,33 %, a odbacivanje posredovano protutijelima u 6,02 % biopsija bubrega ($p = 0,056$). Broj pojedinačnih epizoda odbacivanja prema vrsti odbacivanja prikazan je na slici 3., a postotak pojedine vrste odbacivanja od ukupnoga broja epizoda odbacivanja u pojedinoj skupini bolesnika na slikama 4. i 5.

Statističkom analizom nije pokazana razlika u distribuciji prema vrsti odbacivanja po Banff klasifikaciji između bolesnika senzibiliziranih na HLA antigene donora i nesenzibiliziranih bolesnika ($p = 0,15$). *Post-hoc* analizom utvrđeno je da se najveća razlika u vrsti odbacivanja između skupine senzibiliziranih i standardnih primatelja nalazi u skupini odbacivanja posredovanog protutijelima, ali nije dokazana njezina statistička značajnost (Bonferroni indeks = 0,0083; $p = 0,056$).



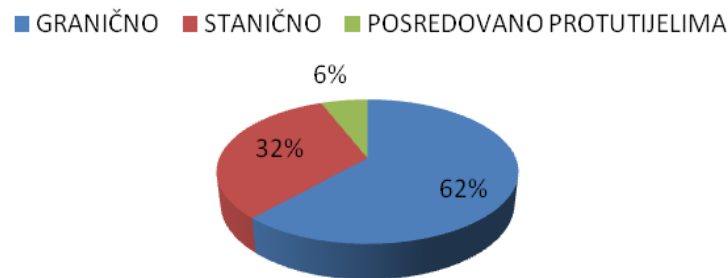
Slika 3. Raspodjela po vrsti pojedinačnih epizoda odbacivanja u ispitivanim skupinama prema Banff 2015. klasifikaciji

SENZIBILIZIRANI PRIMATELJI



Slika 4. Raspodjela po vrsti odbacivanja u senzibiliziranih primatelja presatka

STANDARDNI PRIMATELJI

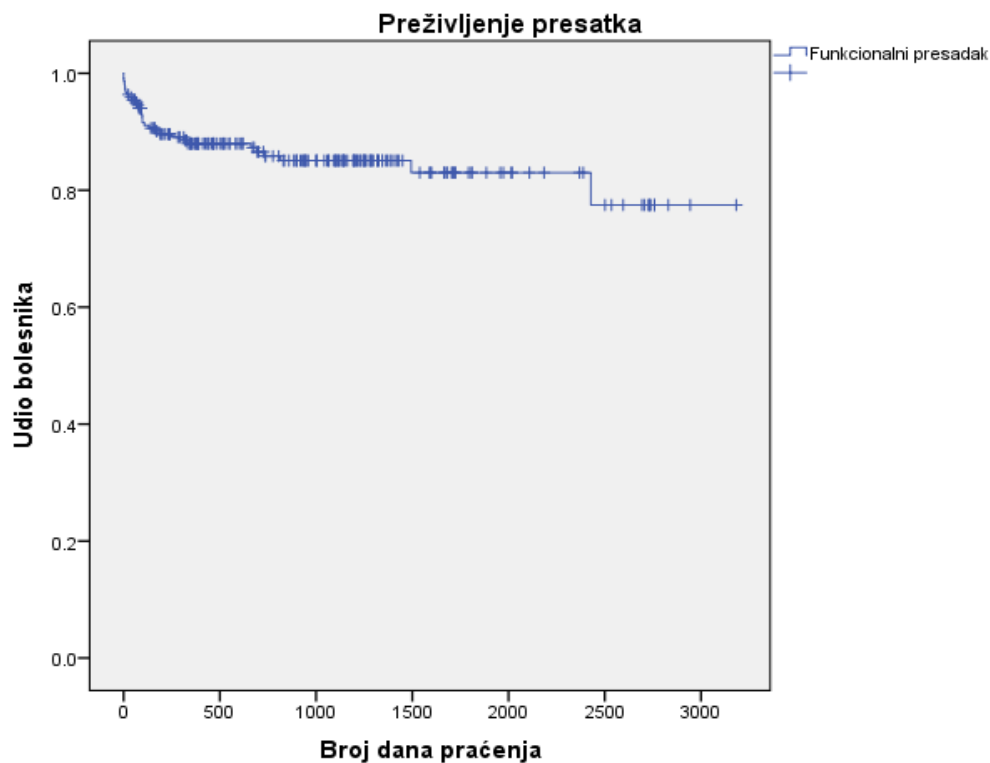


Slika 5. Raspodjela po vrsti odbacivanja u standardnih primatelja presatka

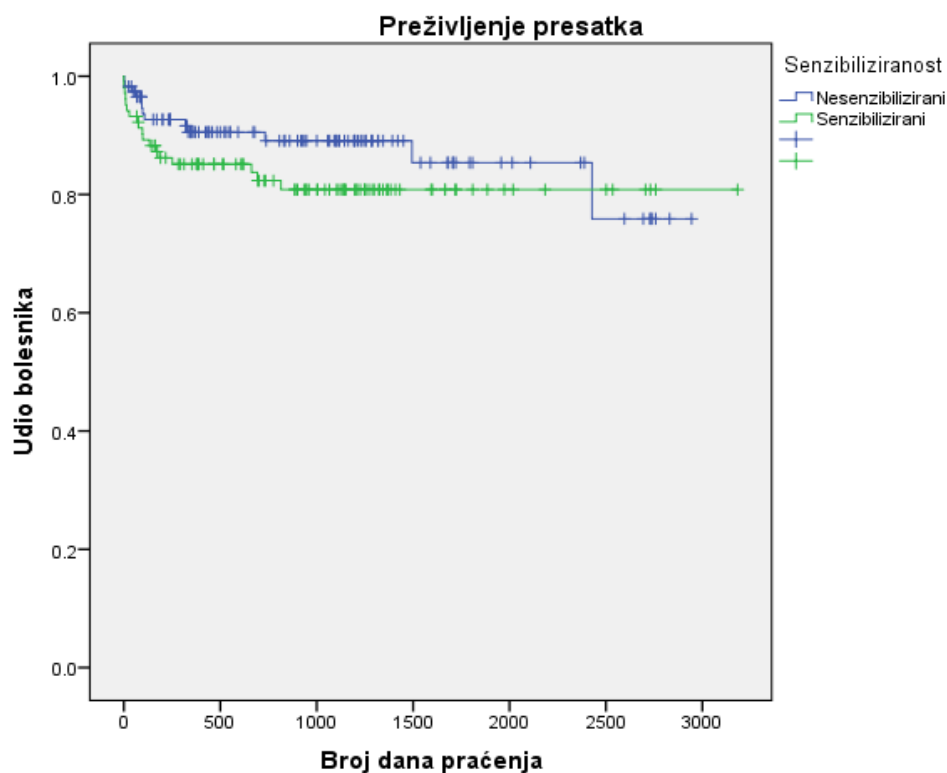
Usporedbom ovisnosti preživljenja presatka o vremenu proteklom od transplantacije nije pronađena statistički značajna razlika između skupine senzibiliziranih i nesenzibiliziranih primatelja ni u ranom (do 1000 dana nakon transplantacije) ni srednjem (1000-2000 dana nakon transplantacije) ni u kasnom (više od 2000 dana nakon transplantacije) posttransplantacijskom razdoblju (Log rank, $p = 0,21$; Breslow, $p = 0,12$; Tarone-Ware $p = 0,14$). Grafički prikaz preživljenja presatka u ovisnosti o vremenu proteklom od transplantacije (Kaplan-Meierova krivulja preživljenja presatka) prikazan je na slikama 6. i 7.

Međutim, iako nema statistički značajne razlike, utvrđeno je da je u skupini senzibiliziranih primatelja nešto veći udio bolesnika s ranijim gubitkom funkcije presatka (do 1000 dana nakon transplantacije), dok se nakon toga perioda kumulativno preživljenje presatka počinje

izjednačavati te oko 2500 dana (6,5 godina) nakon transplantacije nije vidljiva razlika u preživljenju presatka među navedenim skupinama bolesnika. Istekom vremena praćenja bolesnika, vidljivo je da oko 80 % bolesnika u obje ispitivane skupine ima funkcionalni presadak.



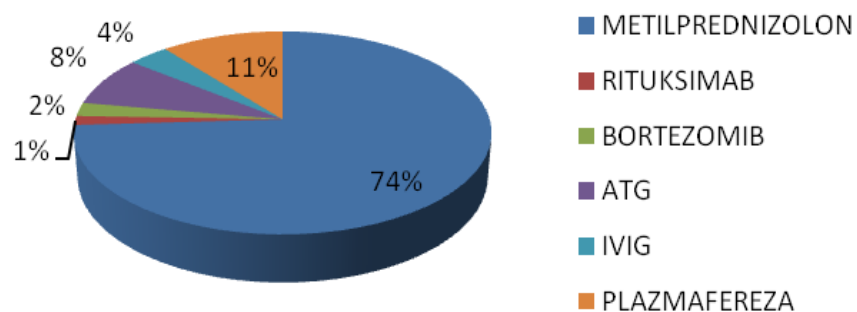
Slika 6. Kaplan-Meierova krivulja preživljenja presatka u svih bolesnika uključenih u istraživanje (n = 217)



Slika 7. Kaplan-Meierova krivulja preživljenja presatka u skupini senzibiliziranih (n = 101) i standardnih, nesenzibiliziranih, primatelja presatka (n = 106)

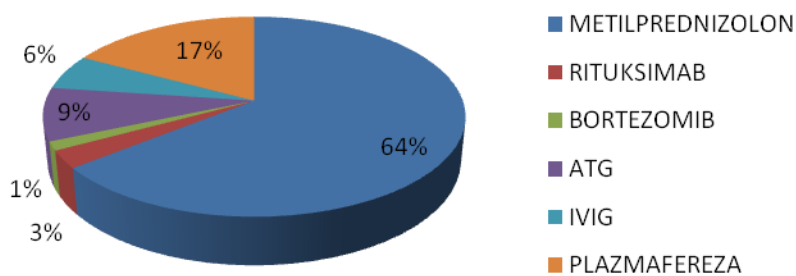
U skupini senzibiliziranih primatelja presatka 18 bolesnika izgubilo je presadak, od čega se 12 slučajeva gubitka presatka odnosi na gubitak presatka cenzuriran za smrt bolesnika, dok je u skupini standardnih primatelja 13 bolesnika izgubilo presadak, a gubitak presatka cenzuriran za smrt bolesnika nalazi se u 8 slučajeva gubitka presatka.

U liječenju pojedinačnih epizoda odbacivanja presatka korišteni su metilprednizolon (74 %, n = 103), rituksimab (1 %, n = 2), bortezomib (2 %, n = 3), ATG (8 %, n = 11), IVIg (4 %, n = 5) i plazmafereza (11 %, n = 15). Grafički prikaz navedenih podataka nalazi se na slici 8.



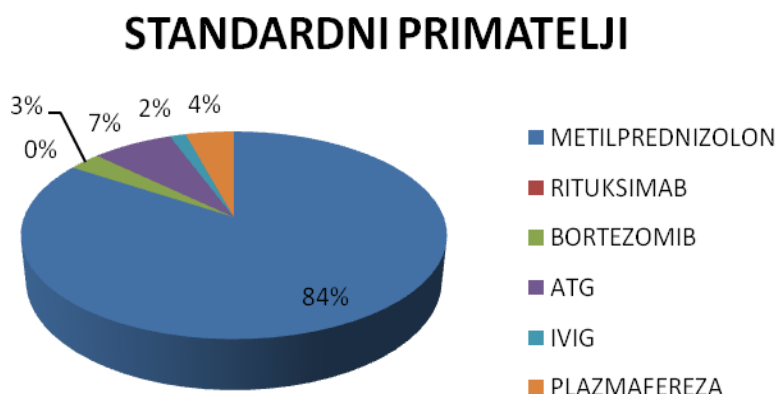
Slika 8. Primijenjena terapija odbacivanja za cjelokupnu istraživanu skupinu bolesnika

SENZIBILIZIRANI PRIMATELJI



Slika 9. Primijenjena terapija odbacivanja u skupini senzibiliziranih primatelja presatka

Za liječenje ukupno 106 epizoda odbacivanja u skupini senzibiliziranih primatelja presatka, u 45 epizoda odbacivanja (64 %) korišten je metilprednizolon, u 2 epizode (3 %) rituksimab, 1 epizodi (1 %) bortezomib, 6 epizoda (9 %) ATG, 4 epizode (6 %) intravenski imunoglobulini te 12 epizoda (17 %) plazmafereza. Grafički su navedeni podatci prikazani na slici 9.



Slika 10. Primijenjena terapija odbacivanja u skupini standardnih primatelja presatka

Za liječenje ukupno 133 epizode odbacivanja u skupini standardnih primatelja, u 58 epizoda odbacivanja (84 %) korišten je metilprednizolon, 2 epizode (3 %) bortezomib, 5 epizoda (7 %) ATG, 1 epizodi (2 %) intravenski imunoglobulini te 3 epizode (4 %) plazmafereza. Grafički su navedeni podatci prikazani na slici 10.

Analizom primijenjene terapije odbacivanja presatka ustanovljeno je da su senzibilizirani primatelji imali veći broj pojedinačnih epizoda liječenja odbacivanja u odnosu na standardne primatelje ($p = 0,01$). *Post-hoc* analizom utvrđeno je da se najveća razlika u primijenjenoj terapiji odnosi na primjenu intravenskih imunoglobulina i plazmafereze. Međutim, nije pokazano da je ijedna od opcija liječenja odbacivanja statistički značajno učestalije primijenjena u jednoj od skupina bolesnika i da je samostalno odgovorna za statistički značajnu razliku u broju pojedinačnih epizoda liječenja odbacivanja između skupine senzibiliziranih i standardnih primatelja presatka.

8. Rasprava

Dobro je poznato da incidencija i tip odbacivanja variraju u ovisnosti o obilježjima primatelja presatka, senzibiliziranosti primatelja na HLA antigene donora, vremenu proteklom od transplantacije, kliničkoj prosudbi o potrebi i trenutku provođenja biopsije, patohistološkoj analizi uzorka biopsije te vrsti i količini primijenjene imunosupresivne terapije.

Budući da je ovo istraživanje retrospektivno, postoji mogućnost nepotpunosti podataka, posebno u slučaju ranijih odbacivanja presatka, tj. onih prije 2011. godine.

Usprkos navedenom ograničenju istraživanja rezultati su značajni zbog toga što pokazuju da primatelji presatka senzibilizirani na HLA antigene nemaju veću učestalost pojave pojedinačne epizode odbacivanja presatka na 100 dana praćenja u odnosu na nesenzibilizirane primatelje ($p = 0,34$).

Smatra se da senzibilizirani primatelji presatka u prvoj godini nakon transplantacije imaju učestalije oštećenje funkcije i gubitak presatka u odnosu na nesenzibilizirani primatelje, a da se ta razlika gubi s produljenjem vremena praćenja bolesnika (24 – 26). U bolesnika uključenih u ovo istraživanje, naprotiv, nije uočena razlika u učestalosti gubitka funkcije presatka u ovisnosti o vremenu proteklom od transplantacije ni u ranom ni srednjem ni kasnom posttransplantacijskom razdoblju između ispitivanih skupina bolesnika. Iako senzibilizirani primatelji presatka imaju nešto učestaliji gubitak funkcije presatka u ranom posttransplantacijskom razdoblju (do 1000 dana nakon transplantacije), ta razlika, kao što je već navedeno, nije statistički značajna. Naprotiv, što je vrijeme proteklo od transplantacije dulje, navedena se razlika gubi i udio bolesnika s gubitkom funkcije presatka izjednačava se u obje ispitivane skupine bolesnika oko 6,5 godina nakon transplantacije. Istekom razdoblja praćenja bolesnika pokazano je da oko 80 % primatelja u obje ispitivane skupine ima funkcionalan presadak.

Sve navedeno moglo bi ukazivati na odgovarajuću predtransplantacijsku obradu senzibiliziranih primatelja presatka, primjenu djelotvorne imunosupresivne terapije, kako u indukciji, tako i nakon transplantacije te odgovarajuće posttransplantacijsko praćenje primatelja presatka.

Nadalje, istraživanja pokazuju da senzibilizirani primatelji moraju biti ponnije praćeni zbog veće mogućnosti razvoja odbacivanja posredovanog protutijelima (23, 28). Za razliku od navedenog, u ovom istraživanju pokazano je da nema razlike u distribuciji prema tipovima

odbacivanja po Banff klasifikaciji između senzibiliziranih i standardnih primatelja presatka ($p = 0,15$). Navedeno se odnosi ne samo na odbacivanje posredovano protutijelima ($p = 0,056$), već i granično i T-stanično odbacivanje.

U liječenju odbacivanja presatka koristi se spektar lijekova različita mehanizma djelovanja i djelotvornosti, od metilprednizolona, rituksimaba, bortezomiba, ATG-a, IVIg-a do plazmafereze (36 – 40). Usporedbom primijenjene metode liječenja odbacivanja u navedenim skupinama bolesnika utvrđeno je da senzibilizirani primatelji uključeni u ovo istraživanje primaju više imunosupresivne terapije po pojedinačnoj epizodi odbacivanja od standardnih primatelja presatka ($p = 0,01$). Navedeno može proizlaziti iz činjenice da odbacivanje posredovano protutijelima, koje je nešto učestalije prisutno u skupini senzibiliziranih primatelja (iako ne statistički značajno), ima više terapijski različitih mogućnosti liječenja od graničnog i T-staničnog odbacivanja, od primjene ATG-a, rituksimaba, bortezomiba, intravenskih imunoglobulina do plazmafereze, a navedene metode liječenja često se i međusobno kombiniraju u liječenju pojedinačne epizode odbacivanja.

9. Zaključci

Ovo istraživanje pokazalo je da nema statistički značajne razlike u broju pojedinačnih epizoda odbacivanja presatka na 100 dana praćenja između skupine bolesnika senzibiliziranih na HLA antigene i nesenzibiliziranih bolesnika ($p = 0,34$).

Također, nema statistički značajne razlike u distribuciji prema tipovima odbacivanja po Banff 2015. klasifikaciji među navedenim skupinama bolesnika ($p = 0,15$). Iako bez statističke značajnosti, najveća razlika između navedenih skupina odnosi se na učestalost razvoja odbacivanja posredovanog protutijelima, s većom tendencijom pojave istoga u skupini senzibiliziranih primatelja presatka.

Usporedbom ovisnosti gubitka presatka o vremenu proteklom od transplantacije, među navedenim skupinama nije pronađena značajna razlika ni u ranom ni srednjem ni u kasnom posttransplantacijskom razdoblju.

Nadalje, analizom primijenjene metode liječenja odbacivanja presatka pronađena je statistički značajna razlika u intenzitetu liječenja (broju sastavnica protokola liječenja odbacivanja) između skupine bolesnika senzibiliziranih na HLA antigene donora i standardnih primatelja presatka ($p = 0,01$). Iako bez statističke značajnosti, najveća razlika odnosi se na primjenu intravenskih imunoglobulina i plazmafereze, koji su učestalija metoda liječenja odbacivanja u skupini senzibiliziranih primatelja presatka.

Potrebna su dodatna prospektivna istraživanja koja bi obuhvatila veći broj transplantiranih bolesnika, tj. više senzibiliziranih primatelja presatka te duži vremenski period praćenja da bi se provjerili rezultati ovog istraživanja.

10. Zahvale

Zahvaljujem svom mentoru profesoru Mladenu Knoteku na ukazanom povjerenju i podršci tijekom pisanja ovog diplomskog rada.

Hvala Kseniji Vučur i Gabrieli Dumančić na utrošenom vremenu i za svu pomoć kada mi je bila potrebna.

Hvala i svim profesorima koji su mi, svatko prema svom znanju, mogućnostima i volji, prenijeli po jedan dio od cjelokupne slike koji se zove medicina.

Hvala svim dragim prijateljima na svim kavama, druženjima, smijehu i veselju. Hvala i na svim trenucima kada ste me zamarali rokovima, ispitima i bazama. Da nije bilo vas, studentski dani ne bi bili vrijedni pamćenja.

Na kraju, neizmjereno hvala mojoj obitelji, roditeljima i sestri – za svu ljubav, što su uvijek bili dio moga života, potpora u svakom trenutku i osobe koje su radile i zaradile da bih se mogao školovati, Vanesi – za svu ljubav i što je sa mnom prolazila kroz sve lijepe i manje lijepe trenutke, bakama i djedovima – za svu pruženu ljubav i brigu, teti i tetku – što su me iz nedjelje u nedjelju hranili i ispitivali što se uči, i svima ostalima na svim lijepim zajedničkim trenucima.

11. Literatura

1. Knoll G. Trends in kidney transplantation over the past decade. *Drugs*. 2008;68 Dodatak 1:3-10.
2. Loupy A, Haas M, Solez K, Racusen L, Glotz D, Seron D, i sur. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology. *Am J Transplant*. 2017;17(1):28-41.
3. Rafiq MA, de Boccardo G, Schroppel B, Bromberg JS, Sehgal V, Dinavahi R, i sur. Differential outcomes in 3 types of acute antibody-mediated rejection. *Clin Transplant*. 2009;23(6):951-7.
4. Kim M, Martin ST, Townsend KR, Gabardi S. Antibody-mediated rejection in kidney transplantation: a review of pathophysiology, diagnosis, and treatment options. *Pharmacotherapy*. 2014;34(7):733-44.
5. Zhang R. Donor-Specific Antibodies in Kidney Transplant Recipients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017.
6. Morozumi K, Takeda A, Otsuka Y, Horike K, Gotoh N, Narumi S, i sur. Reviewing the pathogenesis of antibody-mediated rejection and renal graft pathology after kidney transplantation. *Nephrology (Carlton)*. 2016;21 Dodatak 1:4-8.
7. Sis B, Mengel M, Haas M, Colvin RB, Halloran PF, Racusen LC, i sur. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant*. 2010;10(3):464-71.
8. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, i sur. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant*. 2008;8(4):753-60.
9. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloran PF, Campbell PM, i sur. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant*. 2003;3(6):708-14.
10. Mengel M, Bogers J, Bosmans J-L, Serón D, Moreso F, Carrera M, i sur. Incidence of C4d Stain in Protocol Biopsies from Renal Allografts: Results from a Multicenter Trial. *American Journal of Transplantation*. 2005;5(5):1050-6.

11. Schinstock CA, Stegall M, Cosio F. New insights regarding chronic antibody-mediated rejection and its progression to transplant glomerulopathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2014;23(6):611-8.
12. Shimizu A, Colvin RB. Pathological features of antibody-mediated rejection. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord*. 2005;5(3):199-214.
13. Hidalgo LG, Campbell PM, Sis B, Einecke G, Mengel M, Chang J, et al. De novo donor-specific antibody at the time of kidney transplant biopsy associates with microvascular pathology and late graft failure. *Am J Transplant*. 2009;9(11):2532-41.
14. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Ozawa M, Parker K, Briley KP, et al. Incidence and impact of de novo donor-specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation*. 2013;95(3):410-7.
15. Cooper JE, Gralla J, Cagle L, Goldberg R, Chan L, Wiseman AC. Inferior kidney allograft outcomes in patients with de novo donor-specific antibodies are due to acute rejection episodes. *Transplantation*. 2011;91(10):1103-9.
16. Cioni M, Nocera A, Innocente A, Tagliamacco A, Trivelli A, Basso S, et al. De Novo Donor-Specific HLA Antibodies Developing Early or Late after Transplant Are Associated with the Same Risk of Graft Damage and Loss in Nonsensitized Kidney Recipients. *J Immunol Res*. 2017;2017:1747030.
17. Haas M, Mirocha J, Reinsmoen NL, Vo AA, Choi J, Kahwaji JM, et al. Differences in pathologic features and graft outcomes in antibody-mediated rejection of renal allografts due to persistent/recurrent versus de novo donor-specific antibodies. *Kidney Int*. 2017;91(3):729-37.
18. Zito A, Schena A, Grandaliano G, Gesualdo L, Schena FP. Increasing relevance of donor-specific antibodies in antibody-mediated rejection. *J Nephrol*. 2013;26(2):237-42.
19. Scornik JC, Kriesche HU. Human leukocyte antigen sensitization after transplant loss: timing of antibody detection and implications for prevention. *Hum Immunol*. 2011;72(5):398-401.
20. Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, Andrade J, Nochy D, Antoine C, et al. Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(8):1398-406.

21. Tsapepas DS, Vasilescu R, Tanriover B, Coppleson Y, Rekhtman Y, Hardy MA, i sur. Preformed Donor-Specific Antibodies and Risk of Antibody-Mediated Rejection in Repeat Renal Transplantation. *Transplantation*. 2013.
22. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ, i sur. Evolution and Clinical Pathologic Correlations of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Post Kidney Transplant. *American Journal of Transplantation*. 2012;12(5):1157-67.
23. Mohan S, Palanisamy A, Tsapepas D, Tanriover B, Crew RJ, Dube G, i sur. Donor-specific antibodies adversely affect kidney allograft outcomes. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(12):2061-71.
24. de Souza PS, David-Neto E, Panajotopolous N, Agena F, Rodrigues H, Ronda C, i sur. Dynamics of anti-human leukocyte antigen antibodies after renal transplantation and their impact on graft outcome. *Clin Transplant*. 2014;28(11):1234-43.
25. Lee KW, Park JB, Cho CW, Lee N, Yoo H, Kim K, i sur. The Impact of Donor-Specific Anti-Human Leukocyte Antigen (HLA) Antibody Rebound on the Risk of Antibody Mediated Rejection in Sensitized Kidney Transplant Recipients. *Ann Transplant*. 2017;22:166-76.
26. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med*. 1969;280(14):735-9.
27. Einecke G, Sis B, Reeve J, Mengel M, Campbell PM, Hidalgo LG, i sur. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant*. 2009;9(11):2520-31.
28. Akagun T, Yazici H, Caliskan Y, Ozluk Y, Sahin S, Turkmen A, i sur. The effect of histopathologic and clinical features on allograft survival in renal transplant patients with antibody-mediated rejection. *Ren Fail*. 2017;39(1):19-25.
29. Karpinski M, Rush D, Jeffery J, Exner M, Regele H, Dancea S, i sur. Flow cytometric crossmatching in primary renal transplant recipients with a negative anti-human globulin enhanced cytotoxicity crossmatch. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(12):2807-14.
30. Vlad G, Ho EK, Vasilescu ER, Colovai AI, Stokes MB, Markowitz GS, i sur. Relevance of different antibody detection methods for the prediction of antibody-mediated rejection and deceased-donor kidney allograft survival. *Hum Immunol*. 2009;70(8):589-94.
31. Filippone EJ, Farber JL. Humoral Immune Response and Allograft Function in Kidney Transplantation. *American Journal of Kidney Diseases*. 66(2):337-47.

32. Kohei N, Hirai T, Omoto K, Ishida H, Tanabe K. Chronic antibody-mediated rejection is reduced by targeting B-cell immunity during an introductory period. *Am J Transplant.* 2012;12(2):469-76.
33. Brokhof MM, Sollinger HW, Hager DR, Muth BL, Pirsch JD, Fernandez LA, i sur. Antithymocyte globulin is associated with a lower incidence of de novo donor-specific antibodies in moderately sensitized renal transplant recipients. *Transplantation.* 2014;97(6):612-7.
34. Haririan A. Current status of the evaluation and management of antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2015;24(6):576-81.
35. Mihovilović K, Maksimović B, Kocman B, Guštin D, Vidas Ž, Bulimbašić S, i sur. Effect of mycophenolate mofetil on progression of interstitial fibrosis and tubular atrophy after kidney transplantation: a retrospective study. *BMJ Open.* 2014;4(7).
36. Ruangkanhasetr P, Satirapoj B, Termmathurapoj S, Namkhanisorn K, Suaywan K, Nimkietkajorn V, i sur. Intensive plasmapheresis and intravenous immunoglobulin for treatment of antibody-mediated rejection after kidney transplant. *Exp Clin Transplant.* 2014;12(4):328-33.
37. Amore A. Antibody-mediated rejection. *Curr Opin Organ Transplant.* 2015;20(5):536-42.
38. Burton SA, Amir N, Asbury A, Lange A, Hardinger KL. Treatment of antibody-mediated rejection in renal transplant patients: a clinical practice survey. *Clin Transplant.* 2015;29(2):118-23.
39. Haas M, Mirocha J, Reinsmoen NL, Vo AA, Choi J, Kahwaji JM, i sur. Differences in pathologic features and graft outcomes in antibody-mediated rejection of renal allografts due to persistent/recurrent versus de novo donor-specific antibodies. *Kidney International.* 91(3):729-37.
40. Gupta G, Abu Jawdeh BG, Racusen LC, Bhasin B, Arend LJ, Trollinger B, i sur. Late antibody-mediated rejection in renal allografts: outcome after conventional and novel therapies. *Transplantation.* 2014;97(12):1240-6.
41. Lachmann N, Duerr M, Schonemann C, Pruss A, Budde K, Waiser J. Treatment of Antibody-Mediated Renal Allograft Rejection: Improving Step by Step. *J Immunol Res.* 2017;2017:6872046.
42. Sadaka B, Alloway RR, Woodle ES. Management of antibody-mediated rejection in transplantation. *Surg Clin North Am.* 2013;93(6):1451-66.

12. Životopis

Rođen sam 08. siječnja 1993. godine u Splitu, a osnovnu školu završio sam u Osijeku, gdje sam pohađao i srednju školu, Isusovačku klasičnu gimnaziju s pravom javnosti u Osijeku.

Od 2011. godine redovni sam student Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Za vrijeme studija napisao sam rad pod naslovom "Proširenost primjene benzodiazepina u obiteljskoj medicini" kao koautor, sažetak rada pod naslovom "Odbacivanje bubrega u primatelja senzibiliziranih na HLA antigene" kao autor te prikaz slučaja pod naslovom "Prikaz slučaja - osteoporoza u pacijentice s reumatoidnim artritismom" kao koautor. Stipendist sam Grada Osijeka. Aktivno se služim engleskim jezikom, a imam osnovna znanja iz njemačkog jezika.