

# МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ТРАНСПЛАНТИ- РОВАННОЙ ПОЧКИ — ПУТЬ К УВЕЛИЧЕНИЮ СРОКА ЕЕ ВЫЖИВАНИЯ

*А.В. Траилин  
Т.Н. Никоненко*

*Запорожская медицинская академия  
последипломного образования*

**Резюме.** В обзоре на основании анализа литературы и собственного опыта работы обосновывается необходимость мониторинга состояния почечного аллотрансплантата путем плановых биопсий. Рассматриваются диагностические возможности рутинных гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов исследования биопсийного материала. Приводятся феномены, характерные для наиболее распространенных форм патологии трансплантированной почки. Сделан вывод о целесообразности сочетания нескольких методов исследования в режиме мониторинга для своевременной и качественной диагностики различных форм патологии почечного аллотрансплантата, что будет способствовать увеличению продолжительности его жизни.

**Ключевые слова:** почечный аллотрансплантат, мониторинг, биопсия, иммуногистохимия, молекулярно-генетические методы.

Несмотря на значительный прогресс в улучшении кратковременного выживания почечного аллотрансплантата (ПАТ), достигнутый благодаря эффективной иммуносупрессии, отдаленные результаты трансплантации почки практически не изменились за последние 10 лет (Meier-Kriesche H.U. et al., 2004). Причиной этого является хроническое кумулятивное воздействие на ПАТ факторов иммунной и неиммунной природы, что приводит к его склерозу (Томилина Н.А. и соавт., 2003; Colvin R.V., 2003) и уменьшению массы действующих нефронов. Ведущими повреждающими факторами являются: 1) хроническое отторжение, 2) хронический токсический эффект иммунодепрессантов, 3) возвратные и *de novo* заболевания, 4) хроническая инфекция, рефлюкс или их сочетание (Halloran P.F. et al., 1999; Томилина Н.А. и соавт., 2003; Colvin R.V., 2003). Дифференциальный диагноз между этими состояниями труден, как и их лечение, особенно в запущенных случаях. В этой связи профилактика и ранняя диагностика поражений ПАТ приобретают первостепенное значение.

Одним из подходов к решению этих задач является мониторинг состояния ПАТ путем исследования биопсийного материала. Обязательным элементом такого мониторинга является преимплантационная биопсия, которая позволяет диагностировать состояние донорских почек, и в случае их пригодности для трансплантации становятся биопсией сравнения для последующих исследований (Pascual M. et al., 1999; Траилин А.В., Никоненко Т.Н., 2006; Траилин А.В. и соавт., 2006; de Fijter J.W. et al., 2006; Szederkenyi E. et al., 2006). После трансплантации мониторинг осуществляется путем регулярных плановых или «протокольных» биопсий, в том числе при нормально функционирующем трансплантате (Pascual M. et al., 1999; de Fijter J.W. et al., 2006; Szederkenyi E. et al., 2006). Это позволяет выявить специфические признаки патологических процессов на раннем этапе при их субклиническом течении и внести коррекцию в терапевтическую тактику. Отдельные авторы рекомендуют также выполнять биопсию после терапии отторжения (Kozlowski T. et al., 2006) для достоверной диагностики разрешения процесса.

Особого внимания ПАТ требует в течение первого года. Согласно М. Pascual и соавторам (1999) результаты биопсии, выполненной в первые 30 дней после трансплантации, требуют изменения врачебной тактики в 39% случаев, а в

срок до 1 года — у 56% пациентов (Pascual M. et al., 1999). В большинстве случаев исследование выполняется в срок 1, 3, 6 и 12 мес (de Fijter J.W. et al., 2006; Golconda M. et al., 2006; Szederkenyi E. et al., 2006). Целесообразность ранних биопсий объясняется тем фактом, что после первого года морфолог обычно имеет дело с неспецифическими изменениями или сочетанием нескольких патологических процессов, что затрудняет диагностику (Pascual M. et al., 1999; Никоненко Т.Н., 2004). Вместе с тем по данным М. Pascual и соавторов (1999) в 38% случаев при исследовании биопсийного материала выявляют и специфические проявления поздней дисфункции, что предполагает коррекцию протокола лечения.

Для увеличения диагностической ценности биопсийного исследования полученный материал должен детально анализироваться. Для этого во многих центрах рутинным является анализ срезов биоптатов ПАТ с использованием стандартного гистологического окрашивания, иммуногистохимических методов с последующей световой, флуоресцентной и электронной микроскопией (Szederkenyi E. et al., 2006). Помимо микроскопического исследования для оценки содержания определенных белков в биоптате могут быть использованы такие методы протеомики, как двумерный гель-электрофорез и масс-спектрометрия (Kienzl K. et al., 2006). Также интенсивно изучаются возможности молекулярно-генетического анализа биоптатов (Castaneda M.P. et al., 2003; Sarwal M. et al., 2003; Datta D. et al., 2006; Raulf F. et al., 2006).

На претрансплантационном этапе необходимо оценить пригодность донорской почки для трансплантации. Особого внимания требуют почки пожилых доноров на предмет выявления признаков атеросклеротического и гипертензивного повреждения, которые оказывают достоверное негативное влияние на результаты трансплантации (Epstein M., 1996; Gjertson D.W., 1996). В зависимости от результатов исследования может быть рекомендована трансплантация одной донорской почки, обеих почек, либо отказ от их использования (Baldan N. et al., 2006).

В нашем Запорожском межрегиональном центре трансплантации в рамках программы морфологического мониторинга исследуются биоптаты ПАТ, полученные на донорском и интраоперационном этапах. Это позволяет оценить пригодность почки для трансплантации, а в посттрансплантационный период помогает своевременно распознать предсуществующие, возвратные и *de novo* поражения ПАТ (Траилин А.В. и соавт., 2006). Целью интраоперационных биопсий (через 30 мин после начала реперфузии) является оценка степени ишемически-реперфузионного повреждения (ИРП) ПАТ.

ИРП, неизбежное в случае трупного донора, конкурирует с иммунологической несовместимостью в качестве главных причин острого (ОРО) и хронического (ХРО) отторжения ПАТ (Арзуманов С.В. и соавт., 2005; Траилин А.В. и соавт., 2006). Установлено, что

ХРО чаще развивается у пациентов с ИРП III степени, по сравнению с ИРП I–II степени (Траилин А.В. и соавт., 2006). Описано несколько механизмов такого программирования (Chkhotua A.V. et al., 2006). Гипоксическое повреждение почки донора в условиях нестабильной гемодинамики при умирании стимулирует инфильтрацию ПАТ лейкоцитами (Ambrose L.R. et al., 2006; Chkhotua A.V. et al., 2006; Ibrahim S. et al., 1996; ), которые затем в организме реципиента могут презентировать МНС (major histocompatibility complex)-молекулы донора. В наших исследованиях с использованием иммуногистохимии также показано присутствие на до- и интратрансплантационном этапах в ПАТ активированных Т-лимфоцитов и моноцитов/макрофагов (Траилин А.В., Никоненко Т.Н., 2006). В настоящее время нами изучается корреляция между степенью мононуклеарной инфильтрации ПАТ в перитрансплантационный период и риском развития ранней и поздней дисфункции ПАТ.

Оценить степень ИРП можно, также определяя содержание продуктов перекисного окисления липидов и компонентов антиоксидантной системы в ткани ПАТ методом гистохимии (Gulec B. et al., 2006). Такие методы молекулярной клинической диагностики, как полимеразная цепная реакция и ДНК-microarray, позволяют на этапе ИРП выявить повышенную экспрессию генов хемокинов, молекул адгезии, белка теплового шока, факторов роста, фактора некроза опухолей-альфа (Tumour Necrosis Factor/TNF- $\alpha$ ), интерферона-гамма (interferon/IFN- $\gamma$ ) (Datta D. et al., 2006; Kusaka M. et al., 2006), про- и антиапоптотических медиаторов (Castaneda M.P. et al., 2003), генов клеточного старения (Chkhotua A.V. et al., 2006) в эндотелии сосудов ПАТ и эпителии канальцев, что представляет диагностическую и прогностическую ценность.

Основной задачей мониторинга в ранний посттрансплантационный период является ранняя диагностика ОРО, дифференциальная диагностика ее типов, прогнозирование исхода ОРО и отдаленных результатов трансплантации. Тип ОРО, а также ее характеристики могут помочь в прогнозировании развития ХРО, а своевременное и правильное лечение ОРО снижают риск развития этого осложнения (Matas A.J. et al., 1994).

Согласно Banff-97-классификации форм патологии ПАТ (Racusen L.C. et al., 1999) различают пограничные изменения, острое клеточное отторжение и острое антитело-опосредованное отторжение (ОАОО). Пограничные изменения и клеточное ОРО часто протекают бессимптомно. Так, по данным J.W. de Fijter и соавторов (2006) частота субклинической ОРО в 6-месячных биопсиях составляет 30,8%, что подтверждает важность протокольных биопсий. Кардинальными морфологическими признаками клеточного ОРО являются тубулит и артериит (Racusen L.C. et al., 1999).

Диагноз клеточного ОРО может быть уточнен с применением методов иммуногистохимии. Так, при остром клеточном отторжении в инфильтратах можно выявить активированные CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоциты, NK-клетки и CD68<sup>+</sup>-моноциты/макрофаги (Hadley G., 2004; Veronese F.V. et al., 2004; Doege C. et al., 2005). Уровень моноцитарной инфильтрации имеет прогностическое значение, поскольку эти клетки ответственны за функциональные последствия отторжения (Kirk A.D. et al., 2006) и развитие склероза ПАТ (Yilmaz S. et al., 2006). Выявление эозинофильной инфильтрации в биопсиях при ОРО является предиктором более тяжелого его течения, резистентности к терапии и угрозы поздней дисфункции (Jeziro D. et al., 2003). В отличие от ОРО, при неспецифической воспалительной реакции в составе инфильтрата преобладают нейтрофилы и макрофаги (Schratzberger G., Mayer G., 2002).

В практике мы рутинно используем методы иммуногистохимии для выявления в гистологических срезах ПАТ макрофагов и активированных Т-лимфоцитов. Такой подход, применяемый в комплексе с оценкой состояния ПАТ согласно Banff-97-классификации, позволяет повысить качество диагностики ОРО (Траилин А.В., Никоненко Т.Н., 2006).

Критерии этой классификации продолжают тем не менее оставаться краеугольным камнем диагностики, учитывая, что инфильтрацию макрофагами и лимфоцитами отмечают и при заболеваниях почек неиммунологической природы (Rodríguez-Iturbe B. et al., 2001), а также в стабильно функционирующих ПАТ (Isoniemi H.M. et al., 1992). Поэтому в настоящее время сформировались теоретические основы для выявления не самих мононуклеаров, а их продуктов для диагностики причин дисфункции ПАТ. Разрабатывается концепция «молекулярной Banff» (Sarwal M. et al., 2003; Raulf F. et al., 2006), в основу которой положено исследование экспрессии генетических маркеров Т-клеточной и макрофагальной инфильтрации и активации в биопсийном материале. Предпосылкой этому стало открытие гетерогенности популяции Т-лимфоцитов, некоторые клоны которых не принимают участия в отторжении, а, напротив, индуцируют и поддерживают толерантность (Kishimoto K. et al., 2002).

Так, признаком присутствия в ПАТ активных CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов является выявление продуктов их активации — гранзима-Б и перфорина (Nocera A. et al., 2005). Для клеточного ОРО характерно повышение экспрессии в ПАТ генов CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов, а также транскриптов, индукцию которых вызывает IFN- $\gamma$  (Einecke G. et al., 2006b). Эти изменения происходят на фоне снижения экспрессии генов канальцевых белков-транспортёров. Уровень экспрессии мРНК FOXP3 в регуляторных Т-лимфоцитах коррелирует с тяжестью ОРО, а также позволяет дифференцировать ОРО с преимущественным повреждением канальцев или сосудов (Naka E.L. et al., 2006). Иммуногистохимически установлено, что содержание

циклооксигеназы-2 в сосудах, интерстиции и клубочках повышается при ОРО, в отличие от острого тубулярного некроза, либо посттрансплантационного лимфопрлиферативного заболевания (Rangel E.V. et al., 2006).

Характерно, что активация транскрипции генов хемокинов CXCL9 и CXCL11 предшествует гистологическим изменениям и манифестации ОРО (Hale D.A. et al., 2006). Снижение экспрессии генов белков-транспортёров также является ранним признаком клеточного ОРО и пограничных изменений (Einecke G. et al., 2006a). Выявление этих феноменов в протокольных биопсиях позволяет рано начать терапию отторжения. Активная экспрессия мРНК Ca<sup>2+</sup>-связывающих белков S100A8 и S100A9, протеина сурфактанта SP-C, трансформирующего фактора роста-бета-1 (Transforming Growth Factor/TGF-beta-1) в инфильтрирующих ПАТ клетках ассоциирована с возможностью последующего развития ХРО (Eikmans M. et al., 2005).

Согласно Banff-97 критериями ОАОО ПАТ являются морфологические доказательства острого повреждения (канальцевый некроз, капиллярит, гломерулит, капиллярные тромбы, артериит), а также иммуногистохимические доказательства взаимодействия антител со структурами ПАТ и данные серологии, без которых диагноз может только предполагаться (Racusen L.C. et al., 1999; 2003). Важность ранней диагностики ОАОО объясняется более тяжелым его течением, худшим прогнозом и иными подходами к терапии (Racusen L.C. et al., 2003).

Наиболее достоверным иммуногистохимическим доказательством ОАОО является выявление депозитов C4d в базальных мембранах перитубулярных (ПТК) или гломерулярных (ГК) капилляров, что практически всегда сопровождается наличием донорспецифических антител в плазме крови. Этот продукт деградации C4-компонента комплемента остается фиксированным в месте, где произошла активация комплемента (Racusen L.C. et al., 2003). Выявление C4d имеет и прогностическое значение. Их присутствие в протокольных биопсиях даже у реципиентов с нормальной гистологией указывает на более высокий риск ОРО в течение года после трансплантации (Wang Y. et al., 2006) и является предиктором поздней дисфункции ПАТ (Regele H. et al., 2002; Lerut E. et al., 2006).

Помимо обязательных диагностических критериев для формулировки прогноза и выбора тактики лечения ОАОО целесообразно охарактеризовать инфильтрирующие ПАТ лейкоциты. Так, при большом количестве плазмочитов (David D.S.R. et al., 2006) или В-лимфоцитов (Tsai E.W. et al., 2006), либо их транскриптов (Sarwal M. et al., 2003) часто отмечается резистентность к терапии стероидами или антилимфоцитарными антителами и требуются альтернативные формы терапии.

Кардинальным морфологическим проявлением поздней дисфункции ПАТ являются тубулярная атрофия и интерстициальный фиброз. По данным R.V. Colvin (2003) такая картина выявляется у 30% пациентов с поздней дисфункцией ПАТ. Установлено, что степень интерстициального фиброза коррелирует с функцией ПАТ и отдаленным прогнозом (Opelz G. et al., 1978; Isoniemi H. et al., 1994).

Рутинно для выявления степени интерстициального фиброза используется окраска гистологических образцов по Массону (Racusen L.C. et al., 1999). Качество диагностики фиброза повышается при иммуногистохимическом выявлении коллагена 1-го и 3-го типов (Grimm P.C. et al., 2003) или повышенной экспрессии виментина в тубулярных эпителиальных клетках (Muramatsu M. et al., 2004), что четко коррелирует со степенью фиброза и может служить критерием его прогрессирования. Достоверным маркером развития фиброза является также экспрессия TGF-beta в интерстиции, клубочках и сосудах (Lantz I. et al., 1996). Благодаря своей иммуносупрессорной активности этот цитокин может препятствовать отторжению ПАТ, однако параллельно он индуцирует развитие фиброза.

Спрогнозировать риск фиброза позволяет исследование методом ДНК-microarray ранних посттрансплантационных биопсий. О высоком риске свидетельствуют изменения экспрессии генов коллагена, комплемента, факторов роста, матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов, а также маркеров эпителиально-мезенхимального превращения (Vitalone M. et al., 2006a, b).

Главной причиной развития фиброза ПАТ является ХРО, гистологическими признаками которого являются хроническая трансплантационная гломерулопатия (ТГ), вялотекущий фиброзирующий артериит, атрофия канальцев и фиброз интерстиция (Racusen L.C. et al., 1999). Однако диагностические критерии ХРО не абсолютно специфичны. Качество диагностики повышается при применении методов молекулярной биологии.

Как и при ОРО, в биоптатах при ХРО выявляют CD8<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, макрофаги и продукты их активации (Hamar P. et al., 2002; Doege C. et al., 2005; Nosera A. et al., 2005). Степень инфильтрации (Torrealba J.R. et al., 2003) позитивно коррелирует с тяжестью ХРО, уровнем анемии и креатинина. В отличие от ОРО, в инфильтрате часто выявляются тучные клетки, причем степень мастоцитарной инфильтрации коррелирует с выраженностью интерстициального фиброза (Goto E. et al., 2002). При ХРО повышается экспрессия в инфильтрирующих ПАТ лейкоцитах хемокина SDF-1 (Hoffman U. et al., 2006). Наличие ТГ подтверждается при обнаружении в клубочках (Kleiner D.E. et al., 2006) Т-лимфоцитов и макрофагов, причем увеличение инфильтрации часто предшествует гистологическому диагнозу и имеет таким образом прогностическое значение. При этом

в лейкоцитах, инфильтрирующих клубочки, экспрессируются хемокины Mig и IP-10, а также их рецепторы (Akalin E. et al., 2003).

На пике инфильтрации ПАТ при ХРО повышается синтез макрофагами и Т-лимфоцитами TGF-beta-1 (Hamar P. et al., 2002), который стимулирует фиброгенез самостоятельно, либо посредством фактора роста соединительной ткани (Connective Tissue Growth Factor/CTGF). Установлено, что при ХРО CTGF экспрессируется как в мезангии клубочков, так и в интерстиции, а при циклоспориновой нефротоксичности — только в интерстиции, что позволяет дифференцировать эти две кардинальные причины поздней дисфункции (Legros N. et al., 2003). Достоверным маркером повреждения сосудов при ХРО является повышение экспрессии  $\alpha$ -актина и TNF- $\alpha$  гладкомышечными клетками артериальной стенки (Yin J.L. et al., 2003; Zegarska J. et al., 2006).

Антителоопосредованный иммунный ответ играет важную роль в патогенезе ХРО. Гистологически гуморальное ХРО характеризуется многослоистостью базальной мембраны ПТК, фиброзом интимы артерий, ТГ, тубулярной атрофией и интерстициальным фиброзом (Mauyyedi S. et al., 2001; Regele H. et al., 2002; Takemoto S.K. et al., 2004). Для подтверждения диагноза необходимо выявление депозитов C4d в ПТК и ГК и донорспецифичных антител в плазме. Кроме того, для гуморального ХРО характерны присутствие мононуклеарных лейкоцитов в ПТК, инфильтрация ими интимы артерий, а также наличие плазмочитарных инфильтратов в интерстиции (Regele H. et al., 2002; Racusen L.C. et al., 2003; Rifle G. et al., 2005). Тот факт, что большинство случаев ХРО являются C4d-позитивными, подтверждает ведущую роль гуморальных механизмов в ее патогенезе (Mauyyedi S. et al., 2001; Regele H. et al., 2002). В прогностическом плане C4d+ случаи ассоциируются с быстрым прогрессированием артериосклероза, но хорошей реакцией на повышение иммуносупрессии (Mroz A. et al., 2003).

Нефротоксические эффекты ингибиторов кальциеврина морфологически проявляются главным образом вакуолизацией канальцевого эпителия, микрокальцификатами в канальцах, нодулярными гиалиновыми депозитами в афферентных артериолах, «полосовидным» фиброзом стромы, склерозом или ишемическим коллапсом клубочков (Racusen L.C. et al., 1999). В большинстве случаев эти феномены наслаиваются на другие проявления патологии почечного трансплантата, в том числе ХРО (Никоненко Т.Н., 2004). Однако, в отличие от ХРО, при циклоспориновой нефротоксичности отмечают высокий уровень мРНК  $\beta_2$ -ламина и TGF- $\beta$  в ПАТ (Коор К. et al., 2004). Установлению диагноза способствует мониторинг уровня циклоспорина в крови. В таких случаях требуется смена препарата для базисной иммуносупрессии, что приводит к значительному улучшению

функции ПАТ и позволяет предотвратить его потерю.

Агрессивная иммуносупрессия может реактивировать полиомавирус, латентный в мочевыводящих путях. Как следствие, у 5–6% пациентов развивается интерстициальный нефрит. Его гистологической особенностью является тяжелое повреждение канальцевого эпителия с появлением «desou cells», которые отличаются большими ядрами с периферическим расположением хроматина и наличием вирусных включений (Никоненко Т.М. и соавт., 2003; Ponticelli С., 2004). Иммуногистохимическое выявление большого Т-антигена вируса повышает специфичность диагноза (Colvin R.B., 2003).

Таким образом, собственные данные и результаты проведенного анализа литературы свидетельствуют о важной диагностической и прогностической роли мониторинга состояния ПАТ путем пункционных биопсий с последующим комплексным анализом материала. Учитывая высокий уровень затрат для возврата на диализ и выполнения ретрансплантации, такой подход является экономически обоснованным.

Следует отметить, что возможности гистологических методов в прогнозировании, оценке риска, наблюдении за динамикой патологических процессов в ПАТ ограничены. Кроме того, минусом морфологических исследований являются так называемые «ошибки репрезентативности». Поэтому оптимальным подходом является сочетанное применение инвазивных и неинвазивных методов для мониторинга состояния ПАТ. К настоящему времени разработана целая когорта методик, позволяющих мониторировать состояние ПАТ неинвазивно, начиная с оценки уровня креатининемии и протеинурии до определения уровня экспрессии генов медиаторов воспаления в лейкоцитах крови/мочи, обзор которых может послужить основой других публикаций.

## ЛИТЕРАТУРА

**Арзуманов С.В., Пинчук А.В., Ржевская О.Н.** (2005) Ишемическое повреждение почечного аллотрансплантата и острая реакция отторжения: причинно-следственная взаимосвязь. Вестник трансплантологии и искусственных органов, 1: 12–14.

**Никоненко Т.Н.** (2004) Структура и морфология пересаженной почки в отдаленные сроки после трансплантации. Трансплантология, 7(3): 160–163.

**Никоненко Т.М., Поляков М.М., Писаренко І.В.** (2003) Морфология ниркового аллотрансплантата в разі полімовірусної інфекції людини. Трансплантологія, 4(1): 258–260.

**Томилина Н.А., Столяревич Е.С., Баранова Ф.С. и др.** (2003) Факторы риска поздней дисфункции трансплантационной почки. Нефрология и диализ, 5(1): 70–75.

**Траилин А.В., Никоненко Т.Н.** (2006) Использование иммунофенотипирования мононуклеаров в комплексной диагностике острой реакции отторжения почечного аллотрансплантата. В кн.: Морфологічний стан тканин і органів у нормі та при моделюванні патологічних процесів. Матеріа-

ли науково-практичної конф., 30–31 травня 2006 р., Тернопіль, с. 144–147.

**Траилин А.В., Никоненко Т.Н., Остапенко Т.И.** (2006) Прогнозирование дисфункции почечного трансплантата на основании морфологического исследования донорской почки. Актуальні питання медичної науки та практики: зб. наук. ст., Запоріжжя, 69: 284–288.

**Akalin E., Dikman S., Murphy B. et al.** (2003) Glomerular infiltration by CXCR3+ ICOS+ activated T cells in chronic allograft nephropathy with transplant glomerulopathy. Am. J. Transplant., 3(9): 1116–1120.

**Ambrose L.R., Smith L.M., Little M.A.P.** (2006) Neutrophils as antigen-presenting cells in transplantation: bridging innate and adaptive immunity. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 1022.

**Baldan N., Margani G., Ekser B. et al.** (2006) Optimal results in renal transplantation with donors in the 8<sup>th</sup> decade. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 142.

**Castaneda M.P., Swiatecka-Urban A., Mitsniefes M.M. et al.** (2003) Activation of mitochondrial apoptotic pathways in human renal allografts after ischemia-reperfusion injury. Transplantation, 76(1): 50–54.

**Chkhotua A.B., Abendroth D., Froeba G., Schelzig H.** (2006) Up-regulation of cell cycle regulatory genes after renal ischemia/reperfusion: differential expression of p16(INK4a), p21(WAF1/CIP1) and p27(Kip1) cyclin-dependent kinase inhibitor genes depending on reperfusion time. Transpl. Int., 19(1): 72–77.

**Colvin R.B.** (2003) Chronic allograft nephropathy. N. Engl. J. Med., 349(24): 2288–2290.

**Datta D., Pal S., Briscoe D.** (2006) Effect of hypoxia and reoxygenation on the transcriptional activation of proinflammatory genes in human endothelial cells. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 126–127.

**David D.S.R., Souza P.S., Castro M.C.R. et al.** (2006) Plasma-cell infiltrates in renal allograft biopsies: an evidence of humoral rejection with poor outcome. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 258.

**de Fijter J.W., Scholten E.M., Rowshani A.T.** (2006) Untreated rejection in 6-month protocol biopsies is not associated with fibrosis in serial biopsies or loss of graft function. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 258.

**Doege C., Koch M., Heratizadeh A. et al.** (2005) Chronic allograft nephropathy in athymic nude rats after adoptive transfer of primed T lymphocytes. Transpl. Int., 18(8): 981–991.

**Eikmans M., Roos-van Groningen M.C., Sijpkens Y.W. et al.** (2005) Expression of surfactant protein-C, S100A8, S100A9, and B cell markers in renal allografts: investigation of the prognostic value. J. Am. Soc. Nephrol., 16(12): 3771–3786.

**Einecke G., Famulski K.S., Ramassar V. et al.** (2006a) Alloimmune effector cells mediate epithelial injury by contact-independent mechanisms. In: Abstracts book of the World transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 761.

**Einecke G., Mueller T., Famulski K. et al.** (2006b) Cytotoxic T cells, interferon-gamma and the renal response: pathogenesis-based transcripts sets have a high diagnostic value in human kidney allograft rejection. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 401–402.

**Epstein M.** (1996) Aging and the kidney. J. Am. Soc. Nephrol., 7(8): 1106–1122.

**Gjertson D.W.** (1996) A multi-factor analysis of kidney graft outcomes at one and five years posttransplantation: 1996 UNOS

- update. In: Cecka J.M., Terasaki P.I. (Eds.) *Clinical Transplants*, UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles, pp. 343–360.
- Golconda M., Prather J., de Mattos A. et al.** (2006) Subclinical rejection in kidney transplant recipients — a risk analysis. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 260–261.
- Goto E., Honjo S., Yamashita H. et al.** (2002) Mast cells in human allografted kidney: correlation with interstitial fibrosis. *Clin. Transpl.*, 16(8): 7–11.
- Grimm P.C., Nickerson P., Gough J. et al.** (2003) Computerized image analysis of Sirius Red-stained renal allograft biopsies as a surrogate marker to predict long-term allograft function. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 14(6): 1662–1668.
- Gulec B., Coskun K., Oner K. et al.** (2006) Effects of perfusion solutions on kidney ischemia-reperfusion injury in pigs. *Transplant. Proc.* 38(2): 371–374.
- Hadley G.** (2004) Role of integrin CD103 in promoting destruction of renal allografts by CD8 T cells. *Am. J. Transplant.*, 4(7): 1026–1032.
- Hale D.A., Hoffman S.C., Kleiner D.E.** (2006) Kidney allograft rejection is associated with upregulation of chemokine transcripts that precede histological changes. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 638.
- Halloran P.F., Melk A., Barth C.** (1999) Rethinking chronic allograft nephropathy: the concept of accelerated senescence. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 10(1): 167–181.
- Hamar P., Szabo A., Muller V., Heemann U.** (2002) The involvement of activated T cells and growth-factor production in the early and late phase of chronic kidney allograft nephropathy in rats. *Transpl. Int.*, 15(9–10): 446–454.
- Hoffman U., Banas B., Banas M. et al.** (2006) SDF-1 expression is elevated in chronic human renal allograft rejection. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 640.
- Ibrahim S., Jacobs F., Zukin Y. et al.** (1996) Immunohistochemical manifestations of unilateral kidney ischemia. *Clin. Transpl.*, 10(6 Pt. 2): 646–652.
- Isoniemi H., Taskinen E., Hayry P.** (1994) Histological chronic allograft damage index accurately predicts chronic renal allograft rejection. *Transplantation*, 58(11): 1195–1198.
- Isoniemi H.M., Krogerus L., von Willebrand E. et al.** (1992) Histopathological findings in well-functioning, long-term renal allografts. *Kidney Int.*, 41(1): 155–160.
- Jeziar D., Boratynska M., Halon A. et al.** (2003) Biopsy eosinophilia: a predictor of poor renal allograft function. In: *Abstracts of the 11<sup>th</sup> Congress of ESOT*. September 20–24, 2003, Venice.
- Kienzl K., Sarg B., Golderer G. et al.** (2006) Detection of biomarkers for acute cardiac allograft rejection by proteomic analysis. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 910.
- Kirk A.D., Mannon R.B., Kleiner D.E.** (2006) Monocytes, not T-cells, primarily determine the functional significance of a rejection. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 409.
- Kishimoto K., Sandner S., Imitola J. et al.** (2002) Th1 cytokines, programmed cell death, and alloreactive T cell clone size in transplant tolerance. *J. Clin. Invest.*, 109(11): 1471–1479.
- Kleiner D.E., Hale D., Kirk A.D. et al.** (2006) Serial immunohistochemical characterization of the onset transplant glomerulopathy. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 470.
- Koop K., Bakker R.C., Eikmans M. et al.** (2004) Differentiation between chronic rejection and chronic cyclosporine toxicity by analysis of renal cortical mRNA. *Kidney Int.*, 66(5): 2038–2046.
- Kozlowski T., Nিকেleit V., Detwiler R. et al.** (2006) Follow up biopsy is required to rule out persistent rejection/injury in patients treated for Banff II renal graft rejection. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 827.
- Kusaka M., Kuroyanagi Y., Mori T.** (2006) Upregulation of osteopontin, chemokines, adhesion molecule and heat shock proteins in one our biopsy from cardiac death donor kidneys. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 789.
- Lantz I., Dimeny E., Larsson E. et al.** (1996) Increased immunoreactivity of transforming growth factor-beta in human kidney transplants. *Transpl. Immunol.*, 4(3): 209–214.
- Legros N., Caillard S., Fischer E. et al.** (2003) Interstitial fibrosis in kidney chronic rejection: connective tissue growth factor (CTGF) expression on renal biopsies. In: *Abstracts of the 11<sup>th</sup> Congress of ESOT*, September 20–24, 2003, Venice.
- Lerut E., Kuypers D.R., Naesens M.** (2006) C4d complement deposition beyond 3 months after transplantation: a predictor of late renal allograft failure. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 461.
- Matas A.J., Gillingham K.J., Payne W.D., Najarian J.S.** (1994) The impact of an acute rejection episode on long-term renal allograft survival (tl/2). *Transplantation*, 57(6): 857–859.
- Mauiyyedi S., Pelle P.D., Saidman S. et al.** (2001) Chronic Humoral Rejection: Identification of Antibody-Mediated Chronic Renal Allograft Rejection by C4d Deposits in Peritubular Capillaries. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 12(3): 574–582.
- Meier-Kriesche H.U., Schold J.D., Srinivas T.R., Kaplan B.** (2004) Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am. J. Transplant.*, 4(3): 378–383.
- Mroz A., Durlak V., Pazik J.U. et al.** (2003) Significance of C4d peritubular capillaries deposition in diagnostic of active cases of chronic allograft nephropathy. In: *Abstracts of the 11<sup>th</sup> Congress of ESOT*, September 20–24, 2003, Venice.
- Muramatsu M., Miyagi M., Ishikawa Y. et al.** (2004) Estimation of damaged tubular epithelium in renal allografts by determination of vimentin expression. *Int. J. Urol.*, 11(11): 954–962.
- Naka E.L., Ponciano V.C., Rangel E.B. et al.** (2006) Foxp3-positive regulatory cells inside the allograft and the correlation with rejection. In: *Abstracts of the World Transplant Congress*, July 22–27, 2006, Boston, p. 882.
- Nocera A., Tagliamacco A., Ferrante A. et al.** (2005) Cytotoxic molecule mRNA expression in chronically rejected human kidney allografts. *Transplant. Proc.*, 37(6): 2476–2478.
- Opelz G., Sasaki N., Terasaki P.I.** (1978) Prediction of long-term kidney transplant survival rates by monitoring early graft function and clinical grades. *Transplantation*, 25(4): 212–215.
- Pascual M., Vallhonrat H., Cosimi A.B. et al.** (1999) The clinical usefulness of the renal allograft biopsy in the cyclosporine era: a prospective study. *Transplantation*, 67(5): 737–741.
- Ponticelli C.** (2004) Renal transplantation 2004: where do we stand today? *Nephrol. Dialys. Transplant.*, 19(12): 2937–2947.
- Racusen L.C., Colvin R.B., Solez K. et al.** (2003) Antibody-mediated rejection criteria- an addition to the Banff-97 classification of renal allograft rejection. *Am. J. Transplant.*, 3(6): 708–714.
- Racusen L.C., Solez K., Colvin R.B. et al.** (1999) The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.*, 55(2): 713–723.
- Rangel E.B., Moura L.A., Franco M.F., Pacheco-Silva A.** (2006) Up-regulation of cyclooxygenase-2 in different grades of acute

human renal allograft rejection. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 634.

**Raulf F., Saint-Mezard P., Zhang H. et al.** (2006) Transcriptional profiling of renal allograft biopsies and peripheral blood for differential diagnosis: establishing robust rejection signatures. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 691–692.

**Regele H., Bohmig G.A., Habicht A. et al.** (2002) Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: a contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 13(9): 2371–2380.

**Rifle G., Mousson C., Martin L. et al.** (2005) Donor-specific antibodies in allograft rejection: clinical and experimental data. *Transplantation*, 79(3 Suppl.): S14–S18.

**Rodriguez-Iturbe B., Pons H., Herrera-Acosta J., Johnson R.J.** (2001) Role of immunocompetent cells in nonimmune renal diseases. *Kidney Int.*, 59(5): 1626–1640.

**Sarwal M., Chua M., Kambham N. et al.** (2003) Molecular heterogeneity in acute renal allograft rejection by DNA microarray profiling. *N. Engl. J. Med.*, 349(2): 125–138.

**Schratzberger G., Mayer G.** (2002) Chronic allograft failure: a disease we don't understand and can't cure? *Nephrol. Dial. Transplant.*, 17(8): 1384–1390.

**Szederkenyi E., Liptak P., Morvay Z. et al.** (2006) Role of protocol biopsies in optimizing immunosuppression therapy after kidney transplantation. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 641.

**Takemoto S.K., Zeevi A., Feng S. et al.** (2004) National conference to assess antibody-mediated rejection in solid organ transplantation. *Am. J. Transplant.*, 4(7): 1033–1041.

**Torrealba J.R., Fernandez L.A., Kamaz T. et al.** (2003) Immunotoxin-treated rhesus monkeys: a model for renal allograft chronic rejection. *Transplantation*, 76(3): 524–530.

**Tsai E.W., Rianthavorn P., Gjertson D.W., Ettenger R.B.** (2006) CD20+ lymphocytes in renal allografts are associated with poor graft survival in pediatric patients. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 409.

**Veronese F.V., Noronha I.L., Manfro R.C. et al.** (2004) Prevalence and immunohistochemical findings of subclinical kidney allograft rejection and its association with graft outcome. *Clin. Transplant.*, 18(4): 357–364.

**Vitalone M., Nankivell B., Fung C. et al.** (2006a) Microarrays detect profibrotic gene expression in human renal allograft early after transplantation associated with chronic allograft nephropathy. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 423.

**Vitalone M., O'Connell P.J., Fung C. et al.** (2006b) Epithelial-to-mesenchymal transition in chronic allograft nephropathy. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 351.

**Wang Y., Li L., Ji S. et al.** (2006) Prevalence and clinical significance of C4d deposition in 161 consecutive protocol biopsies after cadaveric kidney transplantation. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 461.

**Yilmaz S., Gonul I., Sar A. et al.** (2006) Does interstitial inflammation have a value in the Banff 97 chronic/sclerosing lesion scoring? In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 457–458.

**Yin J.L., Hambly B.D., Bao S.S. et al.** (2003) Expression of growth arrest-specific gene 6 and its receptors in dysfunctional human renal allografts. *Transpl. Int.*, 16(9): 681–688.

**Zegarska J., Paczek L., Ziolkowski J. et al.** (2006) Increased tumor necrosis factor- $\alpha$  mRNA expression in the arterial wall of human renal allografts with chronic allograft nephropathy. In: Abstracts of the World Transplant Congress, July 22–27, 2006, Boston, p. 644.

## МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ ТРАНСПЛАНТОВАНОЇ НИРКИ – ШЛЯХ ДО ЗБІЛЬШЕННЯ СТРОКУ ЇЇ ВИЖИВАННЯ

*А.В. Траїлін, Т.М. Никоненко*

**Резюме.** В огляді на підставі аналізу літератури та власного досвіду роботи обґрунтовується необхідність моніторингу стану ниркового алотрансплантата шляхом планових біопсій. Розглядаються діагностичні можливості рутинних гістологічних, імуногістохімічних та молекулярно-генетичних методів дослідження біопсійного матеріалу. Наводяться феномени, характерні для найбільш поширених форм патології трансплантованої нирки. Зроблено висновок про доцільність поєднання декількох методів дослідження у режимі моніторингу для своєчасної та якісної діагностики різних форм патології ниркового алотрансплантата, що сприятиме збільшенню тривалості його життя.

**Ключові слова:** нирковий алотрансплантат, моніторинг, біопсія, імуногістохімія, молекулярно-генетичні методи.

## MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC MONITORING OF KIDNEY ALLOGRAFT – IS THE WAY TO INCREASE THE TERM OF ITS LIFE SPAN

*A.V. Trailin, T.N. Nikonenko*

**Summary.** In the present review the necessity of kidney allograft monitoring by the protocol biopsies is validated. The diagnostic possibilities of routine histological, immunohistochemical and molecular-genetic methods are examined. The pathological phenomena, characteristic for the most frequent diseases of kidney allograft, are given. The authors makes a conclusion about the necessity of complex diagnostics of the kidney allograft pathology by means of several different methods. This approach allows to improve early diagnostics of different forms of kidney allograft pathology and will contribute to the increase of the kidney allograft life span.

**Key words:** kidney allograft, monitoring, biopsy, immunohistochemistry, molecular-genetic methods.

### Адрес для переписки:

Траїлін Андрей Вячеславович  
69096, Запорожье, бульв. Винтера, 20  
Запорожская медицинская академия  
последипломного образования,  
кафедра лабораторной диагностики  
и общей патологии  
E-mail: andrei\_trailin@ukr.net