

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ФУНКЦИИ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА (ПАТ) В ПЕРВЫЙ ГОД ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ

Траилин А.В.², Никоненко Т.Н.², Никоненко А.С.^{1, 2}, Остапенко Т.И.¹,
Поляков Н.Н.^{1, 2}, Павлов П.В.³, Покрова О.Д.³

¹ Запорожский межрегиональный центр трансплантации

² Запорожская медицинская академия последипломного образования

³ Днепропетровская областная клиническая больница им. И.И. Мечникова

Проведен ретроспективный анализ влияния гистологических изменений в донорской почке на функцию ПАТ в течение первого года у 75 реципиентов трупной почки. В гистологических срезах «0»-биопсий методом полуколичественной оценки характеризовали состояние клубочков, канальцев, сосудов и стромы. Оценивали уровень креатинина крови и скорость клубочковой фильтрации в 3, 6 и 12 месяцев. Функция ПАТ в первый год его жизни программируется морфологическими изменениями во всех компартаментах донорской почки. Влияние этих изменений времязависимо: эффект ишемического повреждения проявляется в 3 месяца, но нивелируется после 6 месяцев; эффект артериологиалиноза и артериосклероза начинает проявляться с 6 месяцев; изменения в клубочках оказывают влияние на функцию ПАТ в 3 месяца и в 1 год; интерстициальный фиброз коркового и мозгового вещества негативно влияет на функцию ПАТ на протяжении всего первого года. Считаем целесообразным гистологическое исследование «0»-биопсий для прогнозирования последующей функции ПАТ.

Ключевые слова: трансплантация почки, «0»-биопсии, морфологическая диагностика, функция и выживание аллотрансплантата

MORPHOLOGICAL PREDICTORS OF KIDNEY ALLOGRAFT (KAG) FUNCTION DURING FIRST POSTTRANSPLANT YEAR

Trailin A.V.¹, Nikonenko T.N.¹, Nikonenko A.S.^{1, 2}, Ostapenko T.I.²,
Polyakov N.N.^{1, 2}, Pavlov P.V.³, Pokrova O.D.³

¹ Zaporizhzhya interregional transplantation centre

² Zaporizhzhya medical academy of postgraduate education

³ Dnypropetrovsk Mechnikov regional clinical hospital

The retrospective analysis of the influence of histological changes in donor kidneys on the KAG function during first year was conducted in 75 recipients of a cadaveric kidney. The state of tubuli, glomeruli, interstitium, vessels was assessed semiquantitatively in the material of «0»-biopsies. The endpoints were serum creatinine and glomerular filtration rate at 3, 6 and 12 months. KAG function in the first year is programmed by histological changes in all compartments of donor kidney. Influence of histological changes is time-dependent: the effect of ischemic damage shows up quickly, but disappeared after 6 months; the effect of arteriolo-hyalinosis and arteriosclerosis begins to show up later – since 6 months; changes in glomeruli have influence on a KAG function in 3 months and 1 year; interstitial fibrosis in cortex and medulla negatively influences KAG function on the extent of all first year. Our data argue for the necessity of «0»-biopsies examination for the prediction of KAG subsequent function.

Key words: kidney transplantation, «0»-biopsies, morphological diagnostics, allograft function and survival

Статья поступила в редакцию 15.10.09 г.

Контакты: Траилин Андрей Вячеславович, доцент, к. м. н., Запорожская медицинская академия последипломного образования, г. Запорожье, Украина. Тел.: +38-061-279-17-19, +38-050-940-92-76, e-mail: andrei_trailin@ukr.net

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время отдаленные результаты трансплантации почки остаются неудовлетворительными [9]. Риск развития хронической дисфункции ПАТ определяется сочетанным воздействием повреждающих факторов иммунной и неиммунной природы на всех стадиях его жизни [13].

Среди неиммунных факторов одним из наиболее значимых является состояние пересаживаемого органа. Первую информацию о пригодности почки для пересадки дают результаты клинико-лабораторных исследований. Вместе с тем, как показывает практика, функция ПАТ не всегда коррелирует с его морфологией. Во многих центрах оценка пригодности почки для трансплантации осуществляется визуально при ее макроскопическом обследовании [14]. Однако наиболее ценным методом оценки является гистологическое исследование биоптата донорской почки [5, 8, 12].

Данное исследование проведено с целью выявления морфологических предикторов нарушения функции ПАТ в течение первого года после трансплантации, поскольку функция ПАТ в этот период и ее индикаторы – сывороточный креатинин, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) [3] – являются важными параметрами, влияющими на долговременное выживание.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования послужили 75 трансплантаций почки от трупных доноров (10 из них – NHBD, остальные – доноры с бьющимся сердцем и диагностированной смертью мозга).

При всех пересадках выполнялись 2 протокольные биопсии: на дотрансплантационном этапе (по окончании периода холодовой ишемии) и интра-трансплантационном (через 30 минут после восстановления кровотока в почке).

Серийные парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, ШИК, трихромом по Массону. При обнаружении патологии клубочков срезы дополнительно окрашивали периодической кислотой-метенамином серебра для оценки состояния базальных мембран клубочковых капилляров.

Состояние канальцев характеризовали по следующим параметрам: распространенность (0–4) ишемического повреждения (ИП) канальцевого эпителия до и после реперфузии, степень атрофии канальцев (АК, 0–4) в зависимости от процента пораженной паренхимы [1]. Состояние стромы оценивалось по площади фиброза интерстиция в срезе (0–4) отдельно для коркового (ИФ) и мозгового вещества почек (ИФм). В клубочках оценивали: наличие утолщения базальных мембран (БМ, 0–4),

увеличение мезангиального матрикса (ММ, 0–4), клеточность (0/1), процент полностью склерозированных клубочков (ПСК, 0–100), процент клубочков с полным и сегментарным склерозом (ПССК, 0–100) [1]. При оценке клеточности за «0» принимали нормальное количество клеток в клубочках (80–120), за «1» – гиперклеточность. Степень сужения просвета артерий за счет артериосклероза (АС) оценивалась в наиболее пораженных из них по шкале (0–4) [1]. Степень артериологиалиноза (АГ) также оценивали в баллах в зависимости от степени сужения и количества пораженных артериол (0–4).

Ретроспективно были проанализированы истории болезни и амбулаторные карты реципиентов для оценки уровня креатинина в крови. Скорость клубочковой фильтрации рассчитывали по формуле Кокрофта–Гаульта. Оценивали цензурированную смертью с функционирующим ПАТ потерю графтов в течение 3-летнего периода наблюдений.

Выживание ПАТ оценивалось по методу Каплана–Мейера [6]. Для оценки влияния отдельных гистологических изменений на выживаемость ПАТ применяли лог-рэнк-тест. Влияние гистологических изменений в донорской почке на функцию ПАТ оценивалось методом множественной регрессии. Для попарного сравнения групп использовались Mann–Whitney U-тест. Результаты выражали в виде медианы и межквартильного размаха. Все виды анализа выполнялись с использованием программы Статистика 7,0 (StatSoft Inc., USA). Отличия между группами и предсказательная ценность критерия считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Актурная годовичная выживаемость ПАТ составила 100%, 2-летняя – 95%, 3-летняя – 93%, что соответствует мировым стандартам [9].

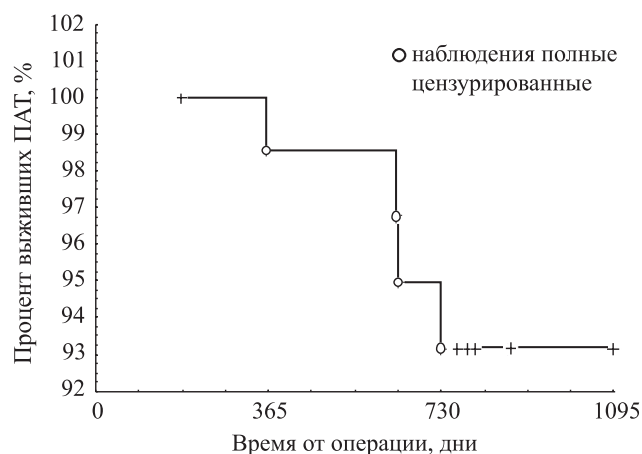


Рис. 1. Актурная выживаемость ПАТ, рассчитанная по методу Каплана–Мейера

Не было установлено достоверного влияния ни одного из морфологических параметров на актуарную выживаемость ПАТ.

Применение метода множественной регрессии позволило установить морфологические предикторы концентрации креатинина (табл. 1) и СКФ (табл. 2) в 3, 6 и 12 месяцев. Концентрация креатинина в 3 месяца достоверно (и в наибольшей степени – Beta = 0,40) зависела от степени ИП в интраоперационных биопсиях, а также от степени утолщения БМ клубочков и процента ПСК. Концентрация креатинина в 6 месяцев достоверно зависела от степени ИП в интраоперационных биопсиях, степени артериосклероза и артериологиалиноза, причем последний оказывал наибольшее влияние (Beta = 0,38). Концентрация креатинина в 1 год достоверно зависела от степени артериосклероза в ПАТ на момент пересадки.

Средняя СКФ в 6 месяцев у наших пациентов составила 65 ± 21 мл/мин/1,73 м².

СКФ в 3 месяца достоверно и негативно зависела от степени ИП в интраоперационных биопсиях, степени ИФ коры и процента ПССК, причем изменения в клубочках оказывали наименьшее влияние. СКФ в 6 месяцев достоверно и негативно зависела от степени ИП в интраоперационных биопсиях, степени ИФ коры и артериологиалиноза, причем последний оказывал наибольшее влияние (Beta = -0,36). СКФ в 1 год достоверно и негативно зависела от степени ИФ мозгового вещества и %ПСК на момент пересадки. В этом сроке эффект доли склерозированных клубочков превалировал (табл. 2).

Далее все гистологические изменения в ПАТ на момент пересадки были классифицированы как легкие (0, 1, 2-я степень, <10 – 1-я группа) и выра-

Таблица 1

Влияние морфологических изменений в донорских почках на концентрацию сывороточного креатинина (приведены только достоверные данные)

Оцениваемые параметры	3 месяца		6 месяцев		12 месяцев	
	Beta	p	Beta	p	Beta	p
ИП после реперфузии	0,40	0,006	0,33	0,007		
БМ	0,33	0,006				
% ПСК	0,24	0,05				
АС			0,25	0,05	0,29	0,03
АГ			0,38	0,003		

Таблица 2

Влияние морфологических изменений в донорских почках на СКФ

Оцениваемые параметры	3 месяца		6 месяцев		12 месяцев	
	Beta	p	Beta	p	Beta	p
ИП после реперфузии	-0,45	0,002	-0,31	0,02		
ИФ	-0,49	0,004	-0,30	0,04		
ИФ _м					-0,29	0,04
% ПСК					-0,46	0,01
% ПССК	-0,32	0,017				
АГ			-0,36	0,01		

Примечание. Beta – стандартизованный коэффициент регрессии

Таблица 3

Уровни сывороточного креатинина в 3, 6 и 12 месяцев после трансплантации у пациентов с легкими (1-я группа) и выраженными (2-я группа) гистологическими изменениями в донорских почках

Оцениваемые параметры	3 мес.		6 мес.		12 мес.	
	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
ИП до	118 (104–154)	128 (107–160)	130 (105–152)	131 (103–170)	139 (119–173)	120 (102–140)
ИП после	107 (95–121)	128 (106–160)	112 (92–157)	132 (106–163)	130 (106–148)	125 (104–149)
ИФ	119 (104–160)	138 (111–158)	128 (100–155)	140 (128–170)	122 (103–141)	142 (112–168)
ИФ _м	116 (103–157)	135 (109–159)	128 (99–158)	133 (120–168)	120 (96–146)	136 (111–159)
АК	117 (104–160)	135 (109–159)	128 (99–165)	133 (115–152)	120 (102–176)	134 (112–145)
БМ	113 (101–139)	150 (114–175)	126 (93–151)	147 (128–176)	126 (104–141)	135 (104–177)
ММ	114 (104–144)	154 (117–165)	130 (100–159)	133 (123–170)	123 (102–141)	136 (107–168)
Клеточность	115 (95–160)	128 (109–156)	119 (93–150)	137 (113–168)	125 (99–177)	123 (105–149)
% ПСК	117 (104–156)	128 (102–160)	128 (103–152)	145 (115–172)	120 (101–144)	136 (119–206)
АС	117 (104–154)	142 (109–176)	128 (101–158)	151 (135–176)	124 (104–145)	191 (106–282)
АГ	117 (104–156)	136 (109–159)	128 (101–150)	168 (145–189)	120 (102–141)	168 (123–269)

Таблица 4

СКФ в 3, 6 и 12 месяцев после трансплантации у пациентов с легкими (1-я группа) и выраженными (2-я группа) гистологическими изменениями в донорских почках

Оцениваемые параметры	3 мес.		6 мес.		12 мес.	
	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
ИП до	65 (53–77)	59 (44–72)	61 (50–75)	58 (44–74)	60 (42–73)	65 (47–75)
ИП после	63 (59–76)	60 (46–74)	62 (49–85)	61 (46–75)	61 (48–70)	63 (45–74)
ИФ	63 (49–76)	52 (43–70)	62 (50–75)	46 (37–66)	65 (47–76)	50 (38–67)
ИФм	63 (49–76)	57 (45–74)	64 (51–75)	57 (45–74)	65 (45–76)	60 (43–68)
АК	63 (48–74)	59 (42–46)	60 (50–76)	61 (45–74)	64 (45–76)	59 (47–70)
БМ	66 (49–77)	53 (44–67)	66 (51–76)	52 (38–67)	63 (48–76)	62 (42–73)
ММ	63 (48–76)	51 (45–73)	61 (50–74)	56 (37–77)	61 (47–75)	67 (40–73)
Клеточность	71 (48–79)	60 (46–71)	68 (56–80)	55 (42–69)	61 (44–76)	64 (45–73)
% ПСК	63 (48–77)	59 (42–72)	62 (50–78)	57 (37–66)	64 (48–76)	52 (33–68)
АС	63 (48–76)	47 (42–63)	62 (50–75)	45 (31–51)	64 (46–75)	32 (25–64)
АГ	63 (49–76)	47 (43–63)	66 (52–77)	43 (31–46)	64 (49–76)	38 (31–54)

женные (3–4-я степень, % ПСК ≥ 10 – 2-я группа), и показатели функции ПАТ сравнены в 2 группах.

Выраженная степень утолщения БМ закономерно приводила к достоверно более высоким показателям креатинина ($p < 0,05$) крови (и соответственно, более низким показателям СКФ – $p < 0,05$) в 3 и 6 месяцев (табл. 3, 4), а выраженная степень увеличения ММ влияла только на показатель креатинина крови в 3 месяца ($p < 0,05$).

Гиперклеточность клубочков была связана со снижением СКФ в 6 месяцев (табл. 4, $p < 0,05$).

В случае если ГС в имплантационных биопсиях превышал 10%, то концентрация креатинина в 1 год была достоверно ($p < 0,05$) повышена (а СКФ снижена – $p < 0,05$) по сравнению с ГС менее 10% (табл. 3, 4).

Выраженная степень ИФ приводила к более низким показателям СКФ в 1 год ($p < 0,05$, табл. 4).

Выраженная степень артериосклероза провоцировала достоверно более высокие показатели креатинина сыворотки (и низкую СКФ) на всех этапах наблюдения ($p < 0,05$, табл. 3, 4). Выраженная степень артериологиалиноза вела к снижению СКФ на всех этапах наблюдения, хотя креатинин был повышен только в 6 и 12 месяцев ($p < 0,05$, табл. 3, 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Целью данного исследования было выявление морфологических предикторов нарушения функции ПАТ в течение первого года после трансплантации, которая, в свою очередь, является важной составляющей для прогнозирования срока жизни пересаженного органа [3]. Так, известно, что первые месяцы послеоперационного периода во многом опреде-

ляют судьбу пересаженной почки [3]. Клинически первыми признаками хронической недостаточности ПАТ являются повышение креатинина в сыворотке крови, снижение СКФ и остро развивающаяся протеинурия [3]. Хотя за период с 1991-го по 2000 год в мире отмечалось улучшение функции ПАТ трупного происхождения (СКФ в 6 месяцев возросла от 49,9 мл/мин/1,73 м² до 54,6 мл/мин/1,73 м²) [7], четкая связь концентрации сывороточного креатинина в 6 месяцев и выживания ПАТ в сроки 1 год и 5 лет сохраняется [3].

Нами показано, что преобладающая патология донорской почки, которая усугубляется ее ишемическим повреждением на перитрансплантационном этапе, негативно отражается на функции ПАТ. Проведенный анализ позволил выявить морфологические предикторы состояния функции ПАТ в 3, 6 и 12 месяцев. Эффект ИП проявляется быстро – в 3 месяца – и является наиболее сильным в этом сроке, но нивелируется после 6 месяцев (по-видимому, уступая место влиянию ИФ в зонах необратимо поврежденных канальцев). Напротив, эффект артериологиалиноза и артериосклероза начинает проявляться позже – начиная с 6 месяцев.

Изменения в клубочках начинают оказывать влияние на функцию ПАТ уже в 3 месяца, а затем, по-видимому, компенсируются за счет гиперфилтрации в неповрежденных клубочках к 6 месяцам. К 1 году их эффект усиливается и вновь приобретает достоверное влияние на функцию ПАТ (видимо, вследствие прогрессирования патологии). Согласно данным Muramatsu M. и соавт. [10], гломерулосклероз в «0»-биопсиях значительно усугубляет последующие морфологические изменения в ПАТ и краткосрочный прогноз (но не долговременный).

Интерстициальный фиброз коркового и мозгового вещества негативно влияет на функцию ПАТ на протяжении всего первого года.

Степени утолщения БМ и увеличения ММ, характеризующие состояние фильтрационного барьера, были достоверно связаны с функцией ПАТ (табл. 3, 4).

Гиперклеточность клубочков ассоциировалась со снижением СКФ в 6 месяцев. Гиперклеточность может свидетельствовать о воспалительной природе поражения и формироваться за счет пролиферации мезангиальных, эпителиальных, эндотелиальных клеток. В то же время определенный вклад в формирование показателя клеточности клубочков вносят инфильтрирующие его лейкоциты. Поэтому трансплантаты, клубочки которых в большей степени инфильтрированы лейкоцитами, подвержены более высокому риску развития ОРО в ранний послеоперационный период.

Склерозирование более 10% клубочков в имплантационных биопсиях негативно отражалось на функции ПАТ в 1 год. По данным литературы, степень гломерулосклероза в донорских почках является независимым предиктором СКФ в 3 месяца [5, 8].

Изменения сосудов оказывали достоверное негативное влияние на функцию ПАТ: поражения артерий и артериол донорской почки провоцировали снижение СКФ на всех этапах наблюдения.

В литературе имеются данные о связи васкулопатии донорских почек и снижения выживаемости ПАТ [4]. Так, например, в работе [2] показано, что более 50% «0»-биопсий характеризуются наличием фиброэластоа интимы артерий или артериологлиноза, а в 18% биопсий степень сужения артерий достигает 25–50% и увеличивается с возрастом донора.

В случае такого значительного сужения у реципиентов отмечаются повышенные показатели креатинина сыворотки в 3 и 6 месяцев или потеря ПАТ в срок 1 год [8, 12].

Таким образом, нами показано, что предшествующая патология донорских почек (васкулопатия, гломерулопатия, ИФ) ведет к раннему нарушению функции ПАТ. Вместе с тем даже выраженные гистологические изменения достоверно не влияют на актуарную выживаемость ПАТ в течение 3-летнего периода наблюдений.

Анализ полученных результатов показал зависимость исходного состояния донорской почки и функции ПАТ в течение первого года, что согласуется с данными других исследователей [5, 8, 12]. С целью прогнозирования нарушения функции ПАТ мы считаем целесообразным выполнять исследование «0»-биопсий для оценки состояния органа и определения риска нарушения функции ПАТ.

Обеспечить оптимальную функцию ПАТ в течение первого года можно путем сокращения времени холодовой ишемии, подбора оптимальной пары донор–реципиент, применением противоишемической и антирадикальной защиты во время операции, отказом от нефротоксических агентов и применением других терапевтических подходов, которым посвящен ряд обзоров [4, 11].

ВЫВОДЫ

1. Функция ПАТ в первый год его жизни программируется морфологическими изменениями во всех компартментах донорской почки – клубочках, канальцах, сосудах и строме.
2. Влияние морфологических изменений времязависимо: эффект ишемического повреждения наиболее сильно проявляется в срок 3 месяца, но нивелируется после 6 месяцев; эффект артериологлиноза и артериосклероза начинает проявляться позже – начиная с 6 месяцев; изменения в клубочках оказывают влияние на функцию ПАТ в 3 месяца и в 1 год; интерстициальный фиброз коркового и мозгового вещества негативно влияет на функцию ПАТ на протяжении всего первого года.
3. Считаем целесообразным гистологическое исследование «0»-биопсий для прогнозирования последующей функции ПАТ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Трашлин А.В., Никоненко Т.Н., Никоненко А.С. и др. Влияние состояния донорской почки на начальную функцию почечного аллотрансплантата // Украинский журнал нефрологии и диализа. 2009. Т. 21. № 1. С. 7–11
2. Bosmans J.L., Woestenburg A., Ysebaert D.K. et al. Fibrous intimal thickening at implantation as a risk factor for the outcome of cadaveric renal allografts // *Transplant.* 2000. V. 69. № 11. P. 2388–2394.
3. First M.R. Renal function as a predictor of long-term graft survival in renal transplant patients // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003. Vol. 18. P. i3–i6.
4. Halloran P.F., Hunsicker L. Delayed Graft Function: State of the Art // *Am. J. Transplantation.* 2001. Vol. 1. P. 115–120.
5. Ibernon M., González-Segura C., Moreso F. et al. Donor Structural and Functional Parameters Are Independent Predictors of Renal Function at 3 Months // *Transplant. Proc.* 2007. P. 2095–2098.
6. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations // *J. Am. Stat. Assoc.* 1958. Vol. 53. P. 457–481.
7. Keith D.S., deMattos A., Golconda M. et al. Factors Associated with Improvement in Deceased Donor Renal Allograft Function in the 1990s // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005. Vol. 16. P. 1512–1521.

8. *Lopes J.A., Moreso F., Riera L. et al.* Evaluation of pre-implantation kidney biopsies: Comparison of Banff criteria to a morphometric approach // *Kidney International*. 2005. Vol. 67. P. 1595–1600.
9. *McDonald S., Excell L.* ANZDATA Registry Report 2004. Adelaide: 2004. 250 p.
10. *Muramatsu M., Miyagi M., Ishikawa Y. et al.* Baseline glomerular sclerosis influences morphological changes, but not level of serum creatinine // *Transplant Proc.* 2005. Vol. 37. № 2. P. 709–711.
11. *Perico N., Cattaneo D., Sayegh M.H. et al.* Delayed graft function in kidney transplantation // *Lancet*. 2004. Vol. 364. P. 1814–1827.
12. *Pokorná E., Vítko S., Chadimova M. et al.* Adverse effect of donor arteriosclerosis on graft outcome after renal transplantation // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000. Vol. 15. P. 705–710.
13. *Ponticelli C.* Renal transplantation 2004: where do we stand today? // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2004. Vol. 19. № 12. P. 2937–2947.
14. *Remuzzi G., Grinyo J., Rugenenti P. et al.* A Early Experience with Dual Kidney Transplantation in Adults using Expanded Donor Criteria // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999. Vol. 10. P. 2591–2598.