

© А.В. Траилин, Т.Н. Никоненко, А.С. Никоненко, Т.И. Остапенко, И.С. Кузьминова, Н.Н. Поляков, П.В. Павлов, А.О. Горелик, О.В. Пастухов, И.А. Лактионов, 2009

УДК: 616.61-089.843-076-037

А.В. ТРАИЛИН, Т.Н. НИКОНЕНКО, А.С. НИКОНЕНКО, Т.И. ОСТАПЕНКО, И.С. КУЗЬМИНОВА, Н.Н. ПОЛЯКОВ, П.В. ПАВЛОВ, А.О. ГОРЕЛИК, О.В. ПАСТУХОВ, И.А. ЛАКТИОНОВ
A.V. TRAILIN, T.N. NIKONENKO, A.S. NIKONENKO, T.I. OSTAPENKO, I.S. KUZMINOVA, N.N. POLYAKOV, P.V. PAVLOV, A.O. GORELIK, O.V. PASTUCHOV, I.A. LAKTIONOV

ВЛИЯНИЕ СОСТОЯНИЯ ДОНОРСКОЙ ПОЧКИ НА НАЧАЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА *THE INFLUENCE OF DONOR KIDNEY STATE ON THE INITIAL KIDNEY ALLOGRAFT FUNCTION*

Запорожский межрегиональный центр трансплантации
Запорожская медицинская академия последипломного образования

Ключевые слова: донорская почка, аллотрансплантация, пункционные биопсии, морфологическое исследование, отсроченная функция.

Резюме. Анализ исходного состояния донорской почки выявил те из морфологических параметров, которые достоверно отличаются между группами пациентов с немедленной и отсроченной функцией аллотрансплантата. Установлено, что на начальную функцию почечного аллотрансплантата достоверно влияют степень интерстициального фиброза коркового вещества, клеточность клубочков, степень артериосклероза и артериологалиноза, однако только степень артериологалиноза имеет индивидуальную прогностическую ценность. Срочная оценка состояния донорской почки необходима для снижения риска отсроченной функции аллотрансплантата путем выбора оптимальной терапевтической тактики.

Summary. The analysis of donor kidney state revealed that some morphological parameters are different between groups with immediate and delayed graft function. Interstitial fibrosis of the cortex, cellularity of the glomerulus, the degree of arteriosclerosis and arteriologalinosis significantly influenced initial graft function. Nevertheless, only arteriologalinosis has an individual predictive value. Urgent evaluation of donor kidney state is essential for the choice of optimal therapeutic regimen and minimization of delayed graft function risk.

Вступление. Дисфункция почечного аллотрансплантата (ПАТ) развивается в результате воздействия на ПАТ повреждающих факторов иммунной и неиммунной природы на всех стадиях его жизни [5]. Благодаря достижениям иммуносупрессивной терапии в настоящее время удалось минимизировать частоту острых реакций отторжения (ОРО). Однако это не привело к увеличению средней продолжительности жизни пересаженных почек, так как в патогенезе дисфункции ПАТ не менее значимы такие факторы неиммунной природы как предсуществующие поражения почек, ишемические и реперфузионные повреждения [8].

Основным клиническим проявлением повреждения ПАТ на пред- и интратрансплантационном этапах является отсроченная функция почечного аллотрансплантата (ОФА). ОФА ассоциируется с высоким риском ОРО, послеоперационной летальностью, пролонгированным периодом госпитализации после трансплантации, усложняет иммуносупрессивную терапию и укорачивает срок жизни ПАТ [6].

Данное исследование проведено с целью выявле-

ния морфологических предикторов ОФА и усовершенствования существующих критериев определения пригодности донорской почки для трансплантации.

Материал и методы. В Запорожском межрегиональном центре трансплантации с 2005 г. по 2007 г. выполнена 71 трансплантация почек от трупных доноров (10 из них - NHBD, остальные - доноры с бьющимся сердцем и диагностированной смертью мозга) и 19 пересадок от родственных доноров. Все реципиенты к моменту пересадки были диализзависимыми.

При всех пересадках выполнялись 2 протокольные биопсии: на дотрансплантационном и интратрансплантационном этапах. При пересадках трупных почек первая биопсия осуществлялась по окончании периода холодовой ишемии, а при пересадках родственных почек - непосредственно перед нефрэктомией. Вторая биопсия выполнялась через 30 минут после восстановления кровотока в почке.

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

А.В. Траилин

Состояние канальцев характеризовали по следующим параметрам - тяжесть (0-4) и распространенность (0-4) ишемического повреждения (ИП) канальцевого эпителия до и после реперфузии, степень атрофии канальцев (АК, 0-4). При этом ИП 1 степени тяжести проявлялось утратой эпителиоцитами щеточной каемки и незначительными дистрофическими изменениями в них. ИП 2 степени проявлялось очагами гидропической и/или гиалиновокапельной дистрофии (от дистрофии отдельных клеток до тотальной дистрофии всех клеток в сечении канальца), отсутствием отдельных клеток, слущенными клетками и детритом в просвете канальцев (особенно дистальных). ИП 3 степени диагностировалось при диффузной гидропической и/или гиалиново-капельной дистрофии эпителия и очагах некроза канальцев, а ИП 4 степени - при выявлении тотального некроза канальцев в биоптате с оголением базальных мембран, тубулорексисом и тубулолизисом. Распространенность ИП канальцевого эпителия и степень АК определяли следующим образом: 0-5% паренхимы коркового вещества в срезе - отсутствие поражения, 6-25% - 1 степень, 25-50% - 2 степень, 50-75% - 3 степень, больше 75% - 4 степень.

Состояние стромы оценивалось по площади фиброза интерстиция в срезе отдельно для коркового (ИФ) и мозгового вещества почек (ИФм). Распространенность поражения (0-4) определялась с использованием вышеуказанной градации.

В клубочках оценивали: наличие утолщения базальных мембран (БМ, 0-4), увеличение мезангиального матрикса (ММ, 0-4), клеточность (0/1), процент полностью склерозированных клубочков (0-100), процент клубочков с сегментарным склерозом (0-100) и процент измененных клубочков (0-100), т.е. с отклонением вышеуказанных параметров от нормы. Степень утолщения базальных мембран клубочков оценивалась по количеству измененных капиллярных петель: 0-5% капиллярных петель с утолщенными базальными мембранами в наиболее пораженных клубочках - отсутствие поражения, 6-25% - 1 степень, 25-50% - 2 степень, 50-75% - 3 степень, больше 75% - 4 степень. Увеличение мезангиального матрикса регистрировали, в случае если пространство между двумя соседними капиллярами клубочка расширялось и превышало размер двух мезангиальных клеток; степень увеличения определяли по аналогии со степенью утолщения базальных мембран. При оценке клеточности за "0" принимали нормальное количество клеток в клубочках (80-120), за "1" - гиперклеточность.

Степень сужения просвета артерий за счет артериосклероза оценивалась в наиболее пораженных из них по следующей шкале (0-4): 0-5% сужение просвета - отсутствие поражения, 6-25% - 1 степень, 25-50% - 2 степень, 50-75% - 3 степень, больше 75% - 4 степень. При оценке степени артериологиалиноза (0-4) за "0" принимали отсутствие ШИК-позитивного гиалиноза артериол, 1 - легкий (без видимого сужения просвета, часто не занимающий всей окружности среза артерии) артериологиалиноз в одной артериоле; 2 - легкий в двух и более артериолах или умеренный (с сужением просвета артериолы до 50%) в одной артериоле, 3 - умеренный в двух и более артериолах или тяжелый (с сужением просвета артериолы более 50%) в одной артериоле, 4 - тяжелый в нескольких артериолах.

Были проанализированы истории болезни реципиентов для характеристики начальной функции ПАТ: немедленная или отсроченная. При этом ОФА определяли как нарушение водо- и/или азотовыделительной функции ПАТ, что у большинства пациентов требовало проведения диализа в течение первой недели после трансплантации в отсутствие отторжения, сосудистых осложнений и обструкции мочевыводящих путей [10].

Результаты выражали в виде среднего значения со стандартным отклонением ($\text{mean} \pm \text{SD}$). Достоверность отличий между средними величинами в группах пациентов с ОФА и с немедленной функцией ПАТ определяли с использованием Mann-Whitney U-теста и χ^2 -теста. Сравнение степени тяжести и распространенности ИП до и после реперфузии проводили с помощью критерия Вилкоксона для зависимых выборок. Наличие связи между параметрами морфологического состояния ПАТ оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Для определения влияния каждого из морфологических параметров на вероятность развития ОФА сначала применяли метод моновариантной логистической регрессии. Только для тех из морфологических параметров, которые достоверно ($p < 0.05$) продемонстрировали индивидуальную предсказательную ценность, выполняли мультивариантный анализ. Все виды анализа выполнялись с использованием программы Статистика 6.0 (StatSoft Inc., USA). Отличия между группами и предсказательная ценность критерия считались достоверными при $p < 0.05$.

Полученные результаты. Среди 90 пациентов у 20 в послеоперационный период отмечалась ОФА, что составило 22%.

Степень тяжести и распространенность ИП достоверно возрастали после реперфузии у пациентов

Таблица 1

Морфологические критерии состояния донорских почек у реципиентов с немедленной и отсроченной функцией ПАТ

Оцениваемые параметры	Немедленная функция	ОФА	p
Тяжесть ИП до реперфузии	2.2 ± 0.7	2.5 ± 0,6	0.116
Тяжесть ИП после реперфузии	2.8 ± 0.6	2.9 ± 0.4	0.902

Распространенность ИП до реперфузии	2.8 ± 1.1	2.8 ± 0.7	0.863
Распространенность ИП после реперфузии	3.3 ± 0.9	3.2 ± 0.7	0.447
ИФ	1.1 ± 0.5	1.5 ± 0.7*	0.014
ИФм	2.1 ± 0.9	2.3 ± 0.6	0.403
АК	1.2 ± 0.6	1.4 ± 0.8	0,297
БМ	1.8 ± 0.9	2.4 ± 1.1	0.056
ММ	1.7 ± 1.0	2.1 ± 1.0	0.172
Клеточность	0.5 ± 0.5	0.8 ± 0.4	0.048
Полностью склерозированные клубочки (%)	3.1	8.2 [§]	0.001
Полностью и сегментарно склерозированные клубочки (%) 7.9	9.5	0.406	
Измененные клубочки (%)	39.2	59.7 [§]	0.001
Артериосклероз	0.9 ± 1.0	1.7 ± 1.4*	0.029
Артериологиалиноз	0.7 ± 1.0	2.1 ± 1.7*	0.004

* - отличия достоверны с использованием U-критерия Манна-Уитни

§ - отличия достоверны с использованием критерия χ^2 .

с немедленной функцией ПАТ ($p < 0.001$). У пациентов с ОФА только увеличение тяжести ИП имело достоверный ($p < 0.05$) характер (табл. 1).

При сравнении изучаемых параметров между группами пациентов с немедленной функцией ПАТ и ОФА выявлены достоверные отличия (табл. 1) в степени интерстициального фиброза коркового вещества, проценте полностью склерозированных

клубочков, проценте измененных клубочков, степени артериосклероза и артериологиалиноза.

Использование метода моновариантной логистической регрессии позволило установить, что степень интерстициального фиброза коркового вещества, клеточность клубочков, степень артериосклероза и артериологиалиноза были достоверно связаны с риском развития ОФА (табл. 2).

Таблица 2

Результаты моновариантной логистической регрессии

Оцениваемые параметры	OR*	доверительный интервал	p
Тяжесть ИП до реперфузии	2.31	0.95-5.58	0.047
Тяжесть ИП после реперфузии	0.97	0.37-2.54	0.950
Распространенность ИП до реперфузии	1.07	0.61-1.88	0.810
Распространенность ИП после реперфузии	0.95	0.53-1.72	0.874
ИФ	3.87	1.24-12.06	0.012
ИФм	1.33	0.68-2.64	0.385
АК	2.00	0.80-4.98	0.117
БМ	1,90	1.00-3.64	0.048
ММ	1.51	0.84-2.71	0.153
Клеточность	3.97	1.14-13.88	0.028
Полностью склерозированные клубочки (%)	1.07	1.00-1.15	0.051
Полностью и сегментарно склерозированные клубочки (%)	1.00	0.96-1.05	0.859
Измененные клубочки (%)	1.00	0.99-1.02	0.631
Артериосклероз	1.77	1.10-2.83	0.013
Артериологиалиноз	2.03	1.34-3.08	0.001

*-OR-odds ratio (отношение шансов).

Применение мультивариантной логистической регрессии показало (табл. 3), что в комплексе перечисленные параметры были достоверно связаны с

риском развития ОФА ($p < 0.001$). Вместе с тем, только степень артериологиалиноза имела индивидуальную предсказательную ценность ($p < 0.05$).

Таблица 3

Результаты мультивариантной логистической регрессии

Оцениваемые параметры	OR	доверительный интервал	p
ИФ	0.75	0.15-3.77	0.726
Клеточность	4.67	0.98-22.17	0.048
Артериосклероз	1.51	0.81-2.85	0.190
Артериологиалиноз	1.82	1.04-3.17	0.032

Обсуждение. Известно, что одним из показателей, который программирует дальнейшую судьбу ПАТ, является его начальная функция в раннем послеоперационном периоде.

Частота ОФА у наших пациентов составила 22%. Если же этот показатель рассчитать отдельно для трупных доноров, то он составит 26,9% и практически не отличается от данных других центров. Так, по данным Shoskes D.A., Сеска J.M. [10] ОФА имела место в 25% случаев первичной пересадки трупной почки в США, Quiroga I. и соавт. [9] - в 31% случаев.

Из более чем 15 параметров морфологического состояния донорской почки только степень артериологиализации имела индивидуальную предсказательную ценность. В литературе мы не обнаружили данных о связи артериологиализации и ранней функции ПАТ, в то время как имеются данные о связи васкулопатии донорских почек и снижения выживаемости ПАТ [7]. Наши данные демонстрируют, что артериологиализация и, как следствие, хроническая ишемия почки достоверно влияют на замедленное восстановление функции ПАТ в раннем послеоперационном периоде.

Клеточность клубочков, степень ИФ коркового вещества, сужение артерий вследствие артериосклероза являются зависимыми факторами риска развития ОФА.

Так, например, очевидна связь артериологиализации и артериосклероза (у доноров с хронической гипертензией). И действительно, коэффициент корреляции Спирмена является достоверным для этих двух переменных ($R=0.43$, $p<0.001$). Также достоверна и патогенетически обоснована связь степени артериологиализации и ИФ ($R=0.52$, $p<0.001$).

Вместе с тем, связь клеточности клубочков и риска развития ОФА ($p=0.05$) заслуживает отдельного внимания. Гиперклеточность может свидетельствовать о воспалительной природе поражения и формироваться за счет пролиферации мезангиальных, эпителиальных, эндотелиальных клеток. В пользу этого свидетельствует достоверная связь гиперклеточности с утолщением БМ ($R=0.56$, $p<0.001$) и увеличением мезангиального матрикса ($R=0.51$, $p<0.001$). В то же время, определенный вклад в формирование показателя клеточности клубочков вносят инфильтрирующие его лейкоциты. Присутствие в капиллярах клубочка активированных Т-лимфоцитов и моноцитов на доимплантационном этапе является известным фактом, который был подтвержден в наших предыдущих исследованиях [3]. Таким образом, можно предположить что пациенты, клубочки которых в большей степени инфильтрированы лейкоцитами, имеют более высокий риск развития ОРО в ранний послеоперационный период, которые могут проявляться ОФА.

Установлено, что в 9,7% случаев ОФА действительно ассоциируется с ОРО, причем факторы иммунной и неиммунной природы могут действовать синергично [6, 10]. Так, известно, что ишемически-

реперфузионное повреждение может индуцировать активацию молекул клеточной адгезии и высвобождение цитокинов [6, 10]. Поэтому многие центры для предотвращения ОФА используют антилимфоцитарную терапию, а также избегают использования нефротоксических иммунодепрессантов [4]. Эти данные подтверждают необходимость прогнозирования риска развития ОФА и отбора пациентов, которые нуждаются в модулировании терапевтической тактики.

Тем не менее, в большинстве случаев ОФА и ОРО имеют независимое влияние на исход трансплантации [6, 10]. Поэтому если борьба будет направлена только на элиминацию ОРО, это не позволит добиться оптимального выживания ПАТ.

Такие параметры состояния донорской почки как степени тяжести ИП ПАТ в дооперационных биопсиях, степень утолщения базальных мембран клубочков, процент полностью склерозированных клубочков имеют погранично достоверное влияние ($p=0.05$) на риск развития ОФА и их эффект нуждается в дальнейшем уточнении.

Использование критерия степени тяжести ИП ПАТ в дооперационных биопсиях в качестве индикатора риска развития ОФА ($OR=2.31$, $p=0,05$), по нашему мнению, имеет преимущества по сравнению с оценкой ИП по его распространенности ($OR=1.07$, $p=0,81$).

Степень ИП ПАТ в интраоперационных биопсиях достоверно возрастает по сравнению с дооперационным этапом, что связано, по видимому, с дополнительным реперфузионным повреждением. Вместе с тем, не было установлено достоверного влияния этого параметра на вероятность развития ОФА, что, возможно, объясняется неодинаковой скоростью процесса регенерации канальцевого эпителия среди пациентов.

Заключение. Анализ полученных результатов показал зависимость исходного состояния донорской почки и ранней функции ПАТ, что согласуется с данными других исследователей [8-10].6

С целью снижения частоты ОФА, мы считаем целесообразным непосредственно после изъятия органов (особенно у доноров с хронической гипертензией) выполнять биопсийное исследование для оценки состояния органа и определения риска ОФА. Минимизировать риск развития ОФА можно путем строгого соблюдения принципов кондиционирования доноров, сокращения времени холодовой ишемии, подбора оптимальной пары донор-реципиент, применением противоишемической и антирадикальной защиты во время операции, отказом от нефротоксических агентов [2, 1].

ЛИТЕРАТУРА

1. Гриценко С. Н. Интраоперационная интенсивная терапия при трансплантации почек / С. Н. Гриценко, А. С. Никоненко // Вестник трансплантологии и искусственных органов.- 2000.- №1.- С. 3-7.

2. Современный взгляд на этиологию и патогенез первично нефункционирующего трансплантата почки / Беляев А.Ю., Мойсюк Я.Г., Ильинский И.М. [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов.- 1999.- №4.- С. 48-57.
3. Траилин А.В. Иммунофенотипирование лейкоцитов в комплексной диагностике поздней дисфункции почечного аллотрансплантата / А.В.Траилин, Т.Н. Никоненко // Український морфологічний альманах.- 2006.- Т.4, №4.- С.91-95.
4. Brier M.E. Prediction of delayed renal allograft function using an artificial neural network / M.E. Brier, P.C. Ray, J.B. Klein // Nephrol. Dial. Transplant.- 2003.- Vol. 18.- P. 2655-2659.
5. Colvin R.B. Chronic Allograft Nephropathy / R.B. Colvin // The New England Journal of Medicine.- 2003.- Vol. 349.- P. 2288-2290.
6. Delayed graft function: Risk factors and implications for renal allograft survival / A.O.Ojo, R.A.Wolfe, P.J. Held [et al.] // Transplant.- 1997.- Vol. 63.- P. 968-974.
7. Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome / B.J. Nankivell, C.A. Fenton-Lee, D.R. Kuypers [et al.] // Transplant.- 2001.- Vol. 27.- P. 515-523.
8. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent years / H.U. Meier-Kriesche, J.D. Schold, T.R. Srinivas [et al.] // Am. J. Transplant.- 2004.- Vol. 4.- P. 378-383.
9. Major effects of delayed graft function and cold ischaemia time on renal allograft survival / I. Quiroga, P. McShane, D.D.H. Koo [et al.] // Nephrol.Dial.Trans.- 2006.- Vol. 21.- P. 1689-1696.
10. Shoskes D.A. Deleterious effects of delayed graft function in cadaveric renal transplant recipients independent of acute rejection / D.A. Shoskes, J.M. Cecka // Transplant.-1998.- Vol. 66.- P. 1697-1701.