



Vadims Suhorukovs

**PUNKCIJU BIOPSIJAS LOMA
NIERES TRANSPLANTĀTA
PATOĻOĢISKO STĀVOKĻU
DIAGNOSTIKĀ**

Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai
Specialitāte – transplantoloģija

Rīga, 2011



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Vadims Suhorukovs

**PUNKCIJU BIOPSIJAS LOMA
NIERES TRANSPLANTĀTA
PATOĻOGISKO STĀVOKĻU
DIAGNOSTIKĀ**

(SPECIALITĀTE – TRANSPLANTOLOĢIJA)

**Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai**

**Darba zinātniskais vadītājs:
Habilitētais medicīnas doktors, profesors *R. Rozentāls*
Darba zinātniskais konsultants: profesors *I. Iljinskis***

Rīga 2011

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē, Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcā Latvijas Transplantācijas centrā, sadarbojoties ar Patoloģijas institūtu un *National Center of Pathology, Vilnius, Lithuania*.



Darbs veikts ar ESF projekta „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” Nr. 2009/ 0147/ 1DP/ 1.1.2.1.2/ 09/ IPIA/ VIAA/ 009 atbalstu.

Lietotie saīsinājumi

- AR – atgrūšanas reakcija
- AF – atlikta transplantāta funkcija
- ATN – akūta tubulāra nekroze
- ATG – anti-T limfocītu globulīns
- CMV – citomegalovīruss
- GFĀ – glomerulārās filtrācijas ātrums
- i/v – intravenozi
- MMF – mikofenolāta mofetīls
- n – izlases apjoms vai skaits
- NT – nieru transplantācija
- PF – primāra transplantāta funkcija
- p/o – perorāli (lat. *per os*)
- SAR – subklīniska atgrūšanas reakcija
- USS – ultrasonoskopiskā izmeklēšana

SATURS

1. Ievads	4
2. Literatūras apskats	6
2.1. Nieres biopsijas vēsturiskie aspekti	6
2.2. Pirms transplantācijas donora nieres biopsijas („0”-biopsijas)	7
2.3. Neatliekamas biopsijas pēkšņas nieres transplantāta disfunkcijas gadījumā	9
2.4. Protokola biopsijas	12
3. Darba mērķis, uzdevumi un hipotēzes	14
4. Darba novitāte	15
5. Materiāls un metodes	16
5.1. Pētījumu populācija	17
5.2. Pacientu izmeklēšanas metodes	18
5.3. Nieres allotransplantācija	23
5.4. Pēctransplantācijas imūnsupresija	23
5.5. 0-biopsijas	24
5.6. Protokola biopsijas	26
5.7. Neatliekamas biopsijas	28
5.8. Datu ieguve un statistiskā analīze	29
6. Rezultāti	30
6.1. „0”-biopsijas rezultātu analīze	31
6.2. Protokola biopsijas rezultātu analīze	39
6.2.1. Protokola biopsijas atliktas transplantāta funkcijas gadījumā	39
6.2.2. Protokola biopsijas primāras transplantāta funkcijas gadījumā	44
6.3. Neatliekamas biopsijas rezultātu analīze	48
7. Diskusija	55
8. Secinājumi	60
9. Praktiskās rekomendācijas	61
10. Promocijas darbu atspoguļojošas publikācijas	63
11. Ziņojumi par darba rezultātiem	64
12. Literatūras saraksts	65

1. IEVADS

Nieru transplantācija ir atzīta par „zelta standartu” hroniskas nieru mazspējas ārstēšanā. Pēdējā laikā pēc spēcīgu imūnsupresīvo medikamentu un to kombināciju ieviešanas praksē nieres transplantācijas rezultāti manāmi uzlabojas (1). Taču neskatoties uz to, ka nieres transplantātu akūtas atgrūšanas reakciju un transplantātu zudumu skaits agrīnajā pēcoperācijas periodā ievērojami samazinājies, adekvātus ilgtermiņa rezultātus nenovēro (2), un vēl joprojām nieres transplantātu hroniskas disfunkcijas ārstēšana vēlīnajā pēcoperācijas periodā ir problemātiska. Intersticiāla fibroze, tubulāra atrofija, vaskulāri bojājumi, glomeruloskleroze, kas raksturo nieres transplantāta hronisku disfunkciju, lielā mērā ir saistīti ar agrīnā pēcoperācijas perioda gaitu (3). Viens no iespējamiem faktoriem, kas nosaka iepriekš minēto tendenci, ir daudzām nieru transplantātu patoloģiskajām izmaiņām raksturīgā samērā līdzīgā klīniskā simptomātika (kreatinīna līmeņa paaugstināšanās asinīs, ķermeņa temperatūras paaugstināšanās, diurēzes samazināšanās u.c.). Tādēļ vispusīgi izvērtēt pārstādītas nieres stāvokli un veikt diferenciālo diagnozi, balstoties tikai uz klīnisko simptomātiku un laboratorisko atradni, ne vienmēr ir iespējams. Tādējādi lielu nozīmi iegūst nieres transplantāta punkcijas biopsija ar sekojošu materiāla patohistoloģisko izmeklēšanu. Atradne var palīdzēt noteikt precīzu diagnozi un izvēlēties pareizāko terapijas veidu. Ļoti svarīga ir arī pareizas diagnozes savlaicīga noteikšana, jo nepareizas vai aizkavētas ārstēšanas rezultātā nieres transplantāts var tikt pazaudēts. Tas ir īpaši aktuāli, ja agrīnā pēcoperācijas perioda attīstās akūta nieres transplantāta nepietiekamība un funkcija ir reducēta vai tās vispār nav. Šādu funkcijas iztrūkumu tūlīt pēc operācijas sauc par atliktu transplantāta funkciju (AF). Literatūras dati liecina, ka nieres funkcija vēlīnā periodā ir sliktāka pacientiem ar AF agrīnā pēcoperācijas periodā. (4-6). Šiem pacientiem akūtas atgrūšanas reakcijas risks ir lielāks, nekā pie primāras transplantāta funkcijas, un tās diagnostika pārsvarā balstās uz protokola biopsijas datiem, jo nav tipiskas atgrūšanas reakcijas klīniskās izpausmes. Tādas „slēptas” atgrūšanas reakcijas ietekme uz turpmāko nieres transplantāta funkciju nav pietiekami izpētīta (7-9).

Īpaši nozīmīga punkcijas biopsija ir subklīniskas atgrūšanas reakcijas diagnostikā, kad nav ne kreatinīna līmeņa paaugstināšanās, ne citu zināmu pazīmju (10,11). Nediagnosticētas un neārstētas subklīniskas atgrūšanas reakcijas teorētiski var provocēt nieru transplantāta hroniskas disfunkcijas attīstību vēlīnā periodā (12), taču vienota uzskata par šo akūto atgrūšanas reakciju un tās ārstēšanas ietekmi uz turpmāko transplantāta funkciju vēl joprojām nav (13). Viena no galvenajām subklīniskas atgrūšanas reakcijas diagnostikas metodēm ir tā sauktās protokola biopsijas, kuras veic plānveidīgi, neatkarīgi no nieru transplantāta stāvokļa (14). Ļoti svarīgu informāciju ir iespējams iegūt, veicot 0-biopsiju - donora nieru biopsiju vēl pirms eksplantācijas, jo pēc transplantācijas problēmas var būt saistītas ar donora nieru iepriekšēju patoloģiju (15).

Ņemot vērā iepriekš minēto, nieru transplantācijas rezultātu uzlabošanai tika izvirzīts uzdevums - izanalizēt punkcijas biopsijas rezultātus agrīnā pēcoperācijas periodā un izpētīt konstatēto pārstādītās nieru patoloģisko stāvokļu ietekmi uz turpmāko transplantāta funkciju.

2. LITERATŪRAS APSKATS

2.1. Nieres biopsijas vēsturiskie aspekti

Pirmā nieres biopsija tika veikta 1901. gadā Ņujorkā vienlaikus ar nieres dekapsulāciju, ārstējot Braitu slimību (16). Drīzumā līdzīgi ziņojumi tika iegūti arī no Toronto (17), Liverpūles (18) un Glāzgovas (19).

Sākumā biopsijas izpildīja tikai acu kontrolē intraoperatīvi, un tām bija sekundāra nozīme.

Nils Alwall 1944. gadā pirmais pielietoja transkutānu nieres aspirācijas biopsiju (20). *Poul Iverson* un *Claus Brun* 1951. gadā publicēja datus par 133 transkutānas aspirācijas nieru biopsijām (21) un kopš tā laikā interese par nieres diagnostiskām biopsijām strauji palielinājās, neskatoties uz autoru piezīmi, ka tikai 50% gadījumu ieguvuši pietiekami daudz materiāla izmeklējumiem.

Kark un Muehrcke 1954. gadā publicēja datus par *Vim-Silverman* griezošās adatas pielietošanu nieres punkcijas biopsijai (22). Pēc šā ziņojuma vairākiem nefrologiem radās interese apgūt šo metodi un rezultāta 1961. gadā Londonā notika pirmais Nieres biopsijas simpozījs (23). Nieres biopsija ātri kļuva par svarīgu nieres stāvokļa izvērtēšanas metodi (24).

1980. gadā tika izstrādāts automātisks biopsijas aparāts (25), un to ātri adaptēja nieres biopsiju vajadzībām. Šā aparāta izmantošana samazināja nieres plīsuma risku un procedūra kļuva mazāk sāpīga (26).

Tomēr ilgu laiku nieres biopsija bija saistīta ar lielu komplikāciju iespēju – apkārtējo struktūru (urīnvada, nieres asinsvadu, zarnu) bojājumiem, asiņošanu. Attīstoties radioloģiskām diagnostiskās metodēm – USS, duplexa skenēšanai, datora tomogrāfijai – radās iespēja vizualizēt biopsijas procedūru (27). Visbiežāk nieres punkcijas biopsiju veic USS kontrolē, kas dod iespēju vizualizēt punkcijas adatu un biopsijas vietu – tādējādi, apkārtējo struktūru bojājumu un citu komplikāciju risks ievērojami samazinājās (28).

Pirmā veiksmīgā nieres transplantācija cilvēkam tika veikta 1954. gada 23. decembrī, un no paša sākuma starp pārējām diagnostikas metodēm izmantoja arī punkcijas biopsiju (29). Punkcijas biopsiju lieto, lai izvērtētu donora nieres stāvokli vēl pirms transplantācijas operācijas (30).

Liela nozīme punkcijas biopsijām ir nieres transplantāta patoloģisko stāvokļu diferenciālajā diagnostikā, jo samērā bieži klīnisko un laboratorisko datu nepietiek, lai precizētu nieres transplantāta disfunkcijas iemeslu.

Nieres transplantāta protokola biopsijas var palīdzēt atklāt subklīniskas nieru transplantāta patoloģijas, kuras, iespējams, ietekmē ilgtermiņa rezultātus (11).

2.2. Pirmstransplantācijas donora nieres biopsijas (0-biopsijas)

Nieres transplantāta funkcija pēcoperācijas periodā lielā mērā ir atkarīga no donora nieres kvalitātes. Daļēji informāciju ir iespējams iegūt no donora anamnēzes un laboratoriskiem izmeklējumiem, bet tas palīdz tikai relatīvi izvērtēt nieres kvalitāti un funkcionālās spējas. Tika izstrādātas dažādas shēmas donora nieres vērtēšanai un pēctransplantācijas funkcijas prognozēšanai. Piemēram, *Nyberg et al* nieres funkcijas prognozei izstrādāja shēmu, kura ietver donora vecumu, nāves iemeslu, anamnētiskus datus par hipertensiju vai cukura diabētu, renālās artērijas aterosklerozi, GFA (31). Autori atrada korelāciju starp minētajiem faktoriem un nieres transplantāta funkciju agrīnajā pēcoperācijas periodā, tajā skaitā ar atliktas transplantāta funkcijas biežumu. Arī citi autori piedāvāja līdzīgas shēmas, kas balstās uz donora nieru eksplantācijas laikā pieejamo informāciju (32). Bet, lai palīdzētu iegūt pilnu informāciju par nieres sākotnējo stāvokli, izmanto donora nieres pirmstransplantācijas punkcijas biopsiju ar materiāla histoloģisku izmeklēšanu (33). Viens no pirmajiem, kas piedāvāja veikt donora nieres biopsiju ar mērķi izvērtēt donora nieres stāvokli un prognozēt turpmāko transplantāta funkciju, bija *Gaber LW et al* (34), un viņa ideja ātri izplatījās.

Līdz ar transplantācijas attīstību manāmi palielinājās pieprasījums pēc donoru nierēm. Pēc literatūras datiem katru gadu tikai aptuveni vienai ceturtdaļai visu pacientu, kuri gaida nieres transplantāciju, tiek veikta pārstādīšana (35,36). Tādēļ lielāku uzmanību pievērš nieres izmantošanai no suboptimāliem donoriem (37), neskatoties uz to, ka orgānu kvalitāte var būt

zemāka. Piemēram, pēc *R. Sung* datiem 2006. gadā 14% donornieru netika izmantotas sliktas kvalitātes dēļ (38), tādējādi 0-biopsijai šajā gadījumā ir īpaši liela nozīme.

Parasti, lai izvērtētu donora nierēs stāvokli un veiktu turpmākas funkcijas prognozi biopsijas materiālā, nosaka glomerulāras, intersticiālas un arteriālas sklerozes esamību un pakāpi.

Glomerulāra skleroze. *Randhawa et al*, analizējot 78 pirmstransplantācijas biopsijas, konstatēja, ka glomerulosklerozes pakāpe korelē ar transplantāta funkciju pēc viena gada (30). *Cicciarelli et al* analizēja *United Network for Organ Sharing* (UNOS) datus par donoru biopsijām, kas veiktas laikā no 1999. līdz 2002. gadam (vairāk nekā 5000 biopsiju). Viņi konstatēja nozīmīgu korelāciju starp glomerulosklerozes pakāpi un transplantātu dzīvildzi, atliktas transplantāta funkcijas biežumu un primāri nefunkcionējošu transplantātu skaitu (39). *Nankivell et al* salīdzināja 0-biopsijas histoloģiskas atradnes un pēcstransplantācijas protokola biopsijas datus. Autori secināja, ka agrīnā hroniska transplantāta disfunkcija ir cieši saistīta ar iepriekšēju glomerulopātiju. Vēl vairāk – autori uzskata, ka hronisks transplantāta bojājums arī vēlīnā periodā zināmā mērā atspoguļo iepriekšēju nierēs patoloģiju (40).

Savukārt daži autori nav konstatējuši glomerulosklerozes prognostisko nozīmi. Piemēram, *Edwards et al* uzskata, ka glomeruloskleroze nevar kļūt par transplantāta funkcijas prognostisko kritēriju, pat ja sklerozes pakāpe pārsniedz 20% (41). Arī *Lu et al*, analizējot donora nierēs glomerulosklerozes un transplantācijas iznākumu saistību, konstatēja, ka pacientiem ar glomerulosklerozes pakāpi > 20% transplantācijas rezultāti bija tikpat labi kā pacientiem bez glomerulosklerozes pazīmēm donora nierē (42). Vēl vienā pētījumā, kurā izpētīti dati par 200 donoru biopsijām, autori neredzēja korelāciju starp glomerulosklerozi (25%) un 3 gadu transplantātu dzīvildzi.

Intersticiāla fibroze un arteriāla skleroze. *Sulikowski et al*, analizējot 92 pirms-transplantācijas biopsijas rezultātus, neatrada korelāciju starp nierēs transplantāta pēcoperācijas funkciju un donora nierēs arteriālo sklerozi, bet konstatēja statistiski ticamu korelāciju starp transplantācijas iznākumiem un intersticiālas fibrozes pakāpi (43). Arī *Chapman et al* konstatēja, ka nierēs transplantāta funkcija samazinājas proporcionāli donora nierēs intersticiālas sklerozes pakāpei (44). *Bosmans et al* savā pētījumā atrod pārliecinošu korelāciju starp arteriālu intimālu fibrozi donora nierē un kreatinīna klīrensu 18 mēnešus pēc transplantācijas. Autori arī atzīmēja, ka arteriāla skleroze nosaka intersticiālas fibrozes attīstību

pēcoperācijas periodā, bet donora nierēs sākotnējā intersticiāla fibroze ar turpmāko transplantāta funkciju nekorelē (45).

Lai prognozētu nierēs transplantāta pēcoperācijas funkciju un transplantācijas iznākumus, tika piedāvātas dažādas shēmas, kas balstās uz pirmstransplantācijas biopsijas histoloģiskajām atradnēm (46,47), tomēr vēl joprojām ir atklāts jautājums, kura no shēmām ir optimālāka un precīzāka, tādēļ neviena no tām netika plaši pielietota.

Donora menedžmentā ir iekļauts pasākumu komplekss ar mērķi nodrošināt pilnvērtīgu un kvalitatīvu orgānu transplantācijai. Bet, neskatoties uz iepriekš minēto, diemžēl pastāv iespēja ar pārstādīto nieri pārnest kādu no donora slimībām, kura netika diagnosticēta donora dzīves laikā – infekciju, onkoloģisku slimību, glomerulonefrītu. Kādā pētījumā Luizianā autori paziņoja par 5 donora nierēs karcinomas gadījumiem no 553 donoriem (48). Pēc *Danish Cancer Registry* datiem laikā no 1969. līdz 1996. gadam no 626 donoriem divdesmit trijiem tika konstatēta malignitāte, diviem – glomerulonefrīts un pieciem – pielonefrīts (49). Arī UNOS datubāzē ir dati par audzēja transplantāciju kopā ar orgānu (50).

Informāciju par pārnestu slimību var iegūt no donora autopsijas, bet, piemēram, vienā pētījumā Dānijā ir atzīmēts, ka tikai 50% donoru tika veikta autopsija (49), un tādējādi implantēta slimība var būt diagnosticēta tikai pēc klīniskajām izpausmēm jau recipienta organismā. Taču informāciju par nediagnosticētu donora slimību ir iespējams iegūt arī ar 0-biopsiju un savlaicīgi atteikties no bojātas nierēs vai koriģēt pēcoperācijas taktiku atbilstoši atradnēm.

2.3. Neatliekamas biopsijas pēkšņas nierēs transplantāta disfunkcijas gadījumā

Pēkšņas nierēs transplantāta disfunkcijas iemesli agrīnajā pēcoperācijas periodā var būt dažādi (51):

- atgrūšanas reakcija;
- hipovolēmija;
- urīnoma;
- urīnceļu obstrukcija (urīnvada saspiešana ar hematomu, limfocēli, urīnvada sagriešana vai pārliedšana utt.);
- vīrusu (CMV, EB) vai urīnceļu infekcija;
- asinsvadu tromboze;

- kalcineirīna inhibitoru toksicitāte;
- pacienta slimības recidīvs transplantātā.

Dažas no iepriekš minētām patoloģijām ir iespējams diagnosticēt ar klīniskajām, laboratoriskajām un radioloģiskajām metodēm, bet citu nieres transplantāta patoloģiju izpausmes var būt līdzīgas, un līdz ar to diezgan bieži ar iepriekš minētām metodēm precizēt transplantāta disfunkcijas etioloģiju nav iespējams. Šajā gadījumā ir indicēta punkcijas biopsija. Tās laikā iegūtā materiāla morfoloģiska izmeklēšana var palīdzēt atšķirt akūtu tubulāru nekrozi, akūtas atgrūšanas reakcijas, akūtu pielonefrītu, kalcineirīna inhibitoru toksicitāti, BK poliomas vīrusa nefropātiju, CMV infekciju. Ir ļoti svarīgi veikt diferenciālo diagnostiku minētajām patoloģijām, jo ārstēšana ir atšķirīga. Ja akūtas atgrūšanas reakcijas ārstēšanai pielieto imūnsupresīvas terapijas intensifikāciju, tad CMV un BK vīrusa infekcijas gadījumā imūnsupresantu devas jāsamazina. Punkcijas biopsija var palīdzēt noteikt arī atgrūšanas reakcijas pakāpes.

Metodes precizitāte tieši korelē ar iegūtā materiāla daudzumu. Biopsiju uzskata par adekvātu, ja ir iegūts 8-10 un vairāk kamoliņu un vismaz divas artērijas. Vēlams, lai materiālu iegūtu no divām atšķirīgām nieres daļām (52). Izmantojot divus paraugus, metodes sensitivitāte sasniedz 99%, bet ar vienu paraugu – 90% (53,54).

Liela nozīme ir arī biopsijas materiāla iegūšanas vietai. Lai diagnosticētu akūto atgrūšanas reakciju, ir nepieciešams materiāls no kortikālā slāņa. Ja iegūtajā materiālā pārsvarā ir audi no medullāra slāņa, atgrūšanas reakcija var būt nediagnosticēta (55). Medullārā slāņa izmeklēšana var palīdzēt diagnosticēt citu patoloģiju – akūtu pielonefrītu (56), poliomas vīrusa nefropātiju (57).

Nieres transplantāta akūta atgrūšana (AR) ir viena no smagākajām pēcoperācijas komplikācijām. Pēdējos gados, kad parādījās jaunu imūnsupresantu paaudze, akūto atgrūšanas reakciju skaits ievērojami samazinājās (58,59). Daudzos transplantācijas centros AR skaits nepārsniedz 15% (60), bet arī atgrūšanas klīniskās izpausmes vairs nav tik izteiktas. Tādējādi jaunajā ērā atgrūšanas reakcijas diagnostikā punkcijas biopsijai ir vēl lielāka nozīmē.

Svarīgi ir arī noteikt atgrūšanas reakcijas pakāpi un veidu, jo dažādām pakāpēm un veidiem ir nepieciešama dažāda ārstēšanas taktika.

1991. gada augustā Kanādas pilsētā *Banff* pasaules patologi, nefrologi un transplantologi standartizēja atgrūšanas reakcijas histoloģiskos kritērijus un izstrādāja vienotu nieres transplantātu atgrūšanas reakcijas klasifikāciju – *Banff* kritērijus (61), kas palīdzēja izstrādāt arī

vienotu ārstēšanas taktiku. Vēlāk klasifikācija atkārtoti tika papildināta (62). Piemēram, 2003. gadā ieviesa jaunu humorālās atgrūšanas diagnostikas kritēriju – C4d depozītu noteikšanu peritubulārajos kapilāros (63).

Transplantāta pielonefrīts arī ir pietiekami bieža (~10-15%) pēcoperācijas komplikācija, kura var veicināt atgriezenisku nieres funkcijas pasliktināšanos (64,65). Lai diagnosticētu pielonefrītu, vairumā gadījumu punkcijas biopsija nav nepieciešama, un, savlaicīgi ārstējot, arī turpmāko transplantāta funkciju pielonefrīts neietekmē (64,66). Bet ir dati, ka nieres iekaisums var provocēt akūtu atgrūšanas reakciju (67), kuru var atpazīt tikai ar punkcijas biopsiju.

Pacienta slimības recidīvu risks nieres transplantātā pārsvarā ir saistīts ar fokālu segmentāru glomerulosklerozi (FSGS), IgA nefropātiju, membranoproliferatīvu glomerulonefrītu, hemolītisku urēmisku sindromu (HUS) un oksalozi (68). Slimības galvenokārt recidivē vēlīnajā pēcoperācijas periodā, bet FSGS, HUS un oksaloze var atgriezties transplantātā jau pirmās nedēļās vai pat arī dienās pēc transplantācijas (69). *M.D.Pescovitz et al* aprakstīja gadījumu, kad FSGS recidīvs tika konstatēts divas nedēļas pēc nieres pārstādīšanas (70).

Ar kalcineirīna inhibitoru parādīšanos imūnsupresīva protokolā pagājuša gadsimta 80 gados parādījās arī dati par preparātu nefrotoksisku iedarbību (71,72). Kalcineirīna inhibitoru toksicitāte var veicināt nieres transplantāta disfunkcijas attīstību agrīnajā pēcoperācijas periodā un pārliecinoši atšķirt preparāta toksicitāti no citiem iespējamajiem disfunkcijas iemesliem ir iespējams tikai ar punkcijas biopsiju (73).

Poliomas BK vīruss tiek klasificēts *Papovaviridae* dzimtā, poliomas vīrusu ģintī. Inficēšanās ar BK vīrusu notiek bērnībā, un pēc primārās infekcijas seropozitīvi ir 60-90% pieaugušo cilvēku (74). Pēc nieres transplantācijas BK vīrusa reaktivāciju diagnosticē 10-70% pacientu (74-76).

Viena no infekcijas izpausmēm ir BK vīrusa nefropātija, kura klīniski izpaužas ar nieres transplantāta funkcijas pasliktināšanos un ir grūti atšķirama no citiem transplantāta disfunkcijas iemesliem. BK nefropātijas diagnoze tiek apstiprināta histoloģiski, veicot nieres transplantāta punkcijas biopsiju (77).

Citomegalovīruss ir samērā biežs un svarīgs nieres transplantātu recipientu saslimstības iemesls. Ja netiek veikti profilaktiski pasākumi, tad simptomātiska CMV infekcija ir sastopama 10-60% recipientu (78). Bez tā CMV piemīt imunomodulējošais efekts, un aktīva CMV infekcija var asociēties ar akūtu atgrūšanas reakciju (79).

2.4. Protokola biopsijas

Protokola biopsijas pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju.

Atlikta nieres transplantāta funkcija (AF) ir viena no bieži sastopamām komplikācijām agrīnā pēcoperācijas periodā. To parasti definē, kā nepieciešamību pēc vismaz viena dialīzes seansa pirmās 7 dienas pēc transplantācijas, bet daži autori uzskata, ka šīs definīcijas atspoguļo reālu situāciju tikai tad, ja ir izslēgti citi acīmredzami funkcijas trūkuma iemesli - urīnvada aizsprostojums, asinsvadu tromboze, katetra obstrukcija (80). AF sastopamības biežums svārstās pēc dažādu autoru datiem no 2% līdz 50% (80-82).

Visbiežākā atradne pacientiem ar AF ir akūta kanāliņu nekroze, bet iespējamās arī citas patoloģiskas izmaiņas – humorāla atgrūšanas reakcija, trombotiska mikroangiopātija, kalcineirīna inhibitoru toksicitāte, recipienta slimības recidīvs transplantātā (80,83).

Akūtas kanāliņu nekrozes pamātā ir išēmiskie un reperfūzijas bojājumi, kas saistīti ar brīvo radikāļu lielu koncentrāciju nierēs audos (anaeroba metabolisma rezultāts) un superoksīda anjona un peroksīda produkciju pēc asinsrites atjaunošanas. Šo vielu darbības rezultātā notiek šūnu membrānas lipīdu peroksidācija un šūnu bojājums (84).

Pacientiem ar AF ir lielāks akūtas atgrūšanas reakcijas risks salīdzinājumā ar pacientiem ar primāru pēcoperācijas nieres transplantāta funkciju (85,86), jo šajā gadījumā notiek ne tikai imūnsistēmas aktivācija kā atbilde uz pārstādītas nieres svešaudiem, bet arī kā atbilde uz šūnu bojājumu (82). Atpazīt šo atgrūšanas reakciju, balstoties uz nieres funkciju, nav iespējams, jo funkcija tāpat ir nepilnvērtīga un pacientu turpina ārstēt ar dialīzi. Tādējādi vienīgā iespēja diagnosticēt aiz AF slēptu atgrūšanas reakciju ir punkcijas biopsijas veikšana (87). Nav vienota uzskata, kad un cik bieži jāveic protokola biopsijas pacientiem ar AF, bet ir dati, ka, veicot tās atkārtoti (kamēr ilgst AF), akūtas atgrūšanas reakcijas tika atklātas arī ar otru, trešo un pat arī ceturto biopsiju (88).

Atlikta pārstādītas nieres funkcija ir saistīta ne tikai ar paaugstinātu atgrūšanas reakcijas risku, bet arī ar sliktākiem transplantācijas rezultātiem. Atkārtoti pētījumi pierādīja, ka AF negatīvi ietekmē gan nieres transplantāta funkciju vēlīnajā periodā, gan transplantāta dzīvildzi (89-91), bet „slēptas” atgrūšanas reakcijas loma tās negatīvajā ietekmē nav pietiekami izpētīta (88).

Protokola biopsijas pacientiem ar primāru transplantāta funkciju.

Tradicionāli indikācijas nierēs transplantāta punkcijas biopsijai ir neskaidras ģenēzes akūta disfunkcija. *David Rush* bija viens no pirmajiem, kurš ieviesa praksē punkcijas biopsijas pēc protokola pacientiem ar stabilu nierēs transplantāta funkciju. Izrādās, ka 30% pacientu bez klīniskajām disfunkcijas izpausmēm bija atgrūšanas reakcijai raksturīgas histoloģiskas izmaiņas, ko nosauca par subklīnisku atgrūšanas reakciju (92,93). Tālākos pētījumos autori konstatēja, ka subklīniskas atgrūšanas reakcijas (SAR) histoloģiskas pazīmes agrīnajā pēctransplantācijas periodā ir saistītas ar pasliktinātu nierēs funkciju pēc diviem gadiem (94).

Nankivell et al. savos pētījumos apstiprināja subklīniskas atgrūšanas reakcijas eksistenci un izteica domu, ka tā var veicināt hronisku transplantāta bojājumu (95,96). Arī citi autori atbalsta uzskatu par subklīniskas atgrūšanas reakcijas (SAR) saistību ar transplantāta disfunkciju vēlīnajā pēcoperācijas periodā un apgalvo, ka SAR ārstēšana palīdz uzlabot nierēs transplantācijas iznākumu (97-99), bet ne visi autori atzīst SAR svarīgumu un ārstēšanas nepieciešamību (100-102).

Protokola biopsijas var palīdzēt atklāt ne tikai atgrūšanas reakcijas, jo arī citi patoloģiskie procesi var noritēt bez klīniskajām izpausmēm. *Karel Kreiči et al.*, veicot punkcijas biopsijas, kalcineirīna inhibitoru toksicitātes histoloģiskas pazīmes konstatēja 20,1% pacientu un 52% no tiem toksicitāte bija bez transplantāta disfunkcijas. Autori konstatēja subklīniskas toksicitātes ciešu saistību ar hronisku nierēs bojājumu vēlīnajā periodā (103).

Vel viens potenciāls nierēs transplantāta bojājuma iemesls – BK vīrusa infekcija – arī sākumā var neizpausties klīniski, un protokola biopsijas šajā gadījumā var palīdzēt agrīnai infekcijas diagnostikai (104-105).

3. DARBA MĒRĶIS, UZDEVUMI UN HIPOTĒZES

Darba mērķis:

Izpētīt punkciju biopsijas lomu un iespējas nieres transplantāta patoloģiju diagnostikā, lai uzlabotu transplantācijas rezultātus.

Darba uzdevumi:

1. Balstoties uz „0-biopsijas” rezultātiem, noteikt sākotnējā donora nieres stāvokļa ietekmi uz turpmāku transplantāta funkciju.
2. Veikt protokola biopsiju rezultātu analīzi primāras un atliktas nieres transplantāta funkcijas gadījumā un noteikt subklīniskās un „slēptās” atgrūšanas reakcijas sastopamību un ietekmi uz nieres transplantācijas iznākumiem.
3. Veikt neatliekamo biopsiju rezultātu analīzi un izpētīt klīniskās akūtās atgrūšanas reakcijas ietekmi uz nieres transplantācijas iznākumiem.
4. Noskaidrot ar punkcijas biopsijām saistīto komplikāciju veidu un biežumu.
5. Izstrādāt punkcijas biopsijas lietošanas algoritmu, lai optimizētu nieres transplantātu patoloģisko stāvokļu diagnostiku agrīnajā pēcoperācijas periodā.

Darba hipotēzes:

1. Nieru transplantāta disfunkcija agrīnā un vēlīnā pēcoperācijas periodā var būt saistīta ar iepriekšēju (pirms transplantācijas) donora nieru patoloģiju.
2. Nediagnosticēta subklīniska nieru transplantāta atgrūšanas reakcija var veicināt disfunkcijas attīstību vēlīnā pēcoperācijas periodā.
3. Atliktas transplantāta funkcijas ietekmi uz nieru transplantāta funkciju vēlīnā pēcoperācijas periodā iespējams samazināt, savlaicīgi diagnosticējot un ārstējot „slēptās” atgrūšanas reakcijas.
4. Savlaicīga nieru transplantāta patoloģisko stāvokļu diagnostika un ārstēšana agrīnā pēcoperācijas periodā var palīdzēt samazināt transplantāta disfunkciju skaitu vēlīnā pēcoperācijas periodā un uzlabot nieru transplantācijas rezultātus.

4. DARBA NOVITĀTE

1. Pierādīts, ka pacientiem ar primāru un stabilu nierēs transplantāta funkciju subklīniskas atgrūšanas reakcijas, pat arī neārstētas, neietekmē turpmāku transplantāta funkciju.
2. Pierādīts, ka savlaicīga „slēptas” atgrūšanas reakcijas diagnostika un ārstēšana uzlabo prognozi pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju.
3. Izstrādāts transplantātu punkcijas biopsijas algoritms patoloģisko stāvokļu diagnostikai agrīnā pēcoperācijas periodā.

5. MATERIĀLS UN METODEDES

Pētījums izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē, Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcās Latvijas Transplantācijas centrā sadarbojoties ar slimnīcas bioķīmijas laboratoriju, Patoloģijas institūtu un *National Center of Pathology, Vilnius, Lithuania*.

Definīcijas

Agrīns pēcoperācijas periods – pirmie trīs mēneši pēc nieres transplantācijas.

Vēlīns pēcoperācijas periods - periods, kas sākas ar ceturto mēnesi pēc nieres transplantācijas.

Primāra nieres transplantāta funkcija – kreatinīna līmenis asinīs pie adekvātas diurēzes un bez nieru aizstājterapijas (NAT) 3-5 pirmās pēcoperāciju dienās samazinās līdz 0,3 mmol/l un zemāk.

Atlikta nieres transplantāta funkcija – nepieciešamība turpināt NAT pēctransplantācijas periodā sakarā ar transplantāta funkcijas iztrūkumu.

Akūta nieres transplantāta disfunkcija – pēkšņa nieres transplantāta funkcijas pasliktināšanās, kura izpaužas ar strauju seruma kreatinīna līmeņa paaugstināšanos.

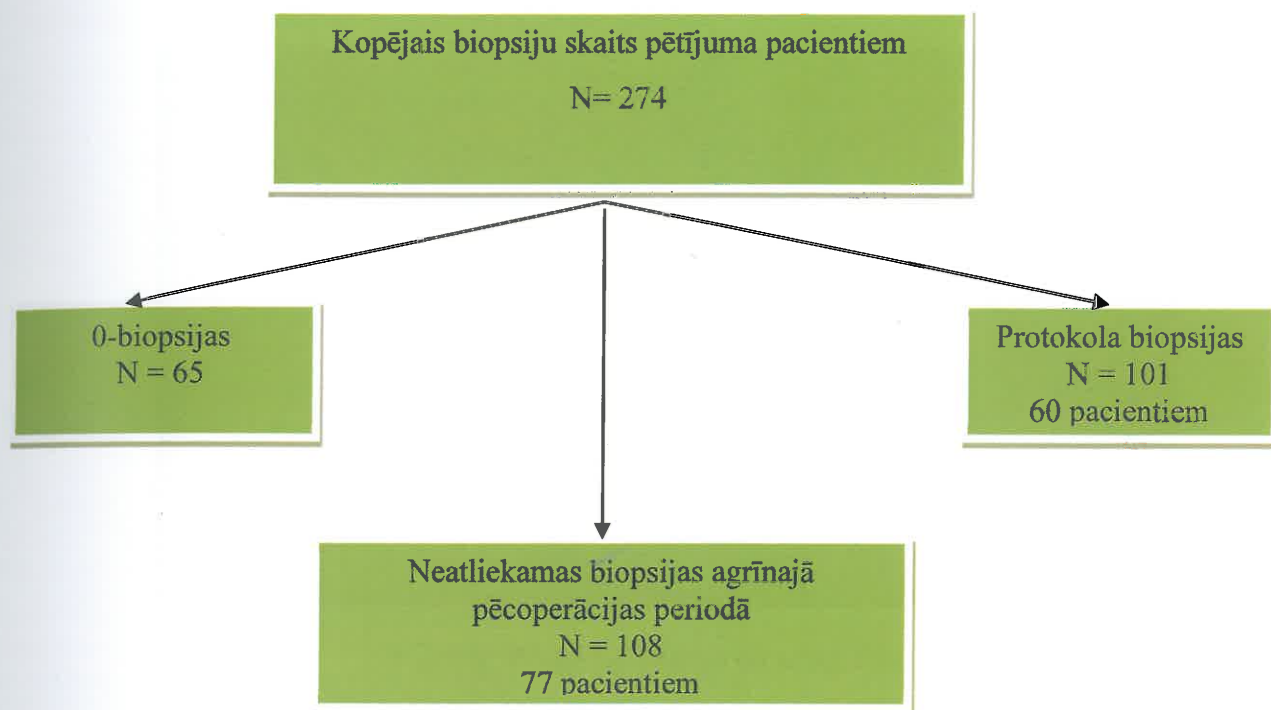
Akūta nieres transplantāta atgrūšanas reakcija – imunoloģiskas izcelsmes akūta nieres transplantāta disfunkcija, kura izpaužas ar diurēzes samazināšanos, kreatinīna līmeņa paaugstināšanos asinīs, dažreiz ar ķermeņa temperatūras paaugstināšanos un sāpēm nieres transplantāta rajonā.

Subklīniska nieres transplantāta atgrūšanas reakcija – norit bez parastām atgrūšanas reakcijas izpausmēm un var tikt diagnosticēta tikai ar punkcijas biopsijas palīdzību

„Slēpta” atgrūšanas reakcija – viens no subklīniskiem atgrūšanas reakcijas veidiem atlikta transplantāta funkcijas gadījumā.

5.1. Pētījuma populācija

Laika posmā no 01.01.2004. līdz 28.02.2009. Latvijas Transplantācijas centrā pētījuma ietvaros bija veiktas 274 biopsijas: 65 0-biopsijas, 101 protokola biopsijas un 108 biopsijas tika veiktas transplantāta funkcijas pasliktināšanas dēļ agrīnajā pēcoperācijas periodā (1. att.).



1. attēls. Nieres transplantātu punkcijas biopsiju skaits un veidi pētījuma laikā.

Pētījums sadalīts 3 daļās:

- I. 0-biopsijas rezultātu analīze;
- II. protokola biopsijas rezultātu analīze;
- III. neatliekamas biopsijas rezultātu analīze.

5.2. Pacientu izmeklēšanas metodes

Nieres transplantāta punkcijas biopsija.

Nieres transplantāta punkcijas biopsija tika veikta pēc "Tru-Core" metodes. Līdz 2008. gadam mēs izmantojām automātisku biopsijas aparātu ar vienreizējām adatām (18G) *Vitesse* (2. att.).



2. attēls. Punkcijas aparāts un adata *Vitesse*

Sākot ar 2009. gadu punkcijas biopsijas vajadzībām mēs izmantojām vienreizēju automātisku biopsijas adatu *Angiotech* (3. att.).



3. attēls. Automātiska punkcijas adata Tru-Core II *Angiotech*.

Nieres transplantāta punkcijas biopsiju parasti veic, pacientam guļot uz muguras vai uz sāniem USS kontrolē, lai izvairītos no apkārtējo struktūru – urīnvada, asinsvadu, zarnu – bojājumiem. (4. att.). Operācijas lauku apstrādā ar dezinficējošu šķīdumu un norobežo ar sterilo veļu.



4. attēls. Nieres transplantāta punkcijas biopsija.

Biopsijas vietu infiltrē ar *S.Lidocaine* 2% (5-10 ml). Ar biopsijas adatu caurdur audus līdz nieres transplantātam un ņem nieres audu fragmentu (5. att.).

Lai paaugstinātu metodes sensitivitāti, parasti ņem divus nieres audu paraugus no dažādām vietām. Augsta metodes precizitāte ir tad, ja iegūti vismaz 10 kamoliņi un 2 artērijas. Pēc procedūras pacientam indicēts gultas režīms 6-8 stundas.

Iegūto materiālu fiksē 4% formalīnā (pH-7,4). Histoloģisko preparātu krāsojumam lieto hematoksilīnu-eozīnu, PAS-reakciju, *Masson* metodi. Steroīdu rezistentas atgrūšanas reakcijas gadījumā nieres audus izmeklē arī uz C4d depoziētiem peritubulārajos kapilāros, pielietojot



5. attēls. Nieres transplantāta punkcijas biopsija USS kontrolē.

vienu no imūnohistoķīmijas metodēm – imūnoperoksidāzes tests. Metodes būtība ir izmeklējamā materiāla apstrāde ar antivielām, atzīmētām ar peroksidāzi, kuru pēc tam vizualizē ar krāsainas histoķīmiskas reakcijas palīdzību. Materiāla izmeklēšanai izmanto gaismas mikroskopiju. Morfoloģiskas izmaiņas vērtē atbilstoši *Banff'05* (62) klasifikācijai (1. tabula).

1. tabula. Banff klasifikācija.

-
1. Norma. Nav datu par patoloģiskām pārmaiņām preparātā.
 2. Humorāla atgrūšanas reakcija.
Akūta humorāla atgrūšanas reakcija
I pakāpe. C4d+; minimāls iekaisums.
II pakāpe. C4d+; kapilāru trombozes.
III pakāpe. C4d+; arteriīts v3.
Hroniskā aktīva humorāla atgrūšanas reakcija – C4d+, intersticiāla fibroze, tubulāra atrofija, intimāla artēriju fibroze.
 3. Robežizmaiņas. „Aizdomīgs” uz akūtu ar T-šūnu saistītu atgrūšanas reakciju. Nav intimāla arteriīta, bet ir viegla tubulīta perēkļi (t1, t2 vai t3 ar i0 vai i1).
 4. Ar T-šūnu saistīta atgrūšanas reakcija.
Akūta ar T-šūnu saistīta atgrūšanas reakcija.

IA pakāpe. Nozīmīga intersticiāla infiltrācija (>25% no parenhīmas) un vidēji izteikta tubulīta perēkļi (t2).

IB pakāpe. Nozīmīga intersticiāla infiltrācija (> 25% no parenhīmas) un nopietna tubulīta perēkļi (t3)

IIA pakāpe. Viegls vai vidēji izteikts intimāls arteriīts (v1).

IIB pakāpe. Izteikts intimāls arteriīts (v2)

III pakāpe. Transmurāls arteriīts vai artērijas fibrinoīdas izmaiņas un vidēja muskuļu slāņa nekroze (v3)

Hroniska ar T-šūnu saistīta atgrūšanas reakcija – „hroniska transplantāta arteriopātija” (intimāla artēriju fibroze ar mononukleāru infiltrāciju, neo-intīmas veidošana).

5. Intersticiāla fibroze un tubulāra atrofija, nav specifiskas etioloģijas pierādījumu.

1. pakāpe. Viegla intersticiāla fibroze un tubulāra atrofija (< 25% cortex).

2. pakāpe. Vidēji smaga intersticiāla fibroze un tubulāra atrofija (26 - 50% cortex).

3. pakāpe. Smaga intersticiāla fibroze un tubulāra atrofija (> 50% cortex).

Tubulīta kvantitatīvie kritēriji.

t0 – nav mononukleāro šūnu kanāliņos.

t1 – 1-4 mononukleāras šūnas kanāliņu šķērsgriezumā.

t2 – 5-10 mononukleāras šūnas kanāliņu šķērsgriezumā.

t3 – >10 mononukleāras šūnas kanāliņu šķērsgriezumā.

Intersticiāla iekaisuma kvantitatīvie kritēriji.

i0 – nav vai triviāls intersticija iekaisums.

i1 – iekaisums aptver 10-25% no parenhīmas.

i2 – iekaisums aptver 26-50% no parenhīmas.

i3 – iekaisums aptver > 50% no parenhīmas.

Intimāla arteriīta kvantitatīvie kritēriji.

v0 – nav arteriīta.

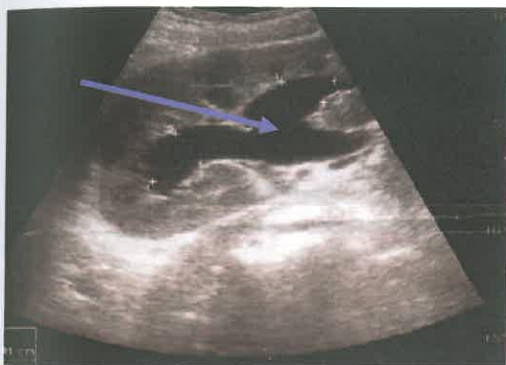
v1 – viegls vai vidējais intimāls arteriīts vismaz vienai artērijai.

v2 – smags intimāls arteriīts (vismaz 25% lumena sašaurinājums vismaz vienai artērijai).

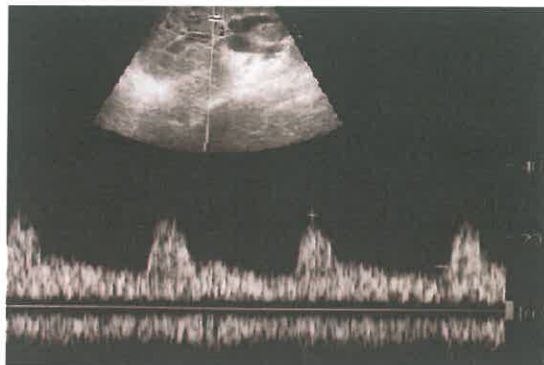
v3 – transmūrāls arteriīts vai artērijas fibrinoīdas izmaiņas un vidēja muskuļu slāņa nekroze.

Nieres transplantāta ultrasonoskopiskā (USS) un duplekša doplerogrāfiskā izmeklēšana

tika veikta ar aparātu LOGIQ 400 CL. Ar USS izmeklēšanas palīdzību vērtēja nierēs transplantāta izmērus, kortikālā un medullārā slāņa proporcijas, piramīdas lielumu; arī USS izmantoja, lai diagnosticētu urīna atteces traucējumus (6. att.) un šķidruma kolekcijas blakus nierēs transplantātam. Duplekša doplerogrāfiju pielietoja, lai vērtētu nierēs transplantāta asinsrites intensitāti (7. att.), maģistrālo asinsvadu – *arteria et vena renalis* – pozīciju. Ļoti svarīga duplekša doplerogrāfija ir nierēs asinsvadu trombožu ekspresdiagnostikai.



6. attēls. II pakāpes urīna atteces traucējumi.



7. attēls. Nieres transplantāta asinsrites izvērtēšana ar doplerogrāfijas palīdzību

Nieres transplantāta funkcija tika vērtēta pēc kreatinīna līmeņa asinīs, kas noteikts ar asins bioķīmisko analizatoru *Abbott Spectrum Series II (Abbott, ASV)*, un pēc glomerulārās filtrācijas ātruma (GFĀ). Kvantitatīvai substāncu noteikšanai plazmā izmantoja gaismas absorbcijas pakāpes noteikšanu dažāda garuma viļņiem. GFĀ tika aprēķināts pēc Kokrofta un Golta formulas:

$$\frac{(140 - \text{vecums}) \times \text{ķermeņa masa (kg)}}{0,81 \times \text{seruma kreatinīns } (\mu\text{mol/l})}$$

Sievietēm iegūtais rezultāts jāreizina ar 0,85.

Lai noskaidrotu dažādu faktoru ietekmi uz transplantācijas rezultātiem, pacientu grupas salīdzināja pēc šādiem parametriem:

- nierēs transplantāta funkcija novērošanas periodā;
- akūtas atgrūšanas reakciju skaits novērošanas periodā;
- atliktas transplantāta funkcijas sastopamības biežums;
- transplantātu dzīvildze.

5.3. Nieres allotransplantācija

Donora nieres paņemšana un konservācija. Donora nieres eksplantācija notiek pēc donora bioloģiskās vai smadzeņu nāves konstatācijas. Donora nieres eksplantācijai izmanto vidus laparotomiju. Lai nodrošinātu pieeju pie maģistrālajiem asinsvadiem, mobilizē *colon ascendens* un tievo zarnu. Aortu un *v. cava inferior* izdala no apkārtējiem audiem no bifurkācijas vietas un proksimāli 2-3 cm virs nieres asinsvadiem. Aortu un *v.cava inferior* kanulē un uzsāk nieru perfūziju ar 3-4 konservējošā šķīduma litriem. Pēc perfūzijas pabeigšanas nieres izdala no apkārtējiem audiem, pārdala *a.renalis*, *v.renalis* un urīnvadu, izņem nieres un ievieto speciālā konteinerā ar konservējošu šķīdumu.

Donora nieres alokāciju noteica balstoties uz *cross-match* analīzes un ABO saderības rezultātiem. HLA saderība netika ievērota.

Imunoloģiskie testi (cross-match prove, PRA titra noteikšana) veic Valsts Asins Donoru Centra audu saderības laboratorijā. *Cross-match* provi veic ar citofloumetrijas metodi (*Flow Cytometry*). PRA titra noteikšanu veic, pielietojot recipienta seruma skrīningu uz anti-HLA antivielām pret 20 randomizēto donoru paneli.

Nieres transplantācijas operāciju veic vispārējā anestēzijā, pacientam guļot uz muguras. Pēc operācijas lauka apstrādes ar dezinficējošu šķīdumu veic griezienu labajā vai kreisajā hipogastrijā. Pieeju pie iegurņa asinsvadiem veido retroperitoneāli. Nieres artēriju anastomozē ar *a. iliaca ext*, nieres vēnu anastomozē ar *v. iliaca ext*. Anastomozes veido ar nepārtraukto asinsvadu šuvi ar *Prolene 6-0* diegu. Pēc savienojumu izveidošanas pārbauda to hermētiskumu un pēc nepieciešamības uzliek papildus šuves. Atjauno asinsriti nierē un veic hemostāzi. Pēc hemostāzes nodrošināšanas ievieto nieri retroperitoneālajā telpā. No apkārtējiem audiem izdala urīnpūsli un izveido cistoureteroneostomiju ar *4-0 PDS* diegu. Virs anastomozes uzliek 3-4 antirefluksa šuves. Perirenālo telpu drenē ar mīkstu plastikas caurules drenu. Brūces sašuj pa kārtām.

5.4. Pēctransplantācijas imūnsupresija

Imūnsupresīvā terapija sastāv no divām daļām: indukcijas un uzturošās. Indukcijas imūnsupresijai tika izmantots viens no medikamentiem, kas satur monoklonālas antivielas pret interleikīna-2 receptoriem - *Basiliximab (Simulect, Novartis)* 20 mg i/v operācijas dienā un

ceturtajā pēcoperācijas dienā vai *Daclizumab (Zenapax, F.Hoffmann-La Roche)* 1 mg/kg i/v operācijas dienā un 15. pēcoperācijas dienā, vai poliklonālo antivielu preparāts anti-T limfocītu globulīns (*ATG, Fresenius Biotech*) 1,5-3 mg/kg i/v pirmās 3-5 dienas pēc operācijas.

Uzturošajā imūnsupresijā pacienti sākumā saņēma metilprednizolona (*Solu-Medrol, Pfizer*) devu 500 mg i/v operācijas dienā, kas tiek pakāpeniski samazināta piecu dienu laikā, tad prednizolonu (*Prednisolon, Gedeon Richter*) 0,5 mg/kg dienā p/o un arī tā deva tika pakāpeniski reducēta, lai apmēram pēc mēneša vidēja deva būtu 20 mg dienā un pēc sešiem mēnešiem – 5-10 mg dienā. No kalcineirīna inhibitoriem pacienti saņēma ciklosporīnu A (*Sandimmun Neoral, Novartis* vai *Ciclosporin Sandoz, Sandoz* vai *Equoral, IVAX Pharmaceuticals*), sākuma devā vidēji 3 mg/kg dienā p/o, un šī deva tika koriģēta atbilstoši tā līmenim asinīs: ~ 150 ng/ml pirmos trīs mēnešus pēc transplantācijas un 100-150 ng/ml turpmāk. Ciklosporīna A koncentrācija asinīs tika mērīta ar automātisko analizatoru *Architect (Abbott, ASV)*, izmantojot hromatogrāfijas metodi.

No antiproliferatīvajiem medikamentiem pacienti saņēma mikofenolāta mofetilu (*Cell-Cept, F.Hoffmann-La Roche* vai *Myfortic, Novartis*), kura sākuma deva bija 2 g dienā p/o.

Akūtas atgrūšanas reakcijas terapijai pacienti saņēma 500 mg metilprednizolona i/v 3-5 dienas pēc kārtas, un, ja atgrūšanas reakcija bija steroīdu rezistenta, tās terapija tika turpināta ar anti-T limfocītu globulīnu 1,5-3 mg/kg dienā i/v 10-14 dienas.

5.5. 0-biopsijas

Pirmstransplantācijas donora nierēs biopsiju – 0-biopsiju – veic nierēs eksplantācijas laikā pirms asinsrites pārtraukšanas ar mērķi iegūt informāciju par orgāna kvalitāti un, iespējams, noteikt donora dzīves laikā nediagnosticētas patoloģijas.

Laika posmā no 01.01.2004. līdz 31.12.2007. pētījuma ietvaros tika veiktas 65 0-biopsijas.

Donora nierēs biopsijas tehnika neatšķiras no pārējām biopsijām, bet manipulācija notiek redzes kontrolē. Parasti 0-biopsiju veic labajai nierei, jo eksplantācijas laikā tā ir labāk vizualizējama un labāk pieejama punkcijai.

Lai noteiktu sākotnējo donora nierēs stāvokļa saistību ar transplantācijas rezultātiem, tika atlasīti recipienti, kas saņēma nieri pēc 0-biopsijas (2. tabula).

Pacientus sadalīja pa grupām atkarībā no histoloģisko izmaiņu pakāpēm. Grupas salīdzināja pēc šādiem parametriem:

- nieres transplantāta funkcija agrīnā pēcoperācijas periodā (primāra vai atlikta);
- nieres transplantāta funkcija pēc trim gadiem;
- klīniskas akūtas atgrūšanas skaits novērošanas periodā (apstiprinātas ar punkcijas biopsijām);
- transplantātu 3 gadu dzīvildze.

2. tabula. Demogrāfiskie dati pacientiem, kam tika transplantēta niere pēc 0-biopsijas.

Pacientu skaits (n)	65
Vidējais vecums (gadi)	46,1
Dzimums (vīrieši/sievietes)	39/32 (54,9%/45,1%)
Nieres transplantācijas operācija:	
Pirmreizēja	55 (77,5%)
Atkārtota	16 (22,5%)
Aukstuma išēmijas laiks (stundas)	16,7
Donora vecums (gadi)	45,5
Pamatdiagnoze:	
Hronisks glomerulonefrīts	27 (43,7%)
Hronisks intersticiāls nefrīts	8 (12,7%)
Diabētiska nefropātija	7 (11,3%)
Nieru policistoze	6 (8,4%)
Hipertensīva nefropātija	8 (11,3%)
Obstruktīva nefropātija	5 (7%)
Neprecizēta HNS	4 (5,6%)

Atsevišķi pārbaudīja glomerulāras, intersticiālas un arteriālas sklerozes ietekmi uz pēcoperācijas nieres funkciju.

Lai noteiktu glomerulārās sklerozes ietekmi uz transplantācijas rezultātiem, tika salīdzinātas 2 recipientu grupas:

- 1. grupa – pacienti bez glomerulosklerozes pazīmēm donora nierē pēc 0-biopsijas datiem;
- 2. grupa – pacienti ar glomerulosklerozes pazīmēm donora nierē pēc 0-biopsijas datiem.

Lai noteiktu intersticiālas sklerozes ietekmi uz transplantācijas rezultātiem, tika salīdzinātas 3 recipientu grupas:

- 1. grupa - pacienti, kuriem donora nierei intersticiālas sklerozes pakāpe bija 0-10%
- 2. grupa - pacienti, kuriem donora nierei intersticiālas sklerozes pakāpe bija 11-20%
- 3. grupa - pacienti, kuriem donora nierei intersticiālas sklerozes pakāpe bija > 20%

Lai noteiktu donora nieres arteriālas sklerozes ietekmi uz transplantācijas iznākumiem, tika salīdzinātas divas recipientu grupas:

- 1. grupa – pacienti bez arteriālas sklerozes pazīmēm donora nierē pēc 0-biopsijas datiem;
- 2. grupa – pacienti ar arteriālas sklerozes pazīmēm donora nierē pēc 0-biopsijas datiem.

5.6. Protokola biopsijas

Protokola biopsijas veic plānveidīgi (neatkarīgi no pārstādītas nieres funkcijas), lai monitorētu transplantāta stāvokli un diagnosticētu subklīniskas un slēptas patoloģijas.

Protokola biopsijas atliktas transplantāta funkcijas gadījumā. Par periodu no 01.01.2004. līdz 31.12.2007. gadam tika veikta 61 protokola biopsija 34 pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju. Biopsiju parasti veica 3.-5. pēcoperācijas dienā un pēc iespējas atkārtoja katras 6-7 dienas līdz funkcijas atjaunošanai (3.tab.).

3. tabula. Protokola biopsiju skaits pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju.

Biopsiju skaits	Pacientu skaits
1 biopsijas	11 pacientiem
2 biopsijas	19 pacientiem
3 biopsijas	4 pacientiem

Pacientus novēroja 3 gadus. Lai izpētītu iespēju uzlabot prognozi pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju, salīdzināja divas recipientu grupas:

1. grupa – pacienti ar primāru transplantāta funkciju;
2. grupa – pacienti ar AF un ar biopsiju atklātām atgrūšanas reakcijām.

Protokola biopsijas primāras transplantāta funkcijas gadījumā. Laika posmā no 01.01.2007. līdz 28.02.2009. pētījuma ietvaros tika veiktas 40 protokola biopsijas 26 pacientiem ar primāru un stabilu nieru transplantāta funkciju (4. Tab.).

Parasti protokola biopsijas tika veiktas 3-4 pēctransplantācijas nedēļā. Pēc nepieciešamības – neadekvāta biopsija, ārstēšanas kontrole – biopsijas tika atkārtotas.

4. tabula. Protokola biopsiju skaits pacientiem ar primāru transplantāta funkciju.

Biopsiju skaits	Pacientu skaits
1 biopsijas	16 pacientiem
2 biopsijas	6 pacientiem
3 biopsijas	4 pacientiem

Biopsiju veikšanas nosacījumi bija šādi:

- Seruma kreatinīna līmenis < 0,2 mmol/l;
- adekvāta diurēze;
- normāla ķermeņa temperatūra;
- stabila nieru transplantāta funkcija, kas nozīmē seruma kreatinīna līmeņa svārstības pēdējās 7 dienas ne vairāk par 20%.

Lai noskaidrotu subklīniskas atgrūšanas reakcijas ietekmi uz turpmāko nieru transplantāta funkciju, pētījuma recipienti tika sadalīti četrās grupās:

- A grupa - pacienti ar primāru un stabilu nieru transplantāta funkciju bez atgrūšanas reakcijas pazīmēm biopsijas materiālā.
- B grupa - pacienti ar primāru un stabilu nieru transplantāta funkciju ar morfoloģiskām atgrūšanas reakcijas pazīmēm, kuriem tika ārstēta subklīniska atgrūšanas reakcija.
- C grupa - pacienti ar primāru un stabilu nieru transplantāta funkciju ar atgrūšanas reakcijas pazīmēm biopsijas materiālā, kuriem SAR netika ārstēta.
- D grupa (kontroles grupa) - pacienti ar primāru un stabilu nieru transplantāta funkciju bez klīniskām atgrūšanas reakcijas pazīmēm, kuriem protokola biopsija netika veikta.

Pacientus novēroja 24 mēnešus un salīdzināja pēc šādiem parametriem:

- nieres transplantāta funkcija pēc 1 mēneša un pēc diviem gadiem;
- akūtu atgrūšanas reakciju skaits novērošanas periodā;
- transplantātu 2 gadu dzīvildze.

5.7. Neatliekamas biopsijas

Neatliekamas transplantāta punkcijas biopsijas indikācija - pēkšņa nieres transplantāta funkcijas pasliktināšanās.

Laika posmā no 01.01.2004. līdz 31.12.2007. agrīnajā pēcoperācijas periodā tika veiktas 108 neatliekamas nieres transplantātu punkcijas biopsijas 77 pacientiem (5.tab.):

5. tabula. Neatliekamo biopsiju skaits agrīnajā pēcoperācijas periodā pacientiem ar transplantāta disfunkciju.

Biopsiju skaits	Pacientu skaits
1 biopsija	55 pacientiem
2 biopsijas	15 pacientiem
3 biopsijas	5 pacientiem
4 biopsijas	2 pacientiem

Biopsiju rezultātu analīzes mērķis bija:

- noskaidrot pētījumā pacientu nieres transplantāta disfunkcijas etioloģisko struktūru agrīnajā pēcoperācijas periodā;
- pārbaudīt akūtas atgrūšanas reakcijas ietekmi uz pārstādītas nieres funkciju vēlīnajā pēcoperācijas periodā.

Pacientus novēroja 3 gadus. Lai precizētu agrīnas akūtas atgrūšanas reakcijas ietekmi uz turpmāko nieres transplantāta funkciju, tika salīdzinātas divas recipientu grupas:

1. grupa – pacienti ar akūtu atgrūšanas reakciju (pierādītu ar punkcijas biopsiju) .
2. grupa – pacienti bez akūtas atgrūšanas reakcijas.

Lai noskaidrotu atgrūšanas reakcijas pakāpes ietekmi uz nieres transplantāta turpmāko funkciju, tika salīdzinātas divas recipientu grupas:

1. grupa – pacienti ar I pakāpes atgrūšanas reakciju;
2. grupa – pacienti ar II un III pakāpes atgrūšanas reakciju un humorālu atgrūšanas reakciju.

5.8. Datu ieguve un statistiskā analīze

Ievākto datu saglabāšanai tika izmantots Microsoft Excel 2003, darba teksta un tabulu noformēšanai – programma Microsoft Word 2003, datu statistiskajai analīzei – programma SPSS 13.0 for Windows. Visi rādītāji norādīti kā vidējais aritmētiskais lielums \pm standarta novirze (SD), vai skaitliskos lielumos un procentos.

Parametrisko datu (pacientu demogrāfiskie dati, seruma kreatinīna līmenis, glomerulāras filtrācijas ātrums) analīzei tika lietots *one-way ANOVA (General Linear Model, Univariate) test*. Rezultātu statistiskā ticamība tika noteikta pie $p < 0,05$.

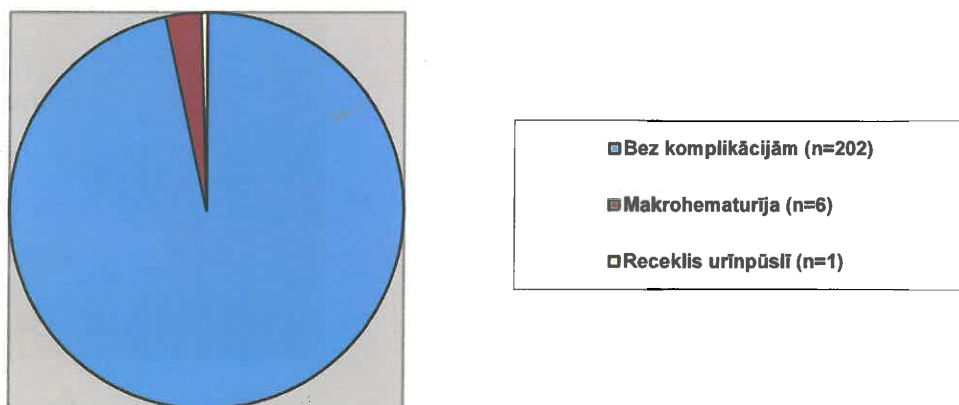
Neparametrisko datu (akūtas atgrūšanas reakcijas un atliktas nieres transplantāta funkcijas biežums) analīzei tika lietots *Chi-square test* un *Fišera eksaktais tests (Fisher's Exact test)*. Rezultātu statistiskā ticamība tika noteikta pie $p < 0,05$.

Darba gaitā tika analizēta varbūtību attiecība (angl. *Odds Ratio; OR*), kas ir viena notikuma iestāšanās varbūtība vienā grupā pret šā paša notikuma iestāšanās varbūtību otrā grupā (akūtas atgrūšanas reakcijas un atliktas nieres transplantāta funkcijas varbūtība). Ticamības intervāls (angl. *Confidence Interval, CI*) noteikts 95%.

Transplantātu dzīvildze tika analizēta ar *Kaplan-Meier surveillance* testu. Divu grupu salīdzināšanai tika izmantots *Log Rank (Mantel-Cox)* kritērijs. Dati tika cenzēti brīdī, kad pacients bija sasniedzis pētāmā perioda beigas.

6. REZULTĀTI

Kopumā pētījuma ietvaros tika veiktas 274 punkcijas biopsijas, no tām 209 biopsijas tika veiktas 137 recipientiem. Pēc manipulācijas veikšanas komplikācijas tika konstatētas 7 gadījumos (3,3%). 6 pacientiem novēroja makrohematūriju, kas spontāni pārgāja 24-72 stundu laikā. Vienam pacientam pēc biopsijas izveidojās asins receklis urīnpūslī, kas klīniski izpaudās ar akūta cistīta ainu (8. att.). Recekli izdevās izskatīt retrogrādi ar *Foleja* katetra palīdzību.



8. attēls. Punkciju biopsijas komplikācijas pētījuma pacientiem.

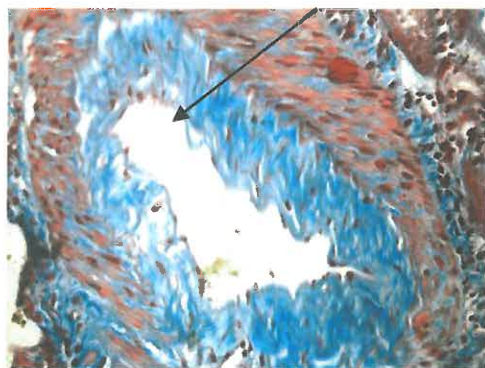
Citas punkcijas biopsijas komplikācijas netika konstatētas.

6.1. 0-biopsijas rezultātu analīze

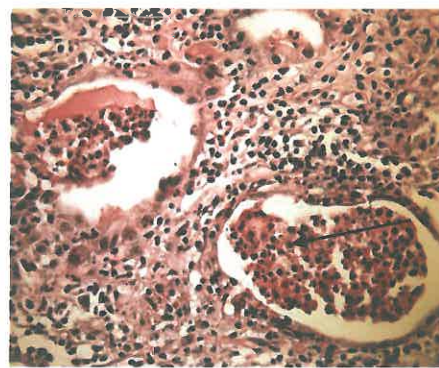
Donora nieres biopsijas (0-biopsijas) rezultāti bija šādi (6. tab.):

6. tabula. 0-biopsijas rezultāti.

Atradne	Gadījumu skaits (%)
Bez patoloģiskām izmaiņām	15,4% (10)
Tikai intersticiāla skleroze	38,5% (25)
Intersticiāla un glomerulāra skleroze	13,8% (9)
Intersticiāla un arteriāla skleroze (9.att.)	15,4% (10)
Intersticiāla, arteriāla un glomerulāra skleroze	16,9% (11)
Intersticiāls nefrīts (9.att.)	9,2% (6)
Glomerulonefrīts	4,6% (3)



A



B

9. attēls. A – arteriāla skleroze II (intimāla fibroze ar asinsvada lūmena sašaurinājumu, *Masson* krāsojums; attēla palielinājums – 400 reižu); B – akūta intersticiāla nefrīta aina (neitrofilu leukocītu infiltrācija, krāsotas ar HE; attēla palielinājums – 400 reižu).

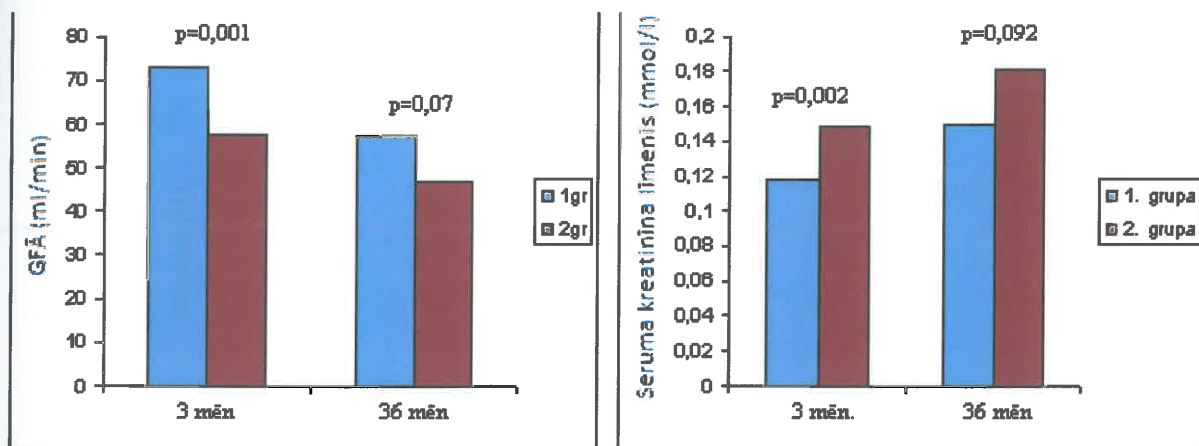
Analizējot glomerulāras sklerozes ietekmi uz transplantācijas rezultātiem, konstatēja, ka otrajā grupā gan donori, gan recipienti bija vecāki salīdzinājumā ar pirmo grupu. (7. tab.):

7. tabula. Transplantātu funkcijas salīdzinājums un klīniskie dati pacientiem ar glomerulāras sklerozes pazīmēm donora nierē (2. grupa) un bez tām (1. grupa).

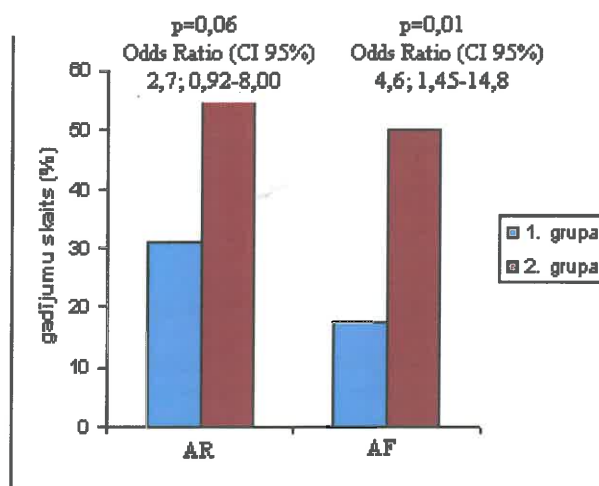
Rādītājs	1. grupa	2. grupa	Fisher's Exact
Pacientu skaits (n)	45	20	
Recipienta vecums (gadi)	44,1,0±14,6	53,8±13,6	p=0,02
Donora vecums (gadi)	43,2±14,5	52,0±9,5	p=0,02
Aukstuma išēmijas laiks (stundas)	16,6±3,6	17,1±4,9	p=NS
Seruma kreatinīns pēc 3 mēnešiem (mmol/l)	0.118±0,032	0.150±0,045	p=0,002
Seruma kreatinīns pēc 36 mēnešiem (mmol/l)	0,149±0,058	0.181±0,063	p=0,092
GFĀ pēc 3 mēnešiem (ml/min)	73,2±17,1	57,5±15,7	p=0,001
GFĀ pēc 36 mēnešiem (ml/min)	57,2±16,2	46,9±16,2	p=0,07

Salīdzinājuma rezultātu analīze parādīja, ka pacientiem ar glomerulosklerozes pazīmēm donora nierē:

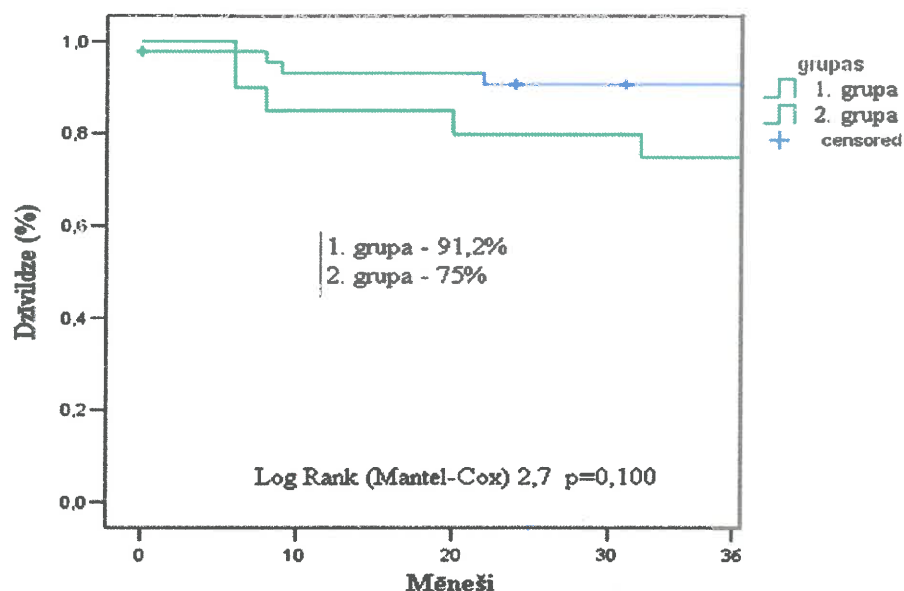
- ir sliktāka transplantāta funkcija agrīnajā pēcoperācijas periodā un ir tendence uz sliktāku funkciju vēlīnajā periodā (10. att.);
- biežāk attīstās atlikta transplantāta funkcija un ir tendence uz biežākām akūtas atgrūšanas reakcijām (11. att.);
- ir tendence uz īsāku transplantātu dzīvildzi (12.att.):



10. attēls. Seruma kreatinīna līmenis un GFĀ pēc 3 un 36 mēnešiem pacientiem ar glomerulosklerozes pazīmēm donora nierē (2. grupa) un bez tām (1. grupa).



11. attēls. AF un AR gadījumu skaits pacientiem ar glomerulosklerozes pazīmēm donora nierē (2. grupa) un bez tām (1. grupa).



12. attēls. Transplantātu trīs gadu dzīvildze pacientiem ar glomerulosklerozes pazīmēm donora nierē (2. grupa) un bez tām (1. grupa).

Analizējot intersticiālas sklerozes ietekmi uz transplantācijas rezultātiem (8. tab.), tika konstatēts, ka trešajā grupā donori bija vecāki salīdzinājumā ar pirmo ($p = 0,013$) un otro grupu ($p = 0,084$).

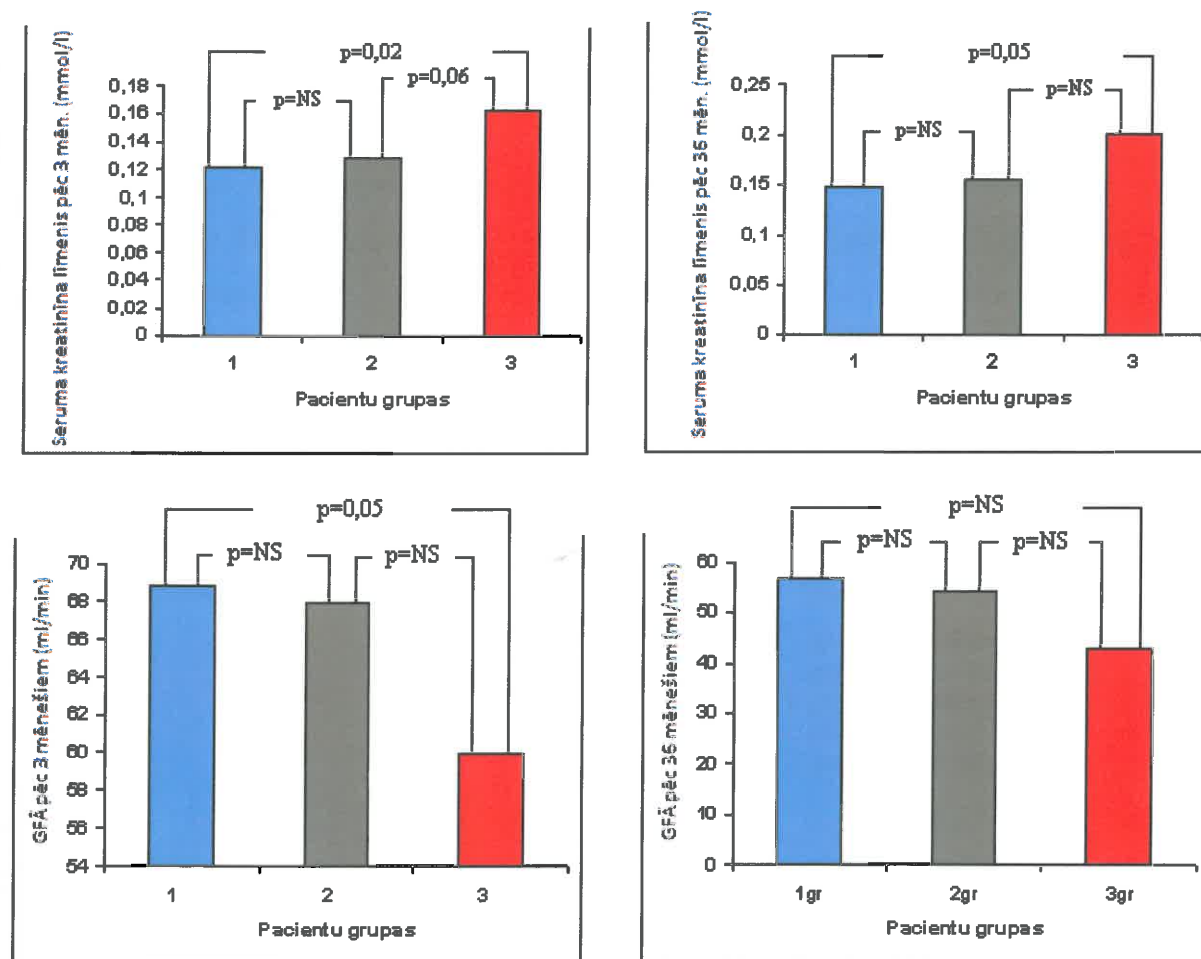
8. tabula. Transplantātu funkciju salīdzinājums un klīniskie dati pacientiem ar dažādām intersticiālas sklerozes pakāpēm donora nierē.

Rādītājs	1. grupa (0%-10%)	2. grupa (11%-20%)	3. grupa (>20%)
Pacientu skaits (n)	37	21	7
Recipienta vecums (gadi)	45,0±16,0	47,0±10,4	57,6±9,9
Donora vecums (gadi)	42,7±13,0	47,8±12,8	57,0±5,5
Aukstuma išēmijas laiks (stundas)	17,6±3,3	15,8±4,4	16,5±5,9
Seruma kreatinīns pēc 3 mēnešiem (mmol/l)	0,121±0,035	0,128±0,032	0,163±0,062
Seruma kreatinīns pēc 36 mēnešiem (mmol/l)	0,148±0,045	0,155±0,061	0,202±0,089
GFĀ pēc 3 mēnešiem (ml/min)	68,8±12,1	67,9±14,6	59,9±11,8
GFĀ pēc 36 mēnešiem (ml/min)	57,0±12,3	54,0±20,4	43,0±14,6

Arī recipientu vecums trešajā grupā bija lielāks. Aukstuma išēmijas laiks bija līdzīgs visas grupās.

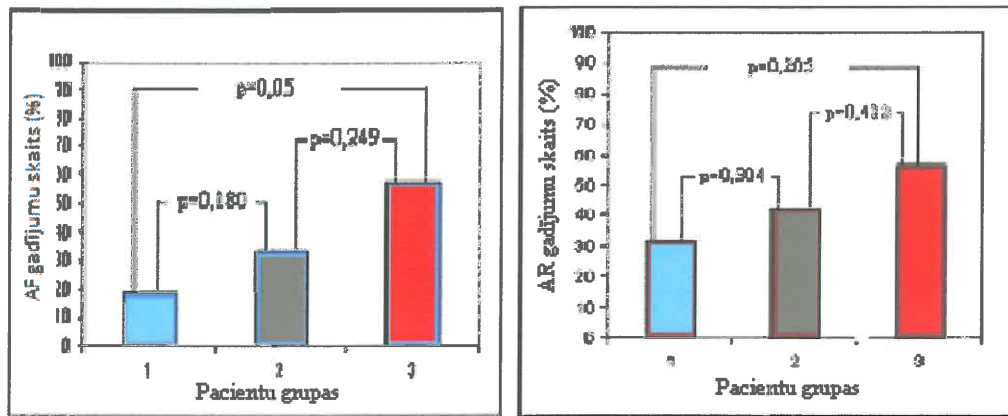
Rezultātu analīze parādīja, ka pacientiem ar lielāku intersticiālas sklerozes pakāpi (īpaši > 20%) ir tendence uz:

- sliktāku nieres funkciju gan agrīnā, gan vēlīnā pēcoperācijas periodā (13.att.);



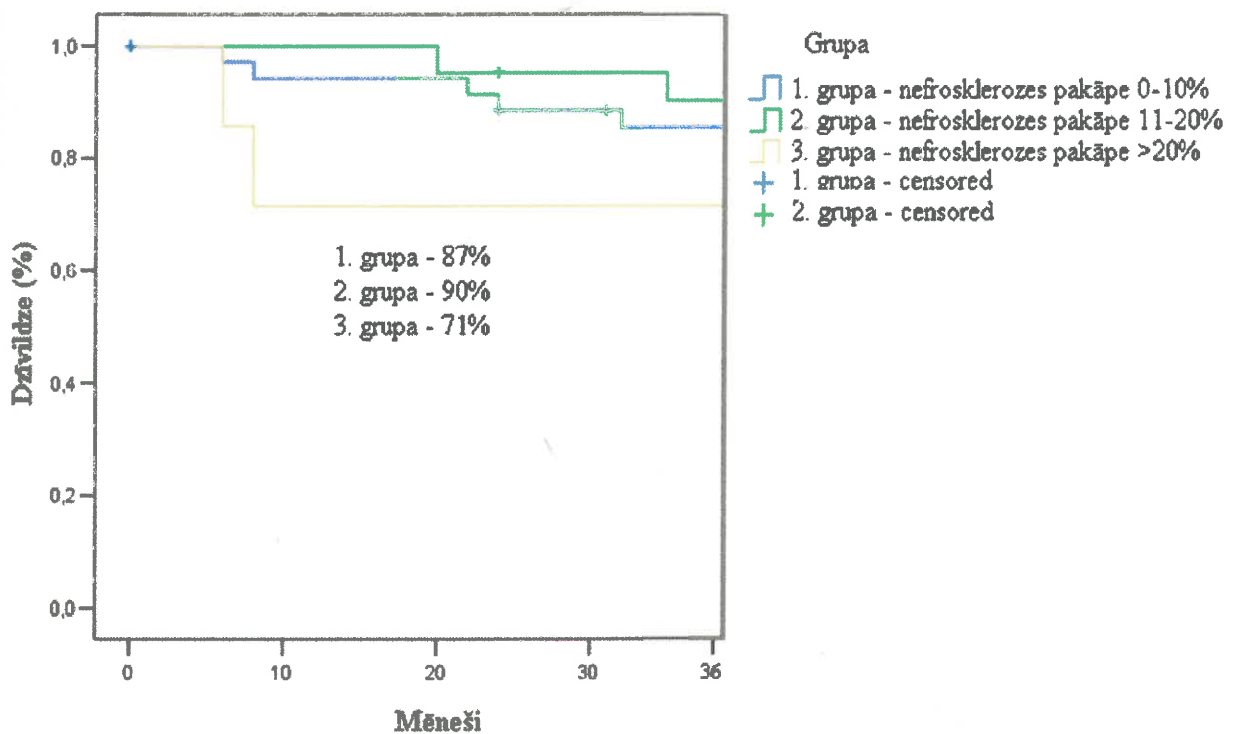
13. attēls. Seruma kreatinīna līmenis un GFĀ pēc 3 un 36 mēnešiem pēc transplantācijas pacientiem ar dažādām intersticiālas sklerozes pakāpēm.

- biežāku atliktas transplantāta funkcijas attīstību (14.att.);



14. attēls. AF un AR gadījumu skaits pacientiem ar dažādām donora nieru intersticiālas sklerozes pakāpēm

- īsāku transplantātu dzīvildzi (15.att.).



15. attēls. Transplantātu trīs gadu dzīvildze pacientiem ar dažādām donora nieru intersticiālas sklerozes pakāpēm.

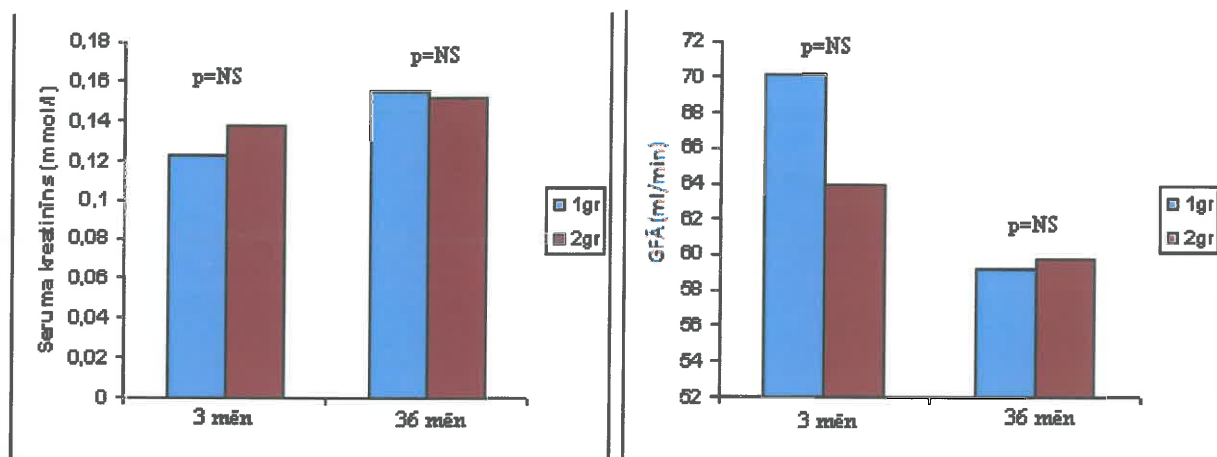
Analizējot arteriālās sklerozes ietekmi uz nieres funkciju pēctransplantācijas periodā tik konstatēts, ka otrajā grupā (ar sklerotiskām izmaiņām artērijās) gan donori, gan recipienti bija vecāki salīdzinājumā ar pirmo grupu (bez arteriosklerozes pazīmēm) (9. tab.).

9. tabula. Transplantātu funkcijas salīdzinājums un klīniskie dati pacientiem ar arteriālas sklerozes pazīmēm donora nierē (2. grupa) un bez tām (1. grupa).

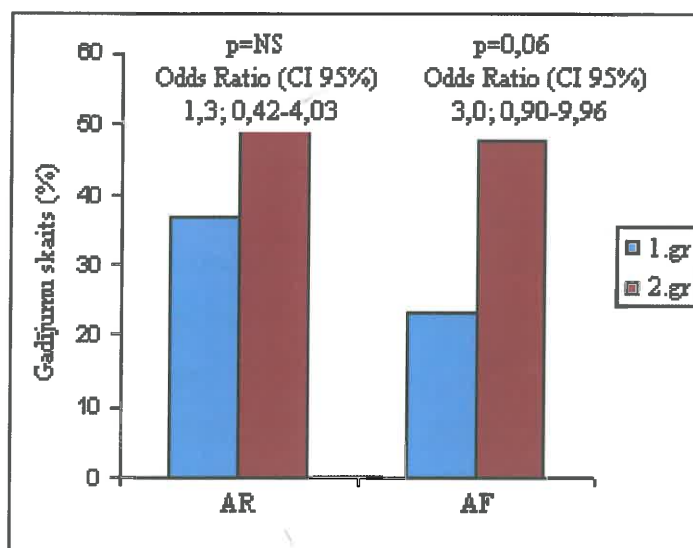
Rādītājs	1. grupa	2. grupa	Fisher's Exact
Pacientu skaits (n)	30	21	
Recipienta vecums (gadi)	44,4,0 \pm 15,7	55,7 \pm 9,7	p=0,01
Donora vecums (gadi)	41,4 \pm 12,9	54,3 \pm 11,5	p=0,002
Aukstuma išēmijas laiks (stundas)	17,0 \pm 3,3	17,5 \pm 4,8	p=NS
Seruma kreatinīns pēc 3 mēnešiem (mmol/l)	0.123 \pm 0,029	0.138 \pm 0,049	p=NS
Seruma kreatinīns pēc 36 mēnešiem (mmol/l)	0,155 \pm 0,064	0.152 \pm 0,039	p=NS
GFĀ pēc 3 mēnešiem (ml/min)	70,1 \pm 12,7	64,0 \pm 13,0	p=NS
GFĀ pēc 36 mēnešiem (ml/min)	59,2,0 \pm 18,5	59,8 \pm 13,6	p=NS

Salīdzinājuma rezultātu analīze parādīja, ka

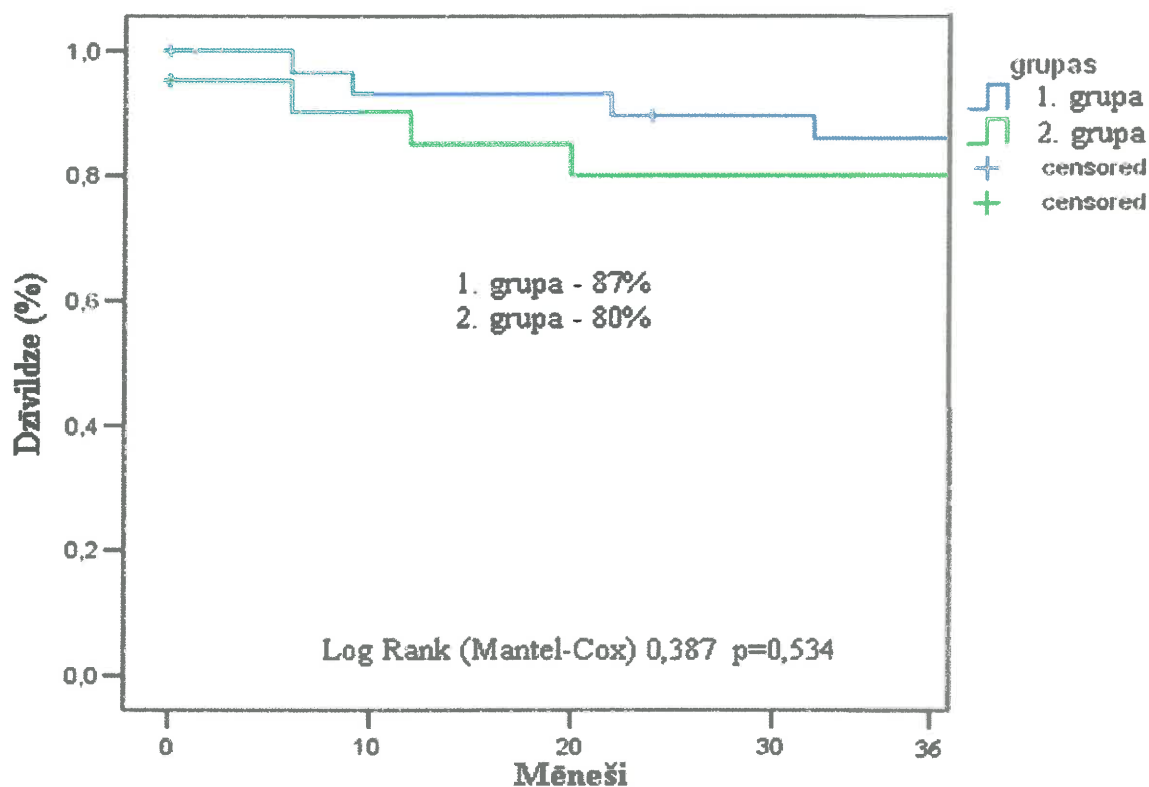
- seruma kreatinīna līmenis un GFĀ gan agrīnajā pēcoperācijas periodā, gan pēc 3 gadiem ir līdzīgi abās grupās (16. att.);
- pacientiem ar sklerotiskām izmaiņām donora nieres artērijās ir tendence uz biežāku atliktas transplantāta funkcijas attīstību (17.att.);
- transplantātu trīs gadu dzīvildze statistiski neatšķiras starp abām grupām (18.att.):



16. attēls. Seruma kreatinīna līmenis un GFĀ pēc 3 un 36 mēnešiem pacientiem ar arteriosklerozes pazīmēm donora nierē (2. grupa) un bez tām (1. grupa).



17. attēls. AF un AR gadījumu skaits pacientiem ar arteriosklerozes pazīmēm donora nierē (2. grupa) un bez tām (1. grupa).



18. attēls. Transplantātu trīs gadu dzīvildze pacientiem ar sklerotiskām izmaiņām donora nierēs artērijās (2. grupa) un bez tām (1. grupa).

Kopsavilkums.

1. 0-biopsijas rezultātu analīze parādīja, ka sklerotiskas izmaiņas donora nierēs glomerulos un interstīcijā ir cieši saistītas ar turpmāku transplantāta funkciju, bet arteriālas sklerozes ietekme nav tik nozīmīga.

2. Ar 0-biopsijas palīdzību tika atklāti pirms tam nezināmi 3 donora nierēs glomerulonefrīta gadījumi un 6 intersticiāla nefrīta gadījumi.

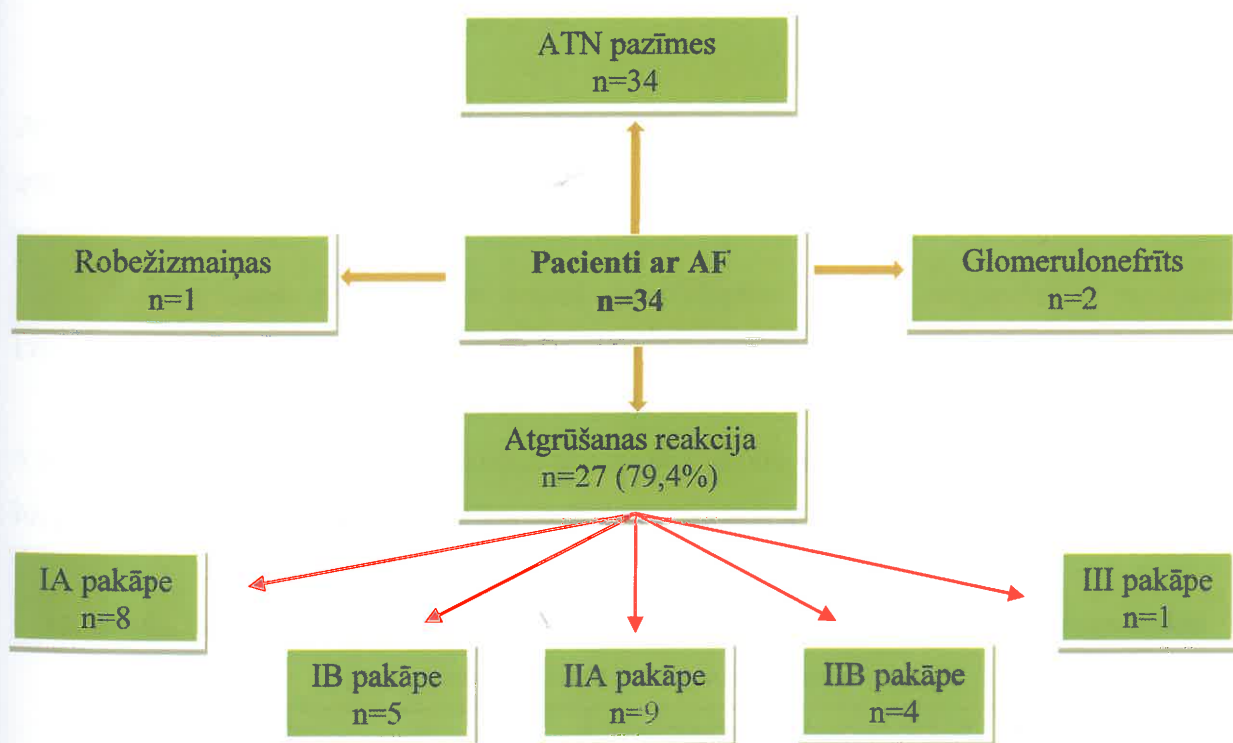
6.2. Protokola biopsijas rezultātu analīze

6.2.1. Protokola biopsijas atliktas transplantāta funkcijas gadījumā

Biopsijas materiāla histoloģiskas izmeklēšanas rezultāti bija šādi (19. att.):

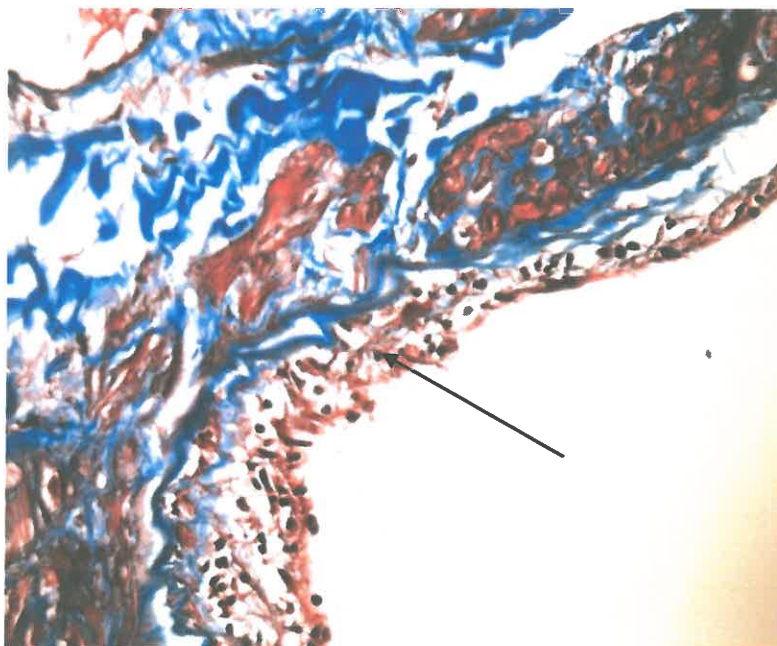
- visiem pacientiem histoloģiskā izmeklēšanā konstatēja dažādas pakāpes akūto tubulāru nekrozi;

- 2 pacientiem atklāja membranoproliferatīvu glomerulonefrītu. Arī atbilstošas 0-biopsijas materiāla izmeklēšana konstatēja glomerulonefrītu, kas nozīmē slimības pārņemšanu no donora;
- vienam pacientam histoloģiskā izmeklēšanā konstatēja robežizmaiņas;
- atgrūšanas reakciju konstatēja 27 (79,4%) gadījumos. Kā atgrūšanas reakciju mēs uzskatām histoloģiskas izmaiņas, sākot ar IA pakāpi:
 - 8 pacientiem – IA pakāpes
 - 5 pacientiem – IB pakāpes
 - 9 pacientiem – IIA pakāpes
 - 4 pacientiem – IIB pakāpes
 - 1 pacientam – III pakāpe



19. attēls. Punkcijas biopsijas rezultāti pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju.

IIB pakāpes akūtas atgrūšanas histoloģiskas ainas piemērs ir redzams 20. attēlā.



20. attēls. Pacients J.M. IIB akūta atgrūšanas reakcija (intimāls arteriīts, Masson krāsojums, attēla palielinājums – 400 reižu).

Šīs atgrūšanas reakcijas var nosaukt par “slēptām”, jo tās neizpaužas ar parastiem klīniskiem simptomiem, un diagnosticēt tās ir iespējams tikai ar punkcijas biopsijas palīdzību.

21 pacientam „slēpta” atgrūšanas reakcija tika konstatēta jau pēc pirmās biopsijas, bet 6 recipientiem ar AF atgrūšanas reakcija tika atklāta ar otro protokola biopsiju, lai gan pirmās biopsijas materiālā atgrūšanas reakcijas pazīmju nebija (10. tab.).

10. tabula. Protokola biopsiju skaits, kas bija nepieciešams atgrūšanas reakcijas diagnostikai pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju.

Pacientu skaits	Nepieciešams biopsiju skaits
21 pacienti	Ar 1. biopsiju
6 pacienti	Ar 2. biopsiju

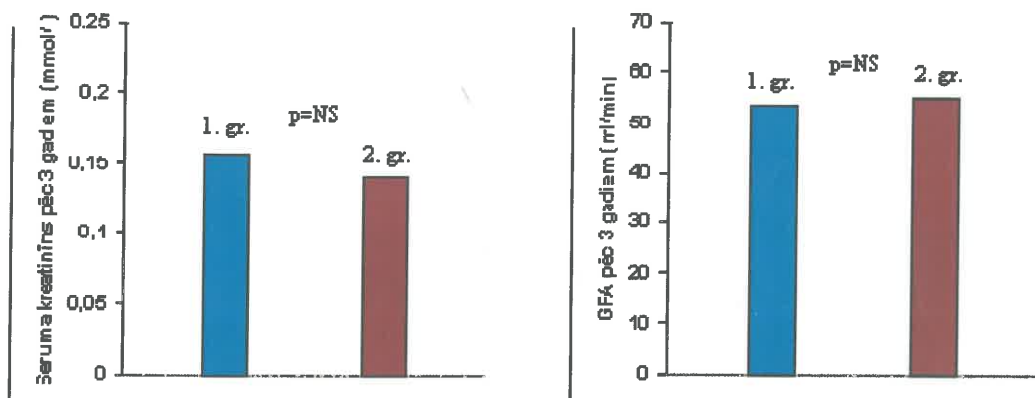
Salīdzinot pacientu grupas ar primāru nieru transplantāta funkciju (n=215) un grupas ar atliktu transplantāta funkciju un punkcijas biopsiju atklātām atgrūšanas reakcijām (n=27), rezultāti bija šādi:

- donoru un recipientu vecums un aukstuma išēmijas laiks bija statistiski ticami lielāki pacientiem ar atliktu funkciju (11. tab.):

11. tabula. Klīnisko datu un transplantāta funkcijas rādītāju salīdzinājums pacientiem ar primāru (1. grupa) un atliktu (2. grupa) nieru transplantāta funkciju.

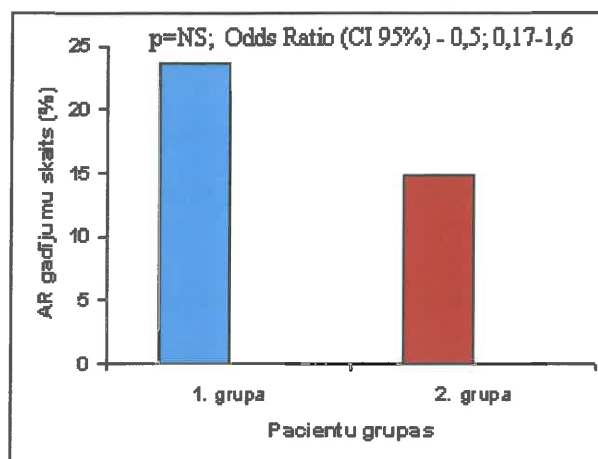
Rādītājs	1.grupa (n=215) pacienti ar PTF	2.grupa (n=27) pacienti ar AF	Fisher's Exact (p)
Recipienta vecums (gadi)	43,9±14,5	54,1±8,7	<0,05
Aukstuma išēmijas laiks (stundas)	16,0±4,7	18,3±4,4	<0,05
Donora vecums (gadi)	42,2±13,6	50,2±12,5	<0,05
Seruma kreatinīns pēc 3g (mmol/l)	0,157±0,061	0,140±0,039	NS
GFĀ pēc 3 gadiem (ml/min)	53,6±15,7	55,1±13,2	NS

- pēc trim gadiem gan kreatinīna līmenis asinīs, gan GFĀ bija līdzīgi abās grupās. Pacientiem ar atliktu funkciju un atklātām atgrūšanas reakcijām transplantātu funkcijas rādītāji bija pat nedaudz labāki nekā pacientiem ar primāru transplantāta funkciju, bet statistiski nenozīmīgi (21. att).



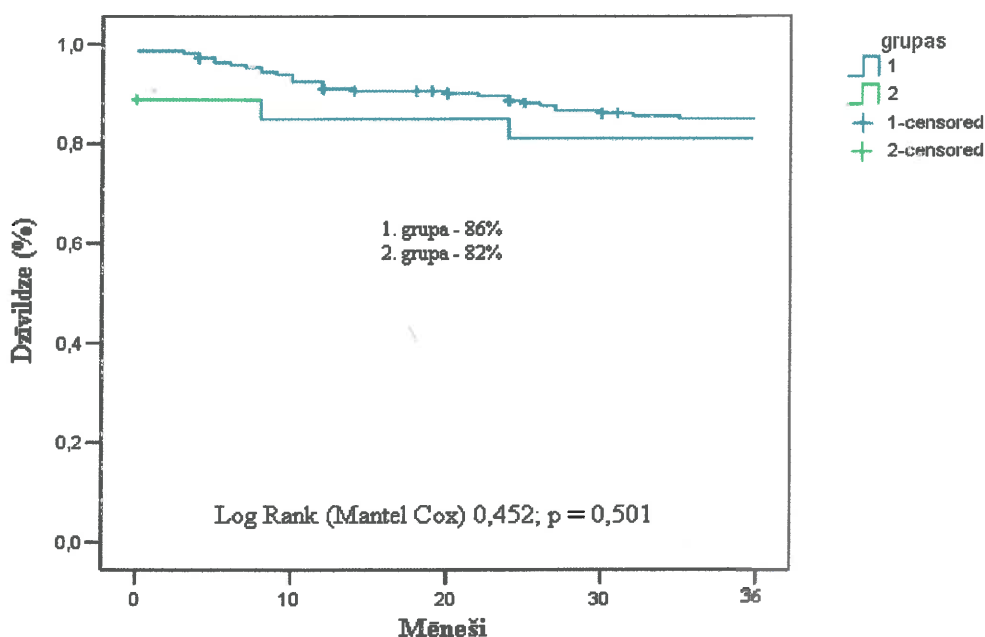
21. attēls. Seruma kreatinīna līmenis un GFĀ pēc 3 gadiem pacientiem ar primāru (1. grupa) un atliktu (2. grupa) nieru transplantāta funkciju.

- salīdzinājuma rezultātu analīze parādīja, ka akūtas atgrūšanas reakcijas biežums vēlinajā pēcoperācijas perioda bija līdzīgs abās grupās (22. att.).



22. attēls. AR gadījumu skaits pacientiem ar primāru (1. grupa) un atliktu (2. grupa) nieru transplantāta funkciju.

- nieru transplantātu trīs gadu dzīvildze bija 86% pacientu ar primāru funkciju un 82% pacientu ar atliktu funkciju un „slēptām” atgrūšanas reakcijām (23. att.).



23. attēls. Transplantātu 3 gadu dzīvildze pacientiem ar AF un „slēptām” atgrūšanas reakcijām (2. grupa) un pacientiem ar primāru (1. grupa) transplantāta funkciju.

Kopsavilkums:

1. Protokola biopsijas 27 recipientiem ar AF (79,4%) atklāja „slēptas” atgrūšanas reakcijas.

2. Sešiem pacientiem atgrūšanas reakcija tika atklāta ar otro biopsiju, lai gan pirmās biopsijas materiālā atgrūšanas reakcijas pazīmes netika konstatētas.

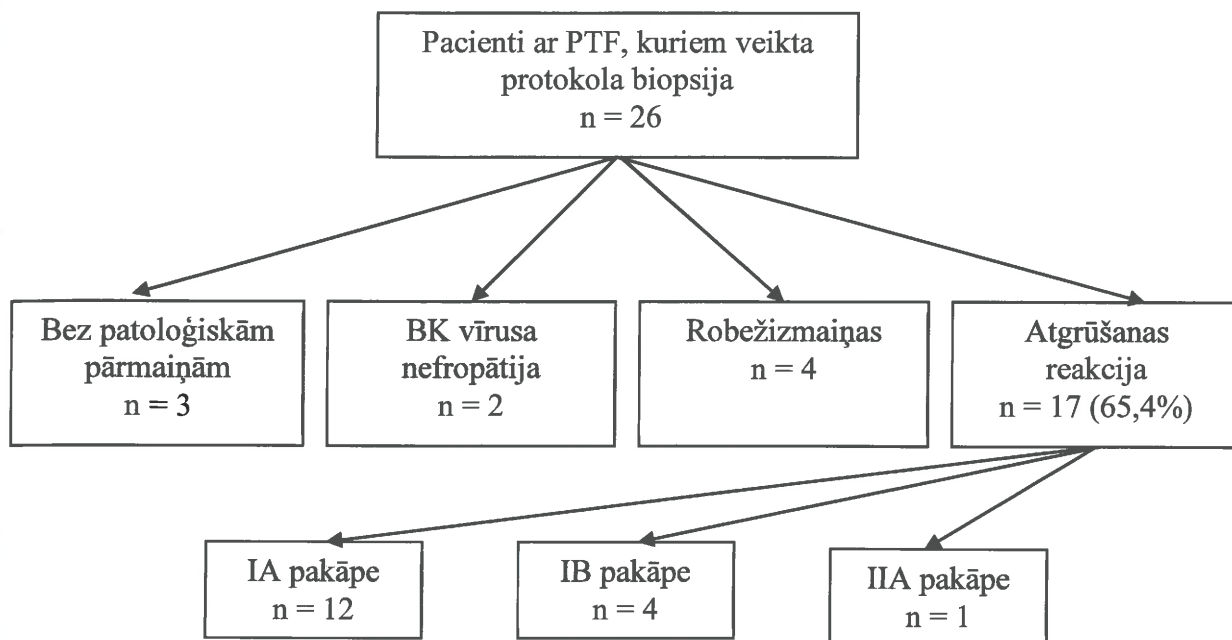
3. Pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju un diagnosticētām un ārstētām „slēptām” atgrūšanas reakcijām un pacientiem ar primāru transplantāta funkciju nieres funkcija pēc trim gadiem bija līdzīga.

4. Akūtas atgrūšanas reakcijas risks un transplantātu 3 gadu dzīvildze bija līdzīgas pacientiem ar AF un ārstētām „slēptām” atgrūšanas reakcijām un pacientiem ar primāru transplantāta funkciju.

6.2.2. Protokola biopsijas primāras transplantāta funkcijas gadījumā

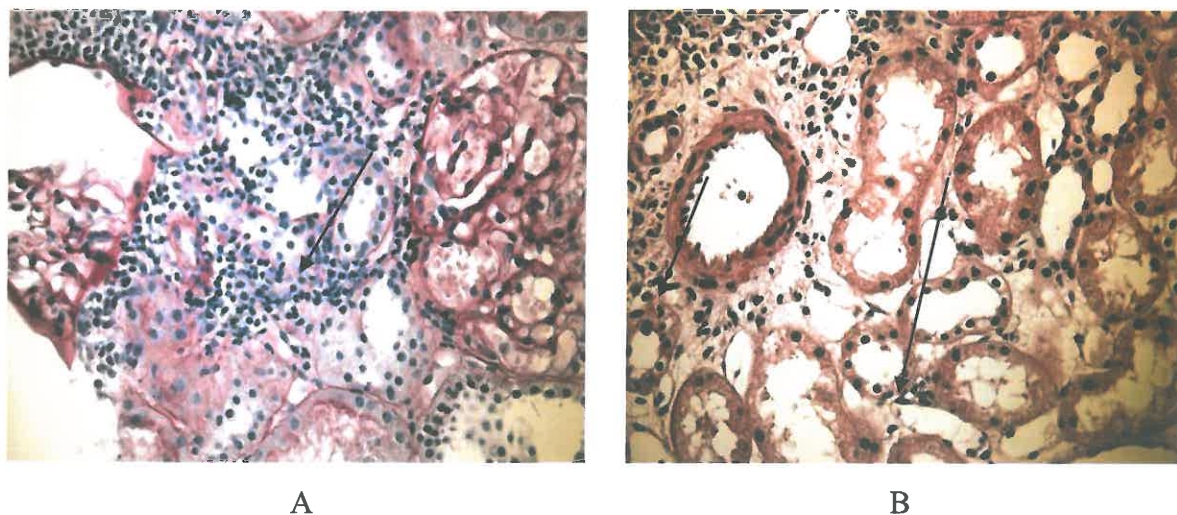
Iegūta materiāla histoloģiskas izmeklēšanas rezultāti bija šādi (24. att.):

- trim pacientiem patoloģiskas pārmaiņas netika diagnosticētas;
- diviem pacientiem konstatēja BK nefropātijas pazīmes;
- četriem pacientiem izmeklētajā materiālā bija robežizmaiņas;
- 17 (65,4%) pacientiem konstatēja akūtas atgrūšanas reakcijas pazīmes (kā atgrūšanas reakciju mēs uzskatām morfoloģiskas izmaiņas, sākot ar IA pakāpi):
 - IA pakāpe – 12 recipientiem;
 - IB pakāpe – 4 recipientiem
 - IIA pakāpe – 1 recipientam



24. attēls. Protokola biopsijas rezultāti pacientiem ar primāru transplantāta funkciju.

Akūtas atgrūšanas reakcijas IA pakāpes histoloģiskas aina(A) un robežizmaiņu (B) piemērs ir redzams 25. attēlā.



25.attēls. A - pacients O.S. Akūta atgrūšanas reakcija IA pakāpe (mononukleāras šūnas izlocīta kanāliņā ar intersticiālu infiltrāciju, PAS krāsojums; attēla palielinājums – 400 reižu)

B - pacients J.Z. Robežizmaiņas (atsevišķas mononukleāras šūnas izlocīta kanāliņā; krāsotas ar HE; attēla palielinājums – 400 reižu).

Subklīniska atgrūšanas reakcija (SAR) tika ārstēta ar steroīdiem 9 pacientiem - *Solu-Medrol* 3 dienas 500 mg x dienā. Astoņiem pacientiem subklīniska atgrūšanas reakcija netika ārstēta.

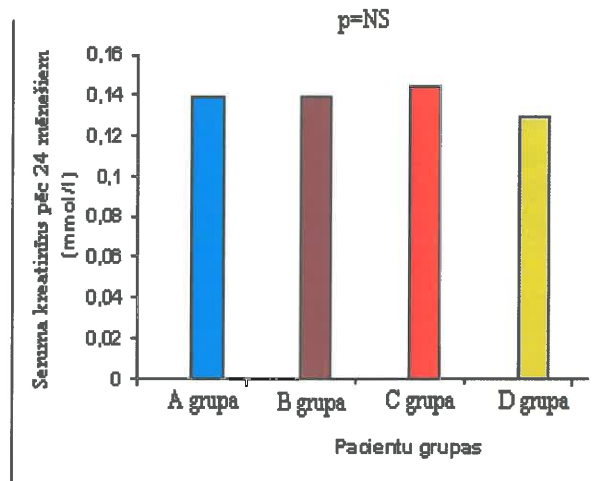
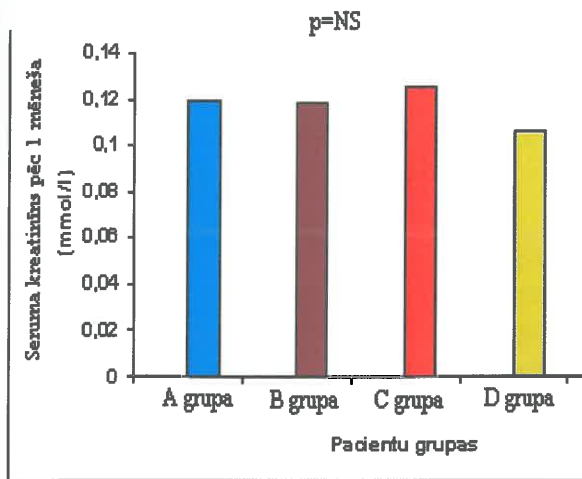
Grupas salīdzinājuma rezultāti bija šādi (12. tab.):

- donoru un recipientu vecums un aukstuma išēmijas laiks bija līdzīgas visās grupās ($p=NS$);

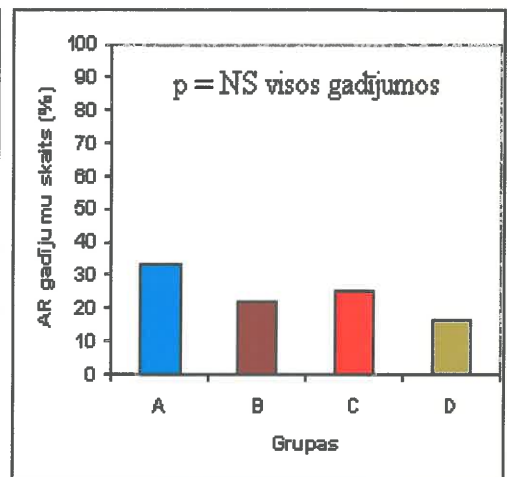
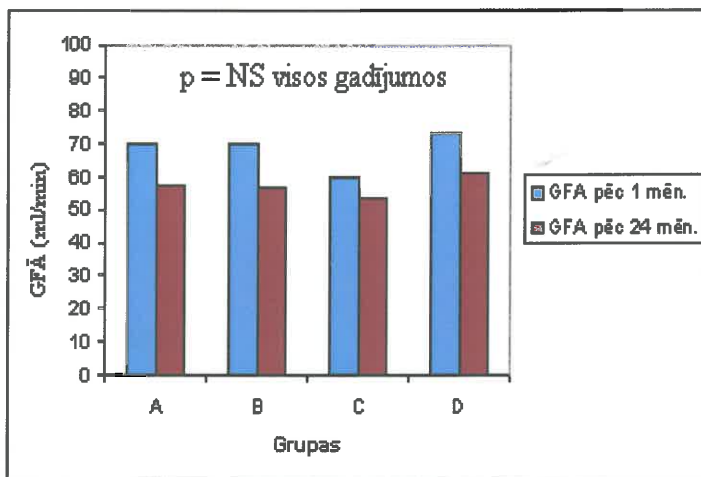
12. tabula. Klīnisko datu un transplantāta funkcijas rādītāju salīdzinājums pacientiem bez SAR pazīmēm biopsijas materiālā (A gr.), ar ārstētām SAR (B gr.), ar neārstētām SAR (C gr.) un kontroles grupas pacientiem (D gr.).

Rādītājs	A grupa (n=9)	B grupa (n=9)	C grupa (n=8)	D grupa (n=54)
Recipientu vecums (gadi)	52,0±11,5	46,0±15,1	49,0±7,5	46,1±16,0
Aukstuma išēmijas laiks (stundas)	17,9±1,7	16,7±2,1	16,3±2,8	16,7±5,0
Donora vecums (gadi)	42,1±12,9	51,1±13,5	48,6±8,4	44,9±16,2
Seruma kreatinīns pēc 1 mēneša (mmol/l)	0,119±0,022	0,118±0,027	0,125±0,035	0,106±0,021
Seruma kreatinīns pēc 24 mēnešiem (mmol/l)	0,139±0,022	0,139±0,022	0,145±0,057	0,130±0,052
GFĀ pēc 1 mēneša (ml/min)	69,8±17,5	70,1±22,5	59,8±11,6	73,1±15,2
GFĀ pēc 24 mēnešiem (ml/min)	57,6±16,1	57,1±14,9	53,5±14,3	61,6±16,5
AR novērošanas periodā (%)	33,3% (3)	22,2% (2)	25% (2)	16,7% (9)

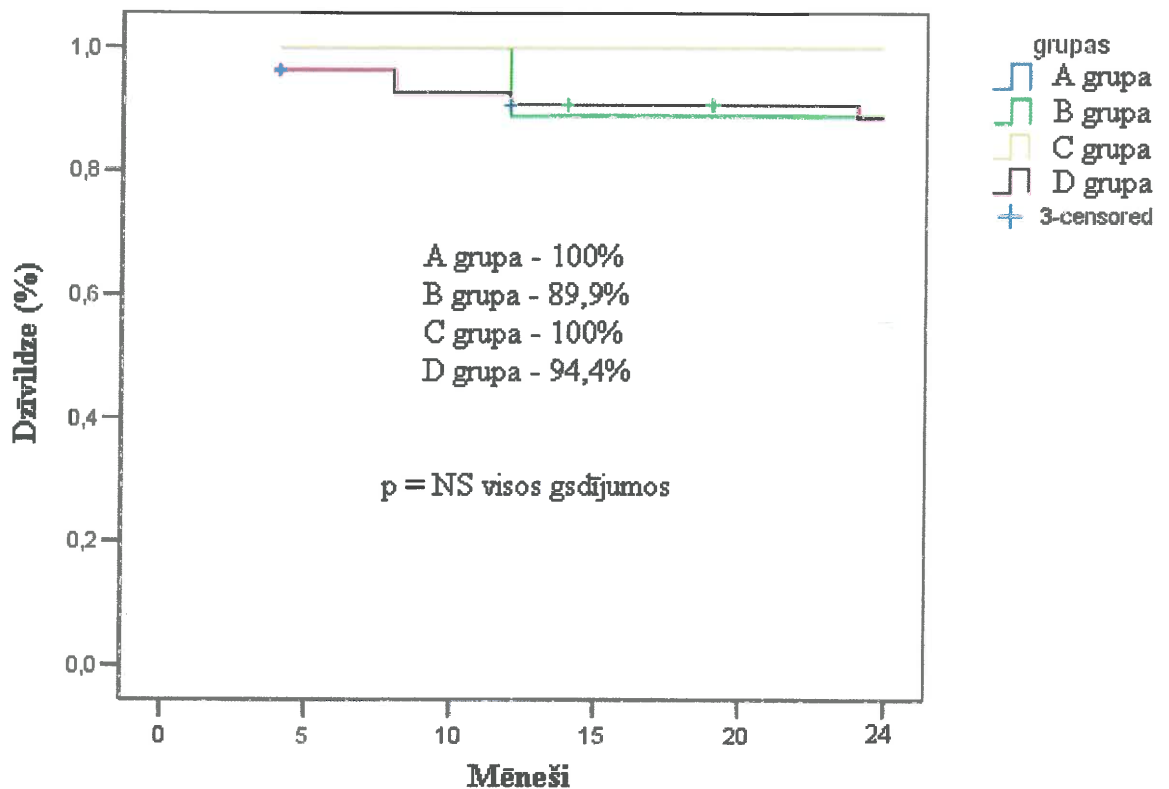
- kreatinīna līmenis asinīs un GFĀ gan pēc 1 mēneša, gan pēc 24 mēnešiem pēc transplantācijas statistiski neatšķiras visās grupās, tajā skaitā arī grupā, kurai subklīniska AR netika ārstēta (26, 27 att.);
- arī klīniskas AR gadījumu biežums bija līdzīgs visās grupās (27. att.);
- nieru transplantātu 2 gadu dzīvildze statistiski neatšķiras visās grupās (28. att.).



26. attēls. Seruma kreatinīna līmenis pēc 1 un pēc 24 mēnešiem pacientiem bez SAR pazīmēm biopsijas materiālā (A gr.), ar ārstētām SAR (B gr.), ar neārstētām SAR (C gr.) un kontroles grupas pacientiem (D gr.).



27. attēls. GFĀ pēc 1 un pēc 24 mēnešiem un klīniskas AR gadījumu skaits novērošanas periodā pacientiem bez SAR pazīmēm biopsijas materiālā (A gr.), ar ārstētām SAR (B gr.), ar neārstētām SAR (C gr.) un kontroles grupas pacientiem (D gr.).



28. attēls. Transplantātu 2 gadu dzīvildze pacientiem bez SAR pazīmēm biopsijas materiālā (A gr.), ar ārstētām SAR (B gr.), ar neārstētām SAR (C gr) un kontroles grupas pacientiem (D gr.).

Kopsavilkums.

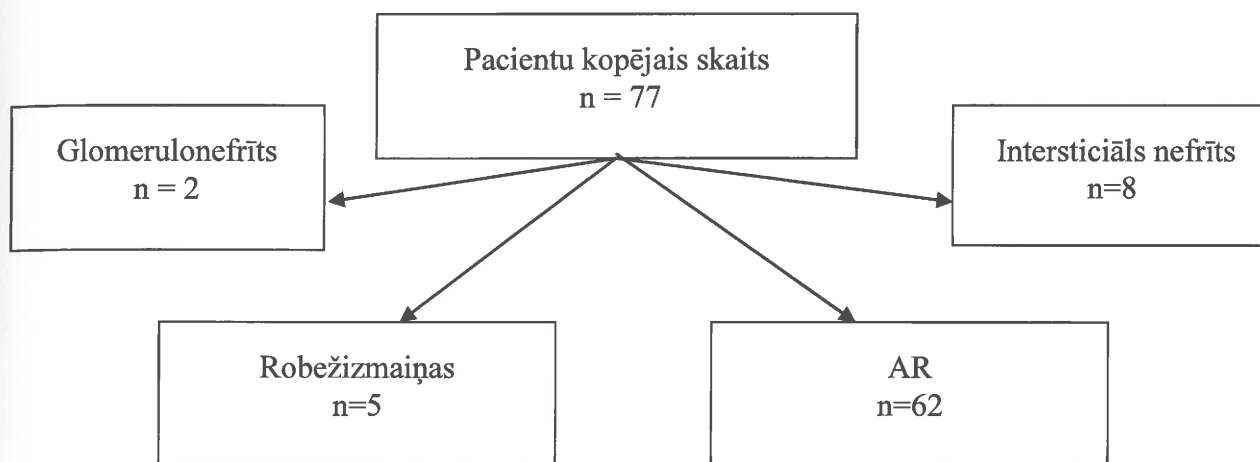
1. Ar protokola biopsijām dažādas pakāpes subklīniska atgrūšanas reakcija tika atklāta 65,4% pētījuma pacientiem ar primāru un stabilu nieru transplantāta funkciju.
2. Divu gadu laikā transplantātu funkcija, transplantātu dzīvildze un klīniskās AR biežums statistiski neatšķiras pacientiem ar subklīniskām atgrūšanas reakcijām un bez tām, pat ja SAR netika ārstēta.

6.3. Neatliekamas biopsijas rezultātu analīze

Neatliekamas biopsijas materiāla izmeklēšanas rezultāti bija šādi (29. att.):

- diviem pacientiem tika diagnosticēts membranoproliferatīvs glomerulonefrīts (vienā gadījumā glomerulonefrīts bija konstatēts jau donora nieru biopsijas materiālā, bet otra gadījumā 0-biopsija netika veikta);

- astoņiem pacientiem tika konstatēts intersticiāls nefrīts;
- pieciem pacientiem tika konstatētas robežizmaiņas;
- dažādas pakāpes akūtas atgrūšanas reakcijas tika konstatētas 62 (80,5%) pacientiem.



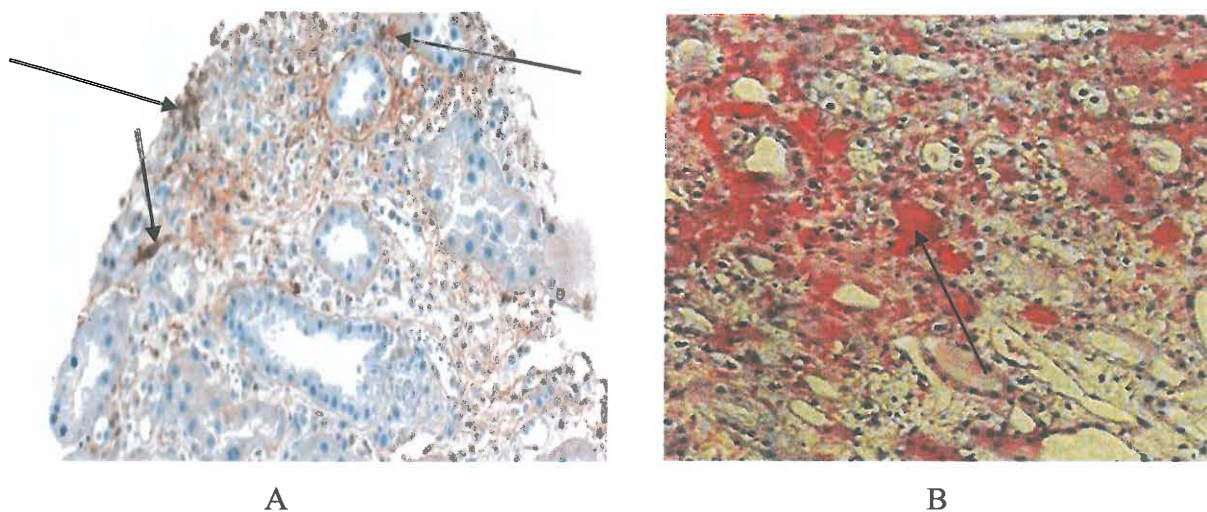
29. attēls. Punkciju biopsijas atradnes pacientiem ar pēkšņu nieru transplantāta disfunkciju agrīnā pēcoperācijas periodā.

Par akūtu atgrūšanas reakciju mēs uzskatām histoloģiskas izmaiņas, sākot ar IA pakāpi (13. tab.).

13. tabula. Akūto atgrūšanas reakciju pakāpes pacientiem ar pēkšņu nieru transplantāta disfunkciju agrīnā pēcoperācijas periodā.

AR pakāpe	Pacientu skaits
IA pakāpe	19
IB pakāpe	13
IIA pakāpe	21
IIB pakāpe	4
III pakāpe (30B. att)	4
Humorāla atgrūšanas reakcija	4

Diviem pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju humorāla atgrūšanas reakcija tika atklāta retrospektīvi, kad preparāta morfoloģiskā izmeklēšanā konstatēja C4d depozītus peritubulārajos kapilāros (30A. att).

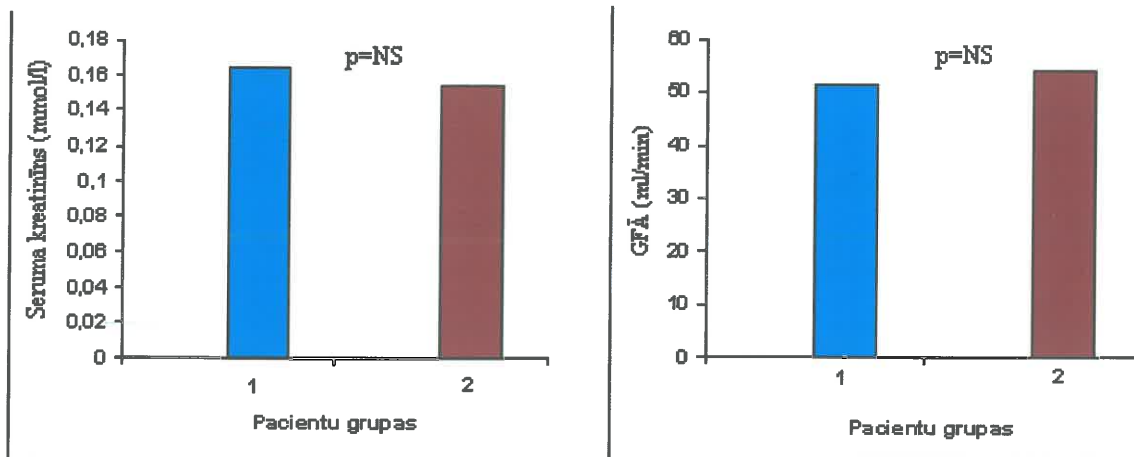


30. attēls. A - pacients G.Z. C4d depozīti peritubulāros kapilāros. B - pacients J.B. Nekrožu un asinsizplūdumu perēkļi akūtas III pakāpes atgrūšanas reakcijas gadījumā. Krāsotas ar HE (attēla palielinājums - 100 reižu).

Analizējot agrīnas akūtas atgrūšanas reakcijas ietekmi uz vēlinu transplantāta funkciju (14. tab.), tika konstatēts, ka pēc trim gadiem seruma kreatinīna līmenis bija nedaudz augstāks, bet GFĀ nedaudz zemāks pacientiem, kuriem agrīnajā pēcoperācijas periodā tika diagnosticēta akūta atgrūšanas reakcija, bet atšķirība bija statistiski nenožīmīga (31. att.).

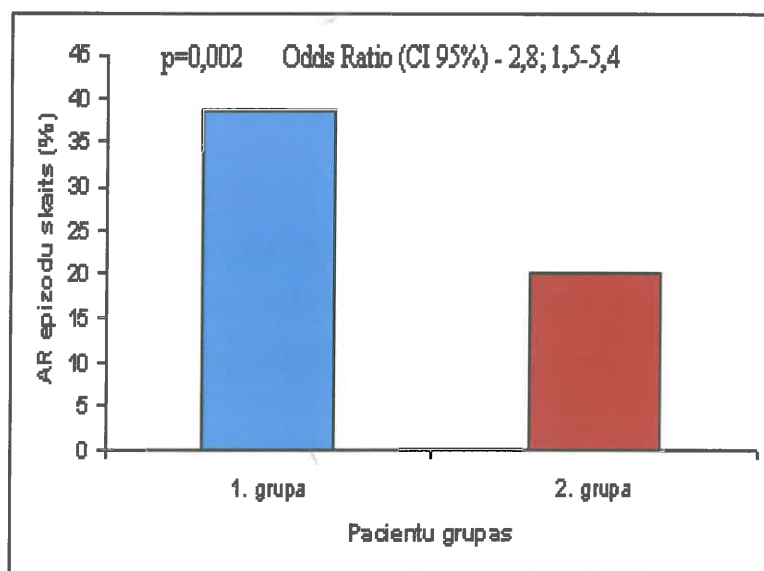
14. tabula. Transplantātu funkcijas salīdzinājums pēc trim gadiem pacientiem ar AR agrīnā pēcoperācijas periodā (1. grupa) un bez tām (2. grupa).

Parametri	1. grupa (n=62)	2. grupa (n=158)	Fisher's Exact (p)
Seruma kreatinīns pēc 3 gadiem (mmol/l)	0,165±0,058	0.155±0,062	NS
GFĀ pēc 3 gadiem (ml/min)	51,6±16,0	54,2±15,6	NS



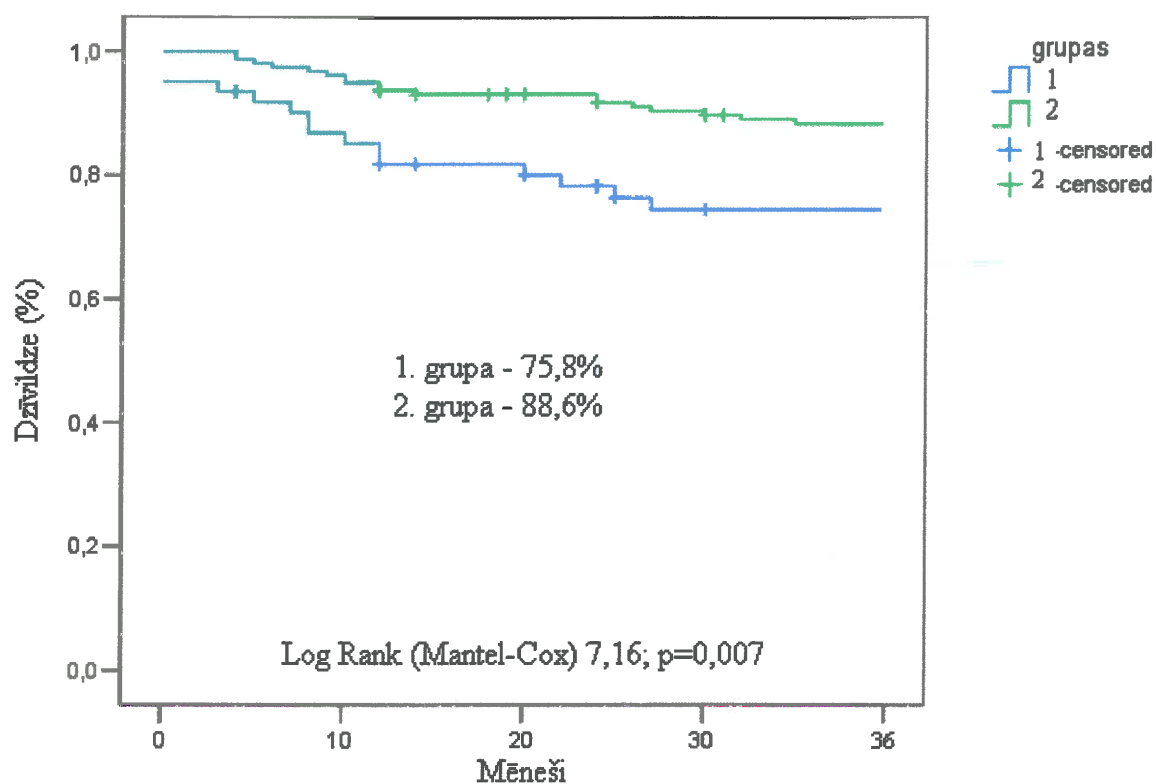
31. attēls. Seruma kreatinīna līmenis un GFĀ pēc 36 mēnešiem pacientiem ar AR agrīnajā pēcoperācijas periodā (1. grupa) un bez tām (2. grupa).

Salīdzinot akūtas atgrūšanas reakcijas biežumu vēlīnajā pēcoperācijas periodā, tika konstatēts, ka tās iespēja ir lielāka pacientiem, kuriem AR jau bija agrīnajā pēc transplantācijas periodā (32. att.).



32. attēls. Vēlīnas AR epizodu skaits pacientiem ar AR agrīnajā pēcoperācijas periodā (1. grupa) un bez tām (2. grupa).

Arī transplantātu dzīvildze šiem pacientiem salīdzinājumā ar 2. grupu bija īsāka (33.att.).

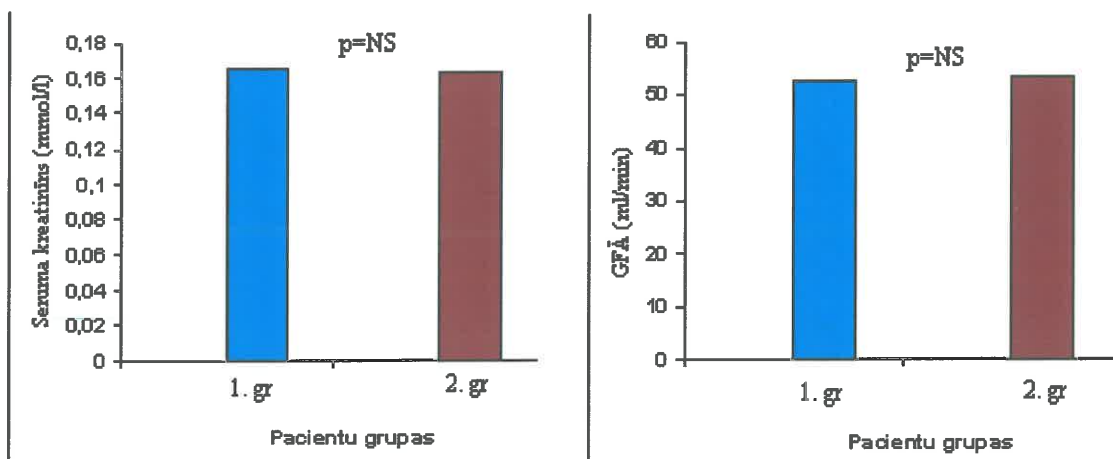


33. attēls. Transplantātu 3 gadu dzīvildze pacientiem ar AR agrīnajā pēcoperācijas periodā (1. grupa) un bez tām (2. grupa).

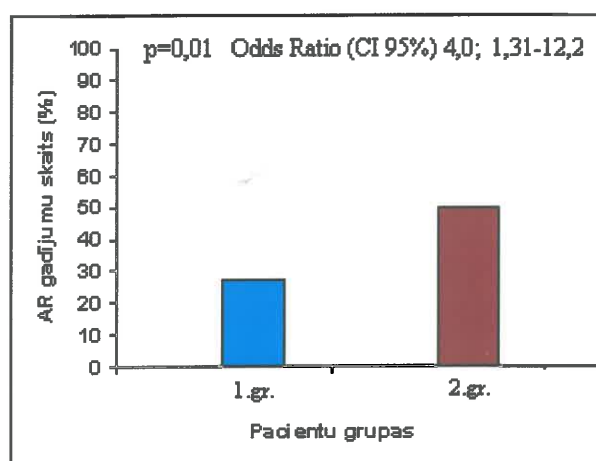
Salīdzinot transplantātu funkciju pēc trim gadiem pacientiem ar dažādām atgrūšanas reakcijas pakāpēm (15. tab.), tika konstatēts, ka tā ir līdzīga abās grupās (34. att), bet recipientiem ar smagāku atgrūšanas reakcijas pakāpi vēlīnajā pēctransplantācijas periodā ir tendence uz biežāku atgrūšanas reakcijas attīstību (35. att).

15. tabula. Nieres transplantātu funkcija pēc 36 mēnešiem pacientiem ar dažādām atgrūšanas reakcijas pakāpēm.

Parametri	1.grupa (n=30) I pakāpe AR	2.grupa (n=32) Humorāla, II un III pakāpe AR	Fisher's Exact (p)
Seruma kreatinīns līmenis pēc 3 gadiem, (mmol/l)	0,166±0,062	0,164±0,054	NS
GFA pēc 3 gadiem, (ml/min)	52,4±16,9	53,3±17,3	NS

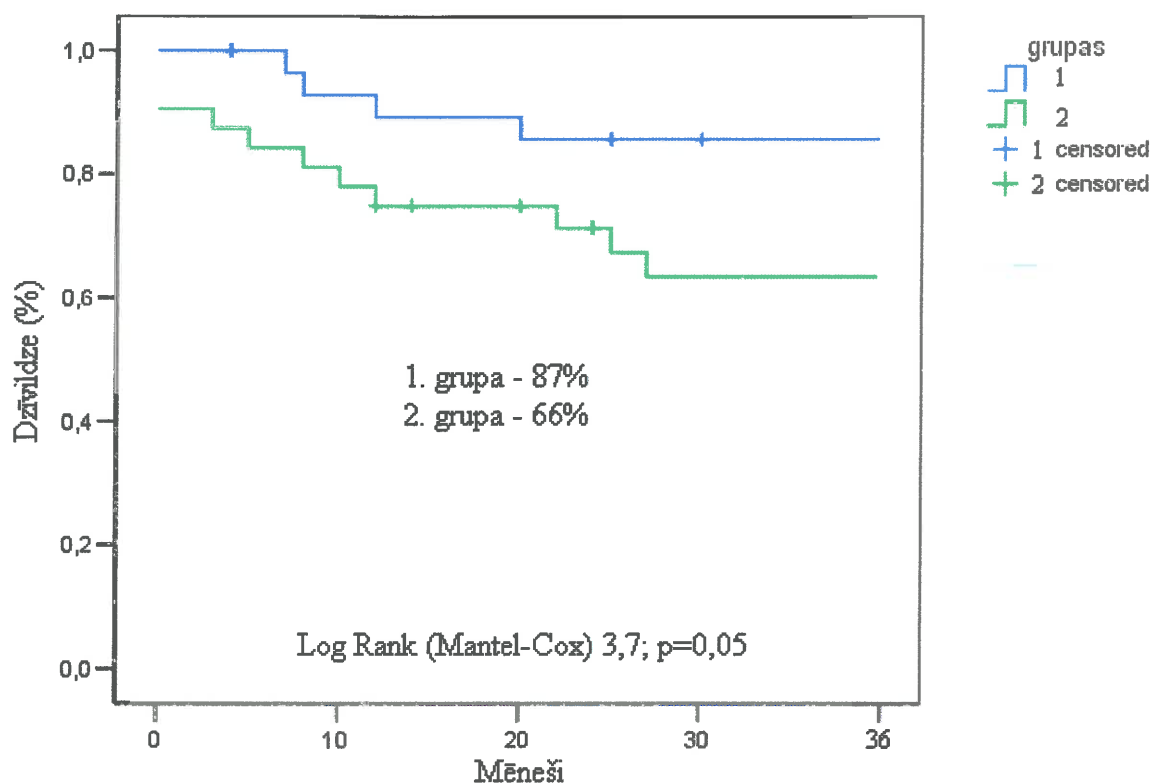


34. attēls. Seruma kreatinīna līmenis un GFĀ pēc 36 mēnešiem pacientiem ar dažādām AR pakāpēm.



35. attēls. Vēlīnas AR epizodu skaits pacientiem ar dažādām AR pakāpēm.

Arī transplantātu dzīvildze viņiem ir īsāka (36. att.).



36. attēls. Transplantātu trīs gadu dzīvildze pacientiem ar dažādām AR pakāpēm.

Kopsavilkums.

1. Punkcijas biopsija nierēs transplantāta disfunkcijas gadījumā (neatliekamā biopsija) palīdz precīzi noteikt disfunkcijas iemeslu.

2. No 77 pacientiem ar pēkšņu nierēs transplantāta funkcijas pasliktināšanos sešdesmit diviem (80,5%) disfunkcijas iemesls bija akūta atgrūšanas reakcija.

3. Akūta klīniska atgrūšanas reakcija agrīnā pēcoperācijas periodā paaugstina atgrūšanas risku arī vēlīnā pēcoperācijas periodā, kā arī saīsina transplantātu dzīvildzi.

4. Pacientiem ar smagāku atgrūšanas reakcijas pakāpi ir tendence uz īsāku nierēs transplantātu dzīvildzi un lielāku AR risku vēlīnā periodā.

7. DISKUSIJA

Nieres transplantāta biopsija ir patoloģisko stāvokļu diagnostikas un funkcionālas spējas izvērtēšanas metode ar zemu komplikācijas iespēju un relatīvi vienkāršu tehniku. Mūsu pētījumā vienīgais reģistrētais komplikāciju veids bija makrohematūrija, ko konstatēja 7 pacientiem (3,2%). Visos gadījumos komplikācijas neietekmēja turpmāko nieres transplantāta funkciju, un tikai vienā gadījumā bija nepieciešama urīnpūšļa kateterizācija. Par punkcijas biopsijas drošību atkārtoti ir ziņots dažādos pētījumos (106,107). Kopējais komplikāciju skaits pēc literatūras datiem ir ap 1% (108,109), bet tajā skaitā ir arī peritonīti, uretera obstrukcijas un pat transplantāta neatgriezeniskie bojājumi. Tādēļ, lai gan procentuāli komplikāciju skaits mums ir augstāks nekā pieminēts literatūrā, starp tiem nebija neviena potenciāli bīstama.

Punkcijas biopsiju ar diagnostiskiem mērķiem izmanto, sākot ar nieres eksplantācijas momentu un visu transplantāta funkcionēšanas laiku.

Attīstoties nieru transplantācijai, pieaug arī tās kā hroniskas nieru slimības ārstēšanas metodes popularitāte. Līdz ar to paaugstinājās arī pieprasījums pēc donora nierēm un parādījās nepieciešamība paplašināt donoru atlasas kritērijus un izmantot nieres no suboptimāliem donoriem. Šajā gadījumā īpaši svarīgi ir pareizi izvērtēt donora nieres funkcionālas spējas, un 0-biopsija var sniegt mums nepieciešamo informāciju.

Lai prognozētu transplantētas nieres turpmāko funkciju, var izmantot arī klīniskos donora faktorus – donora vecumu, GFĀ pirms nieres eksplantācijas, seruma kreatinīna līmeni, bet 0-biopsija dod precīzāku informāciju par izmaiņām nieres audos.

Mūsu dati liecina, ka pēctransplantācijas nieru funkcija korelē ar histoloģiskām atradnēm donora nierē. Intersticiālas fibrozes pakāpe un glomerulāras sklerozes esamība donora nierē bija tieši saistīti ar transplantāta funkciju agrīnajā pēcoperācijas periodā – pacientiem ar lielāku sklerozes pakāpi biežāk attīstījās atlikta funkcija ($p < 0,05$), augstāks seruma kreatinīna līmenis un zemāks GFĀ ($p < 0,05$). Vēlīnajā pēcoperācijas periodā tendence uz sliktāku funkciju saglabājas, bet statistiski nenozīmīga. Tas var būt saistīts ar to, ka

pievienojas arī citu faktoru iedarbība – recipienta pamatslimība, imunsupresīvas terapijas komplikācijas utt. Pie līdzīgiem secinājumiem nonāca arī *Amr El-Husseini et al* (110). Nav nekāds brīnums, ka donoru vecums bija lielāks tajā recipientu grupā, kur sklerotiskas izmaiņas ir lielākas. Mēs cenšamies transplantēt nieres no vecākiem donoriem līdzīga vecuma recipientiem, un tieši tādēļ arī recipientu vecums ir lielāks pacientu grupā ar izteiktām sklerotiskām izmaiņām.

Mūsu pētījumā ar 0-biopsijas palīdzību trim donoriem (4,6%) tika atklāts dzīves laikā nediagnosticēts glomerulonefrīts. Diemžēl 0-biopsijas rezultāti vienmēr ir zināmi jau pēc transplantācijas, un mēs varam tikai pievērst atbilstošiem recipientiem lielāku uzmanību.

Sešiem donoriem (9,2%) histoloģiskā izmeklēšanā konstatēja intersticiālu nefrītu, līdz ar ko atbilstošie recipienti pēc transplantācijas saņēma antibakteriālu terapiju. Salīdzinot iegūtos datus ar literatūras datiem, ir redzams, ka mums ir samērā liels donoru intersticiālo nefrītu un glomerulonefrītu procents. Piemēram, *Birkeland et al* savā pētījumā konstatēja glomerulonefrītu 0,3% donoru, bet intersticiālo nefrītu – 0,8% (49). Iespējams, tas saistīts ar labāku slimību diagnostiku donora dzīves laikā.

Mūsu pētījumā nevienam donoram, kam tika veikta 0-biopsija, netika diagnosticēta onkoloģiska slimība. Tas var būt saistīts ar to, ka tādu gadījumu skaits ir zems arī pēc literatūras datiem. Piemēram, *Carver et al* savā pētījumā raksta par 0,9% donora nieres karcinomas gadījumiem (48), bet *Birkeland et al* - par 1,3% donoru malignitātes gadījumiem (49).

Mēs nonācām pie secinājuma, ka 0-biopsija var dot svarīgu informāciju par donora nieres funkcionālu pilnvērtīgumu un iegūtos datus var izmantot transplantāta funkcijas prognozei. Bet diemžēl 0-biopsijas rezultātiem vēl joprojām ir vairāk teorētiska nozīme, un to ietekme uz pēcooperācijas stratēģiju ir ierobežota (111).

Veicot punkcijas biopsijas, ja pēkšņi pasliktinājusies nieres transplantāta funkcija, mēs konstatējam, ka 80,5% gadījumu disfunkcijas pamatā bija dažādas pakāpes akūta atgrūšanas reakcija. Iespējams, ka to skaits ir lielāks, jo dažos gadījumos pacientiem veikta pretkrīžu ārstēšana, balstoties tikai uz klīniskajiem datiem, un diagnoze nebija apstiprināta ar punkcijas biopsiju.

Robežizmaiņas mēs nepieskaitām pie atgrūšanas reakcijas veidiem un tātad neārstējam. Lai gan *KDIGO Clinical Practice Guideline* rekomendē ārstēt robežizmaiņu, vienlaikus ir atzīmēts, ka nav uzticamu datu par tās ārstēšanas pozitīviem efektiem (104).

Viena no galvenajām humorālas atgrūšanas reakcijas diagnostiskajām metodēm (112) – C4d depoziņu noteikšana peritubulārajos kapilāros punkcijas biopsijas materiālā – mums kļuva pieejama tikai 2010. gadā, tāpēc humorālas reakcijas diagnoze pētījumā pacientiem tika uzstādīta, balstoties tikai uz klīnisko ainu un anti-HLA antivielas klātbūtni, bet ar C4d depoziņu klātbūtni apstiprināta retrospektīvi.

Pēc mūsu datiem akūtas atgrūšanas reakcijas agrīnajā pēcoperācijas periodā ir cieši saistītas ar turpmāko transplantāta darbību, kas atbilst arī literatūras datiem.

Vienam pacientam ar glomerulonefrīta pazīmēm biopsijas materiālā arī atbilstošas 0-biopsijas izmeklēšanā konstatēja membranoproliferatīvu glomerulonefrītu, kas nozīmē slimības implantāciju ar donora nieri. Otram pacientam 0-biopsijas dati nav pieejami, līdz ar to secināt par glomerulonefrīta izcelsmi nav iespējams. Bet, ņemot vērā, ka glomerulonefrīts bija membranoproliferatīvs, slimības recidīvs ir mazāk iespējams, jo diagnoze uzstādīta trīs nedēļas pēc transplantācijas.

Sešiem pacientiem ar intersticiāla nefrīta pazīmēm preparātā arī laboratoriskos izmeklējumos tika konstatēta urīnceļu infekcija, bet diviem urīna izmeklēšanā infekcijas pazīmes nekonstatēja un diagnoze tika uzstādīta, pateicoties punkcijas biopsijai. Arī literatūrā aprakstīti gadījumi, kad nieres transplantāta pielonefrīta diagnoze tika apstiprināta ar punkcijas biopsiju (65).

Pētījuma ietvaros punkcijas biopsijas materiāla izmeklēšanā nevienā gadījumā kalcineirīna inhibitoru toksicitātes pazīmes nekonstatēja. Skaidrojums var būt tāds, ka mūsu pacienti saņēma salīdzinoši mazas preparātu devas un ciklosporīna līmenis asinīs reti kad pārsniedz 150 ng/ml, bet *KDIGO Clinical Practice Guideline* rekomendētais preparātu līmenis svārstās no 150 līdz 300 ng/ml (113). Preparāta līmeni mēs kontrolējam divas reizes nedēļā un pie paaugstinātiem radītājiem uzreiz samazinājām devas, negaidot klīniskās toksicitātes izpausmes.

Nav vienotas taktikas, kad un cik bieži jāveic protokola biopsijas pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju. Mēs uzskatām, ka punkcijas biopsijām atliktas nieres transplantāta funkcijas gadījuma ir divas galvenās indikācijas. Pirmā - lai noskaidrotu atliktas funkcijas iemeslu, jo no tā atkarīga arī turpmākā ārstēšanas taktika. Piemēram, ja funkcija atlikta akūtas tubulāras nekrozes vai kalcineirīna inhibitoru toksicitātes dēļ, tad nepieciešama tās devas samazināšana (114). Ja AF pamatā ir hiperakūta atgrūšanas reakcija, tad nepieciešama intensīva pretkrīžu ārstēšana. Tamdēļ pacientiem ar AF mēs veicam pirmo biopsiju pēc

iespējas ātrāk. Otrais iemesls – akūtas atgrūšanas reakcijas agrīna diagnostika. Bez protokola biopsijām AR var palikt nediagnosticētas (115,116), bet, kā mēs parādījām savā pētījumā, savlaicīga „slēptas” atgrūšanas reakcijas atklāšana un ārstēšana palīdz uzlabot vēlinus rezultātus.

Mūsu pētījumā pirmā biopsija atklāja AR gandrīz 80% pacientu ar atliktu transplantāta funkciju. Diferencēt, vai primāra ir atgrūšanas reakcija vai AF, nav iespējams, bet ārstēšanas taktika abos gadījumos neatšķiras. Pēc dažādu autoru datiem AR procents pacientiem ar atliktu funkciju svārstās no 18% līdz 50,8% (88,115-117). Mūsu pacientiem atgrūšanas reakciju skaits bija manāmi lielāks. Tas var būt saistīts ar to, ka savā pētījumā mēs pie AF nepieskaitām asinsvadu trombozes gadījumus un pacientus ar iniciāli primāru funkciju, kam pirmā pēcoperācijas nedēļā funkcija pēkšņi pasliktinājās. Pētījumā netika iekļauti arī pacienti ar īsu AF (3-4 dienas), un tādējādi proporcionāli AR skaits mums ir lielāks.

Nav arī vienota uzskata par AF ietekmes saistību ar atgrūšanas reakcijām, bet daži autori uzskata, ka pastāv iespēja nediagnosticēt „slēptu” AR, it īpaši centros, kur nav ieviestas praksē atkārtotas protokola biopsijas pacientiem ar atliktu funkciju (88). Arī mūsu dati liecina, ka AR pazīmes var nebūt pirmās biopsijas laikā, bet, veicot atkārtotas biopsijas, dažiem pacientiem diagnosticē atgrūšanas reakciju.

Mūsu pētījuma dati liecina par biežu subklīniskas atgrūšanas reakcijas (SAR) sastopamību pacientiem ar stabilu nieres transplantāta funkciju. Arī citi autori ziņoja par SAR līdzīgu skaitu. Piemēram, *Nankivell et al* pirmā mēneša protokola biopsijas materiālā histoloģiskas atgrūšanas reakcijas pazīmes konstatēja 61% pacientu (96). Daudzi autori rakstījuši par negatīvu SAR ietekmi uz turpmāko nieres transplantāta funkciju un pozitīvu tas ārstēšanas efektu. *Miyagi et al.* savā pētījumā konstatēja manāmi augstāku seruma kreatinīna līmeni pēc viena gada pacientiem ar neārstētu SAR (98). *Roberts et al.* rekomendēja ārstēt pat robežizmaiņas, jo, pēc autoru datiem, lielākai pacientu daļai ar neārstētām robežizmaiņām vēlāk attīstās klīniska atgrūšanas reakcija (118).

Mēs neatradām negatīvu subklīniskas atgrūšanas reakcijas ietekmi uz nieres transplantātu funkciju ne agrīnajā, ne vēlīnajā pēcoperācijas periodā, pat arī tad, kad SAR netika ārstēta. Kontroles grupas pacientiem biopsija netika veikta, bet, ņemot vērā, ka mūsu pētījumā SAR histoloģiskā aina bija vairāk nekā 60% gadījumu, mēs varam pieņemt, ka arī tajā grupā ap 60% pacientu ir nediagnosticēta un tātad arī neārstēta subklīniska atgrūšanas reakcija. Un, neskatoties uz iepriekš minēto, nieres transplantātu funkcija pacientiem no kontroles

grupas tomēr nav sliktāka salīdzinājumā ar pacientiem, kuriem nebija SAR histoloģiskas pazīmes vai tika veikta tās ārstēšana.

Ir arī citi autori, kas nesaskata SAR negatīvu ietekmi un tās ārstēšanas priekšrocības (119). Piemēram, *Scholten et al.* savā pētījumā konstatēja, ka neārstētas SAR nav saistītas ne ar transplantāta funkcijas pasliktināšanos, ne ar lielāku fibrozes pakāpi vēlīnajā periodā (120).

Diviem pacientiem ar normālu seruma kreatinīna līmeni protokola biopsijas materiāla izmeklēšanā atklāja BK vīrusa nefropātijas ainu. Arī citi autori atzīmē, ka histoloģiskas BK nefropātijas pazīmes var būt bez transplantāta disfunkcijas klīniskām izpausmēm (105).

Tomēr mēs uzskatām, ka BK vīrusa infekcijas identifikācijai bez nieres transplantāta disfunkcijas izpausmēm var pielietot citu tikpat informatīvu, bet neinvazīvu metodi (121,122). Punkcijas biopsija ir indicēta gadījumos, kad pastāv diferenciāla diagnoze starp BK vīrusa nefropātiju un citu nieres transplantāta disfunkcijas iemeslu, jo nieres transplantāta disfunkcijas ārstēšanai galvenokārt pielieto imūnsupresijas intensifikāciju, bet BK vīrusa nefropātijas gadījuma imūnsupresīvo terapiju jāreducē (123).

Lai gan punkcijas biopsija ir atzīta par drošu diagnostisku metodi ar mazu komplikācijas iespēju, tomēr tā ir iespējama. Nieres transplantāta disfunkcijas gadījumā biopsijas priekšrocības ir neapšaubāmas, bet, ņemot vērā iepriekš minēto, mēs neredzam indikācijas punkcijas biopsijai pacientiem ar labu un stabilu nieres transplantāta funkciju.

Tāpat kā jebkurai citai, arī mūsu pētījumam bija nepilnības. Pirmkārt, relatīvi mazs pacientu skaits subklīniskas atgrūšanas reakcijas pētījumā. Tas saistīts ar relatīvi nelielo transplantāciju operāciju absolūto skaitu salīdzinājumā ar lielām Eiropas valstīm. Otrkārt, komplementa degradācijas produkta C4d noteikšana peritubulārajos kapilāros 2004.-2009. gadā Latvijā nebija pieejama, līdz ar to puse no humorālām atgrūšanas reakcijām tika diagnosticētas retrospektīvi.

8. SECINĀJUMI

1. Punkcijas biopsija ir droša un informatīva nieres transplantāta patoloģisku stāvokļu diagnostikas metode ar minimālu komplikācijas risku.

2. 0-biopsijas materiāls dod iespēju prognozēt nieres transplantāta funkciju agrīnā un vēlīnā pēcoperācijas periodā un izvēlēties optimālu terapijas veidu.

3. Pacientiem ar atliktu transplantāta funkciju „slēptas” atgrūšanas reakcijas tika atklātas 79,4% gadījumos. Savlaicīgi (izmantojot protokola biopsiju) diagnosticējot un ārstējot „slēptas” atgrūšanas reakcijas, iespējams samazināt atliktās funkcijas ietekmi uz transplantācijas rezultātiem.

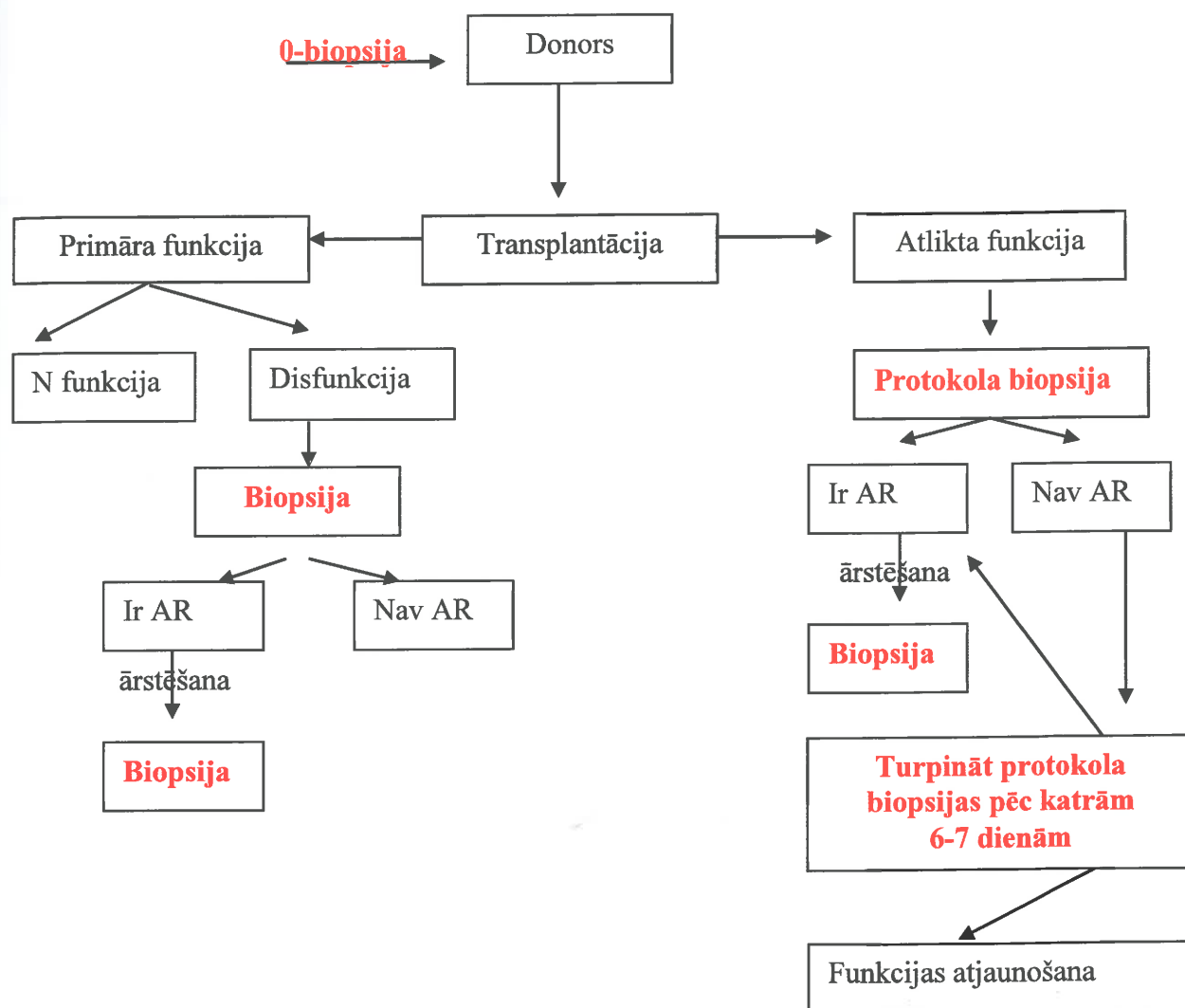
4. Izdarot protokola punkcijas biopsiju pacientiem ar primāru nieres transplantāta funkciju 65,4% gadījumos tika diagnosticētas subklīniskas atgrūšanas reakcijas. Divu gadu novērošanas rezultāti liecina, ka arī neārstētas, subklīniskas atgrūšanas reakcijas neietekmē transplantāta funkciju.

5. Izdarot neatliekamu punkcijas biopsiju agrīnā pēcoperācijas periodā pacientiem ar pēkšņu pārstādītas nieres funkcijas pasliktināšanos tika konstatēts, ka pārsvarā (80,5% gadījumu) nieres transplantāta disfunkcijas iemesls ir akūta atgrūšanas reakcija.

6. Akūta klīniska atgrūšanas reakcija agrīnā pēcoperācijas periodā paaugstina atgrūšanas reakcijas risku vēlīnā periodā. Jo atgrūšanas reakcijas pakāpe ir smagāka, jo risks ir lielāks.

9. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

- Ņemot vērā punkcijas biopsijas drošību un informatīvo vērtību, jāpaplašina šīs manipulācijas pielietojums nierēs transplantātu stāvokļa izvērtēšanai.
- No 0-biopsijām iegūto informāciju jāizmanto, izvēloties taktiku un terapijas plānu pēctransplantācijas periodā.
- Visiem pacientiem ar atliktu nierēs transplantāta funkciju, sākot ar 5-7 pēcoperācijas dienu, veikt protokola biopsiju, atkārtot to katras 6-7 dienas līdz funkcija atjaunojas. Ja ir atklāta „slēpta” atgrūšanas reakcija, pēc ārstēšanas kursa punkcijas biopsiju jāatkārto.
- Pacientiem ar primāru transplantāta funkciju, bez klīniskām disfunkcijas izpausmēm un bez iepriekšējas donora nierēs patoloģijas protokola biopsija nav nepieciešama, jo, pēc mūsu datiem, tādā veidā atklātās subklīniskās atgrūšanas reakcijas neietekmē transplantāta funkciju.
- Ārstējot klīniskas akūtas atgrūšanas reakcijas, visiem pacientiem pēc ārstēšanas kursa jāatkārto punkcijas biopsiju, lai izvērtētu terapijas efektivitāti.
- Lai optimizētu nierēs transplantātu patoloģisko stāvokļu diagnostiku agrīnā pēcoperācijas periodā, izstrādāts punkcijas biopsijas algoritms (37.att.).



37. attēls. Nieres transplantāta punkciju biopsijas algoritms agrīnajā pēcoperācijas periodā.

10. PROMOCIJAS DARBA ATSPUGUĻOJŠĀS PUBLIKĀCIJAS

- V.Suhorukovs, T.Tihomirova. The role of biopsy in differential diagnostics of kidney graft pathology. *Acta Chirurgica Latviensis* 2009 (9):21-23.
- J. Jushinskis, S. Trushkov, J. Bicans, V. Suhorukov, V. Shevelev, I. Ziedina, R. Rozental. Risk Factors for the Development of Delayed Graft Function in Deceased Donor Renal Transplant. *Transplantation Proceedings*, 2009; 41:746-748.
- V.Suhorukovs. Atlikta nieres transplantāta funkcija un „slēpta” atgrūšana. *RSU Zinātniskie raksti*, 2009:163-165.
- Suhorukov V.A, Yushinskis Y.L, Shtrumfa I, Rozental R.L. The role of protocol biopsies in early period after kidney transplantation. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*, 2010; 2:33-36.
- Suhorukovs V, Jushinskis J, Rozental R. Impact of subclinical rejection on kidney graft function during first year after transplantation. *Acta Chirurgica Latviensis* 2010 (10):21-23.

11. ZIŅOJUMI PAR DARBA REZULTĀTIEM

- Suhorukovs V, Tihomirova T, Rozentāls R. Protokola biopsijas un subklīniskas tremes pēc nieres allotransplantācijas. RSU Zinātniskā konference 2008, Tēzes 205. lpp.
- Suhorukovs V, Tihomirova T. Atlikta nieres transplantāta funkcija un "slēpta" treme. RSU Zinātniskā konference 2009, Tēzes 240. lpp.
- Suhorukov V, Tihomirova T, Jushinskis J, Ziedina I, Rozental R. "Silent" rejection during delayed kidney graft function. Abstracts of 14th Congress of the European Society for Organ Transplantation, 2009, P-378.
- Suhorukov V, Jushinskis J, Ziedina I, Rozental R. The effect of induction immunosuppression to development of "silent" rejection in patient with delayed kidney graft function. Abstracts of 9th International Conference on New Trends in Immunosuppression & Immunotherapy 2010, P-77, Abstract book: 45.
- Suhorukovs V. Indukcijas imūnosupresijas ietekme uz nieres transplantāta subklīniskas atgrūšanas reakcijas attīstību. RSU Zinātniskā konference 2010, Tēzes 148. lpp.
- Suhorukovs V, Jushinskis J. Impact of subclinical rejection on kidney graft function during the first year after transplantation. Abstracts of the Scandinavian Transplantation Society XXV Congress, 2010, O-19, Abstracts book: 43.

12. LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Handbook of kidney transplantation. Ed by G Danovitch, 4th edition Lippincot Wiliams and Wilkens 2005; 539pp
2. Meier-Kriesche H.U, Schold E.D, Srinivas T.R. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 2004; 4(3): 378-383.
3. Ruch DN, Karpinski ME, Nickerson P. et al. Does subclinical rejection contribute to chronic rejection in renal transplant patients? *Clin. Transplant* 1999; 13: 441-446
4. Peter Schnuelle, Uwe Gottmann, Hannes Köppel et al. Comparison of early renal function parameters for the prediction of 5-year graft survival after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22(1):235-245.
5. Henk Boom, Marko JK Mallat, Johan W De Fijter et al. Delayed graft function influences renal function, but not survival. *Kidney Int* 2000; 58: 859-866.
6. Olwyn Johnston, Patrick O'Kelly, Susan Spencer et al. Reduced graft function (with or without dialysis) vs immediate graft function—a comparison of long-term renal allograft survival. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(8):2270-2274.
7. Isabel Quiroga, Philip McShane, Dicken D. H. Koo. Major effects of delayed graft function and cold ischaemia time on renal allograft survival. . *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(6):1689-1696.
8. Ricard Sola, Antonio Alarcon, Carlos Jimenez, Antonio Osuna. The influence of delayed graft function. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 (Suppl 3): iii32-iii37.
9. Qureshi F, Rabb H, Kasiske BL. Silent acute rejection during prolonged delayed graft function reduced kidney allograft survival. *Transplantation* 2002; 27; 74(10):1400-1404.
10. Kanetsuna Y, Yamaguchi Y, Hiroshi T, Tanabe K. Histological evaluation of renal allograft protocol biopsies in the early period and 1 year after transplantation. *Clin Transplant* 2003;17 (suppl.10): 25-29
11. Nankivell B.J. and J.R.Chapmen The significance of subclinical rejection and the value of protocol biopsies. *Am J Transplant* 2006; 6:2006-2012
12. Moriatsu Miyagi, Yukio Ishikawa, Sonoo Mizuiri et al. Significance of subclinical rejection in early renal allograft biopsies for chronic allograft dysfunction. *Clin Transplant* 2005; 19:456- 465.

13. Moreso F., Ibernón M., Goma M. et al. Subclinical rejection associated with chronic allograft nephropathy in protocol biopsies as a risk factor for late graft loss. *Am J Transplant* 2006; 6:747-752.
14. Seron D. and Moreso F. Protocol biopsies in renal transplantation: prognostic value of structural monitoring. *Kidney Int.*2007;72: 690-697
15. Sulikowski T, Tejchman K, Domański L, et al. Histopathologic evaluation of pretransplant biopsy as a factor influencing graft function after kidney transplantation: a 1-year observation. *Transplant Proc.* 2007 May;39(4):943-7.
16. Edebohls GM. *The Surgical Treatment of Bright's Disease*. New York, NY;Frank F. Lisecki; 1904.
17. Gwynn WB. Biopsies and the completion of certain surgical procedures. *Can Med Assoc J.* 1923;13:820-823.
18. Capon NB. Nephritis in childhood. *Arch Dis Child*, 1926;1:141-165.
19. Campbell G. The results of decapsulations in Nephritis. *Arch Dis Child* 1930; 5:283-290.
20. Alwall N. Aspiration biopsy of the kidney, including report of a case of amyloidosis diagnosed in 1944 and investigated at autopsy. *Acta Med Scand.* 1952;143:430-435.
21. Iverson P., Brun C. Aspiration biopsy of the kidney. *Am J Med.* 1951;11:324-330.
22. Kark RM., Muehcke RC. Biopsy of kidney in prone position. *Lancet.* 1954;1:1047-1049.
23. Wolstenholm GEW, Cameron MP et al. *Foundation Symposium on Renal Biopsy: Clinical and Pathological Significance*. Boston, Mass: Little Brown & Co Inc; 1961.
24. Roland AS, Dimond EG. The value of percutaneous renal biopsy in the hypertensive subject. *Am Heart J.* 1963;66:140-142.
25. Lindgren PG. Percutaneous needle biopsy: a new technique. *Acta Radiol.* 1982; 23:653-656.
26. Burstein DM., Korbet SM, Schwartz MM. The use of the automatic core biopsy system percutaneous renal biopsies: a comparative study. *Am J Kidney Dis.* 1993;22:545-552.
27. Geddes CC, Baxter GM. Renal Impairment. *Imaging*, 2005;17:1-18.
28. Manno C, Strippoli GFM, Arnesano L et al. Predictors of bleeding complications in percutaneous ultrasound-guided renal biopsy. *Kidney Int*, 2004;66:1570-1577.
29. Corson J.M. The pathologist and the kidney transplant. *Pathol Annu* 1972;7:251-292.
30. Randhawa PS, Minervini MI, Lombardero M, et al. Biopsy of marginal donor kidneys: correlations of histologic findings with graft dysfunction. *Transplantation* 2000;69:1352-1357.
31. Nyberg SL, Matas AJ, Rogers M et al. Donor scoring system for cadaveric renal transplantation. *Am J Transplant* 2001;1:162-170.
32. Pessione F, Cohen S, Durand D et al. Multivariate analysis of donor risk factors for graft survival in kidney transplantation. *Transplantation* 2003;75:361-367.

33. Mannon R, Kirk A. Beyond histology: Novel tools to diagnose allograft dysfunction. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:358-366.
34. Gaber LW, Gaber AO, Tolley EA et al. Prediction by postrevascularization biopsies of cadaveric kidney allografts of rejection, graft loss, and preservation nephropathy. *Transplantation* 1992;53:1219-1225.
35. Delmonico FL, Burdick JF. Maximizing the success of transplantation with kidneys from older donors. *N Engl J Med* 2006; 354:411-413.
36. Pascual J, Zamora J, Pirsch JD. A systematic review of kidney transplantation from expanded criteria donors. *Am J Kidney Dis* 2008;52:553-586.
37. Jacobbi LM, McBride VA, Etheredge EE et al. The risks, benefits and costs of expanding donor criteria. A collaborative prospective three-year study. *Transplantation* 1995;60:1491-1496.
38. Sung RS, Galloway J, Tuttle-Newhall JE et al. Organ donation and utilization in the United States, 1997-2006. *Am J Transplant* 2008;8:922-934.
39. Cicciarelli J, Cho Y, Mateo R et al. Renal Biopsy Donor Group: The influence of glomerulosclerosis on transplant outcomes. *Transplant Proc* 2005;37:712-713.
40. Nankivell BJ, Fenton-Lee CA, Kuypers DR et al. Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome. *Transplantation* 2001;71:515-523.
41. Edwards EB, Posner MP, Maluf DG et al. Reasons for non-use of recovered kidneys: the effect of donor glomerulosclerosis and creatinine clearance on graft survival. *Transplantation* 2004;77:1411-1415.
42. Lu AD, Desai D, Myers BD et al. Severe glomerular sclerosis is not associated with poor outcome after kidney transplantation. *Am J Surg* 2000;180:470-474.
43. Sulikowski T, Teichman K, Domanski L et al. Histopathologic evaluation of pretransplant biopsy as a factor influencing graft function after kidney transplantation: a 1-year observation. *Transplant Proc* 2007;39(4):243-247.
44. Chapman J. Chronic allograft nephropathy. Longitudinal analysis of chronic allograft nephropathy: clinicopathologic correlations. *Kidney Int* 2005;68:S108-112.
45. Bosmans JL, Woestenburg A, Ysebaert DK et al. Fibrous intimal thickening at implantation as a risk factor for the outcome of cadaveric renal allografts. *Transplantation* 2000;69:2388-2394.
46. Grossberg JA, Reinert SE, Monaco AP et al. Utility of mathematical nomogram to predict delayed graft function: A single center experience. *Transplant* 2006;81:155-159.
47. Anglicheau D, Loupy A, Pessione F et al. A simple clinico-histopathological composite scoring system is highly predictive of graft outcomes in marginal donors. *Am J Transplant* 2008;8:2325-2334.

48. Carver BS, Zibari GB, McBride V et al. The incidence and implication of renal cell carcinoma in cadaveric renal transplants at the time of organ recovery. *Transplantation* 1999;67:1438.
49. Birkeland SA, Storm HH. Risk for tumor and other disease transmission by transplantation: a population-based study of unrecognized malignancies and other diseases in organ donors.
50. Feng S, Buell JF, Cherikh WS et al. Organ donors with positive viral serology or malignancy: risks of disease transmission by transplantation. *Transplantation* 2002;74:1657-1663.
51. Gabriel M. Danovitch. *Handbook of Kidney Transplantation*. 2009, edition 5:198-216.
52. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999;55(2):713-723.
53. Sorof JM, Vartanian RK, Olson JL, et al. Histopathological concordance of paired renal allograft biopsy: Effect on the diagnosis and management of acute rejection. *Transplantation* 1995;60(11):1215-1219.
54. Colvin RB, Cohen AH, Saiontz C, et al. Evaluation of pathologic criteria for acute renal allograft rejection reproducibility, sensitivity, and clinical correlation. *J Am Soc Nephrol* 1997;8(12):1930-1941.
55. Bonsib SM, Reznicek MJ, Wright FH. Renal medulla in the diagnosis of acute cellular rejection. *Transplantation* 1989;48(4):690-692.
56. Fonseka LE, Shapiro R, Randhawa PS, Occurrence of urinary tract infection in patients with renal allograft biopsies showing neutrophilic tubulitis. *Mod Pathol* 2003;16(4):281-285.
57. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal transplant recipients. *N Eng J Med* 2002;347(7): 488-496.
58. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. *Transplantation* 1995; 60: 225-232.
59. Mayer AD, Dmitrewski J, Squifflet J-P et al. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. *Transplantation* 1997; 64: 436-443
60. Massy ZA, Guijarro C, Wiederkehr MR, Ma JZ, Kasiske BL. Chronic renal allograft rejection: *immunologic and non-immunologic risk factors*. *Kidney Int* 1996; 49: 518-524.
61. Kim Solez, Roy A. Axelsen, Hallgrimur Benediktsson et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: The Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993;44:411-422.
62. K.Solez, R.B.Colvin, L.C.Racusen et al. Banff'05 Meeting Report: Differential Diagnosis of Chronic Allograft Injury and Elimination of Chronic Allograft Nephropathy (CAN). *Am J Transplant* 2007;7:518-526.

63. Racusen LC, Colvin RB, Solez K et al. Antibody-mediated rejection criteria – an addition to the Banff '97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003; 3: 708–714
64. Silvana Fiorante, Mario Fernandez-Ruiz, Francisko Lopez-Medrano et al. Acute graft pyelonephritis in renal transplant recipients: incidence, risks factors, and long-term outcomes. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(3):1065-1073.
65. Yusuf Oguz, Levent Doganci, Fatih Bulucu et al. Acute pyelonephritis causing acute renal allograft dysfunction. *Int Urol & Nephrol*;34:299-301.
66. Kamath NS, John GT, Neelakantan N et al. Acute graft pyelonephritis following renal transplantation. *Transpl Infect Dis* 2006; 8(3):140-147.
67. G.Pelle, S.Vimont, P.P.Levy et al. Acute Pyelonephritis Represents a Risk Factor Impairing Long-Term Kidney Graft Function. *Am J Transplant* 2007; 7(4):899-907.
68. Hariharan S, Peddi VR, Savin VJ et al. Recurrent and de novorenal diseases after renal transplantation: A report from the renalallograft disease registry. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 928–931.
69. Ivanyi B. A primer on recurrent and de novo glomerulonephritis in renal allografts. *Nat Clin Pract Nephrol* 2008; 4: 446–457.
70. M.D Pescovitz, B.K.Book, R.A.Sidner. Resolution of Recurrent Focal Segmental Glomerulosclerosis Proteinuria after Rituximab Treatment. *N Engl J Med* 2006; 354:1961-1963.
71. Franceschini, N, Alpers, CE, Bennett, WM, Andoh, TF: Cyclosporine arteriopathy: Effects of drug withdrawal. *Am J Kidney Dis* 1998 **32**:247–253
72. Simon, N, Barre, J, Jolliet, P, Urien, S, Tillement, JP: Mediators involved in the nephrotoxicity of cyclosporin A. *Therapie* 1997 **52**:329–333
73. Otukesh H., Hoseini R., Torbati PM ea al. Early graft dysfunction in a child with renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 2011;26(2):221-222.
74. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis* 2003;3:611-623.
75. Babel N, Fendt J, Caraivanov S et al. Sustained BK Viruria as an Early Marker for the Development of BKV-associated Nephropathy: Analysis of 4128 Urine and Serum Samples. *Transplantation* 2009;88:89-95.
76. Bressollette-Bodin C, Coste-Burel M, Hourmant M et al. A prospective longitudinal study of BK virus infection in 104 renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005;5:1926-1933.
77. Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD. Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus-associated nephropathy. *Kidney Int* 2003; 64:665-673.
78. Hibberd PL, Tolkoff-Rubin NE, Cosimi AB et al. Symptomatic cytomegalovirus disease in the cytomegalovirus antibody seropositive renal transplant recipient treated with OKT3. *Transplantation* 1992; 53: 68–72.

79. Cytomegalovirus. *Am J Transplant* 2004; 4(Suppl 10):51-58.
80. Halloran PF, Hunsicker LG. Delayed Graft Function: State of the Art, November 10-11, 2000. *Am J Transplant* 2001;1:115-120
81. Ojo AO, Wolfe RA, Held P et al. Delayed graft function: risks factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation* 1997;63:968-974.
82. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH et al. Delayed graft function in kidney transplantation. *The Lancet* 2004;364:1814-1827.
83. Johnston O, O'Kelly P, Spenser S et al. Reduced graft function (with or without dialysis) vs immediate graft function – a comparison of long-term renal allograft survival. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2270-2274.
84. Chamoun F, Burne M, O'Donnell M et al. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Frontiers in Bioscience* 2000;5:103-109.
85. Giral-Classe M, Hourmant M, Cantarovich D et al. Delayed graft function of more than six days strongly decreases long-term survival of transplanted kidneys. *Kidney Int* 1998;54: 972–978.
86. Mikhalski D, Wissing KM, Ghisdal L et al. Cold ischemia is a major determinant of acute rejection and renal graft survival in the modern era of immunosuppression. *Transplantation* 2008;85: S3–9.
87. Morath C, Ritz E, Zeier M. Protocol biopsy: what is the rationale and what is the evidence? *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:644-647.
88. Qureshi F, Rabb H, Kasiske BL. Silent acute rejection during prolonged delayed graft function reduces kidney allograft survival. *Transplantation* 2002;74:1400–1404.
89. Quiroga I, McShane P, Koo D et al. Major effects of delayed graft function and cold ischemia time on renal allograft survival. *Nephrol Dial Trnplant* 2006;21:1689-1696.
90. Bronzatto EJ, da Silva Quadros KR, Santos RL et al. Delayed graft function in renal transplant recipients: risks factors and impact on 1-year graft function: a single center analysis. *Transplant Proc* 2009;41(3):849-851.
91. Sola R, Alarcon A, Jimenez C, Osuna A. The influence of delayed graft function. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(3):iii32–iii37.
92. Rush DN, Henry SF, Jeffery JR et al. Histological findings in early routine biopsies of stable renal allograft recipients. *Transplantation* 1994;57(2):208-211.
93. Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinico-pathological correlations using the Banff schema. *Transplantation* 1995;59: 511-514.
94. Nickerson P, Jeffery J, Gough J et al. Identification of clinical and histopathologic risk factors for diminished renal function 2 years posttransplant. *J Am Soc Nephrol* 1998;9: 482-487.
95. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL et al. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Eng J Med* 2003;349:2326-2333.

96. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL et al. Natural history, risks factors and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 2004;78:242-249.
97. Mengel M, Gwinner W, Schwarz A, et al. Infiltrates in protocol biopsies from renal allograft. *Am J Transplant* 2007;7:356-365.
98. Miyagi M, Ishikawa Y, Mizuiri S, et al. Significance of subclinical rejection in early renal allograft biopsies for chronic allograft dysfunction. *Clin Transplant* 2005;19:456-465.
99. Choi BS, Shin MJ, Shin SJ, et al. Clinical significance of an Early Protocol Biopsy in Living-Donor Renal Transplantation: Ten-Year Experience at a Single Center. *Am J Transplant* 2005;5:1354-1360.
100. Roberts I, Reddy S, Russel C, et al. Subclinical rejection and borderline changes in early protocol biopsy specimens after renal transplantation. *Transplantation* 2004;27: 1194-1198.
101. Kozakowski N, Regele H. Biopsy diagnostics in renal allograft rejection: from histomorphology to biological function. *Transplant Int* 2009; 22:945-953.
102. Matas A, Solez K. From First Principles – Tubulitis in Protocol Biopsies and Learning from History. *Am J Transplant* 2001;1:4-5.
103. Kreiči K, Tichy T, Hruby M, et al. Subclinical toxicity of calcineurin inhibitors in repeated protocol biopsies: an independent risk factor for chronic kidney allograft damage. *Transplant Int* 2010;23:364-373.
104. Kasiske B.L, Zeier M.G. et al. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients: *Am J Transplant* 2009;9(Suppl 3):S21-S22.
105. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB et al. Polyomavirus associated nephropathy in renal transplantation: Interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation* 2005;79:1277–1286.
106. Hergesell O, Felten H, Andrassy K et al. Safety of ultrasound guided percutaneous renal biopsy-retrospective analysis of 1090 consecutive cases. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:975–977.
107. Ferreira LC, Karras A, Martinez F et al. Complications of protocol renal biopsy. *Transplantation* 2004;77:1475–1476.
108. Furness PN, Philpott CM, Chorbajian MT et al. Protocol biopsy of the stable renal transplant: A multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation* 2003; 76:969–973.
109. Schwarz A, Gwinner W, Hiss M et al. Safety and adequacy of renal transplant protocol biopsies. *Am J Transplant* 2005;5:1992–1996.
110. Amr El-Husseini, Alaa Sabry, Ahmed Zahran et al. Can donor implantation renal biopsy predict long-term renal allograft outcome? *Am J Nephrol* 2007;27:144-151.
111. Mengel M, Sis B. An Appeal for zero-time biopsies in renal transplantation. *Am J Transplant* 2008;8:2181-2182.

112. Feucht HE. Complement C4d in graft capillaries – the missing link in the recognition of humoral alloreactivity. *Am J Transplant* 2003; 3: 646–652.
113. B.L. Kasiske, M.G. Zeier et al. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients: *Am J Transplant* 2009;9(Suppl 3):S10-S13.
114. Cravedi P, Codreanu I, Satta A et al. Cyclosporine Prolongs Delayed Graft Function in Kidney Transplantation: Are Rabbit Anti-Human Thymocyte Globulins the Answer? *Nephron Clinical Practice* 2005;101:65-71.
115. Jain S, Curwood V, White SA, Furness PN, Nicholson ML. Sub-clinical acute rejection detected using protocol biopsies in patients with delayed graft function. *Transplant Int* 2000;13: S52–S55.
116. Jain S, Curwood V, White SA et al. Weekly protocol renal transplant biopsies allow detection of sub-clinical acute rejection episodes in patients with delayed graft function. *Transplant Proc* 2000; 32: 191.
117. Shapiro R, Randhawa P, Jordan ML et al. An analysis of early renal transplant protocol biopsies—the high incidence of subclinical tubulitis. *Am J Transplant* 2001;1:47–50.
118. Roberts ISD, Reddy S, Russel C et al. Subclinical rejection and borderline changes in early protocol biopsy specimens after renal transplantation. *Transplantation* 2004;77:1194-1198.
119. Kasiske BL, Gaston RS, Gourishankar S et al. Long-term deterioration of kidney allograft function. *Am J Transplant* 2005;5:1405-1414.
120. Scholten EM, Rowschani AT, Cremers S et al. Untreated rejection in 6-month protocol biopsies is not associated with fibrosis in serial biopsies or with loss of graft function. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2622-2632.
121. Ding R, Madeiros M, Dadhania D et al. Noninvasive diagnosis of BKvirus nephritis by measurement of messenger RNA for BK virus VP1 in urine. *Transplantation* 2002;74(7):987-994.
122. Viscount HB, Eid AJ, Espy MJ et al. Polyomavirus polymerase chain reaction as a surrogate marker of polyomavirus-associated nephropathy. *Transplantation* 2007;84(3):340-345.
123. Brennan DC, Agha I, Bohl DL et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005; 5: 582–594.