

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт морфологии человека»**

На правах рукописи

Соловьёва Светлана Евгеньевна

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТРОГО ОТТОРЖЕНИЯ И ВИРУСНОГО
ПОРАЖЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ**

14.03.02 – патологическая анатомия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:
профессор РАН, д.м.н. Е.М. Пальцева**

Москва, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Введение.....	13
1.2.Стандарты морфологической диагностики состояния почечного аллотрансплантата.....	13
1.2.1. BANFF-классификация.....	14
1.2.1.1. Критерии BANFF-классификации.....	15
1.2.1.2. BANFF-классификация пересмотра 2017 года.....	24
1.2.2. Морфологическая характеристика клеточно-опосредованного и антитело-опосредованного острого отторжения.....	27
1.3.Морфологическая и иммуногистохимическая диагностика вирусного поражения почечного аллотрансплантата.....	31
1.3.1. Аденовирусная инфекция.....	32
1.3.2. Герпес-вирусная инфекция.....	35
1.3.3. Полиомавирусная нефропатия аллотрансплантата.....	36
1.4 Заключение.....	42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	46
3.1. Группы пациентов.....	46
3.2. Анализ связи возраста пациентов с развитием вирус-индуцированного нефрита и отторжения аллотрансплантата	47
3.3. Исследование связи отторжения и вирусного поражения аллотрансплантата с полом реципиентов	50
3.4. Морфологическое исследование аллотрансплантатов.....	51
3.5. Морфологические изменения в аллотрансплантате, характерные для вирусного поражения.....	60
3.6. Распределение экспрессии антигенов вирусов в группах пациентов.....	64

3.7. Аденовирус-индуцированное поражение аллотрансплантата.....	64
3.7.1. Выявление аденовируса в аллотрансплантатах пациентов различных групп.....	64
3.7.2. Потеря аллотрансплантата при аденовирус-индуцированном нефрите.....	69
3.8. Герпес-вирусная инфекция	76
3.9. Полиомавирусная нефропатия	81
3.10. Оценка экспрессии антигенов Т- и В-лимфоцитов в биоптатах аллотрансплантатов.....	85
3.11. Анализ клинических данных.....	92
3.12. Функция аллотрансплантата и изменение иммуносупрессивной терапии.....	94
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	96
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	105
ВЫВОДЫ.....	108
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	110
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	111

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АОО – антитело-опосредованное отторжение
- ВПГ-1 – вирус простого герпеса I типа
- ВПГ-2 – вирус простого герпеса II типа
- ДСА – донор-специфические антитела
- ИГХ – иммуногистохимическое исследование
- ИФТА – области интерстициального фиброза и тубулярной атрофии
- МСВ – микрососудистое воспаление
- ПБТ – пункционная биопсия трансплантата
- ПВН – полиомавирусная нефропатия
- ПТК – перитубулярные капилляры
- ТОО – Т-клеточно-опосредованное отторжение
- ХТМ – хроническая тромботическая микроангиопатия
- ЦМВ – цитомегаловирус
- ЭБВ – Эпштейн-Барр вирус
- ЭМ – электронная микроскопия

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

На сегодняшний день трансплантация почек признана золотым стандартом лечения терминальной стадии хронической почечной недостаточности. По данным информационного бюллетеня международного реестра донорства и трансплантации органов 2019 года в России количество трансплантаций на миллион населения составило 1,37 операций от родственного и 6,63 – от трупного доноров [11,83]. Несмотря на прогресс в современной нефротрансплантологии, все еще высока частота потери трансплантата, обусловленная многочисленными факторами. Среди причин дисфункции трансплантата, в первую очередь, выделяют отторжение и осложнения, связанные с иммуносупрессивной терапией, в особенности развитие вирусных инфекций, представляющих особую опасность в раннем посттрансплантационном периоде, во время подбора терапии. Нередкое отсутствие характерной морфологической картины, сходство проявлений поражения почечного трансплантата различными вирусами с острым отторжением, возможность их сочетанного течения затрудняет диагностику и требует применения ИГХ-исследования [1,2,7-10,12,13,15,61,65,66,105,122,165].

Пункционные биопсии являются необходимым методом мониторинга состояния аллотрансплантата. При отсутствии клинических проявлений дисфункции почечного аллотрансплантата протокольные биопсии позволяют выявить субклиническое течение острого отторжения и осложнений, вызываемых иммуносупрессивной терапией [172].

Морфологическая оценка состояния трансплантата производится в соответствии с критериями Banff-классификации 2017 года – международной классификации биопсий почечных аллотрансплантатов. Применение Banff-классификации при диагностике состояния почечного аллотрансплантата является обязательным, но не всегда достаточным [127,170]. Возможность инфекционного поражения не позволяет использовать только Banff-критерии

для диагностики острого отторжения, поскольку остается открытым вопрос: следует ли при наличии инфекционного процесса рассматривать воспаление в аллотрансплантате в качестве доказательства отторжения.

Степень разработанности темы

В литературе большое количество работ посвящено проблеме острого клеточно-опосредованного и антитело-опосредованного отторжения почечного аллотрансплантата, однако, несмотря на наличие четких диагностических критериев, при тяжелом течении данных осложнений морфологическая картина клеточно-опосредованного и антитело-опосредованного отторжения может быть сходной, а в случаях смешанного характера отторжения будут отсутствовать различия при иммуногистохимическом исследовании с антителами к C4d компоненту комплемента [67,68,169]. Также является сложной диагностика пограничных изменений, недостаточно освещенная в современной литературе [109].

Исследования роли вирусов в трансплантологии представлены большим количеством научных статей, поскольку реципиенты донорских органов, и, особенно, дети [22,45,52], находятся в группе риска развития оппортунистических инфекций. Однако в большинстве работ уделяется недостаточное внимание сочетанию нескольких вирусов, а также взаимному влиянию вирусного поражения и реакции отторжения трансплантата [104,190,198].

До сих пор не сформулировано единого алгоритма дифференциальной диагностики вирус-индуцированного поражения и острого отторжения почечного аллотрансплантата. Поэтому при подозрении на вирусную природу поражения аллотрансплантата важной теоретической и практической задачей является проведение комплексного исследования и анализа биоптатов трансплантатов почек с применением гистологических и иммуногистохимических методов.

Цель исследования:

Охарактеризовать морфологические и иммуногистохимические особенности острого отторжения и вирусного поражения трансплантата почки с целью их дифференциальной диагностики.

Задачи исследования:

1. Провести морфологическое исследование биоптатов почки при различных формах острого отторжения, вирусном нефрите и плановых контрольных исследованиях.
2. Провести иммуногистохимическое исследование экспрессии антигенов аденовируса, вирусов герпеса I (ВПГ-1) и II типов (ВПГ-2), цитомегаловируса (ЦМВ), вируса Эпштейна-Барр (ЭБВ) в биоптатах трансплантатов почек при различных формах острого отторжения, вирусном нефрите, плановых контрольных исследованиях. Сопоставить результаты ИГХ-исследования цитомегаловируса в биоптатах с его выявлением в крови с помощью ПЦР.
3. Сопоставить результаты морфологического исследования трансплантатов почек при полиомавирусной нефропатии (ПВН) с данными ПЦР-исследования крови и мочи.
4. Сравнить результаты определения иммуногистохимическим методом Т- (CD3) и В-лимфоцитов (CD20) в биоптатах трансплантатов почки, а также С4d компонента комплемента в сосудах микроциркуляторного русла при различных формах острого отторжения, вирусном нефрите и плановых контрольных исследованиях.
5. Сопоставить морфологические и иммуногистохимические данные с клиническими показателями при остром отторжении и вирусном поражении почечных трансплантатов.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности:
14.03.02 «Патологическая анатомия» согласно пунктам 1, 2, 3, 4.

Научная новизна

Впервые установлена связь возраста пациентов, сроков после трансплантации почки и тяжести вирусного поражения с морфологическими, иммуногистохимическими и клиническими данными. Выявлено преобладание вирус-индуцированной потери трансплантата у пациентов младшего возраста (до шести лет в первые два месяца после трансплантации). В случаях развития острого отторжения и нефрита без потери трансплантата связь с возрастом реципиента не обнаружена.

Подтверждена диагностическая значимость иммуногистохимического определения антигенов аденовируса при подозрении на вирус-индуцированное поражение трансплантата почки. Впервые показано, что при потере аллотрансплантата в биоптатах почки выявляется вирус простого герпеса I типа.

При вирус-индуцированной потере трансплантата наблюдается преобладание экспрессии антигенов Т-лимфоцитов по сравнению с В-лимфоцитами. Впервые установлено, что экспрессия маркеров Т- и В-лимфоцитов более выражена в группе острого отторжения и группе сочетания острого отторжения с нефритом. Показана эффективность применения иммуногистохимического исследования в оценке выраженности тубулита при дифференциальной диагностике пограничных изменений с вирус-индуцированным нефритом.

Оценка изменения режима иммуносупрессивной терапии с учетом результатов морфологического и ИГХ-исследования показала улучшение функции трансплантата у большинства реципиентов. Ухудшение функции отмечено только в 10,5% в группе вирус-индуцированного нефрита и в 38% случаев при сочетании клеточного отторжения с вирус-индуцированным

нефритом, что свидетельствует о необходимости выявления вирусов для коррекции иммуносупрессивной терапии.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследования имеют теоретическое значение, расширяя представление о механизмах острого отторжения, вирус-индуцированного нефрита в аллотрансплантате почки и об их взаимном влиянии. Описана и проанализирована морфологическая и иммуногистохимическая картина данных патологических процессов, а также их связь с клиническими проявлениями и выживаемостью трансплантата.

Настоящая работа представляет практический интерес для морфологической диагностики различных форм отторжения трансплантата почки и вирус-индуцированного нефрита. Показано, что при наличии морфологической картины или клинических проявлений инфекционного поражения необходимо проведение ИГХ-исследования для определения аденовирусов и герпес-вирусов в ткани трансплантата почки.

Выявление репликации ЦМВ при помощи ПЦР у реципиентов аллотрансплантатов почек и изучение морфологической картины биоптатов подтверждают эффективность проведения ПЦР для определения ДНК ЦМВ в крови для раннего выявления и предотвращения развития ЦМВ-болезни. Морфологическое исследование не выявило специфических признаков полиомавирусной нефропатии на ранних стадиях, поэтому для своевременного выявления полиомавирусной нефропатии необходимо проведение ПЦР для обнаружения вируса в крови и моче.

Дифференциальная диагностика пограничных изменений и вирус-индуцированного нефрита без специфических морфологических признаков вирусного поражения основывается на выявлении тубулита, для чего рекомендовано проведение ИГХ-исследования с антителами к Т- и В-лимфоцитам. Исследование экспрессии CD3 и CD20 позволяет оценить количество лимфоцитов, проникающих в эпителий канальцев, и площадь распространения воспалительного инфильтрата в интерстиции.

Морфологическая картина тяжелого вирус-индуцированного поражения трансплантата может напоминать антитело-опосредованное отторжение, поэтому целесообразно проводить ИГХ-исследование с антителами к C4d компоненту комплемента – определение C4d+ депозитов в перитубулярных капиллярах не наблюдается при вирусном поражении.

Полученные данные клинических, морфологического и ИГХ-исследований представляют практическую ценность для врачей-патологоанатомов, нефрологов, трансплантологов, так как позволяют оптимизировать проводимую терапию и улучшить качество жизни пациентов с трансплантатами почек.

Положения, выносимые на защиту

1. Морфологическая картина вирусного нефрита сходна с острым отторжением трансплантата почки. Изменения характеризуется тубулитом, интерстициальной инфильтрацией лимфоцитами и плазмócитами, некрозом эпителия извитых канальцев, что свойственно тубулоинтерстициальному типу острого клеточного отторжения, и зонами кровоизлияний, которые более характерны для острого гуморального отторжения трансплантата.
2. В отличие от картины острого отторжения, при вирусном нефрите наблюдаются внутриядерные включения вирусных частиц, формирование гранулемоподобных структур. При иммуногистохимическом исследовании в цитоплазме эпителия канальцев наблюдаются вирусные частицы; отсутствуют C4d+ депозиты в перитубулярных капиллярах, характерные для гуморального отторжения трансплантата почки.
3. При полиомавирусной инфекции развитию специфических морфологических признаков вирусного поражения аллотрансплантата почки предшествует появление полиомавируса в моче и крови реципиентов, определение которого при помощи ПЦР способствует профилактике полиомавирусной нефропатии.

4. Дифференциальная диагностика пограничных изменений и вирус-индуцированного нефрита основывается на оценке выраженности тубулита и распространенности интерстициального воспаления, для выявления которых целесообразно проведение ИГХ-исследования с антителами к CD3 и CD20.

Методология и методы исследования

Методологическая работа включала анализ публикаций и клинических рекомендаций российских и иностранных авторов по диагностике отторжения и вирус-индуцированного поражения аллотрансплантата почки. Морфологические исследования проводили в соответствии с критериями Banff-классификации. Применяли современные методы исследования, такие как иммуногистохимическое исследование с широкой панелью антител и ПЦР-диагностика. Учитывали ряд клинических показателей (уровень креатинина, протеинурии, результаты ПЦР), что позволило провести сопоставление морфологической и иммуногистохимической картины с изменениями функции аллотрансплантата.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов основывалась на проспективном и ретроспективном исследовании аллотрансплантатов почки и состояния пациентов, разделенных на 5 групп в соответствии с клинико-морфологической картиной. Анализ статистических данных подтвердил наличие достоверных различий между группами, что позволило сформулировать практические рекомендации к комплексной оценке пункционных биоптатов аллотрансплантата.

Основные положения работы доложены на: научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии», Москва, 2016; V съезде Российского общества патологоанатомов с международным участием, Челябинск, 2017; всероссийской конференции молодых специалистов «Актуальные вопросы

фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии», Рязань, 2017 г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них 4 статьи из перечня журналов, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ. Материалы конференций – 3 публикации.

Внедрение результатов исследования

Результаты настоящего исследования и рекомендации используются в практической работе патологоанатомических отделений ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В.Петровского» и ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского».

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 137 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы, в которой представлены результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Библиографический список включает 210 работ (из них 14 отечественных и 196 зарубежных авторов). Диссертация иллюстрирована 18 таблицами и 31 рисунком.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Введение

На территории Российской Федерации трансплантация почек все шире используется как рутинная методика при лечении терминальной стадии хронической почечной недостаточности. Число пациентов с функционирующим почечным аллотрансплантатом растет, однако темп прироста числа реципиентов почечного трансплантата продолжает отставать от темпов прироста пациентов, находящихся на диализе, что указывает на недостаточную обеспеченность населения почечными трансплантатами, в связи с чем очень важна эффективная оценка состояния трансплантата [11].

Усовершенствование схем и препаратов иммуносупрессивной терапии, а также системы подбора и консервации трансплантата, в комплексе с профилактикой и своевременным лечением оппортунистических инфекций привели к улучшению клинических результатов и увеличили годовую выживаемость пациентов и трансплантата, однако все еще высока частота потери трансплантата, обусловленная многочисленными этиологическими факторами [1,2,22,45,170].

На первом месте среди причин потери аллотрансплантата стоит отторжение – патологический процесс, возникающий вследствие специфического ответа иммунной системы, проявляющийся резким падением функции трансплантата [1,3,7,108,170].

1.2. Стандарты морфологической диагностики состояния почечного аллотрансплантата

Пункционная биопсия является наиболее объективным методом диагностики состояния почечного аллотрансплантата и определения причины дисфункции трансплантата, которая встречается примерно у 30% реципиентов в ранние сроки после трансплантации и в 2-4% случаев в течение первого года после трансплантации. Проведение биопсии позволяет различить такие осложнения, как острое отторжение, острый тубулярный некроз, инфекции, в том числе полиомавирусную нефропатию (ПВН),

тромботическую микроангиопатию (ТМА), рецидив исходного заболевания, токсичность CN1 и хроническое отторжение. Результаты биопсий изменяют клинический диагноз в среднем у 36% пациентов и подход к терапии в 59% случаев как в раннем, так и в позднем (более 1 года) посттрансплантационном периоде [86, 108, 170,172].

В зависимости от преобладания активации клеточного или гуморального звена иммунного ответа, острое отторжение делится на клеточно-опосредованное (ТОО) и антитело-опосредованное (АОО).

Отторжение аллотрансплантата почки оценивается при помощи Banff-классификации.

1.2.1. BANFF-классификация

Морфологическая оценка состояния трансплантата производится в соответствии с критериями Banff-классификации, впервые предложенной в 1991 году в городе Банф, Канада. До появления Banff-классификации не было стандартизированной международной классификации биопсий почечных аллотрансплантатов, что приводило к разночтениям среди патологов при характеристике биопсий почечных трансплантатов. Первая Banff-классификация была опубликована в 1993 году и с тех пор регулярно обновлялась, став основой для морфологической оценки биоптатов почечных аллотрансплантатов. Она отвечает потребности в единой международной системе, предоставляя руководство для клинической диагностики при постановке диагноза, оценке лечения и результатов трансплантации почки, а также позволяя проводить сравнение биоптатов при научных исследованиях и клинических испытаниях. Пересмотры классификации происходят раз в два года с учетом обновленных данных. В последние годы Banff-конференции из встреч, посвященных в первую очередь обсуждению патологии, перешли к всеобъемлющему междисциплинарному подходу, включающему в себя обсуждения иммуногенетики, дискуссии клиницистов и патологов с целью

создания и совершенствования интегративного подхода к диагностическим стандартам при трансплантации.

Критерии оценки состояния трансплантата неоднозначны: однолетняя выживаемость трансплантата и выживаемость пациентов на сегодняшний день реже становятся предметом исследований из-за высокой выживаемости трансплантата и пациентов в общей популяции реципиентов (~95%). Традиционно уделяется внимание острому отторжению, учитывая, что клеточно-опосредованное отторжение и антитело-опосредованное отторжение оказывают неодинаковое влияние на исход трансплантации [63,91,92,103,127,128,158,170,184,188,189].

1.2.1.1. Критерии BANFF-классификации

Критерии поражения Banff оценивают наличие и степень гистопатологических изменений в различных отделах биоптата почечного трансплантата, ориентируясь, в первую очередь, но не исключительно, на диагностические признаки, наблюдаемые при отторжении. Эти показатели поражения сами по себе не всегда достаточны – для определения диагноза могут потребоваться дополнительные диагностические параметры: гистопатологические, молекулярные, серологические и / или клинические. Ниже приводятся текущие определения для каждого критерия поражения [31,62-67,82,93,99,100,103,112,119,158,169,170,172].

Интерстициальное воспаление (i) – критерий, оценивающий степень воспаления в нефиброзированных участках коры, которое является одним из основных маркеров острого Т-клеточного отторжения. Учитывается инфильтрация в любых несклерозированных участках коркового вещества, включая непосредственно субкапсулярное корковое вещество и адвентицию вокруг крупных вен и лимфатических сосудов. К критерию «i» добавляется звездочка «*», если в инфильтрате более 5-10% эозинофилов, нейтрофилов или плазматических клеток.

i0 - воспаление менее 10% неизменной кортикальной паренхимы.

i1 - воспаление от 10 до 25% неизменной кортикальной паренхимы.

i2 - воспаление от 26 до 50% неизменной кортикальной паренхимы.

i3 - воспаление более чем 50% неизменной кортикальной паренхимы.

Тубулит (t) – критерий, описывающий степень воспаления в эпителии кортикальных канальцев (присутствие мононуклеарных клеток в базолатеральном слое эпителия почечных канальцев). Является одним из определяющих факторов развития клеточно-опосредованное отторжение при трансплантации почки. В продольно рассеченных канальцах оценка основывается на количестве мононуклеарных клеток на 10 эпителиоцитов канальцев, что является средним числом эпителиальных клеток на поперечное сечение канальца. Тубулит должен присутствовать как минимум в двух очагах – степень поражения канальцев определяется по наиболее тяжелым изменениям. Рассматривается во всех канальцах коркового вещества, кроме сильно атрофированных, при диагностике острого ТОО и хронического активного отторжения ТОО, но не при выявлении пограничных изменений. Сильно атрофированными канальцами считаются канальцы диаметром менее 25% от диаметра неизменных или минимально пораженных канальцев, часто с кубическим или уплощенным эпителием (в некоторых случаях даже с потерей эпителия и обнажением тубулярной базальной мембраны), с выраженным сморщиванием и / или утолщением тубулярной базальной мембраны. Определение также включает маленькие эндокриноподобные канальцы с очень узкими просветами, хотя базальные мембраны последних могут быть не утолщены.

t0 - нет мононуклеарных клеток в канальцах или лишь 1 очаг тубулита.

t1 - очаги с 1-4 мононуклеарными клетками на поперечное сечение канальца (или на 10 эпителиоцитов канальцев).

t2 - очаги с 5-10 мононуклеарными клетками на поперечное сечение канальца (или на 10 эпителиоцитов канальцев).

t3 - очаги с >10 мононуклеарными клетками на поперечное сечение канальца или наличие ≥ 2 областей разрушения тубулярной базальной мембраны, сопровождающиеся воспалением i2 / i3 и t2 в других участках.

Интимальный артериит (v) – критерий оценивает наличие и степень воспаления в интима артерий. Рассматриваются сосуды, имеющие по крайней мере 2 слоя клеток гладких мышц в среднем слое. Интимальный артериит (также называемый эндотелиалитом и эндартериитом) определяется наличием воспалительных клеток, в основном лимфоцитов и моноцитов, в субэндотелиальном пространстве 1 или более артерий. Достаточно наличия одной такой клетки. Интимальный артериит наблюдается как при остром клеточно-опосредованном отторжении, так и при активном антитело-опосредованном отторжении. Выраженность критерия «v» определяется по наиболее сильно пораженной артерии. Аналогичное поражение в артериолах кодируется как звездочка «*» позади Banff критерия «ah». Инфильтраты в глубине интимы не рассматриваются при оценке критерия «v», но расцениваются как элемент хронического активного ТОО II степени. При наличии тубулоинтерстициального кровоизлияния и / или инфаркта, к значению критерия «v» добавляют звездочку «*».

v0 - нет артериита.

v1 - слабый или умеренный интимальный артериит, по крайней мере, в одном сечении артерии.

v2 - тяжелый интимальный артериит с сужением площади просвета по меньшей мере на 25% как минимум в одном поперечном сечении артерии.

v3 - трансмуральный артериит и / или артериальные фибриноидные изменения и медиальный некроз гладких мышц с лимфоцитарным инфильтратом в сосуде.

Гломерулит (g) – данный критерий поражения оценивает степень воспаления в почечных клубочках. Гломерулит является формой воспаления в микрососудистом русле (МСВ) и признаком активности и взаимодействия антител с сосудистой стенкой при антитело-опосредованном отторжении.

Также гломерулит наблюдается при рецидивирующем или возникшем de novo гломерулонефрите, который исключается при помощи дополнительных окрасок и электронной микроскопии. Оценка степени гломерулита основывается на доле клубочков с полной или частичной окклюзией одного или более капилляров за счет лейкоцитарной инфильтрации (полиморфно-ядерные клетки и мононуклеарные клетки) или увеличения эндотелиальных клеток.

g0 - нет гломерулита.

g1 - сегментарный или глобальный гломерулит менее 25% клубочков.

g2 - сегментарный или глобальный гломерулит в 25–75% клубочков.

g3 - сегментарный или глобальный гломерулит в более 75% клубочков.

Перитубулярный капиллярит (ptc) – критерий поражения, оценивающий степень воспаления в перитубулярных капиллярах (ПТК). Наряду с гломерулитом, представляет собой воспаление в микрососудистом русле как признак острого или хронического активного АОО. Может наблюдаться как при остром ТОО, так и при пограничных изменениях. Данный критерий определяется по наиболее пораженному из ПТК в корковом веществе почки, эквивалентом которых в мозговом веществе являются прямые сосуды мозгового вещества. В число воспалительных клеток, выявляемых в просвете, входят полиморфноядерные и мононуклеарные лейкоциты, звездочка «*» используется для обозначения только мононуклеарных клеток в отсутствии нейтрофилов. Воспаление в ПТК при биопсии должно быть описано как очаговое (10-50% площади коры) или диффузное (> 50% площади коры), но это не влияет на степень выраженности критерия (ptc). Также следует отмечать наличие дилатации ПТК. Области, пораженные острым пиелонефритом или некрозом, и субкапсулярная часть коркового вещества с неспецифическим воспалением не оцениваются. Воспалительные клетки в просветах ПТК следует отличать от интерстициального воспаления путем изучения окрашивания базальных мембран. Воспалительные клетки в венах, прямых сосудах мозгового

вещества и продольно срезанных ПТК не учитываются. ПТК в областях, пораженных канальцевой атрофией и интерстициальным фиброзом, подлежат исследованию.

ptc0 - максимальное количество лейкоцитов <3 .

ptc1 - по крайней мере 1 лейкоцит в $\geq 10\%$ кортикальных ПТК с 3-4 лейкоцитами в наиболее пораженном ПТК.

ptc2 - по крайней мере 1 лейкоцит в $\geq 10\%$ кортикальных ПТК с 5-10 лейкоцитами в наиболее пораженном ПТК.

ptc3 - по крайней мере 1 лейкоцит в $\geq 10\%$ кортикальных ПТК с >10 лейкоцитами в наиболее пораженном ПТК.

Выявление C4d компонента комплемента (C4d) – данный критерий оценивает степень окрашивания C4d в эндотелиальных клетках ПТК и прямых сосудах мозгового вещества с помощью реакции иммунофлюоресценции на быстро замороженных срезах свежей ткани или ИГХ на ткани, фиксированной формалином и залитой в парафин. Хотя в областях тубулярной атрофии и интерстициального фиброза наблюдается снижение плотности ПТК, которое может повлиять на степень окрашивания, оценка C4d в таких областях коры не исключается. Оценка основана на проценте перитубулярных капилляров и прямых сосудов с циркулярным окрашиванием выстилки. Минимальная выборка для оценки – 5 полей коры и / или мозгового вещества без рубцов и инфарктов. Сильное окрашивание не обязательно для положительного результата ИГХ-исследования. При реакции иммунофлюоресценции положительным критерием считается C4d ≥ 2 , в то время как при ИГХ положительным считается уже C4d ≥ 1 .

C4d0 – нет окрашивания ПТК и прямых сосудов мозгового вещества.

C4d1 – минимальное окрашивание C4d (>0 , но $<10\%$ ПТК и прямых сосудов мозгового вещества).

C4d2 – фокальное окрашивание C4d (10-50% ПТК и прямых сосудов мозгового вещества).

C4d3 – диффузное окрашивание C4d (>50% ПТК и прямых сосудов мозгового вещества).

Интерстициальный фиброз (ci) – оценивает степень кортикального фиброза. Степень выраженности критерия основывается на выявлении площади интерстициального фиброза в корковом веществе. Доля фиброзной ткани в корковом веществе в норме составляет до 5%.

ci0 – интерстициальный фиброз до 5% площади коркового вещества.

ci1 – легкий интерстициальный фиброз в 6-25% площади.

ci2 – умеренный интерстициальный фиброз в 26-50% площади.

ci3 – тяжелый интерстициальный фиброз в > 50% площади.

Тубулярная атрофия (ct) – критерий поражения, характеризующий степень кортикальной атрофии канальцев, определяется как: канальцы с утолщенной базальной мембраной или уменьшением диаметра канальцев более чем на 50%. Тубулярная атрофия обычно связана с зонами интерстициального фиброза. Оба критерия (ci и ct) коррелируют со сроком после трансплантации, функцией аллотрансплантата и прогнозом.

ct0 – нет тубулярной атрофии.

ct1 – тубулярная атрофия, занимающая до 25% площади кортикальных канальцев.

ct2 – тубулярная атрофия, занимающая от 26 до 50% площади.

ct3 – тубулярная атрофия, охватывающая > 50% площади.

Интимальный артериальный фиброз (cv) – критерий поражения, отражающий степень утолщения интимы артерии в наиболее сильно пораженной артерии, а не среднее значение по всем артериям. Не делается различий между слабым артериальным фиброзом интимы и фиброзом, пронизанным лейкоцитами, хотя последнее более вероятно при хроническом отторжении (АОО и / или хронического активного отторжения ТОО II степени).

cv0 – нет хронических сосудистых изменений.

cv1 – фиброинтимальное утолщение с сужением до 25% площади просвета сосудов.

cv2 – фиброинтимальное утолщение с сужением от 26 до 50%.

cv3 – фиброинтимальное утолщение с сужением более чем на 50%.

Удвоение контуров базальных мембран капиллярных петель клубочков (cg) – оценка критерия основана на наличии и степени выраженности удвоения контуров базальных мембран капилляров клубочков (БМКК) или их расщепления в наиболее сильно пораженном клубочке. Ишемизированные и сегментарно склерозированные клубочки не учитываются. Используется метод серебрения или PAS-реакция. Banff cg>0 позволяет ставить диагноз трансплантационной гломерулопатии, если исключены другие причины. Banff cg>0 может быть признаком хронического АОО или хронического активного АОО, но также встречается в связи с тромботической микроангиопатией других этиологий: вирусный гепатит С, гипертоническая гломерулопатия, гломерулонефрит. Поздняя ишемическая гломерулопатия определяется как «утолщение, сморщивание и разрушение стенок капилляров клубочков, ассоциированное с экстракапиллярным фиброзом». Раннее проявление трансплантационной гломерулопатии требует проведения ЭМ. При доступности ЭМ рекомендуется проводить исследования биоптатов всех пациентов, у которых выявлялись ДСА, C4d+ депозиты в капиллярах, гломерулит или перитубулярный капиллярит, а также биоптатов, взятых по поводу возникновения или усиления протеинурии, полученных через 3 месяца после трансплантации при наличии показаний и через 6 месяцев при плановом контроле.

cg0 – нет удвоения контуров БМКК.

cg1a – удвоение контуров БМКК (неполные или циркулярные) по крайней мере в 3 капиллярах клубочков при ЭМ, ассоциированные с эндотелиальным набуханием или расширением субэндотелиальной мембраны.

cg1b – двойные контуры БМКК в 1-25% капиллярных петель в наиболее пораженном несклерозированном клубочке при световой микроскопии; ЭМ рекомендуется.

cg2 – удвоение контуров БМКК от 26 до 50% периферических капиллярных петель в наиболее пораженном клубочке.

cg3 – удвоение контуров БМКК более 50% периферических капиллярных петель в наиболее пораженном клубочке.

Расширение мезангиального матрикса (mm) – оценивает процент клубочков с «умеренным расширением мезангиального матрикса» по отношению ко всем несклерозированным клубочкам. Умеренным расширением мезангиального матрикса считается расширение матрикса в мезангиальном пространстве, превышающее ширину 2 мезангиальных клеток, по крайней мере, в 2 дольках клубочка. Критерий носит описательный характер.

mm0 – слабое расширение мезангиального матрикса в любом клубочке.

mm1 – умеренное расширение мезангиального матрикса до 25% не склерозированных клубочков.

mm2 – умеренное расширение мезангиального матрикса в 26-50% не склерозированных клубочков.

mm3 – умеренное расширение мезангиального матрикса в > 50% не склерозированных клубочков.

Артериологиалиноз (ah) – изначально критерий (ah) описывался как «узелковое гиалиновое утолщение приносящих артериол, свидетельствующее о токсичности циклоспорина». В настоящее время определяется как «PAS-положительное гиалиновое утолщение стенок артериол» и считается находкой «неопределенного значения». Звездочка «*» добавляется к критерию Banff (ah) при наличии артериолита.

ah0 – нет PAS-положительного гиалинового утолщения артериол.

ah1 – PAS-положительное гиалиновое утолщение от слабого до умеренного по крайней мере в одной артериоле.

ah2 – PAS-положительное гиалиновое утолщение от умеренного до сильного более чем в одной артериоле.

ah3 – сильное PAS-положительное гиалиновое утолщение во многих артериолах.

Гиалиновое артериолярное утолщение (aah) – альтернативный способ количественной оценки артериологиалиноза. Учитывает циркулярный характер гиалиноза и количество пораженных артериол. Однако этот критерий не является специфичным для артериолопатии, связанной с ингибитором кальциневрина, и его использование остается факультативным.

aaH0 – нет поражений, типичных для артериолопатии, связанной с ингибиторами кальциневрина.

aaH1 – замещение гладкомышечных клеток гиалиновыми депозитами только в одной артериоле, нет циркулярного поражения.

aaH2 – замещение гладкомышечных клеток гиалиновыми депозитами в более чем одной артериоле, нет циркулярного поражения.

aaH3 – циркулярное замещение гладкомышечных клеток гиалиновыми депозитами, независимо от количества вовлеченных артериол.

Общее воспаление (ti) – оценивает общее воспаление в корковом веществе, в отличие от критерия (i) учитывая все зоны кортикальной паренхимы, в том числе участки ИФТА, субкапсулярную и периваскулярные зоны, включая очаговые инфильтраты. Отмечена связь между интерстициальным воспалением в областях ИФТА и снижением выживаемости трансплантата.

ti0 – интерстициальное воспаление <10% общей площади кортикальной паренхимы.

ti1 – воспалительная инфильтрация 10-25% общей площади.

ti2 – воспалительная инфильтрация 26-50% общей площади.

ti3 – воспалительная инфильтрация > 50% общей площади.

Воспаление в области ИФТА (i-ИФТА) – описывает степень воспаления в участках фиброзного изменения коркового вещества,

соответствующих критериям (ci) и (ct), не учитывая тубулит в сильно атрофированных канальцах, поскольку в таких канальцах тубулит наблюдается даже при минимальном интерстициальном воспалении, а также в биопсиях нативных почек. Используется для диагностики хронического активного ТОО. Определение одновременно (ti) и (i-ИФТА) не менее 2 – критерий диагностики хронического активного ТОО степени IA и IB.

i-ИФТА 0 – воспаление < 10% площади фиброзно-измененной паренхимы коры.

i-ИФТА 1 – воспаление от 10 до 25% площади.

i-ИФТА 2 – воспаление от 26 до 50% площади.

i-ИФТА 3 – воспаление > 50% площади.

1.2.1.2. BANFF-классификация пересмотра 2017 года

Категория 1: нормальная биопсия или неспецифические изменения.

Категория 2: антитело-опосредованные изменения.

Активное антитело-опосредованное отторжение (необходимо наличие трех критериев):

1. Гистологическое подтверждение острого повреждения ткани, включая одно или более из следующих:

– МСВ ($g > 0$ и / или $ptc > 0$), при отсутствии рецидивирующего или de novo гломерулонефрита, при наличии острого ТОО, пограничных изменений либо инфекции, недостаточно только $ptc \geq 1$, требуется $g \geq 1$.

– Интимальный или трансмуральный артериит ($v > 0$).

– Острая тромботическая микроангиопатия или острое повреждение канальцев при отсутствии другой видимой причины.

2. Доказательства текущего / недавнего взаимодействия антител с эндотелием сосудов, включая одно или более из следующих:

– Линейное окрашивание C4d в перитубулярных капиллярах (C4d2 или C4d3 при иммунофлюоресценции на замороженных срезах или C4d>0 при ИГХ-исследовании на парафиновых срезах).

– Умеренное МСВ ($[g + ptc] \geq 2$) при отсутствии рецидивирующего или *de novo* гломерулонефрита, при наличии острого ТОО, пограничных изменений или инфекции недостаточно только $ptc \geq 2$, требуется $g \geq 1$.

– Повышенная экспрессия генов, связанных с АОО, в ткани биоптата.

3. Серологическое выявление донор-специфических антител (ДСА к HLA или другим антигенам). Окрашивание C4d или экспрессия генов, как отмечено выше, может заменить ДСА. Однако определение ДСА, включая не-HLA антитела, если тест на HLA-антитела отрицателен, рекомендуется при наличии критериев 1 и 2.

Хроническое активное антитело-опосредованное отторжение (необходимо наличие трех критериев):

1. Морфологические признаки хронического повреждения ткани, в том числе одно или более из следующих:

– Трансплантационная гломерулопатия ($cg > 0$), если нет признаков хронической ТМА или хронического рецидивирующего / *de novo* гломерулонефрита; включает изменения, очевидные только по электронной микроскопии (ЭМ) (cg1a).

– Тяжелая степень расщепления базальных мембран перитубулярных капилляров (требуется ЭМ).

– Артериальный интимальный фиброз *de novo*, исключая другие причины. Присутствие лейкоцитов в склерозированной интима согласуется с хроническим АОО, если нет предшествующего анамнеза ТОО, но их наличие не обязательно.

2. Идентичен критерию 2 для активного АОО.

3. Идентичен критерию 3 для активного АОО.

Окрашивание C4d без признаков отторжения (должны присутствовать все 4 пункта):

1. Линейное окрашивание C4d в перитубулярных капиллярах.

2. Нет гистологических признаков по критерию 1 для активного и хронического активного АОО.

3. Нет молекулярных доказательств АОО по критерию 2 для активного и хронического активного АОО.

4. Нет острого или хронического активного ТОО, пограничных изменений.

Категория 3: пограничные изменения.

– Подозрение на острое клеточно-опосредованное отторжение.

– Очаги тубулита ($t > 0$) с незначительным интерстициальным воспалением (i_0 или i_1) или средней тяжести интерстициальное воспаление (i_2 или i_3) с легким тубулитом (t_1).

– Нет интимального или трансмурального артериита ($v = 0$).

Категория 4: клеточно-опосредованное отторжение.

Острое клеточно-опосредованное отторжение

Степень IA: интерстициальное воспаление $> 25\%$ несклерозированной кортикальной паренхимы (i_2 или i_3) с умеренным тубулитом (t_2) одного или более канальцев, не включая сильно атрофированные.

Степень IB: Интерстициальное воспаление $> 25\%$ несклерозированной кортикальной паренхимы (i_2 или i_3) с тяжелым тубулитом (t_3) одного или более канальцев, не включая сильно атрофированные.

Степень II A1: Интимальный артериит легкой и средней степени тяжести (v_1), с интерстициальным воспалением и тубулитом или без них.

Степень II B1: Тяжелый интимальный артериит (v_2), с интерстициальным воспалением и / или тубулитом или без них.

Степень III 1: Трансмуральный артериит и / или артериальный фибриноидный некроз мышечных волокон среднего слоя с мононуклеарным интимальным артериитом (v_3), с интерстициальным воспалением и тубулитом или без них.

Хроническое активное клеточно-опосредованное отторжение

Степень IA: интерстициальное воспаление $> 25\%$ всей коры ($t_i 2$ или 3) и $> 25\%$ склерозированной кортикальной паренхимы (i -ИФТА 2 или 3) с

умеренным тубулитом (t2) одного или более канальцев, не включая сильно атрофированные; другие причины i-ИФТА должны быть исключены.

Степень IV: интерстициальное воспаление > 25% всей коры (ti 2 или 3) и > 25% склерозированной кортикальной паренхимы (i-ИФТА 2 или 3) с тяжелым тубулитом (t3) одного или более канальцев, не включая сильно атрофированные; другие причины i-ИФТА должны быть исключены.

Степень II: хроническая аллотрансплантационная артериопатия (артериальный фиброз интимы с инфильтрацией мононуклеарными клетками зон фиброза и образованием неоинтимы) [170].

1.2.2. Морфологическая характеристика клеточно-опосредованного и антитело-опосредованного острого отторжения

Острое клеточно-опосредованное отторжение (ТОО) чаще всего развивается в первые месяцы после трансплантации со снижением частоты случаев в дальнейшем, однако может возникнуть как через 6 дней, так и через десятилетия после трансплантации [86]. Классическими клиническими признаками тяжелого острого клеточного отторжения являются: резкое прогрессирующее повышение уровня креатинина в сыворотке, снижение выделения мочи, увеличение массы тела, повышение температуры, болезненность и отек трансплантата (однако эти симптомы могут отсутствовать у пациентов, получающих умеренную иммуносупрессивную терапию). Гематурия (в основном из-за кровоизлияний в поврежденные канальцы или зону инфаркта) и протеинурия (возможно, вызванная тяжелым трансплантационным гломерулитом и диффузным острым канальцевым повреждением) являются редкими проявлениями при остром клеточном отторжении. Эпизоды отторжения, обнаруженные у аллотрансплантатов со стабильной функцией, называются «субклиническими», но требуют лечения [33]. Основными факторами риска острого отторжения, опосредованного Т-клетками и / или антителами, являются степень гистосовместимости между донором и реципиентом, предварительная сенсибилизация (повторная

трансплантация, беременность, переливания крови), протоколы иммуносупрессии и комплаентность пациента [35,133]. Развитие дисфункции аллотрансплантата не является обязательным условием для постановки диагноза острого клеточно-опосредованного отторжения, который основывается на гистологических изменениях в аллотрансплантате.

Макроскопические изменения при остром клеточно-опосредованном отторжении и антитело-опосредованном отторжении (АОО) различаются незначительно. При тяжелом остром отторжении (в основном при смешанном ТОО и АОО) отмечается интерстициальный отек и кровоизлияния – аллотрансплантат может увеличиваться в три раза [86,100], иногда возможны разрывы ткани. На разрезе корковое вещество нормальной толщины или расширено, пятнистого вида: участки нормальной паренхимы чередуются с желтоватыми бледными зонами ишемического инфаркта и кровоизлияниями. При тяжелом течении, в ранние сроки после трансплантации, междольевые артерии могут содержать тромбы, обычно связанные с антитело-опосредованным отторжением.

В основе клеточно-опосредованного отторжения лежит инфильтрация тканей почки активированными Т-лимфоцитами, с повреждением компонентов почечной паренхимы в различных комбинациях (интерстиций, канальцы, стенка сосудов, клубочки). В 45-70% случаев наблюдается картина острого тубуло-интерстициального нефрита и повреждение стенки канальцев (тубулоинтерстициальный вариант – тип 1 по Vanff-классификации), степень которого оценивается по выраженности тубулита. Воспалительная инфильтрация обычно представлена Т-лимфоцитами, макрофагами, а также, в меньшей степени, В-лимфоцитами, плазматическими клетками, полиморфно-ядерными и эозинофильными лейкоцитами в канальцах и интерстиции с легким отеком стромы. В некоторых случаях преобладают плазматические клетки – так называемое клеточное отторжение, богатое плазматическими клетками. Реже, от 30% до 55% случаев, встречается более тяжелое течение клеточного отторжения с инфильтрацией лимфоцитами

интимы артерий и сужением просвета сосуда (сосудистое клеточное отторжение – тип 2 по Banff-классификации). Помимо трансплантационного эндартериита при клеточно-опосредованном отторжении может развиваться трансплантационный гломерулит. Типу 3 по Banff-классификации соответствует выявление трансмурального артериита, который может сопровождаться явлениями фибриноидного некроза, однако подобное поражение более свойственно для реакции гуморального отторжения.

Острое клеточное отторжение трансплантата часто проявляется неравномерными очаговыми изменениями и обычно поражает корковое вещество. Воспаление, вызванное отторжением, в мозговом веществе рассматривается только в ярко выраженных случаях в качестве сопутствующих изменений. Воспаление в мозговом веществе не является специфичным для отторжения и может иметь множество причин, таких как полиомавирусная нефропатия (ПВН), пиелонефрит, аллергический интерстициальный нефрит и т.д. Диффузный и выраженный интерстициальный отек или кровоизлияния наблюдаются только при наиболее тяжелых формах острого Т-клеточно-опосредованного отторжения, вовлекающих артерии и клубочки. В таких случаях часто одновременно выявляется картина гуморального отторжения и определяются C4d позитивные депозиты в сосудах микроциркуляторного русла [121,122,190].

Острое антитело-опосредованное отторжение связано с донор-специфическими (ДСА) анти-HLA-антителами класса I или класса II [39,86], в то время как хроническая форма в значительной степени связана с ДСА класса II [58,69,72,85,155,185].

Клиническая картина острого антитело-опосредованного отторжения, как правило, заключается в дисфункции трансплантата с более частым развитием олигурии (35% по сравнению с 10% при ТОО) и необходимостью диализа (40% по сравнению с 10% при ТОО) по сравнению с отторжением в отсутствие анти-HLA-антител [86]. Однако нет специфических клинических проявлений, позволяющих отличить его от острого отторжения, вызванного

исключительно Т-клетками. Острое гуморальное отторжение чаще всего встречается через 1-3 недели после трансплантации, особенно у сенсibilизированных пациентов, но может развиваться внезапно в любое время [144].

Основным фактором риска для острого АОО является наличие пресенсибилизации (переливание крови, беременность, предшествующая трансплантация) [106]. Около 24% биопсий с острым отторжением соответствуют критериям острого АОО (либо опосредованного исключительно антителами, либо с Т-клеточным компонентом). Общая частота острого антитело-опосредованного отторжения у реципиентов аллотрансплантата составляет около 6%. Тем не менее, среди пациентов с наличием ДСА частота увеличивается до 28% [113].

Острое антитело-опосредованное отторжение проявляется острым канальцевым некрозом (тип 1), либо задержкой мононуклеаров и нейтрофилов в сосудах микроциркуляторного русла: в капиллярах клубочков или перитубулярных капиллярах (гломерулит и капиллярит ≥ 2) (тип 2), либо фибриноидным некрозом стенок артерий и явлениями тромбоза (тип 3). Осаждение C4d+ депозитов в ПТК, выявление циркуляции ДСА в крови и нейтрофилов в капиллярах – диагностическая триада для острого антитело-опосредованного отторжения. Тем не менее, перитубулярный капиллярит, богатый элементами мононуклеарных клеток (макрофаги, лимфоциты), а не нейтрофилами, достаточно распространен при остром гуморальном отторжении, а отсутствие нейтрофилов или даже перитубулярного капиллярита не является аргументом против диагноза острого антитело-опосредованного отторжения. С другой стороны, перитубулярный капиллярит, особенно при ранней биопсии трансплантата, может возникать при отсутствии гуморального отторжения [184]. Приблизительно от 20% до 40% эпизодов острого клеточного отторжения, в зависимости от гистологического типа, показывают позитивность C4d вдоль ПТК, что свидетельствует об одновременном антитело-опосредованном повреждении

[18,71,144,145]. Эпизоды смешанного АОО и острого ТОО отличаются более тяжелым течением [18] и представляют собой независимый фактор риска дисфункции трансплантата. Как следует из вышесказанного, разные типы клеточно-опосредованного и гуморального отторжения способны поражать как канальцевый эпителий, так и стенки сосудов, а также довольно часто имеет место смешанный вариант отторжения, что затрудняет дифференциальную диагностику данных процессов [7,63].

1.3.Морфологическая и иммуногистохимическая диагностика вирусного поражения почечного аллотрансплантата

Патология почечного трансплантата не ограничивается отторжением. Иммуносупрессивная терапия, применяемая для предотвращения эпизодов отторжения, нередко сама приводит к дисфункции трансплантата. Среди спровоцированных иммуносупрессией причин поражения почечного трансплантата стоит отметить развитие вирусных инфекций, представляющих особую опасность в раннем посттрансплантационном периоде, во время подбора иммуносупрессивной терапии.

По данным серологических исследований, от 50 (аденовирусы) до 90% (полиомавирус, герпесвирусы) населения имеет антитела к оппортунистическим вирусам, инфицируясь в детском возрасте, после чего заболевания в большинстве случаев протекают у иммунокомпетентных пациентов бессимптомно либо вызывая легкие инфекции, переходящие затем к латентному течению. Однако для иммунокомпрометированных лиц они представляют серьёзную опасность, особенно когда речь идет о педиатрической популяции [81,84,105,109,117,123,149,151,154,158,160, 161,167,175,176,193,208].

Нередкое отсутствие характерной морфологической картины, схожесть проявлений поражения почечного трансплантата различными вирусами с острым отторжением, возможность их сочетанного течения и влияния на развитие острого и хронического отторжения делает диагностику, не

подтвержденную иммуногистохимическим исследованием, особенно трудной [41,75,86,120,121,163,164,174,189-193]. Представляется важным исследование распространенности и влияния на клиническое течение оппортунистических инфекций, таких как полиомавирус, аденовирус, вирусы герпеса I и II типов, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, выявляемых в биоптатах почек пациентов, имеющих клинические и морфологические признаки реакции острого отторжения, а также морфологические признаки вирусного поражения почек без реакции отторжения.

1.3.1. Аденовирусная инфекция

Аденовирусы – семейство двухцепочечных безоболочечных литических ДНК-содержащих вирусов, подразделяющихся на 6 групп и более чем на 50 серотипов [40,86,150].

Среди пациентов, не подвергавшихся трансплантации, аденовирусная инфекция чаще встречается у детей, особенно до пяти лет, тогда как во взрослой возрастной группе преобладают иммунокомпрометированные пациенты со снижением Т-клеточного иммунитета. Помимо экзогенного заражения данными вирусами, возможна передача инфекции через донорский орган [22,43,45,51,52,57,81,104,155,171,195-197,200].

Латентная персистенция аденовирусов встречается реже, чем при ВКV и ЦМВ, однако возможна – значительная часть генома задействована в продукции генов, чья основная функция заключается в модулировании иммунного ответа хозяина. Особенностью аденовирусов является то, что они обладают механизмами уклонения от иммунного ответа хозяина, такими как: ингибция функции интерферонов с помощью вирус-ассоциированной РНК и гена E1A, ингибция внутриклеточного апоптоза в инфицированных клетках и предотвращение экспрессии антигенов большого комплекса гистосовместимости класса I на клеточной поверхности. Также аденовирусы могут вызывать отторжение трансплантата посредством активации врожденной иммунной системы [42,92,104,192].

Патогенез вызванных аденовирусом изменений, тяжесть клинических проявлений и вовлекаемые в процесс органы различны, что зависит от серотипа вируса, возраста пациента, вида и интенсивности иммуносупрессии и типа трансплантата. При трансплантации почек инфекцию чаще всего вызывают аденовирусы подгрупп В1 и В2 серотипов 7, 11, 34, 35 и 37. Серотипы 35, 37 и наиболее часто 11 связаны с геморрагическим циститом и некротическим интерстициальным нефритом [51,80,84,86,110, 117,123,149,167,173-174].

Частота выявления аденовируса у реципиентов солидных органов составляет 5-22%, у большинства пациентов аденовирусная инфекция протекает бессимптомно – отсутствие симптомов наблюдается при виремии более чем в половине случаев (до 58%). Клинические проявления разнообразны: наблюдается поражение самого аллотрансплантата, также развиваются генерализованные симптомы, включающие гематурию/пиурию (94%), дизурию (88%), лихорадку (82%) и билатеральную боль в яичках (44%). В случае аденовирус-индуцированного нефрита в сыворотке крови обычно наблюдается повышение уровня креатинина. В отдельных случаях у реципиентов почечного трансплантата аденовирусная инфекция может в первую очередь поражать мочевой пузырь, вызывая геморрагический цистит, который часто сопровождается дисфункцией аллотрансплантата [86,96,124,136,173]. У подавляющего большинства пациентов почечная функция возвращается к исходному уровню после разрешения инфекционного процесса. Стратегии лечения аденовирусных инфекций аллотрансплантата включают в себя снижение иммуносупрессивной терапии и введение противовирусных препаратов. Вопреки выраженному поражению паренхимы, вызываемому внутривисочечной аденовирусной инфекцией, исход своевременного лечения достаточно благоприятен: у многих пациентов наблюдаются быстрое и полное восстановление функции почек и долгосрочное выживание трансплантата. Однако из-за генерализованного характера инфекции течение болезни может быть тяжелым и привести к

летальному исходу, что отличает аденовирусную инфекцию от ПВН [28,43,57].

Морфологическим признаком тяжелого аденовирусного поражения является некротический тубулоинтерстициальный нефрит. Основные гистологические изменения характеризуются следующими признаками: внутриядерные включения вирусных телец (аморфный «матово-стекловидный» вариант, иногда центрально расположенные включения окружены гало); тяжелые повреждения канальцев с разрушением базальных мембран и очагами некроза; мононуклеарная и плазматитарная клеточная инфильтрация иногда с формированием гранулем; фокальные интерстициальные кровоизлияния и внутриканальцевые скопления эритроцитов. Полиморфно-ядерные лейкоциты могут в большом количестве присутствовать вокруг зон некроза. Клубочки и сосуды обычно не поражаются, за исключением редких случаев изменения цитоплазмы париетальных эпителиальных клеток капсулы Шумлянскогo—Боумена. В отдельных случаях у реципиентов почечного трансплантата аденовирусная инфекция может в первую очередь поражать мочевой пузырь, вызывая геморрагический цистит [43,57,86,152,159,192].

Для подтверждения аденовирусного поражения возможно использование метода ПЦР, ИГХ-исследования и электронной микроскопии. Ультраструктурно в ядрах и цитоплазме наблюдаются вирионы, размеры которых примерно вдвое больше, чем у полиомавирусов, и вдвое меньше, чем у вирионов ЦМВ. Свободные вирусные частицы могут быть обнаружены в моче, при этом не выявляясь при электронной микроскопии, однако плотные аденовирусные агрегаты не образуются. Иммунофлюоресцентная микроскопия со стандартной панелью антител, направленных к иммуноглобулинам и факторам комплемента, не показательна [41,86,195].

1.3.2. Герпес-вирусная инфекция

Герпес-вирусы – семейство ДНК-содержащих вирусов, включающее в себя α -герпесвирусы (ВПГ-1, ВПГ-2), β -герпесвирусы (цитомегаловирус) и γ -герпесвирусы (вирус Эпштейна-Барр) [209].

Распространенность ВПГ очень высока – инфекция поражает до 95% людей во всем мире. Как и все герпесвирусы, после первичного инфицирования ВПГ способен латентно персистировать в организме, возобновляя продуцирование вирусных частиц при снижении иммунитета. Первичная ВПГ-инфекция редко встречается у реципиентов почечного трансплантата. Наиболее часто отмечается реактивация вируса, не сопровождающаяся развитием клинической симптоматики – встречается информация о возможности диссеминации возбудителя с вовлечением внутренних органов, однако подобные случаи чрезвычайно редки [34,42,86,161,181,193,208].

Цитомегаловирус (ЦМВ) – двухцепочечный ДНК-содержащий вирус, после первичной инфекции латентно персистирующий в миелоидных клетках-предшественниках. Частота носительства вируса составляет более 80–85% . У пациентов с трансплантированными органами выделяют «ЦМВ-инфекцию», при которой репликация вируса не сопровождается клиническими симптомами и «ЦМВ-болезнь», при которой развиваются симптомы заболевания. ЦМВ-инфекция занимает ведущее место среди вирусных инфекций у пациентов после пересадки органов как по частоте, встречаясь у 30-80% пациентов, так и по тяжести проявлений. Максимальный риск развития ЦМВ-инфекции приходится на первые полгода после трансплантации, с пиком заболеваемости между вторым и третьим месяцами. Основными факторами риска ЦМВ-болезни для реципиентов трансплантата являются: трансплантация органа от серопозитивного донора к серонегативному реципиенту, усиление режима иммуносупрессии, а также применение препаратов антилимфоцитарных антител [23,24,38,86,116,132,166,199].

ЦМВ обладает способностью влиять на иммунный ответ. Репликация ЦМВ угнетает иммунитет за счет функциональных изменений в лимфоцитах и моноцитах. ЦМВ-инфекция также связана с активацией других герпесвирусов, таких как ВПГ, вирус Варицелла–Зостер, Эпштейн-Барр, или вирусы герпеса человека (HHV-6, -7, -8) [36,44,56,161,164,165,194].

Эпштейн-Барр вирус (ЭБВ) – двухцепочечный ДНК-содержащий вирус, существующий в клетках в латентной или литической фазе. ЭБВ может инфицировать В- и Т-лимфоциты, эпителиальные, гладкомышечные и фолликулярные дендритные клетки. Вирусный геном сохраняется в небольшой части В-лимфоцитов в течение всей жизни. Так как 90% взрослого населения имеют антитела к ЭБВ, симптоматическая инфекция наиболее часто встречается у нативных по данному вирусу детей. ЭБВ связан с развитием посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания (ПТЛЗ) и широким спектром злокачественных новообразований.

Почти все реципиенты инфицированы или станут инфицированы ЭБВ в посттрансплантационном периоде, но только у некоторых из них разовьется ПТЛЗ. Среди факторов риска ПТЛЗ выделяют ЭБВ-серонегативность или активную первичную ЭБВ-инфекцию на момент трансплантации, спленэктомию в анамнезе, повторную трансплантацию, пожилой и детский возраст, сочетание с ЦМВ и другими вирусными инфекциями, реакцию «трансплантат против хозяина», режим иммуносупрессии и др. [21,41,86,115,126,134,180].

1.3.3. Полиомавирусная нефропатия аллотрансплантата

В первую очередь требуется своевременное выявление полиомавируса – распространенного двухцепочечного безоболочечного ДНК-содержащего вируса семейства Polyomaviridae. Количество серопозитивных лиц в общей популяции достигает 60-100%. Первичное инфицирование обычно происходит в детском возрасте, после чего у иммунокомпетентных лиц полиомавирус клинически не проявляется, переходя в латентное состояние и

персистируя в В-клетках, уротелии и эпителии почечных канальцев. Реактивация персистирующей инфекции происходит при снижении Т-клеточного иммунитета при иммунодефицитных состояниях, в том числе из-за использования иммуносупрессивной терапии, что может приводить к развитию полиомавирусной нефропатии трансплантата (ПВН), чаще всего вызываемой репликацией ВК-штамма вируса, либо, в одной трети случаев, симультанной репликацией ВК-вируса и JC-вируса. ПВН, вызванная только JC-вирусом или SV-40 вирусом, является исключительно редкой. Микросреда трансплантата способствует развитию ПВН, о чем свидетельствует редкая встречаемость ПВН в нативных почках у реципиентов внепочечных аллотрансплантатов. Условия для репликации полиомавирусов могут быть благоприятны в клетках эпителия канальцев, поврежденных и регенерирующих после таких повреждений, как ишемия или отторжение. Тем не менее, все факторы риска, связанные с ПВН, до сих пор не определены [5,13,48,49,73,86,102,129,141,142,147,176,177,191,203].

Полиомавирусы прикрепляются к клеткам-хозяевам путем связывания вирусных капсидных белков с рецепторами клеточной поверхности. После проникновения в клетку посредством эндоцитоза, вирусы мигрируют в ядро клетки-хозяина, которая в конечном итоге перепрограммируется для образования вирусных частиц, а дочерние вирионы собираются в ядре с образованием внутриядерных включений вирусных телец, идентифицированных с помощью световой микроскопии [50]. По-видимому, инфицированные клетки канальцев и собирательных трубочек способствуют созданию воспалительного микроокружения с экспрессией IL-6 и IL-8 посредством активации toll-подобного рецептора 3, запускаемого во время вирусного репликативного цикла [167]. На последнем этапе репликации вируса клетки-хозяева лизируются, и зрелые дочерние вирионы высвобождают в просветы канальцев. Критическим фактором для контроля репликации ВК-вируса и восстановления после ПВН является клеточный иммунитет. ПВН – патология, угрожающая потерей трансплантата, впервые

выявляется преимущественно (в 75% случаев) в течение первого года после трансплантации почки (от 3 месяцев до 1,5 лет, средний срок выявления – 9,5 месяцев [2,5,13,16,25,29]).

В большинстве случаев ПВН 1 степени тяжести диагностируется на ранней стадии, через 4-5 месяцев после трансплантации, тогда как ПВН 3 степени с выраженными зонами поражения выявляется значительно позже, в среднем через 13 месяцев. Частота дисфункции почечного аллотрансплантата зависит от степени тяжести ПВН: приблизительно 15% составляет ПВН 1 степени, 25% – 2 степени и 50% приходится на ПВН 3 степени (данные, полученные рабочей группой Banff по ПВН). В отдельных случаях при ПВН может потребоваться ретрансплантация. Рецидив ПВН наблюдается приблизительно в 6-10% всех случаев повторных аллотрансплантаций [77,131,160,204].

Следует учитывать, что возможен перенос вируса с донорским органом. Также представляют интерес данные об активации ВК-вирусной инфекции у пациентов с сахарным диабетом и диабетической нефропатией[59].

При макроскопическом исследовании почек, пораженных полиомавирусной инфекцией, изменения неспецифичны и не несут значимой диагностической ценности: почки немного уменьшены в размерах, плотноватой консистенции, поверхность зернистого вида, может наблюдаться стертость границы коркового и мозгового вещества [68].

При световой микроскопии полиомавирусную нефропатию характеризует наличие внутриядерных включений вирусных частиц в эпителиальных клетках канальцев и собирательных трубочек, повреждения и лизис эпителиальной выстилки канальцев. Поскольку вирус использует для репликации пролиферативный аппарат клеток-хозяев, внутриядерные включения являются патогномичным признаком продуктивной вирусной инфекции, при этом в цитоплазме клеток вирусные включения не определяются [4,5,68,74-76,123].

При ПВН выделяются четыре типа изменений ядер, которые могут присутствовать как одновременно, так и в виде «гибридных» форм. Тип 1 – аморфные базофильные включения «матово-стекловидных» телец (наиболее распространенная форма). Тип 2 – центральные, эозинофильные, мелкозернистые включения, окруженные в основном «неполным» гало (редкая форма). Тип 3 – мелкозернистые внутриядерные повреждения без гало. Тип 4 – везикулярный вариант с грубо слипающимися внутриядерными вирионами. Наиболее легко с помощью светового микроскопа различимы 1 и 2 типы включений [5,68].

В начальной стадии ПВН вирус поражает эпителий собирательных трубочек, позже – дистальных канальцев и петель Генле. Иногда в процесс вовлекаются дистальные нефроны. Эндотелиальные, гладкомышечные и интерстициальные клетки обычно не поражаются, что может служить диагностическим критерием при дифференцировке ПВН с другими вирусными инфекциями, которые чаще вызывают системное поражение. При выявлении ПВН следует учитывать возможность сочетания с другими инфекциями, к примеру, с ЦМВ, т.к. полиомавирус может вызвать экспрессию генов ЦМВ, стимулируя клеточные или вирусные регуляторные белки [36,44,56,86].

Наибольшее значение для ПВН имеет повреждение канальцев. Репликация вируса в итоге приводит к лизису клеток-хозяев и обнажению базальных мембран, то есть развитию острого канальцевого некроза различной степени выраженности. Однако, несмотря на заметное повреждение эпителиоцитов, базальные мембраны, как правило, остаются нетронутыми и служат структурным каркасом для последующей регенерации. Поражение клубочков ограничивается париетальными эпителиоцитами, выстилающими капсулу Шумлянско-Боумана, иногда в сочетании с образованием небольших полулуний. Случаи репликация вируса в подоцитах исключительно редки [68].

При ПВН наблюдается разная степень интерстициального воспаления и склероза коркового и мозгового слоев. На ранней стадии заболевания интерстициальное воспаление может быть минимальным либо отсутствовать. В таких случаях репликация вируса обнаруживается только по результатам ИГХ исследования. При развернутой картине ПВН выявляется интерстициальный отек со смешанной инфильтрацией воспалительными клетками (В- и Т-лимфоциты, макрофаги, плазматические клетки) от легкой до выраженной степени тяжести. В большинстве случаев ПВН отмечается наличие тубулитов t1–t3 стадии по Vanff-классификации, в связи с чем крайне важна и сложна своевременная дифференциальная диагностика с острым клеточным отторжением трансплантата [4,15,75].

Примерно в 15% случаев могут формироваться интерстициальные гранулемы без некроза ткани, реже встречаются гигантские клетки Ландханса. Интерстициальные гранулемоподобные структуры нередко сочетаются с «внутриканальцевыми гранулемами», представленными растянутыми канальцами, заполненными воспалительными, эпителиальными и гистиоцитарными клеточными элементами, часто не имеющими внутриядерных вирусных включений. Формирование гранулем вероятнее всего связано с разрывом тубулярных базальных мембран и выходом Тамм-Норсфалл protein в интерстициальное пространство. «Внутриканальцевые гранулемы», как правило, не встречаются при отторжении, и их присутствие может выступать в качестве диагностического признака ПВН [68,182,183].

Исследование рабочей группы Vanff определило три клинически значимые стадии заболевания, основанные на выраженности интрапаренхиматозной репликации полиомавирусов (гистологическая вирусная нагрузка) и степени интерстициального фиброза: ПВН 1 стадии (минимальные свидетельства о репликации вируса менее чем в 1% площади биоптата, интерстициальный фиброз менее 25%), ПВН 2 стадии (промежуточные изменения), и ПВН 3 стадии (репликация вируса в ядрах

более чем 10% площади биоптата, интерстициальный фиброз более 25%) [15].

При диагностике ПВН репликацию полиомавируса определяют при стандартной световой микроскопии по наличию внутриядерных включений вирусных телец, а на ранних стадиях заболевания, не имеющих включений, с помощью ИГХ и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и методом гибридизации *in situ*. Актуально применение иммуногистохимических маркеров, таких как анти-SV40-антитела к Т-антигену полиомавируса, антитела к капсидным белкам VP. Так как при изолированной ПВН отсутствует повышенная экспрессия HLA-DR-антигенов (Human Leucocyte Antigens 2 класса) на эпителии канальцев, этот признак также может служить косвенным критерием сопутствующего криза отторжения [29,30,41,47,86,111,206].

Электронная микроскопия биоптата трансплантированной почки помогает выявить интрануклеарные (реже интрацитоплазматические и экстрацеллюлярные) вирусные частицы размером 45–55 нм, обычно встречающиеся в виде кластеров. Почти у всех пациентов с ПВН в составе мочевого осадка обнаруживаются так называемых «decoy»-cells (клетки-ловушки) – большие (25–35 микрон) атипичные клетки округлой или овальной формы с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, при окраске по Papanicolaou ядра содержат типичные базофильные включения, занимающие практически всю площадь ядра, оставляя небольшой ободок гранулярного хроматина. Их появление указывает на активацию полиомавирусов в мочевыводящих путях, но не является непременным критерием развития ПВН. Выявление большого количества «decoy»-клеток (более 5 в 1 поле зрения при большом увеличении микроскопа) обычно сопровождается дисфункцией трансплантата и появлением интерстициальной инфильтрации. Альтернативным диагностическим методом является электронно-микроскопическое исследование негативно окрашенного осадка мочи [86,182,183].

Несмотря на наличие множества методов, выявляющих репликацию вируса, для постановки диагноза ПВН необходимо морфологическое исследование биопсии почки. Хотя гистологические изменения, включая внутриядерные вирусные включения, относительно патогномоничны для ПВН, вирусные инфекции, вызванные аденовирусом, вирусом простого герпеса или ЦМВ, должны учитываться при дифференциальной диагностике [28,36,44,56].

Активации вирусов после трансплантации способствуют многочисленные факторы, такие как иммуносупрессия (особенно снижение цитотоксического иммунитета), последствия лечения отторжения трансплантата и сочетанная репликация вирусов, обладающих иммуномодулирующими свойствами. Кроме того, реакция реципиента менее эффективна из-за несоответствия основных антигенов гистосовместимости, что снижает эффективность прямого пути противовирусного клеточного иммунного ответа и повышает восприимчивость к вирусным инфекциям. Вирусная инфекция может быть первичной, реактивацией персистирующего вируса, а также передаваться реципиенту через донорский орган. При трансплантации почек риск развития тяжелых жизнеугрожающих осложнений и потери трансплантата наиболее высок в первые месяцы после трансплантации, в период подбора иммуносупрессивной терапии [1, 9, 13, 14, 21].

1.4. Заключение

Актуальность изучения вирусных инфекций трансплантата обусловлена не только повсеместным распространением оппортунистических инфекций, но и способностью многих вирусов, к примеру, аденовирусов и ЦМВ, оказывать модулирующее действие на иммунный ответ хозяина, способствуя персистенции вируса либо провоцируя реакцию отторжения. Отношения между вирусными инфекциями и развитием отторжения аллотрансплантата остаются спорными, однако имеются данные о прямой и косвенной связи данных процессов.

Имеется большое количество работ, посвященных проблеме острого отторжения, а также изучению роли вирусов в трансплантологии, однако до сих пор не сформулировано единого структурированного подхода к дифференциальной диагностике данных состояний. Поэтому важной практической задачей представляется определение роли вирусных инфекций в реакции отторжения аллотрансплантата почки и разработка подходов к дифференциальной диагностике острого клеточного и гуморального отторжения с вирус-индуцированным поражением трансплантата путем выявления статистически значимых связей и различий между состоянием аллотрансплантата на основании результатов морфологических, иммуногистохимических и клинических исследований. Это имеет принципиальное значение для своевременного подбора терапии и играет особо важную роль в связи с противоположными подходами к лечению данных заболеваний.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-морфологическое исследование было проведено на диагностическом материале 118 пункционных биопсий почечных трансплантатов, полученных от 98 пациентов (от 2 до 63 лет, медиана возраста 16,5 лет), проходивших лечение в РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского в период с 2004 по 2019 годы. В качестве группы сравнения использовали образцы 10 почек, которые были получены при нефрэктомии собственных почек реципиента.

Материал пункционных биопсий фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (рН 7,4, БиоВитрум), осуществляли проводку на гистопротекторе Leica TP1050 и заливали в парафин при помощи модульной станции для заливки Leica EG1150. Для гистологического и ИГХ исследований изготавливали срезы толщиной 3-4 мкм на ротационном микротоме Leica RM2235. Срезы расправляли с использованием водяной бани Leica HI1210. Для гистологического исследования биоптатов почечных

трансплантатов изготавливали по 6 стекол, использовали окраску гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, PAS-реакцию. Окрашивание гистологических препаратов производили при помощи автоматического стейнера Leica Autostainer XL. Депарафинирование и ИГХ исследование проводили по стандартному протоколу в автоматическом режиме в иммуногистостейнере Leica Bond-Max. Использовали раствор для депарафинизации Bond (Bond Dewax Solution AR9222), набор реагентов Bond на основе полимера (Bond Polymer Refine Detection Leica Biosystems), в который входят: раствор для блокирования эндогенной пероксидазы, вторичные кроличьи антимышьи антитела (Post Primary Rabbit anti mouse IgG), антикроличьи антитела, меченные полимером (PolymerAnti-rabbitPoly-HRP-IgG), ДАБ, раствор гематоксилина. Применяли раствор для высокотемпературной демаскировки 1 AR9961 и раствор для высокотемпературной демаскировки 2 AR9640 (Bond Epitope Retrieval Solution 1 AR9961 и Bond Epitope Retrieval Solution 2 AR9640LeicaBiosystems), отмывочный раствор (Bond Wash Solution Leica Biosystems). Исследование проводили с первичными мышьиными моноклональными антителами к: аденовирусу (Abcam, клон M58+M73; разведение 1:100), цитомегаловирусу pp56 (Abcam, клон 2+6; разведение 1:400), ядерному антигену вируса Эпштейна-Барр (Abcam, клон E1-2.5; разведение 1:3000), вирусу герпеса I типа (Cell Marque, клон 10A3; разведение 1:800); поликлональными кроличьими антителами к вирусу герпеса II типа (Cell Marque, поликлональные; разведение 1:600). В качестве маркера комплемент-фиксированных в эндотелии микроциркуляторного русла почки антител при подозрении на гуморальное отторжение определяли C4d+ депозиты (Cell Marque, клон SP91; разведение 1:100). Для оценки выраженности тубулита и интерстициальной инфильтрации проводили ИГХ исследование с антителами к CD3 (Т-лимфоциты) (Dako, клон F7.2.38; разведение 1:200) и CD20 (В-лимфоциты) (Dako, клон L26; разведение 1:200).

Разведение антител осуществляли при помощи раствора для разведения антител Bond (Bond Primary Antibody Diluent Leica Biosystems). При ИГХ исследовании в каждой серии гистологических срезов использовали положительные и отрицательные контроли.

Препараты исследовали с помощью световой микроскопии при увеличениях x50, x100, x200, x400, x1000 на световых микроскопах Leica DM1000LED и Leica DM5000B. Оценку морфологической картины проводили в соответствии с критериями Vanff-классификации 2017 года. Экспрессию вирусных частиц определяли в цитоплазме клеток и оценивали полуколичественным методом: «+++» – выраженная, «++» – умеренная, «+» – слабая, «-» и «+/-» – отрицательная и незначительная экспрессия. Для визуализации изображения использовали цифровую камеру Leica DFC490 с программным обеспечением LAS V4.8 (Leica Microsystems).

Проводили оценку следующих клинических и лабораторных данных: уровень креатинина и протеинурии; значения АД; заключения УЗИ-исследований; выявление ДНК вирусов в моче (полиомавирус) и крови (полиомавирус, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр) методом ПЦР.

Учитывался родственный либо трупный тип трансплантата, пол и возраст пациентов, было проанализировано наличие связи вышеперечисленных данных с морфологической картиной и результатами ИГХ-исследования.

При статистической обработке для выявления достоверных различий между группами в случае качественных переменных применяли точный тест Фишера с поправкой на множественные сравнения методом Холма. Для сравнения количественных переменных применяли тест Крускала-Уоллеса и попарный post-hoc анализ с помощью теста медиан Муда и поправкой на множественные сравнения методом Холма. Различия считали достоверными при значении $p < 0.05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Группы пациентов

По результатам морфологического и иммуногистохимического исследований пациенты были разделены на 5 основных групп с:

1) морфологической и иммуногистохимической картиной вирусного нефрита с потерей трансплантата в ранние сроки после выявления изменений -5 пациентов (4,2%);

2) морфологической и иммуногистохимической картиной вирусного нефрита без потери трансплантата в 38 случаях (32,2%);

3) сочетанием клеточного отторжения и пограничных изменений с вирусным нефритом в 38 случаях (32,2%);

4) острым клеточным отторжением, включая пограничные изменения в 23 случаях (19,5%);

5) пациенты без морфологических и иммуногистохимических признаков отторжения и вирус-индуцированного поражения в 14 случаях (11,9%). В данную группу попадали пациенты с выявлением вирусов при помощи ПЦР в анамнезе либо иными факторами риска (табл. 1).

Для анализа морфологических и иммуногистохимических изменений в случаях сочетанного течения клеточного отторжения и пограничных изменений с вирусным нефритом также выделяли объединенную группу вирус-индуцированного нефрита, включавшую в себя первые три группы, и объединенную группу отторжения трансплантата, включавшую в себя первую, третью и четвертую группы.

По результатам морфологического и иммуногистохимического исследований вирусный нефрит с потерей трансплантата и преобладанием некротических изменений наблюдался у 5 (4,2%) пациентов; вирусный нефрит без потери трансплантата отмечался в 38 (32,2%) случаях; сочетание пограничных изменений с вирус-индуцированным нефритом также наблюдали в 38 (32,2%) случаях; острое клеточное отторжение и пограничные изменения в трансплантате – в 23 (19,5%) случаях; отсутствие

морфологических и иммуногистохимических признаков отторжения и вирус-индуцированного поражения трансплантата – в 14 (11,9%) случаях (табл.1).

Таблица 1. Распределение количества случаев по группам

Вирусный нефрит с потерей трансплантата	Вирусный нефрит без потери трансплантата	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит	Острое клеточное отторжение	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита
5	38	38	23	14
4,2%	32,2%	32,2%	19,5%	11,9%

3.2. Анализ связи возраста пациентов с развитием вирус-индуцированного нефрита и отторжения аллотрансплантата

Медиана возраста пациентов по группам составляла:

- 4 года у пациентов с картиной вирусного нефрита и потерей трансплантата;
- 22 года у пациентов с вирус-индуцированным нефритом без потери трансплантата;
- 13 лет – при сочетании клеточного отторжения и пограничных изменений с вирус-индуцированным нефритом;
- 17 лет у пациентов с острым клеточным отторжением;
- 11 лет – при отсутствии признаков отторжения и вирус-индуцированного поражения трансплантата.

При анализе ассоциации возраста с развитием вирус-индуцированного нефрита либо отторжения аллотрансплантата статистически значимой связи не наблюдалось ($p > 0,05$), за исключением описываемой ниже группы нефритов с потерей трансплантата (рис. 1).

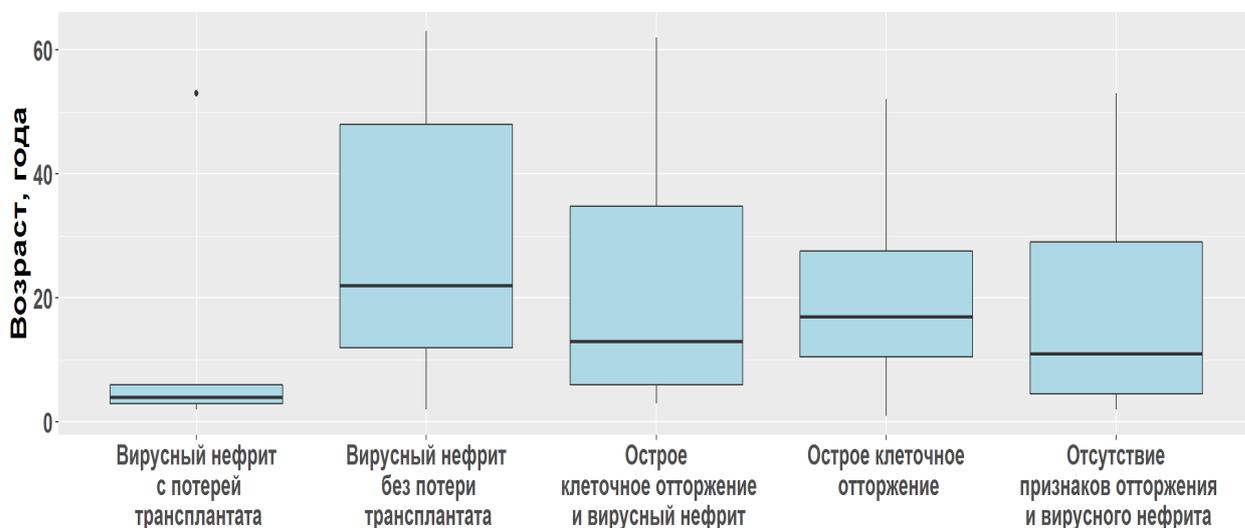


Рисунок 1. Распределение пациентов по возрасту в различных группах

Сравнение объединенной группы вирус-индуцированного нефрита и объединенной группы отторжения аллотрансплантата, с последовательным включением в каждую из них случаев из группы сочетанного течения нефрита и клеточного отторжения, значимых различий в возрасте реципиентов также не показало ($p > 0,05$). Полученные результаты не позволяют опираться на возраст при дифференциальной диагностике вирус-индуцированного нефрита и острого клеточного отторжения, что не противоречит данным литературы [19,27,80,90,95,117,151,157,161,174,179,201] (рис. 2 и 3).

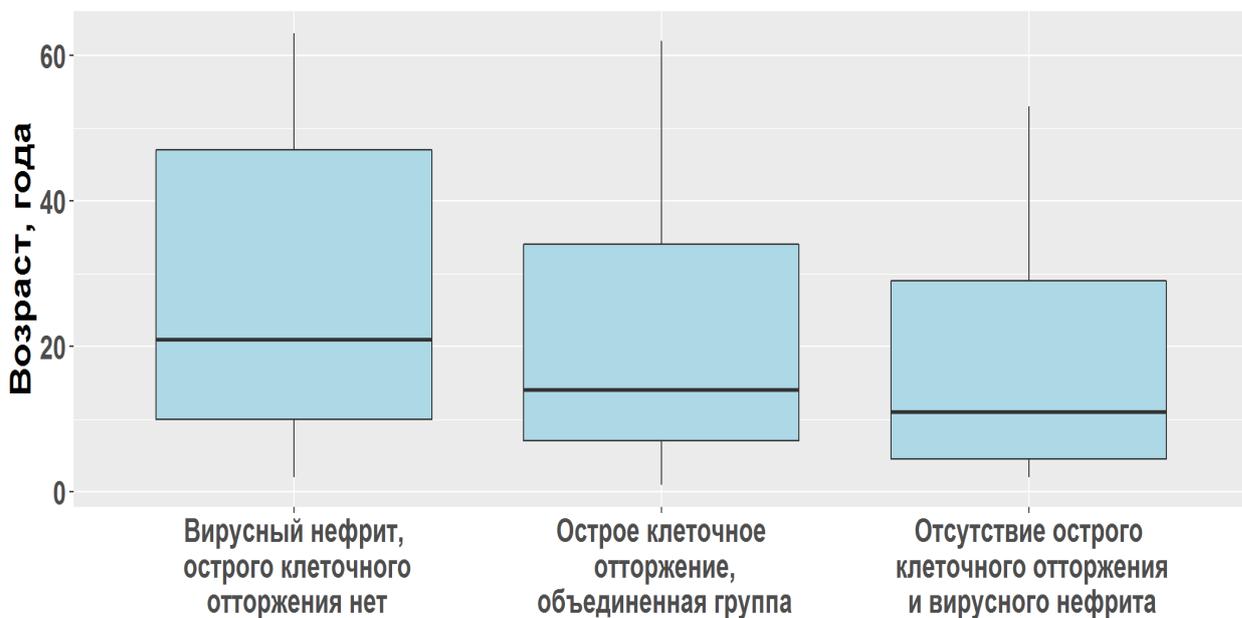


Рисунок 2. Распределение пациентов по возрасту в объединенных группах с / без отторжения

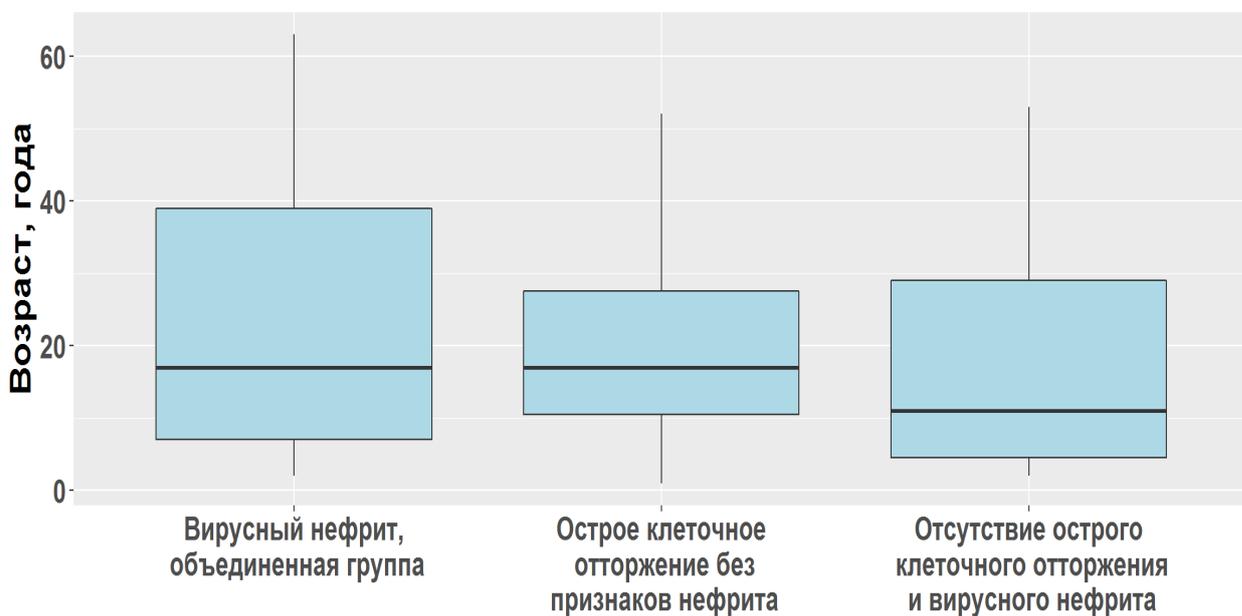


Рисунок 3. Распределение пациентов по возрасту в объединенных группах с / без вирус-индуцированного нефрита

3.3. Исследование связи отторжения и вирусного поражения аллотрансплантата с полом реципиентов

Влияние пола реципиентов на эпизоды острого отторжения, вирусное поражение, кратковременную и долгосрочную выживаемость аллотрансплантата недостаточно изучено. Имеются противоречивые литературные данные о влиянии пола доноров и реципиентов на исход аллотрансплантации: чаще встречается мнение, что пол не оказывает влияния на функцию трансплантата, однако в большинстве исследований указывается необходимость дальнейшего подтверждения результатов [19,27,89,90,138, 139,151,157,179,210]. В нашем исследовании связь пола реципиентов с развитием острого отторжения и вирус-индуцированного нефрита отсутствовала ($p = 1$) (табл. 2, рис. 4). Сравнение по данным признакам не было приоритетным, поскольку пациентов подбирали по морфологической и иммуногистохимической картине, наличию дисфункции трансплантата и вирусного анамнеза, а не по полу. В группе нефрита с потерей трансплантата нельзя говорить о связи тяжести поражения с полом, поскольку группа по данному признаку не репрезентативна.

Таблица 2. Распределение пациентов по группам в зависимости от пола

	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Женский пол	1 20%	17 45%	14 37%	8 35%	3 21,4%
Мужской пол	4 80%	21 55%	24 63%	15 65%	11 78,6%

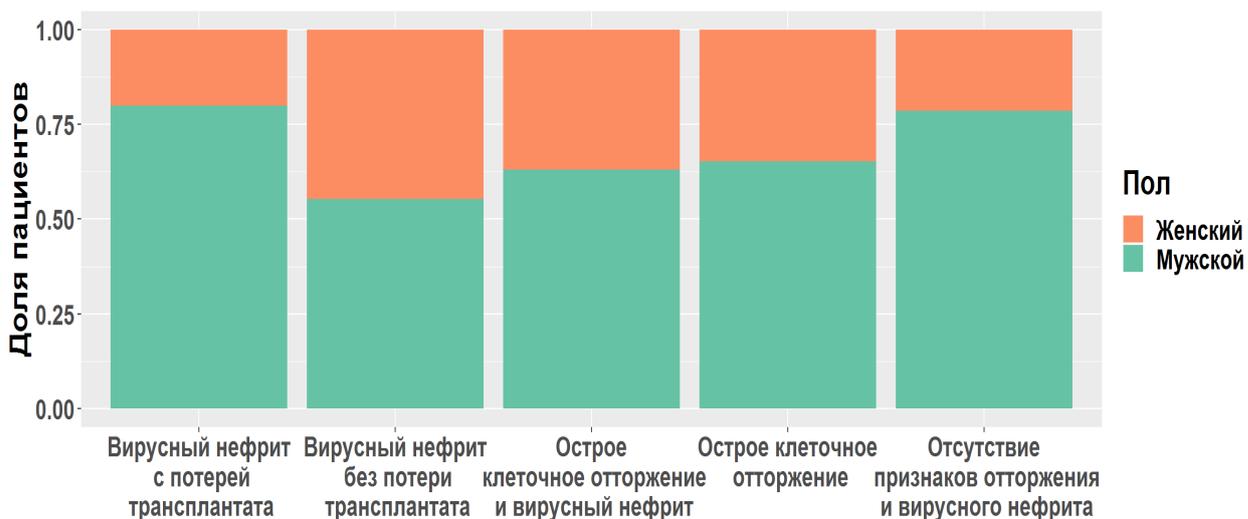


Рисунок 4. Распределение пациентов по группам в зависимости от пола

3.4. Морфологическое исследование аллотрансплантатов

Морфологическое исследование биоптатов аллотрансплантатов почек проведено в соответствии с критериями Banff-классификации. При морфологической диагностике острого отторжения соблюдали требования к качеству биоптатов (не менее 10 несклерозированных клубочков и 2 артерий), однако адекватность образца биопсии зависела не столько от них, сколько от наблюдаемых повреждений: одной артерии с эндартериитом достаточно для диагностики острого отторжения, даже если в исследуемом биоптате отсутствуют клубочки. Напротив, крупный участок коркового вещества с 10 клубочками и минимальным инфильтратом не исключает отторжения. Отсутствие патологических изменений в мозговом веществе также не исключает отторжения, потому что мозговое вещество менее чувствительно к отторжению, чем корковое вещество. Однако при значительной мононуклеарной инфильтрации и тубулите в мозговом веществе отторжение весьма вероятно при условии, что исключено наличие инфекции, обструкции и токсичности лекарственных препаратов [86,108,170,172].

Интерстициальное воспаление является характерным, но неспецифичным для Т-клеточно-опосредованного отторжения и может наблюдаться при других патологиях, таких как антитело-опосредованное отторжение, рецидивирующий гломерулонефрит и обструкция, а также хронический пиелонефрит, вирус-индуцированный нефрит и полиомавирусная нефропатия [170].

В нашем исследовании при распределении пациентов по группам на основании морфологической оценки состояния биоптатов наибольшее значение имели «t» и «i» критерии Banff-классификации (табл. 3, рис.5).

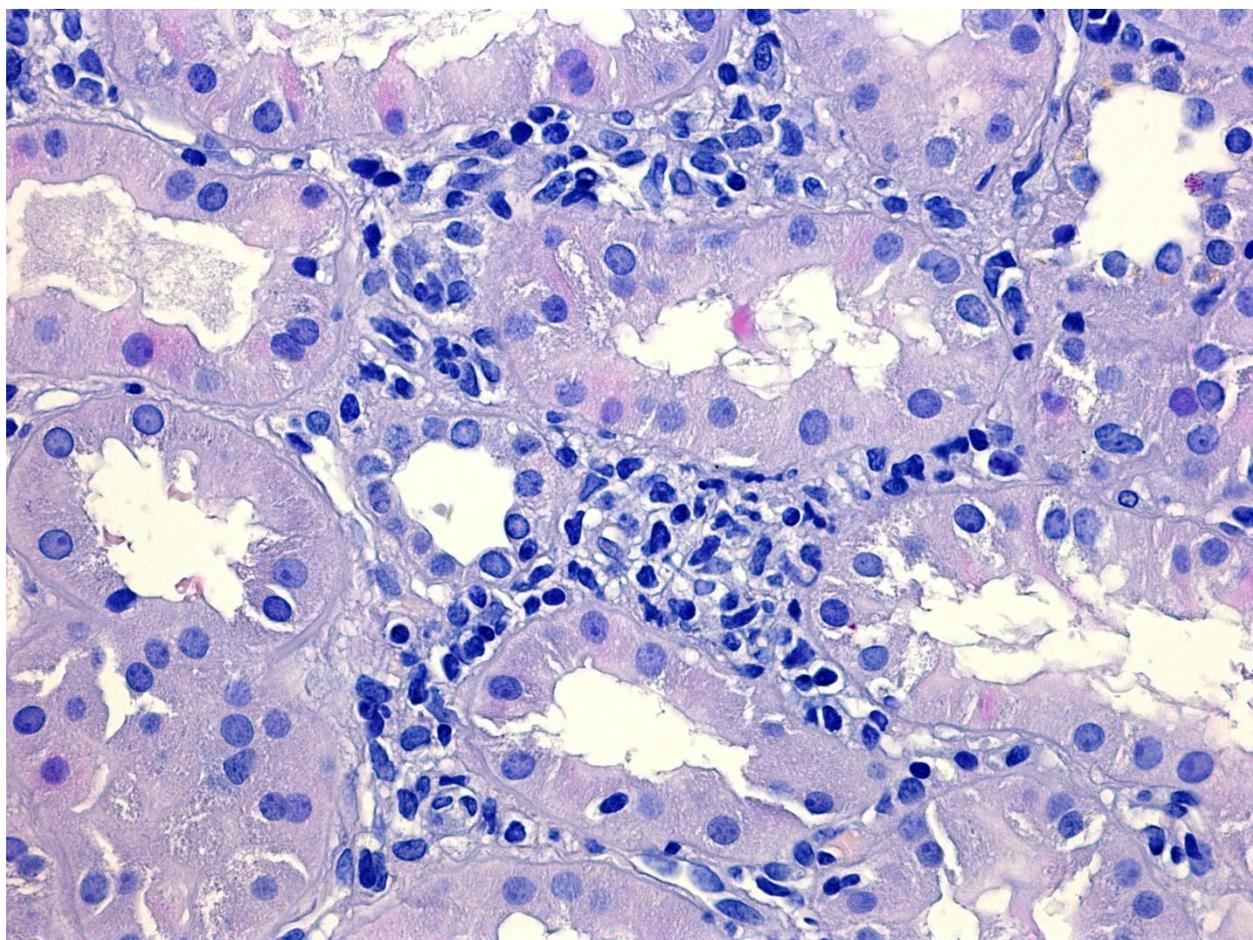


Рисунок 5. Морфологическая картина тубулита и интерстициальной инфильтрации в ткани трансплантата, окраска гематоксилином и эозином, х 400.

Таблица 3. Значение Vanff-критериев «t» и «i» по группам

Критерии Vanff классификации	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
t0	4 (80%)	33 (86,9%)	2 (5,3%)	1 (4,35%)	12(85,7%)
t<1	0	4 (10,5%)	25 (65,8%)	11(47,8%)	2 (14,3%)
t1	1 (20%)	1 (2,6%)	8 (21%)	10(43,5%)	0
t1-2	0	0	1 (2,6%)	1 (4,35%)	0
t2	0	0	2 (5,35)	0	0
i0	5 (100%)	24 (63,2%)	1 (2,6%)	1 (4,35%)	11(78,6%)
i<1	0	9 (23,7%)	18 (47,4%)	10(43,5%)	3 (21,4%)
i1	0	4 (10,5%)	13 (34,2%)	10(43,5%)	0
i1-2	0	0	0	1 (4,3%)	0
i2	0	1 (2,6%)	6 (15,8%)	1 (4,3%)	0

В группе с морфологической и иммуногистохимической картиной вирусного нефрита с потерей трансплантата в ранние сроки после выявления изменений Vanff критерии «i» во всех случаях равнялись нулю. В исследованных биоптатах интерстициальное воспаление в строме было представлено очагами гистиоцитарной инфильтрации с примесью единичных лимфоцитов, плазмоцитов, нейтрофилов и эозинофилов, что, в сочетании с характерной морфологической картиной, было расценено как проявление интерстициального нефрита, а не клеточного отторжения, которое кодируется в соответствии с Vanff-критериями. Vanff критерий «t1» отмечался лишь в 1 биоптате, в остальных случаях тубулит не определялся – в участках инфильтрации наблюдалась пролиферация эпителия канальцев местами с формированием единичных мелких гранул со стиранием рисунка строения тубул в центре, очаги некроза эпителия канальцев, слущивание эпителиоцитов в просвет канальцев, ядерные изменения

эпителия канальцев в виде вытянутой формы ядер и наличия ядер типа матовостекловидных.

Среди пациентов с вирусным нефритом без потери трансплантата наблюдалась морфологическая картина, сходная с описанной выше. Banff критерий «i» равнялся нулю в 24 (63,2%) случаях, «i»<1 – в 9 (23,7%), критерий «t» равнялся нулю в 33 (86,9%) и «t»<1 – в 4 (10,5%) биоптатах. Отличие от случаев с потерей трансплантата заключалось в меньшей степени выраженности характерных морфологических признаков и большем разбросе значений Banff-критериев (1 случай «t1», 4 – «i1» 1 – «i2»), которое может объясняться клиническими особенностями состояния пациентов (рис.6).

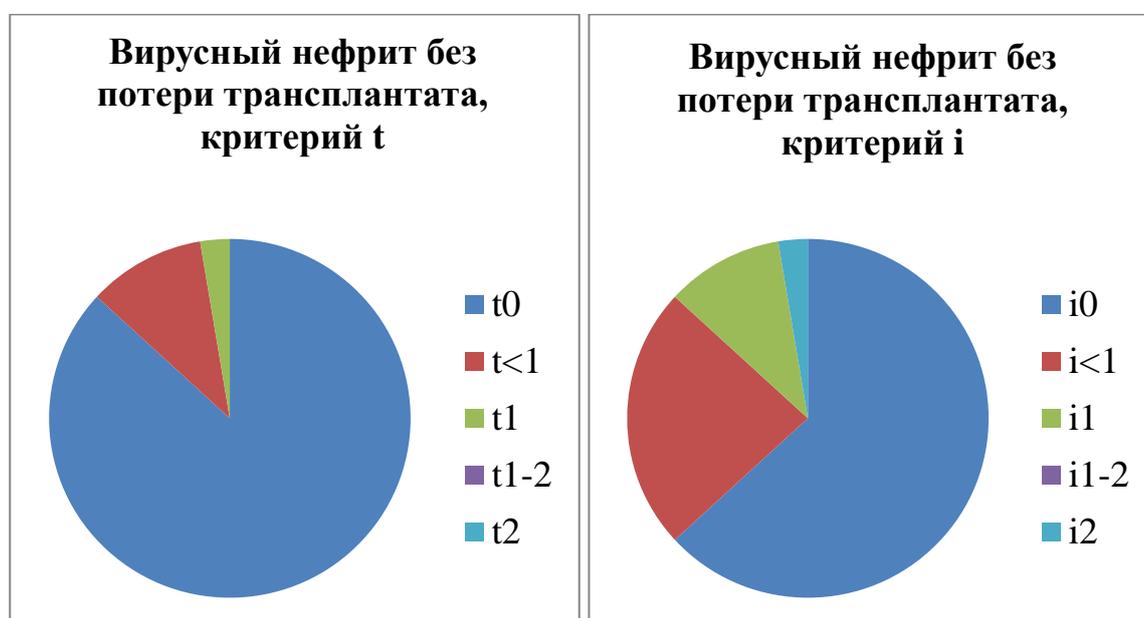


Рисунок 6. Распределение значений Banff-критериев «t» и «i» в группе с вирусным нефритом без потери трансплантата

В группе с сочетанием клеточного отторжения и пограничных изменений с вирус-индуцированным нефритом Banff критерий «i» составлял: «i»<1 – в 18 (47,4%) случаях, «i1» – в 13 (34,2%), «i2» – в 6 (15,8%) случаях; Banff критерий «t»: «t»<1 – в 25 (65,8%) биоптатах, «t1» – в 8 (21%), «t1-2» – в 1 (2,6%) и «t2» – в 2 (5,35%) случаях. Критерий «i» (в 1 биоптате) и «t» (в 2 биоптатах) равнялся нулю в случаях начальных, слабо выраженных пограничных изменений (рис.7).



Рисунок 7. Распределение значений Banff-критериев «t» и «i» в группе с сочетанием клеточного отторжения с вирус-индуцированным нефритом

Наиболее высокие значения Banff критериев «i» и «t» определялись при исследовании биоптатов из группы с острым клеточным отторжением и пограничными изменениями. Banff критерий «i» равнялся: «i»<1 – в 10 (43,5%) образцах, «i1» – в 10 (43,5%), «i1-2» – в 1 (4,3%), «i2» – в 1 (4,3%) образце; Banff критерий «t»: «t»<1 – в 11 (47,8%) случаях, «t1» – в 10 (43,5%) и «t1-2» – в 1 (4,35%) случае. Критерий «i» равнялся нулю лишь в 1 случае в сочетании с выраженной интерстициальной инфильтрацией (рис. 8).

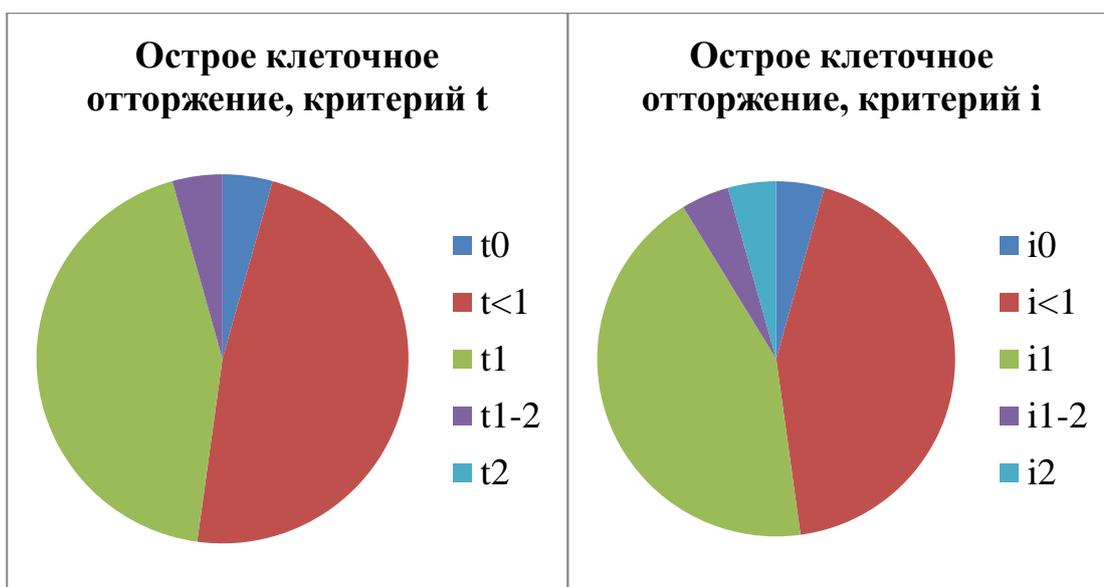


Рисунок 8. Распределение значений Banff-критериев «t» и «i» в группе с клеточным отторжением и пограничными изменениями

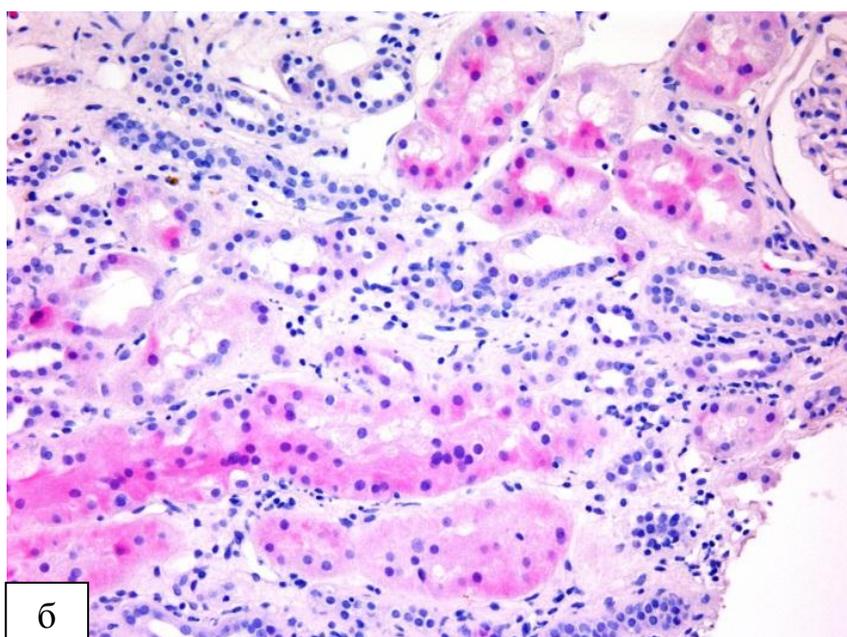
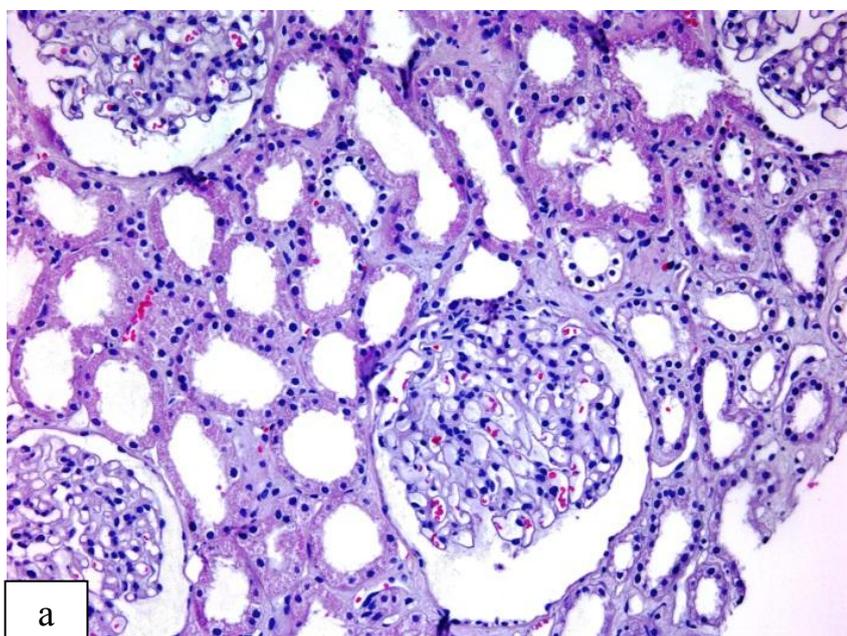
У пациентов без морфологических и иммуногистохимических признаков отторжения и вирус-индуцированного поражения трансплантата критерий «i» во всех случаях был <math><1</math>: в 11 случаях равнялся нулю, в 3 биоптатах «i»<math><1</math> – воспалительная инфильтрация в данных образцах была представлена мелкими скоплениями лимфоцитов, что не имело диагностической значимости. Критерий «t» равнялся нулю в 12 случаях, в 2 биопсиях – «t»<math><1</math> (в эпителий редких канальцев проникали единичные лимфоциты).

Из прочих Banff критериев обращал на себя внимание также критерий «v1», отмечавшийся у двух пациентов из группы с сочетанием клеточного отторжения с вирус-индуцированным нефритом: было диагностировано острое клеточное отторжение стадии 2a.

Критерий «ci» используют для определения хронического клеточного отторжения [99,128,170], при дифференциальной диагностике острого клеточного отторжения и вирус-индуцированного поражения трансплантата сравнение интерстициальной инфильтрации в зонах склероза «ci» не показательно, поскольку реципиенты получали трансплантаты с разной

исходной степенью фиброза стромы, имели различия в течении и длительности посттрансплантационного периода.

Ввиду отсутствия достоверных морфологических и иммуногистохимических отличий вирус-индуцированного нефрита и пограничных изменений аллотрансплантата, особенно в случаях сочетанного течения этих процессов, при постановке диагноза «пограничные изменения» мы в первую очередь учитывали выявление тубулита как проявление острого отторжения, а также наличие либо отсутствие патогномоничных морфологических признаков цитопатического действия вирусов (рис. 9 а-г).



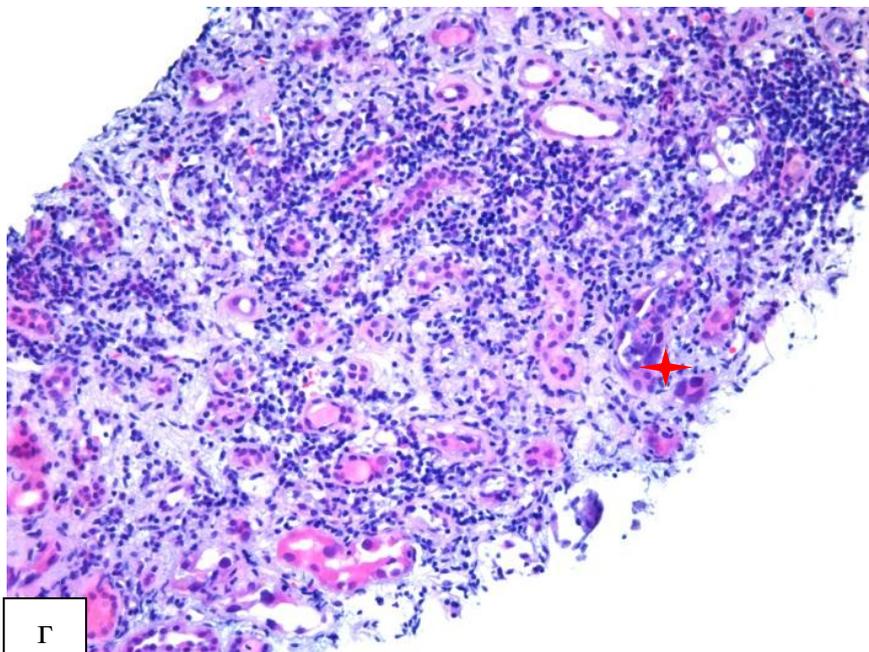
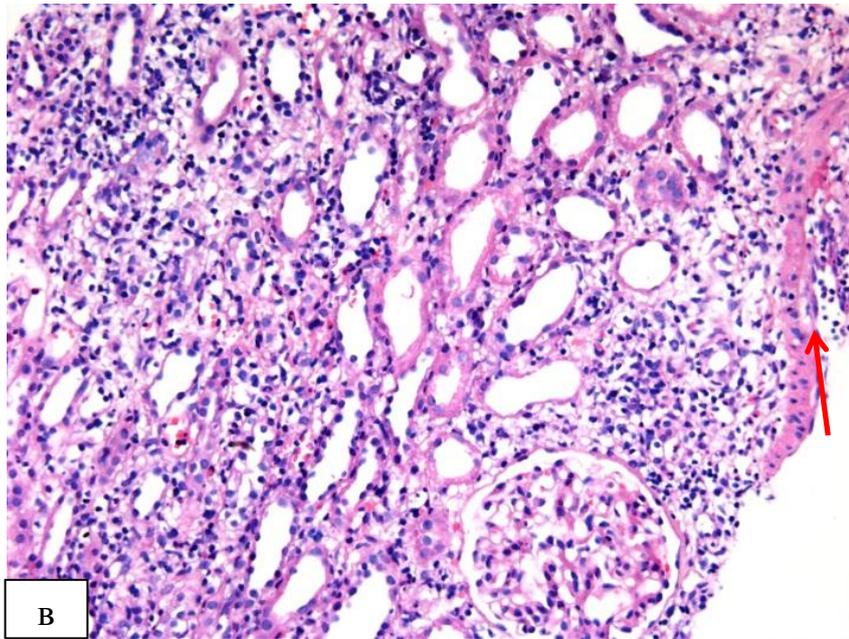


Рисунок 9. Морфологическая картина пункционных биоптатов трансплантатов почки

а – нормального строения, б – с пограничными изменениями, в – с острым клеточным отторжением, г – с сочетанием клеточного отторжения с вирус-индуцированным нефритом; б,в – тубулит и лимфо-плазмоцитарная инфильтрация стромы, в – интимальный артериит (↗), г – воспалительная инфильтрация с проникновением лимфоцитов в эпителий канальцев, крупные гиперхромные ядра (★), окраска гематоксилином и эозином, а,б,в – х200, (г) – х100.

Выявление C4d+ депозитов также входит в число критериев, рекомендованных Banff классификацией. В нашем исследовании C4d+ депозиты отмечались в перитубулярных капиллярах в 2 биоптатах из группы острого отторжения, в 2 биоптатах из группы сочетания острого отторжения с нефритом и в 1 биоптате из группы без морфологических и иммуногистохимических признаков отторжения и вирус-индуцированного поражения. При этом во всех случаях, кроме одного (смешанное острое гуморальное и клеточное отторжение), наблюдалась картина хронической трансплантационной гломерулопатии как проявление хронического гуморального отторжения (рис. 10 а,б).

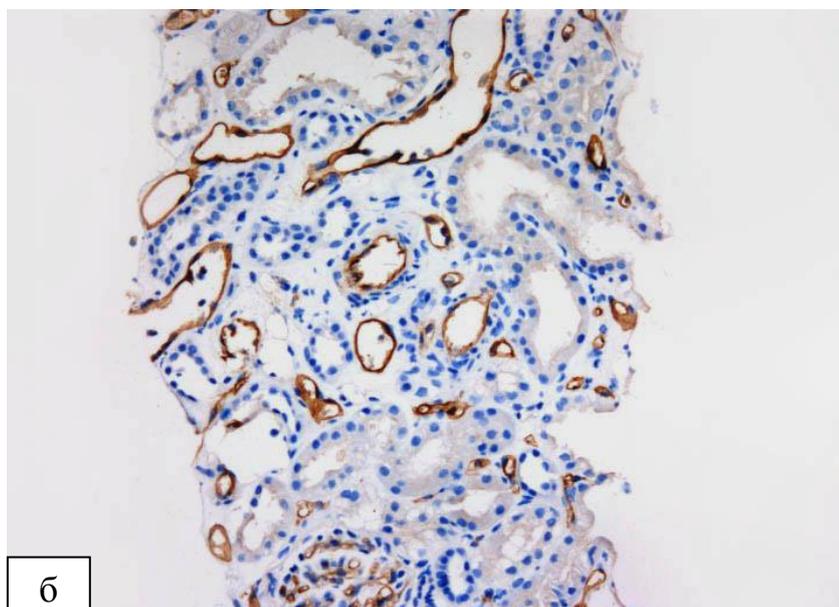
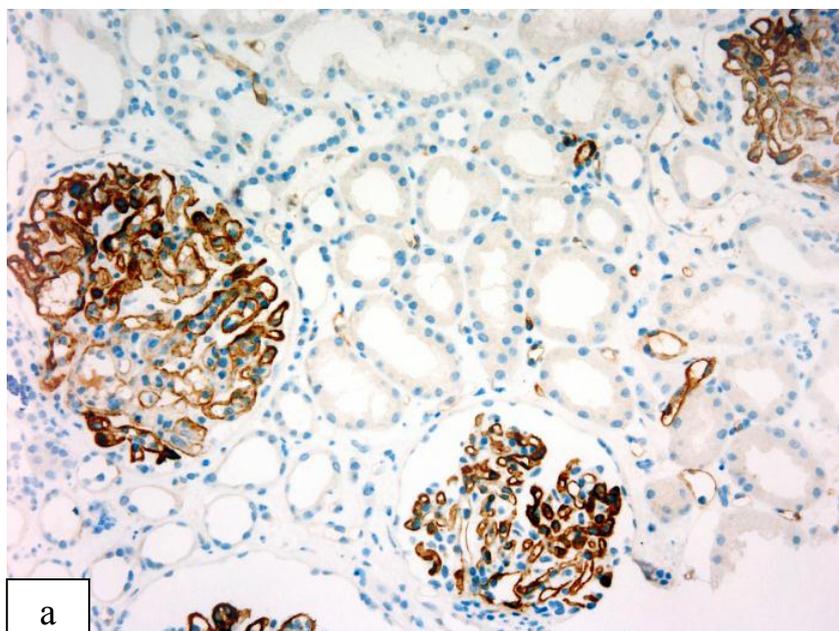


Рисунок 10. C4d+ депозиты в капиллярных петлях клубочков (а) и перитубулярных капиллярах (б); иммуногистохимическое исследование с антителами к C4d, x200.

3.5.Морфологические изменения в аллотрансплантате, характерные для вирусного поражения

Морфологические изменения, характерные для вирусного поражения почечного трансплантата, такие как крупные гиперхромные ядра эпителиоцитов канальцев с внутриядерными включениями и гранулемоподобные структуры, наблюдались в 40 (33,9%) из 118 случаев (Табл. 4).

Таблица 4. Распределение по группам наличия морфологических признаков, характерных для вирус-индуцированного нефрита

	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Отсутствие морфологических признаков	0 (0%)	12 (32%)	28 (73,7%)	22 (95,7%)	14 (100%)
Наличие морфологических признаков	5 (100%)	26 (68%)	10 (26,3%)	1 (4,3%)	0 (0%)

Наблюдались статистически значимые различия ($p < 0,05$) в частоте встречаемости характерных морфологических изменений между группами вирусного нефрита с потерей трансплантата и без потери по сравнению с группой острого отторжения трансплантата и группой сочетанного течения отторжения и нефрита. Отмечена достоверная связь наличия патогномоничных морфологических изменений с развитием нефрита, что позволяет подтвердить вирусную природу нефрита, а также косвенно

использовать данный критерий для дифференциальной диагностики с отторжением трансплантата (рис. 11, 12).

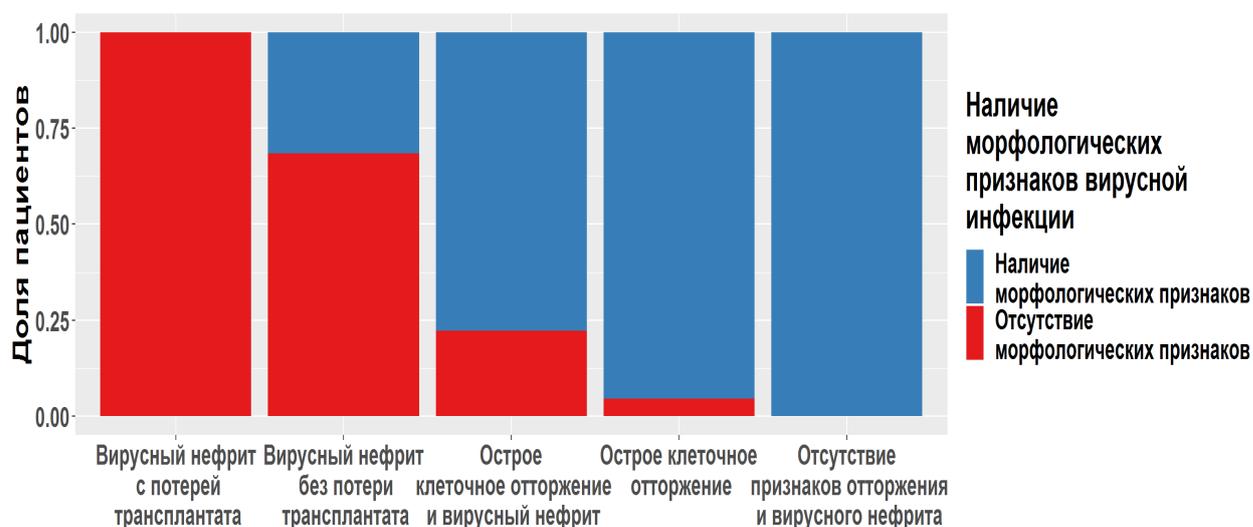


Рисунок 11. Выявление характерных морфологических признаков вирус-индуцированного поражения в различных группах

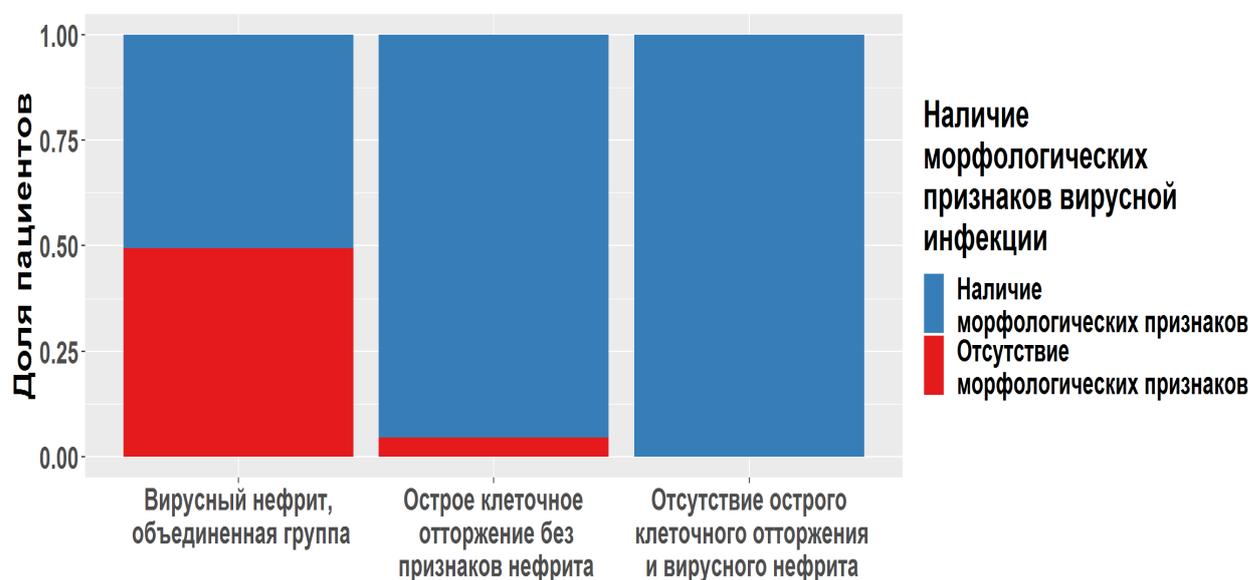


Рисунок 12. Выявление характерных морфологических признаков вирус-индуцированного поражения в объединенных группах с / без вирус-индуцированного нефрита

В группе образцов с морфологическими изменениями, характерными для вирус-индуцированного поражения, преобладала умеренно выраженная степень экспрессии антигенов к аденовирусам, однако статистически значимых различий выраженности экспрессии антигенов к аденовирусам, а также к ВПГ 1 и ВПГ 2 с наличием либо отсутствием специфических морфологических изменений выявлено не было ($p > 0,05$) (Рис. 13-15).

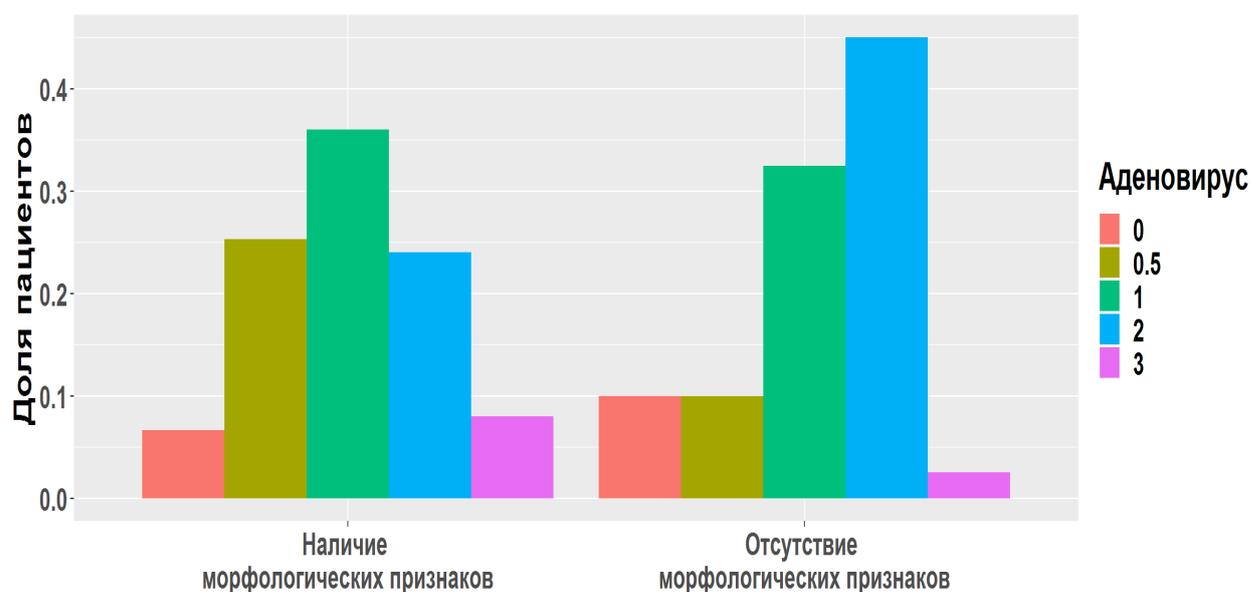


Рисунок 13. Распределение выраженности экспрессии аденовирусов в группе с наличием и отсутствием морфологических признаков вирусного поражения трансплантата

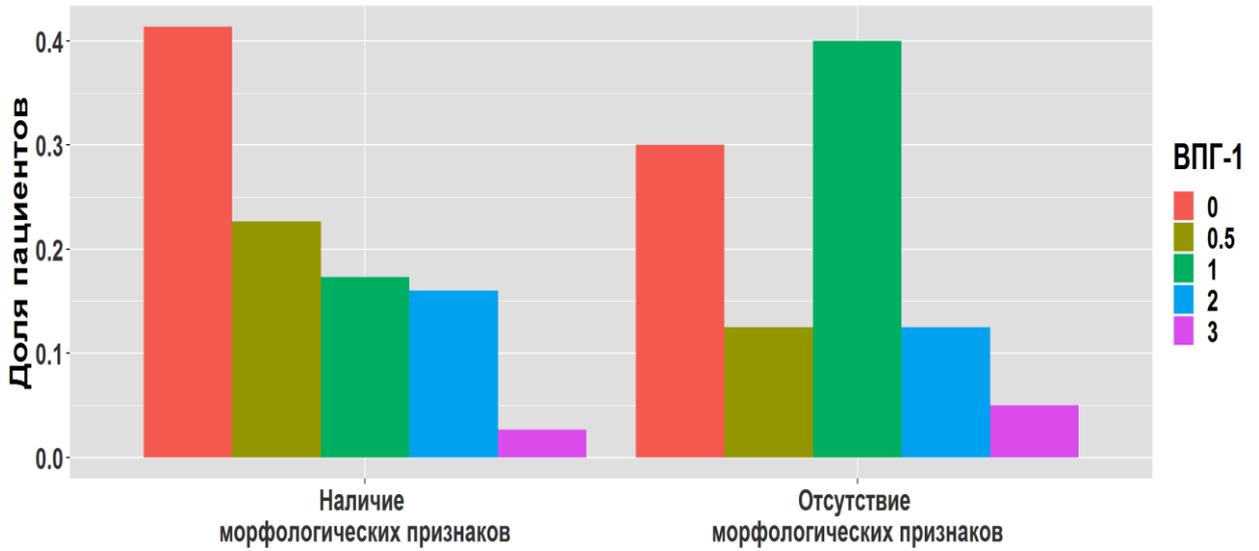


Рисунок 14. Распределение выраженности экспрессии ВПГ-1 в группе с наличием и отсутствием морфологических признаков вирусного поражения трансплантата

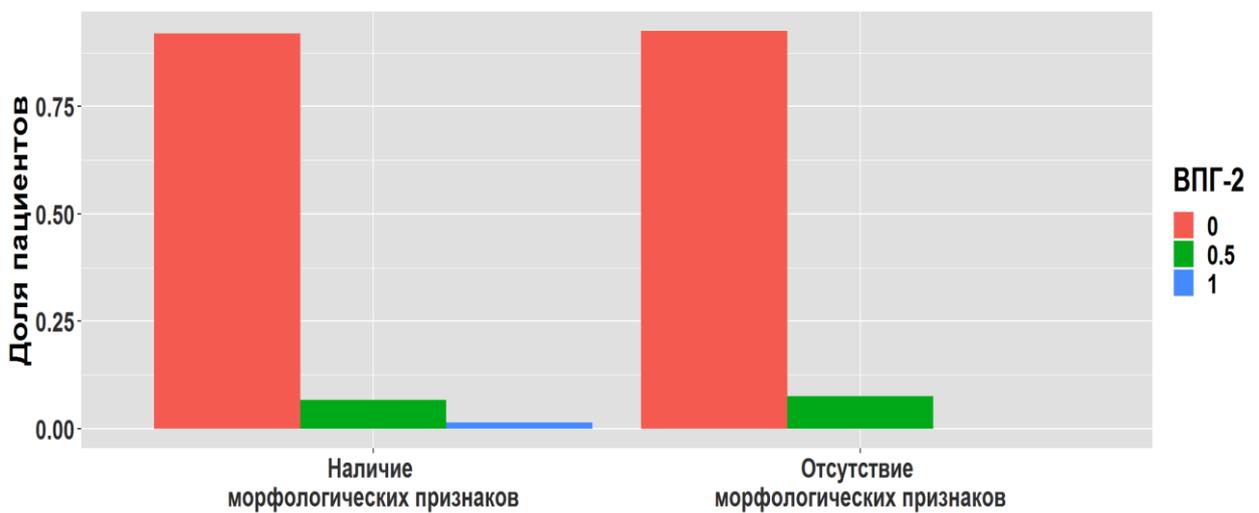


Рисунок 15. Распределение выраженности экспрессии ВПГ-2 в группе с наличием и отсутствием специфических морфологических признаков вирусного поражения трансплантата

3.6. Распределение экспрессии антигенов вирусов в группах пациентов

При ИГХ-исследовании отмечалось следующее распределение экспрессии антигенов вирусов: в 83 (70,3%) случаях была выявлена экспрессия антигенов аденовируса, в 50 (42,4%) случаях – вируса герпеса I типа, в 1 (0,8%) случае – цитомегаловируса, экспрессия вируса герпеса II типа в 8 (6,8%) случаях была оценена как незначительная (Табл. 5).

Таблица 5. Экспрессия антигенов вирусов в биоптатах почечных трансплантатов

Выраженность экспрессии антигенов вирусов	Число наблюдений n=118			
	Аденовирусы	ВПГ-1	ВПГ-2	ЦМВ
Отрицательная и незначительная экспрессия «←» и «+/-»	35	68	8 «+/-» 110«←»	2 «+/-» 115 «←»
Слабая «+»	40	29	-	1
Умеренная «++»	36	17	-	-
Выраженная «+++»	7	4	-	-

3.7. Аденовирус-индуцированное поражение аллотрансплантата

3.7.1. Выявление аденовируса в аллотрансплантатах пациентов различных групп

В случаях аденовирусной инфекции при иммуногистохимической диагностике может наблюдаться ядерное и цитоплазматическое окрашивание клеток канальцевого эпителия. Положительное окрашивание также может быть выявлено в редких воспалительных клетках. В нашем исследовании во всех группах отмечалось преимущественно цитоплазматическое окрашивание эпителиоцитов (рис. 16).

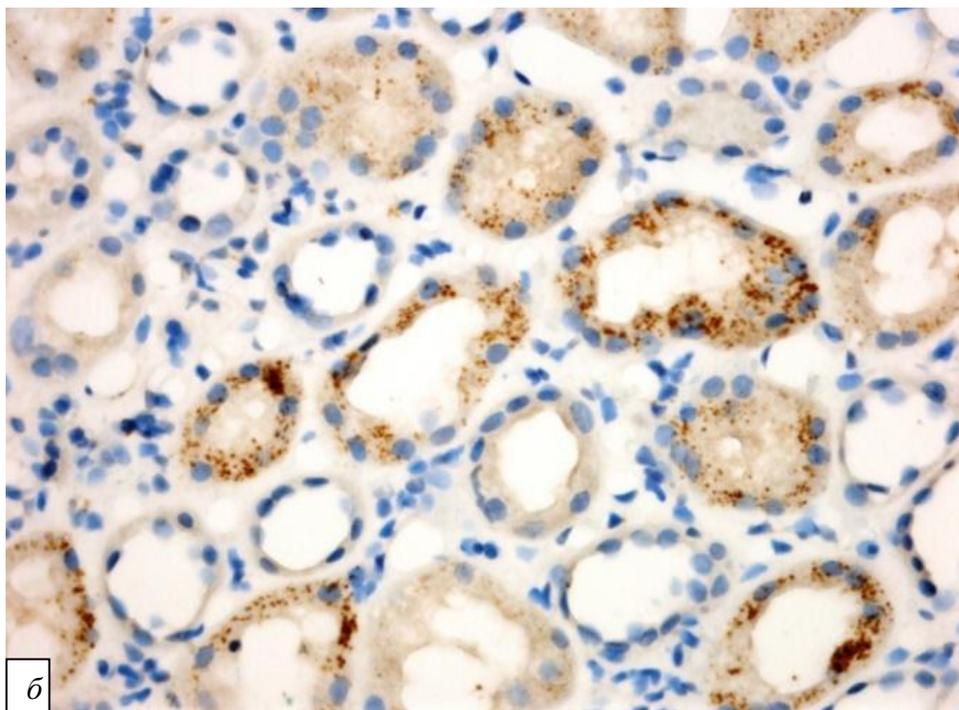
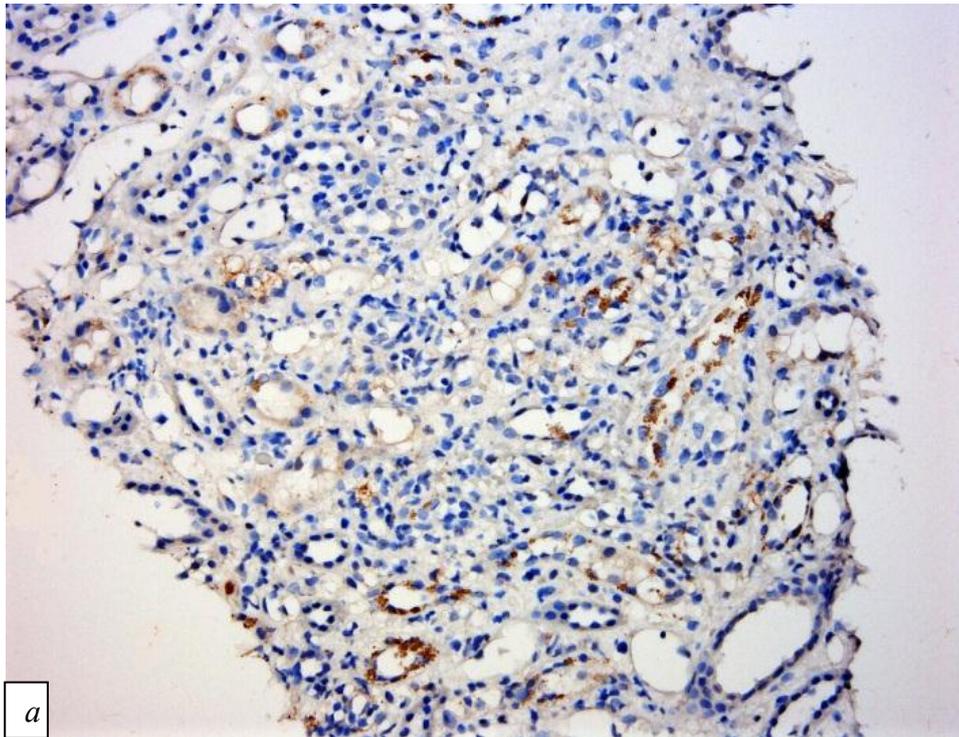


Рисунок 16. Частицы аденовируса в эпителии почечных канальцев, иммуногистохимическое окрашивание антителами к аденовирусу, а – х 100, б – х400

Следует учитывать, что иммуногистохимическую и морфологическую диагностику аденовирус-индуцированного нефрита затрудняет разнообразие серотипов аденовирусов (более 50-ти), а также очаговый характер вирусного поражения паренхимы аллотрансплантата, из-за чего отрицательные результаты ИГХ-исследования не позволяют исключить наличия аденовирусной инфекции. В нашем исследовании у двух пациентов из групп вирус-индуцированного нефрита и сочетанного течения нефрита с отторжением аллотрансплантата наблюдалась характерная морфологическая картина аденовирусного нефрита, в то время как антитела к вирусам выявлены не были, что было расценено как ложноотрицательный результат иммуногистохимической диагностики (табл. 6).

Таблица 6. Распределение выраженности экспрессии антигенов аденовируса в группах пациентов

Выраженность экспрессии вирусов	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Отрицательная «-»	1 20%	1 3%	2 6%	4 18%	1 7%
Незначительная «+/-»	2 40%	1 3%	3 8%	12 55%	5 36%
Слабая «+»	1 20%	15 39%	13 36%	6 27%	5 36%
Умеренная «++»	1 20%	20 53%	13 36%	0 0%	2 14%
Выраженная «+++»	0 0%	1 3%	5 14%	0 0%	1 7%

Наблюдалась следующая медиана экспрессии аденовируса в различных группах:

- «незначительная» у пациентов с вирус-индуцированной потерей трансплантата (элиминация вируса вследствие лечения, очаговый характер поражения);
- «умеренная» у пациентов с вирус-индуцированным нефритом без потери трансплантата;
- от «слабой» до «умеренной» – при сочетании клеточного отторжения и пограничных изменений с вирус-индуцированным нефритом;
- «незначительная» у пациентов с острым клеточным отторжением;
- «слабая» – при отсутствии признаков отторжения и вирус-индуцированного поражения трансплантата (пациенты из группы риска с вирусным анамнезом).

При сопоставлении морфологических проявлений нефрита со степенью выраженности экспрессии аденовируса методом ИГХ были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,05$) между группой вирус-индуцированного нефрита без потери аллотрансплантата (более выраженная экспрессия) и следующими группами: острого отторжения трансплантата; сочетанного течения отторжения и нефрита; группы без морфологических проявлений, что указывает на значимость и эффективность проведения ИГХ-исследования при подозрении на развитие вирус-индуцированного нефрита (рис. 17).

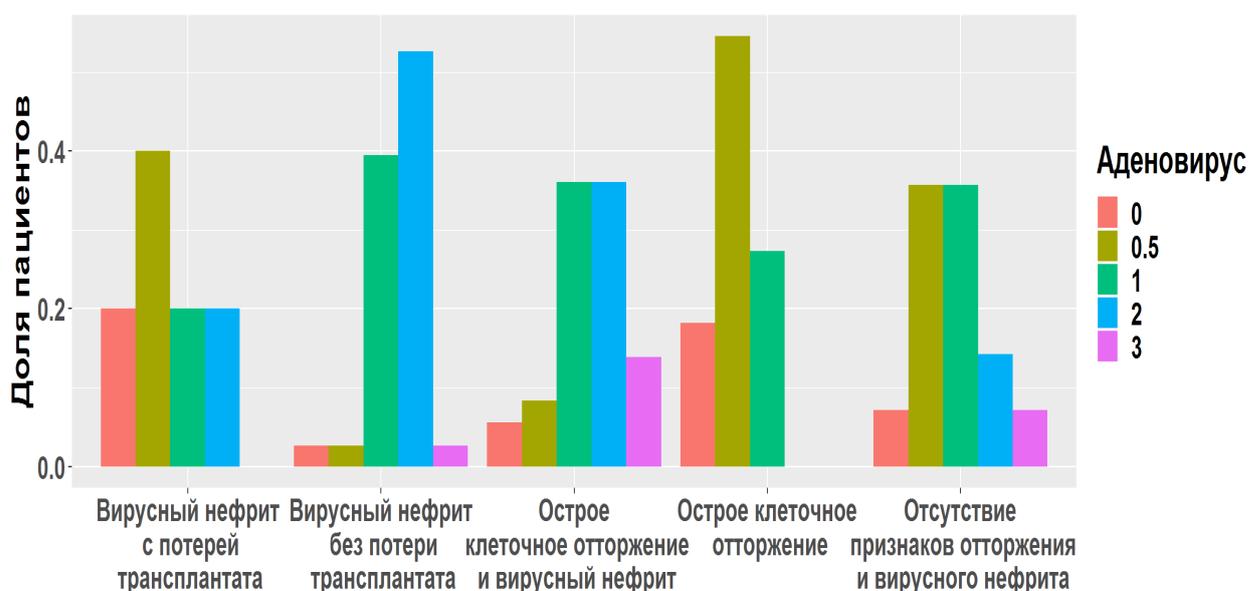


Рисунок 17. Распределение выраженности экспрессии антигенов аденовируса по группам

При сопоставлении исследуемой группы с группой сравнения экспрессия антигенов аденовируса достоверно чаще наблюдалась в посттрансплантационном периоде, что подтверждает роль иммуносупрессивной терапии в развитии аденовирусной инфекции ($p < 0,05$) (табл. 7).

Таблица 7. Экспрессия антигенов аденовируса у пациентов после назначения иммуносупрессивной терапии в сравнении с контрольной группой

Выявление аденовирусов	Исследуемая группа с иммуносупрессией	Группа сравнения	ВСЕГО
Наличие аденовирусов	83	2	85
Отсутствие/незначительное количество аденовирусов	35	8	43
ВСЕГО, n случаев	118	10	128

3.7.2. Потеря аллотрансплантата при аденовирус-индуцированном нефрите

Результаты нашего исследования подтвердили связь возраста пациентов и сроков после трансплантации почки с тяжестью вирусного поражения: из 43 случаев вирусного нефрита потеря трансплантата отмечалась у 4 детей от 2 до 6 лет и 1 взрослого пациента, причем у детей потеря трансплантата наступала в первые месяцы после операции ($p < 0,05$) (табл. 8 и 9), что согласуется с данными многочисленных исследований [13-16,22,24,25,168].

Таблица 8. Связь возраста пациентов с потерей трансплантата

Группы пациентов	Вирусный нефрит с потерей трансплантата	Вирусный нефрит без потери трансплантата	Всего
Пациенты до 6 лет	4	3	7
Пациенты старше 6 лет	1	35	36
Всего, n случаев	5	38	43

Таблица 9. Связь срока после трансплантации с потерей трансплантата

Сроки после трансплантации	Вирусный нефрит с потерей трансплантата	Вирусный нефрит без потери трансплантата	Всего
Первые полгода после трансплантации	4	3	7
Более полугода после трансплантации	1	35	36
Всего, n случаев	5	38	43

У данных пациентов наблюдалась клиническая картина выраженной вирусной инфекции: олигурия и анурия в 5 случаях, лихорадка в 4 случаях – у педиатрических пациентов, в единичных случаях рвота, асцит и венозный тромбоз. Проводилось ультразвуковое исследование в серошкальном режиме, в режимах цветовой и спектральной доплерографии (рис. 18). При ультразвуковых исследованиях, предшествовавших потере почечного аллотрансплантата, у 4 из 5 пациентов наблюдались значимые изменения: утолщение коркового слоя, у некоторых с увеличением толщины аллотрансплантата, расширение чашечно-лоханочной системы, снижение пиковой систолической скорости на уровне всех почечных сосудов (так как первым страдает периферическое артериальное русло), диастолический кровоток был значительно снижен или отсутствовал (вплоть до отрицательной диастолы). У одного из пациентов, с более всего выраженными клиническими и морфологическими изменениями, был выявлен венозный тромбоз. Ультразвуковая картина напоминала изменения, характерные как для острого отторжения, так и для септического поражения аллотрансплантата [6,14], однако специфических эхо- и доплерографических признаков, позволяющих дифференцировать эти состояния, выявлено не было.

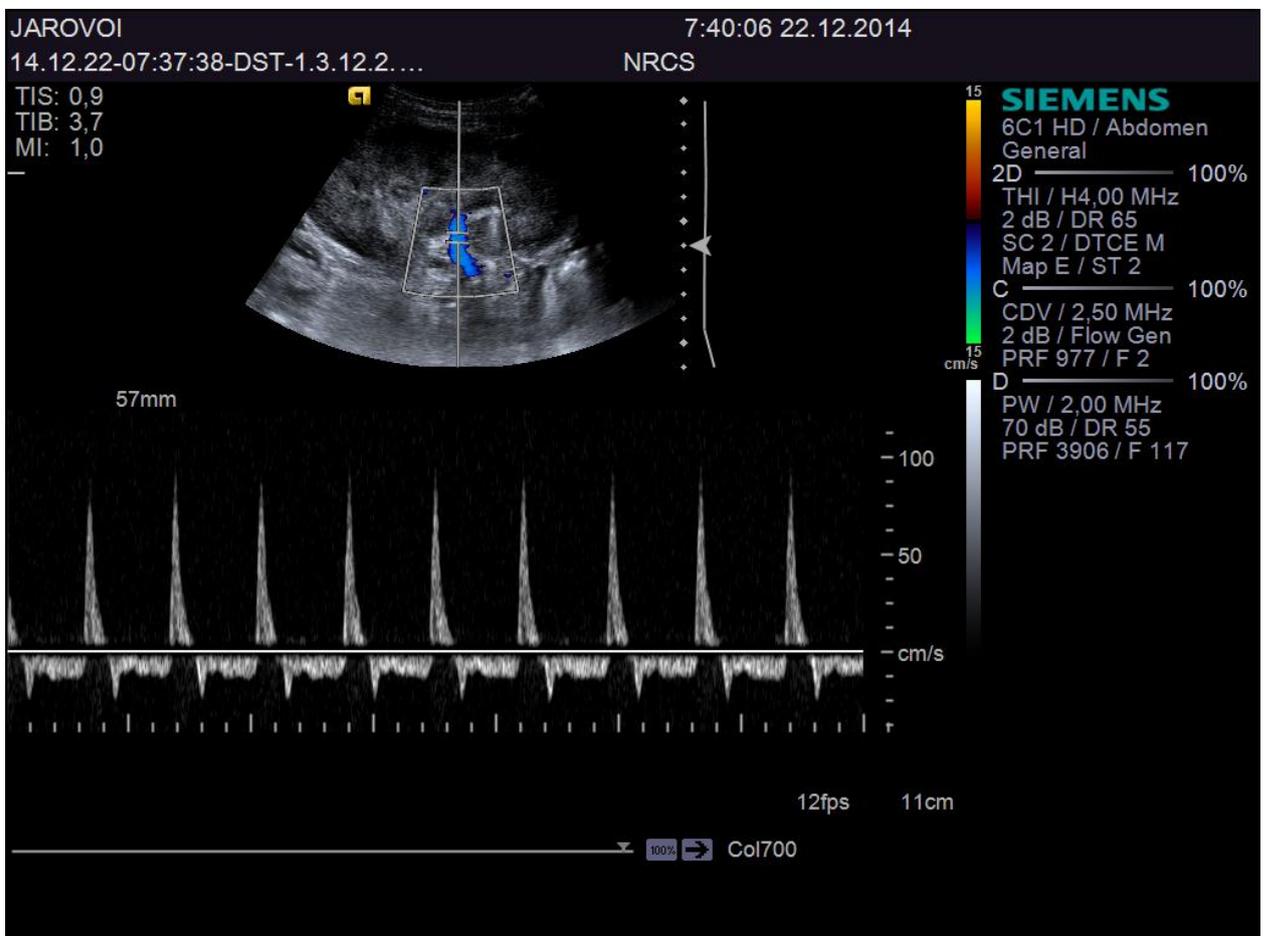
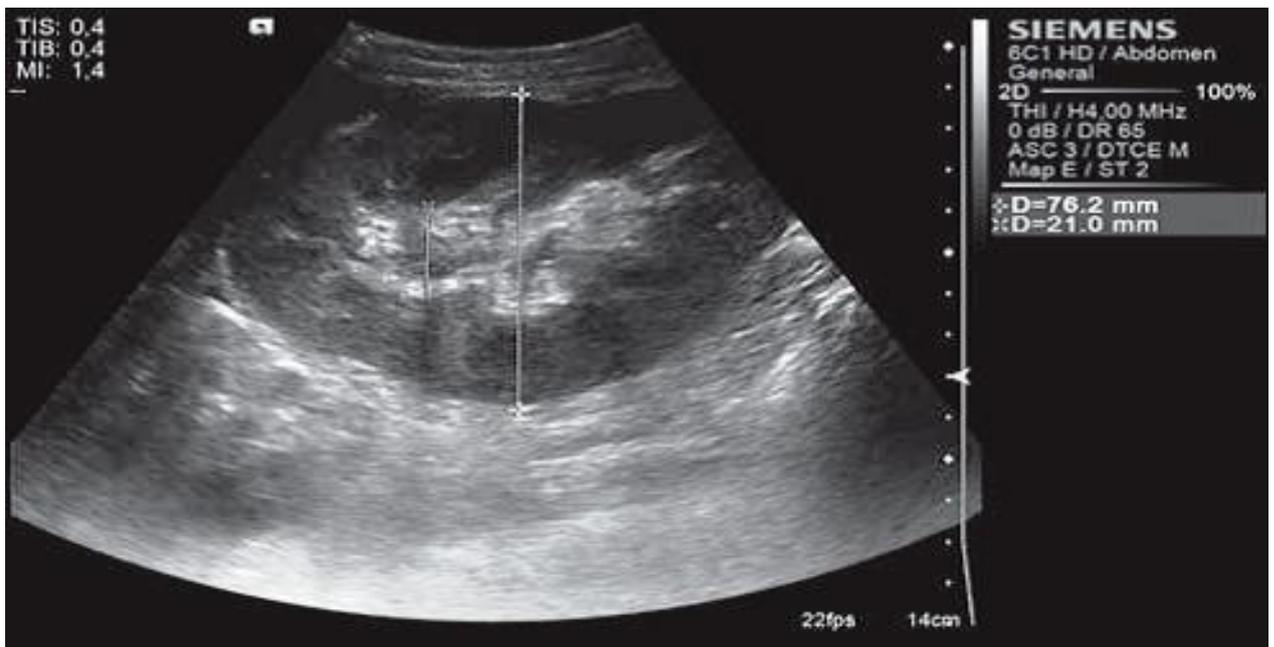


Рисунок 18. Ультразвуковое исследование трансплантата пациента из группы вирус-индуцированного нефрита с потерей трансплантата (а – серошкальный режим, б – доплерография).

При макроскопическом исследовании удаленных аллотрансплантатов наблюдалась следующая картина: поверхность почек гладкая, темно-бурого цвета; на разрезе рисунок строения слоев от преимущественно сохранного до полностью стертого, ткань темно-багровая, в отдельных случаях с участками серого цвета. При микроскопическом исследовании в биоптатах удаленных аллотрансплантатов отмечались специфические морфологические признаки вирусного нефрита, частично стертые за счет распространенных некротических изменений коркового и мозгового вещества: некроз тубулярного эпителия, изменения ядер эпителиоцитов, зоны кровоизлияний, стазы эритроцитов в сосудах микроциркуляторного русла. При ИГХ-исследовании аденовирус и ВПГ 1 встречались в следовых количествах. С4d+ депозиты в сосудах микроциркуляторного русла не определялись, что опровергло подозрение на течение активного антитело-опосредованного отторжения. Изменения были расценены как проявление аденовирусной инфекции в аллотрансплантате.

Морфологическая картина, типичная для тяжелого течения аденовирусного нефрита, характеризуется наличием внутриядерных включений вирусных телец; повреждением эпителия канальцев с разрушением базальных мембран и фокусами некроза; моноклеарной и плазмоцитарной клеточной инфильтрацией, в отдельных случаях с формированием гранулем; фокальными интерстициальными кровоизлияниями и внутриканальцевыми скоплениями эритроцитов. При микроскопическом исследовании в пункционных биоптатах у всех 5-ти пациентов отмечалось наличие всех либо нескольких из указанных признаков (рис. 19а-г).

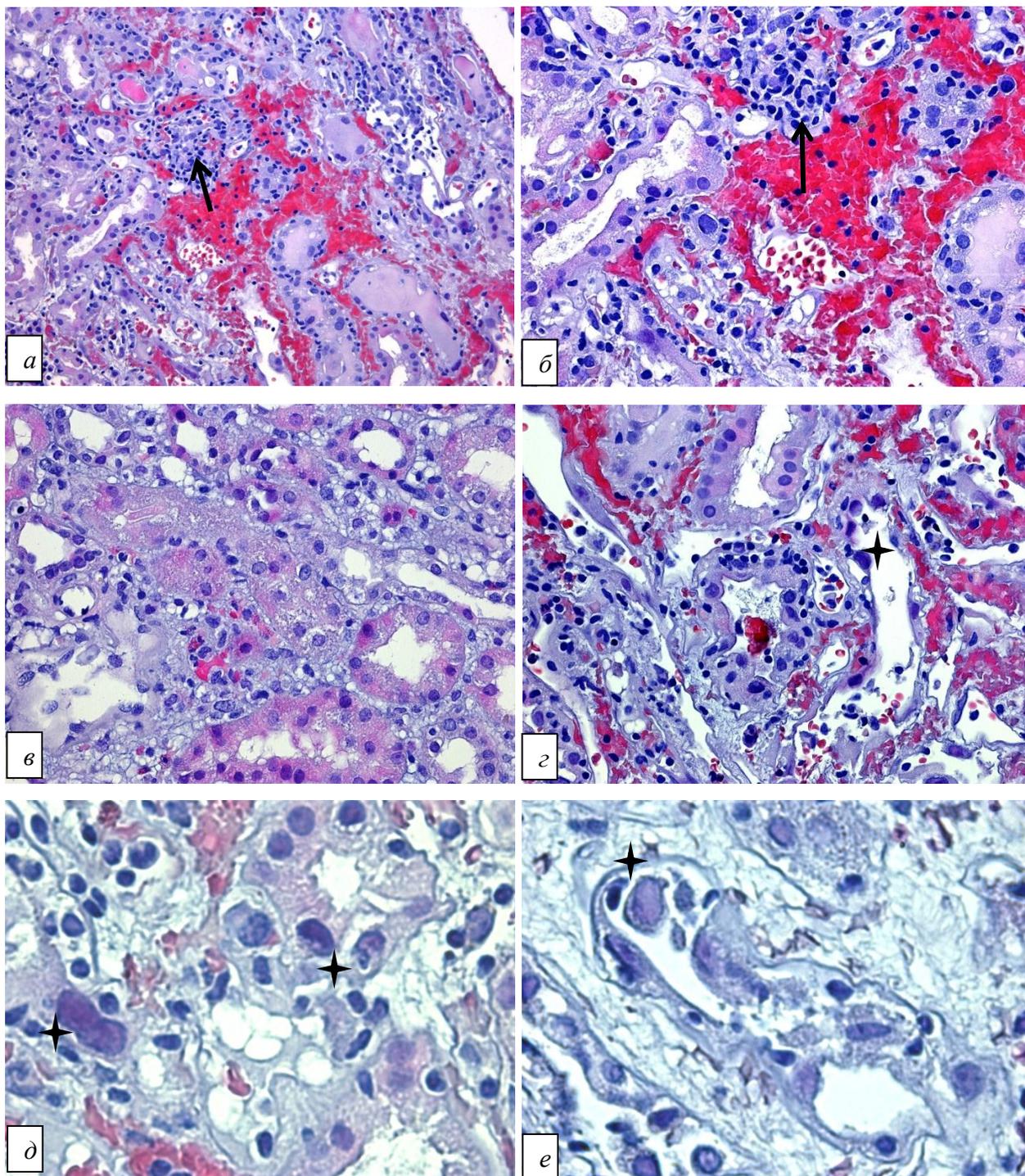


Рисунок 19. Морфологические изменения при аденовирусном нефрите
Изменения ядер (крупные гиперхромные ядра с внутриядерными включениями вирусных телец ★), воспалительная инфильтрация интерстиция, кровоизлияния, гранулемоподобные структуры (↗), очаги некроза и регенераторные изменения эпителия канальцев; окраска гематоксилином и эозином; (а) – х200, (б, в, г) – х 400, (д, е) – х 1000.

При последующем ИГХ-исследовании у 4 пациентов (дети до 6 лет) наблюдалась экспрессия аденовируса от незначительной до умеренной степени выраженности, в то время как у пациентки 53 лет аденовирус обнаружен не был. Слабая выраженность экспрессии антител может объясняться применением противовирусной терапии либо ложноотрицательным результатом из-за несовпадения серотипа вируса. Во всех 5 случаях отмечалась экспрессия антител к ВПГ I типа преимущественно слабой степени выраженности. Иммуногистохимических или морфологических данных за наличие иных вирусов не было, однако результаты ПЦР в наблюдениях, предшествовавших развитию осложнений и проведению пункционных биопсий, показали наличие ДНК ВКВ в моче у 2 из 5 пациентов и ЦМВ – в плазме крови у 1 из пациентов.

Выраженная в 4 случаях и умеренная в 1 случае экспрессия антител к CD3 и незначительная экспрессия антител к CD20 (рис. 20) в 4 случаях из 5 в сочетании с репликацией ВПГ I типа позволяют предположить снижение реактивности иммунного ответа.

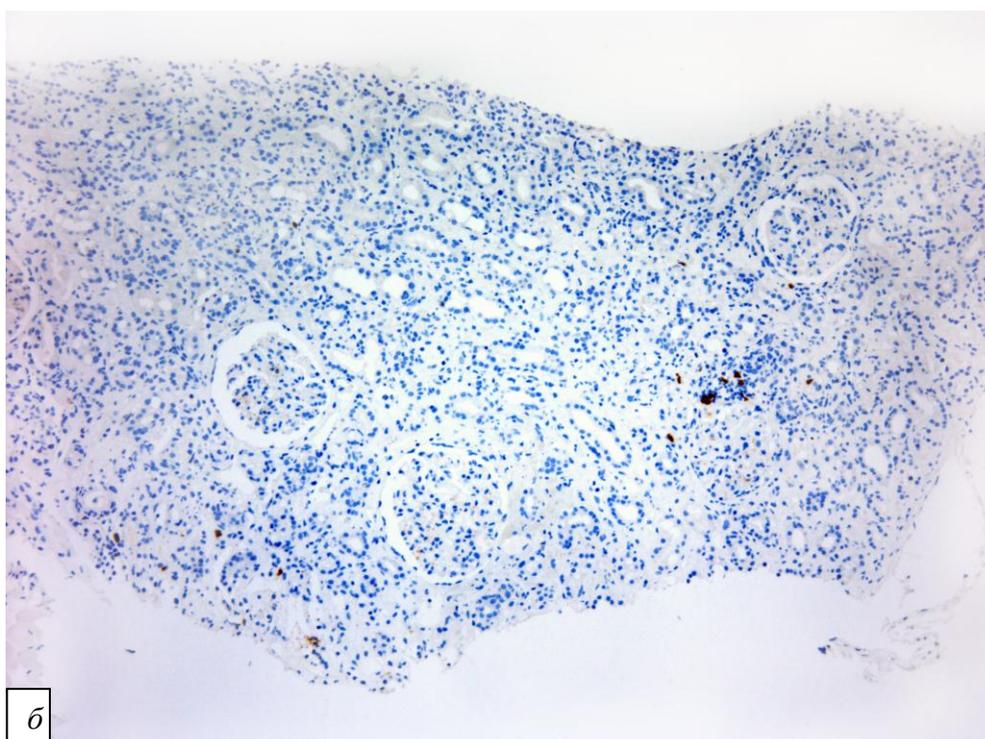
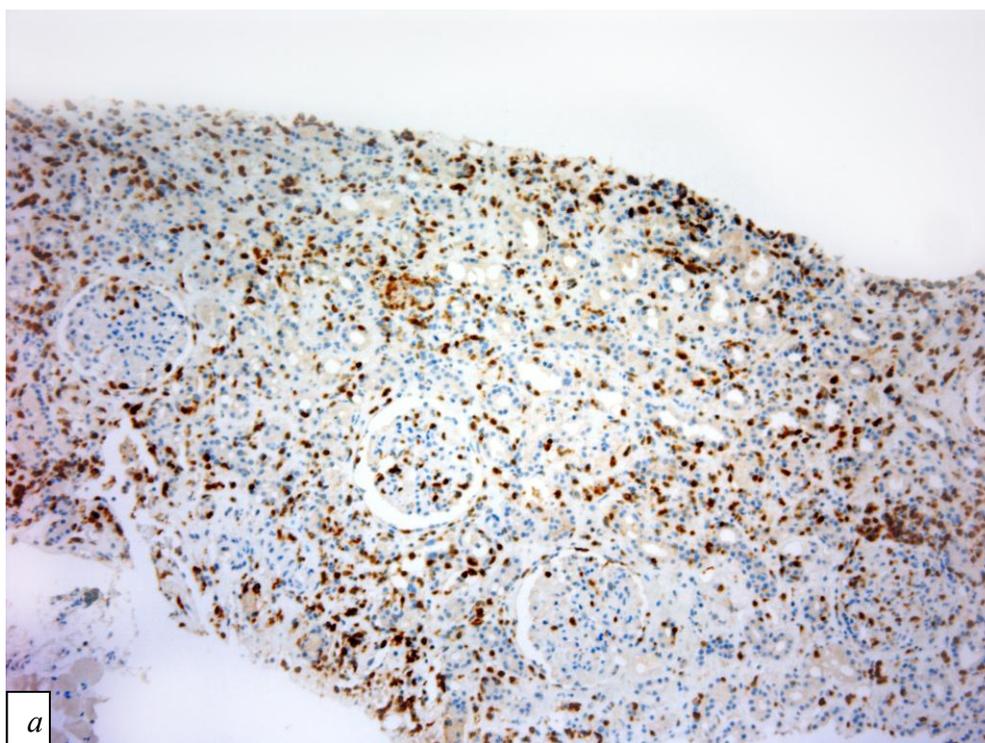


Рисунок 20. Распределение экспрессии антител к CD3 и к CD20 у пациентов с потерей трансплантата

а – большое количество CD3+ клеток в биоптате; б – единичные CD20+ клетки в интерстиции; иммуногистохимическое окрашивание с антителами к Т- лимфоцитам и В-лимфоцитам, х 100.

Отличие в иммуногистохимической картине и анамнезе от прочих пациентов из группы нефрита с потерей трансплантата отмечалось лишь у пациентки 53 лет, потерявшей аллотрансплантат спустя десять лет после трансплантации, у которой не была выявлена экспрессия аденовируса, но у единственной в группе отмечалась выраженная степень экспрессии антител к ВПГ I и слабая степень экспрессии антител к CD20. Пациентка была отнесена в данную группу из-за наличия морфологических изменений, характерных для вирусного поражения, и клинической картины с дисфункцией аллотрансплантата, анурией и диареей. Однако, в отличие от педиатрических пациентов, у пациентки отсутствовала лихорадка. Отдельно стоит отметить, что пациентка страдала онкологическим заболеванием, по поводу которого перенесла операцию за месяц до потери аллотрансплантата, что, вероятнее всего, привело к снижению иммунитета. Вышеперечисленное не позволяет говорить об аденовирусной этиологии поражения, однако не исключает вирусную природу нефрита у данной пациентки.

3.8. Герпес-вирусная инфекция

Репликация ЦМВ в нашем исследовании выявлялась при помощи ПЦР, которая является ведущим методом мониторинга, проводимого у реципиентов трансплантата для предотвращения развития ЦМВ-болезни. Выявление репликации ЦМВ методом ПЦР не обязательно сопровождается морфологическими изменениями – благодаря своевременной диагностике и профилактике значительно чаще встречается бессимптомная ЦМВ-инфекция [19]. В данном исследовании при ПЦР наличие ДНК ЦМВ было выявлено у 9 пациентов, у 1 из них была отмечена экспрессия ЦМВ при ИГХ, сочетавшаяся с неспецифическими морфологическими проявлениями нефрита. Цитопатические изменения с внутриядерными, так называемыми «глаз совы», и цитоплазматическими включениями в клетках эпителия канальцев и эндотелия сосудов у данного пациента не наблюдались. Отсутствие морфологического субстрата и крайне слабая степень экспрессии антигенов ЦМВ не позволили выявить связь патологических изменений в

исследованных группах с наличием вируса ($p>0,05$) (табл. 10, рис. 21,22а). Связь экспрессии ЦМВ при ИГХ с выявлением острого отторжения трансплантата не наблюдалась, что согласуется с данными литературы, поскольку фактором риска для развития острого отторжения является наличие ЦМВ-болезни, а не асимптоматическое течение инфекции [164,165,194].

Таблица 10. Распределение выраженности экспрессии антигенов ЦМВ в различных группах

Выраженность экспрессии вирусов	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Отрицательная «-»	5 100%	36 95%	37 97,4 %	23 100%	14 100%
Незначительная «+/-»	0 0%	2 5%	0 0%	0 0%	0 0%
Слабая «+»	0 0%	0 0%	1 2,6%	0 0%	0 0%

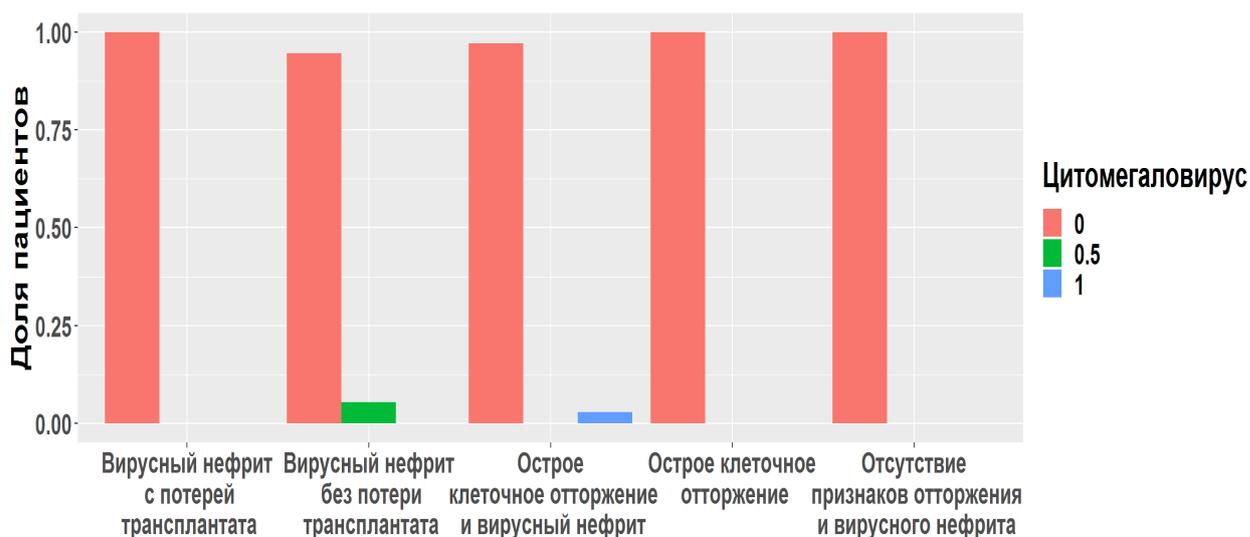


Рисунок 21. Распределение выраженности экспрессии ЦМВ в различных группах

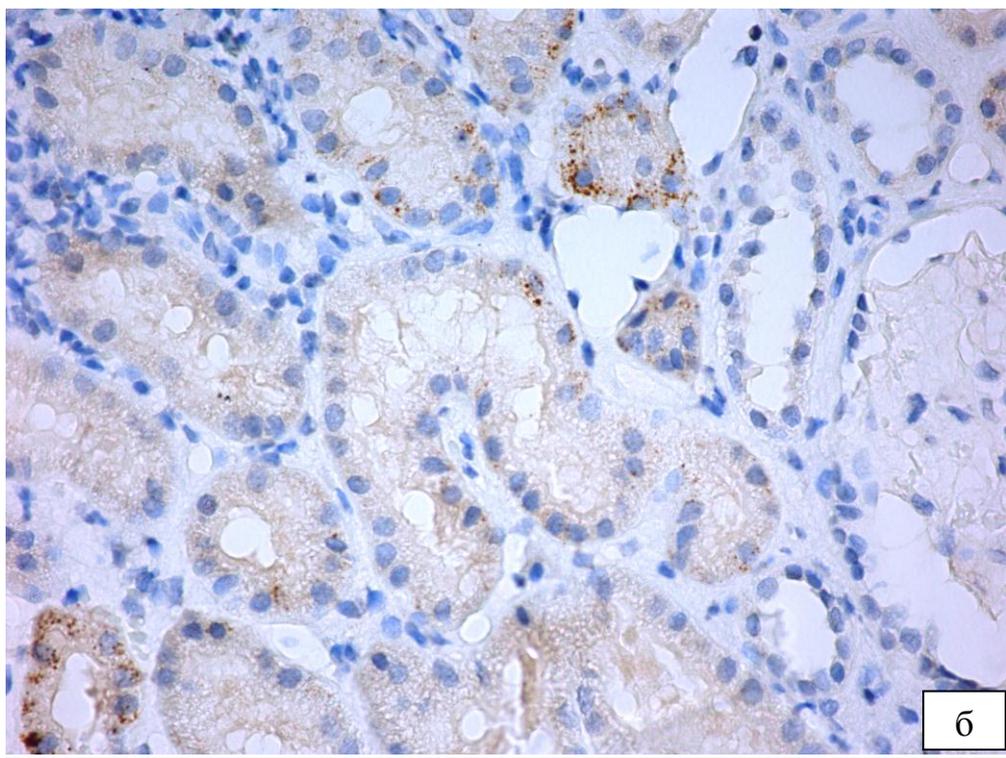
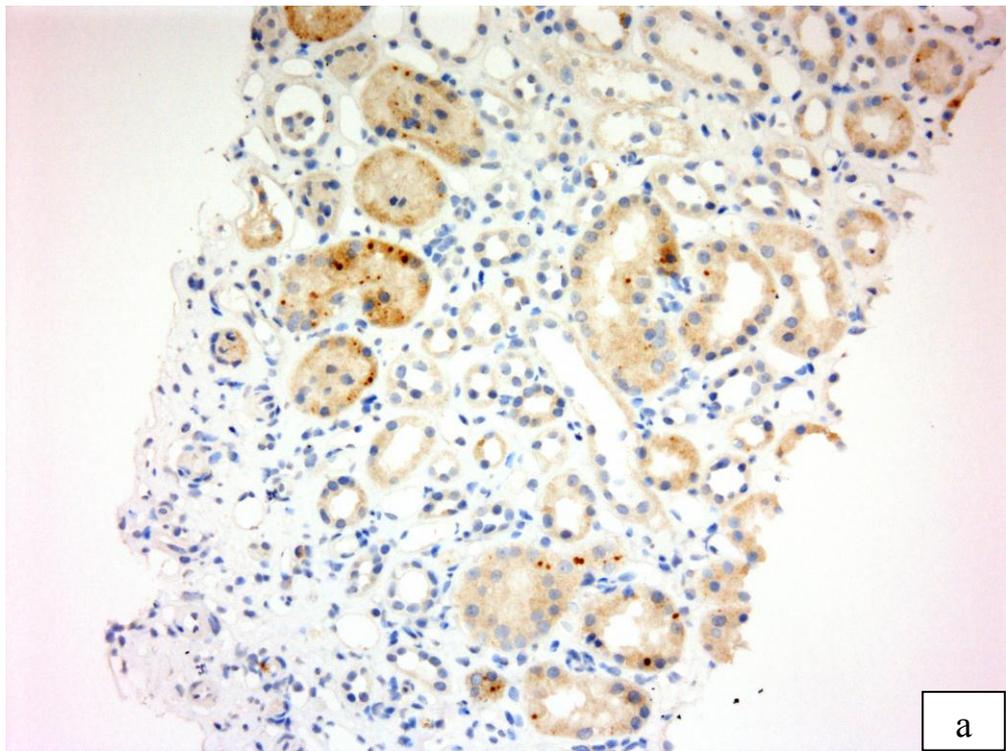


Рисунок 22. а – частицы ЦМВ в эпителии почечных канальцев; б – частицы ВПГ-1 в эпителии почечных канальцев, иммуногистохимическое окрашивание с антителами к ЦМВ и ВПГ-1, а – х200, б – х400.

Определение ДНК вируса ЭБВ в настоящее время входит в рутинную медицинскую практику с целью своевременной диагностики и прогнозирования развития ПТЛЗ у реципиентов трансплантата. В то время как у многих здоровых реципиентов трансплантата выявляется низкий уровень вирусной нагрузки, высокая вирусная нагрузка ЭБВ тесно связана с текущим или вероятным развитием ПТЛЗ. Диагноз ПТЛЗ при биопсии трансплантата достаточно сложен, в связи с чем актуально использование таких методов, как ПЦР и ИГХ [41,115,180]. В текущем исследовании морфологических признаков ЭБВ отмечено не было, при иммуногистохимическом исследовании в 100% случаев наблюдалось наличие ядерного антигена вируса Эпштейна-Барр, что подтверждает широкое распространение латентно персистирующего вируса, при ПЦР ДНК вируса ЭБВ с низкой вирусной нагрузкой была выявлена у 6 пациентов.

Трактовку роли герпесвирусов в развитии нефрита осложняло сочетанное выявление антител к аденовирусам у большинства пациентов с ВПГ-инфекцией. При ИГХ исследовании экспрессия антител к ВПГ-1, от слабой до значительной, была обнаружена в 40 (56,3%) биоптатах, в 8 (11,2%) биоптатах определялась незначительная экспрессия ВПГ-2, однако достоверная связь выявления ВПГ-1 и ВПГ-2 с развитием морфологических изменений установлена не была ($p>0,05$)(табл. 11, 12, рис. 22б, 23,24).

Экспрессия антигенов ВПГ-1 отмечалась у иммунокомпромитированных пациентов с тяжелым течением вирус-индуцированного нефрита, встречалась у 4 из 5-ти пациентов с потерей трансплантата, что подтверждает данные о реактивации ВПГ в посттрансплантационном периоде [34,181,208], однако при сопоставлении биоптатов реципиентов аллотрансплантатов с группой сравнения, не подвергавшейся иммуносупрессивной терапии, значимых различий в экспрессии антител к антигенам ВПГ-1 и ВПГ-2 обнаружено не было ($p>0,05$).

Таблица 11. Распределение выраженности экспрессии антигенов ВПГ-1 в различных группах

Выраженность экспрессии вирусов	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Отрицательная «-»	0 0%	13 34%	15 39,5 %	9 39,1%	9 64%
Незначительная «+/-»	1 20%	7 18%	7 18,4 %	6 26,1 %	1 7%
Слабая «+»	3 60%	10 26%	10 26,3 %	4 17,4 %	2 14%
Умеренная «++»	0 0%	8 21%	6 15,8 %	1 4,4%	2 14%
Выраженная «+++»	1 20%	0 0%	0 0%	3 13%	0 0%

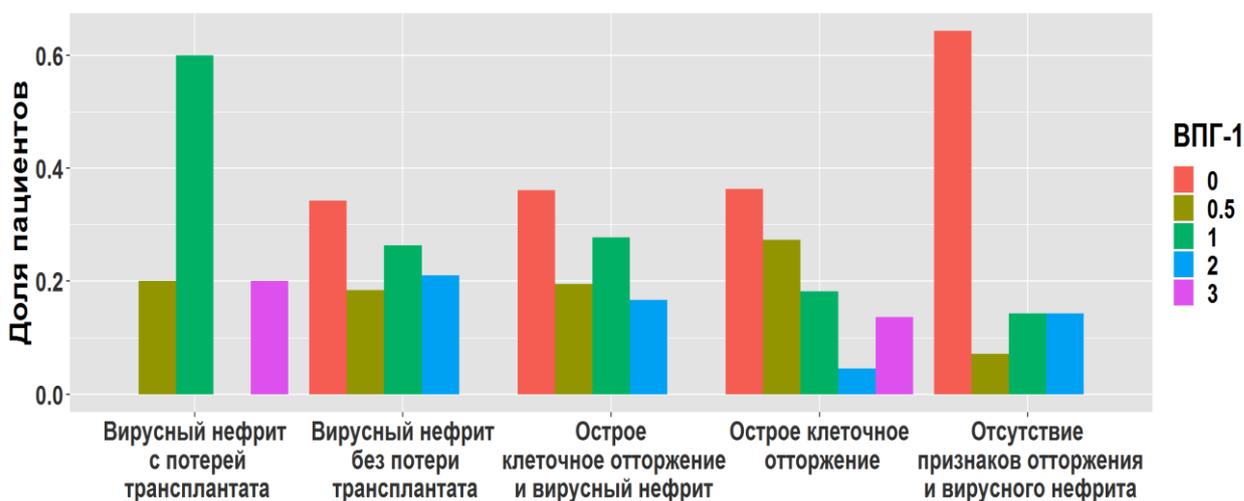


Рисунок 23. Распределение выраженности экспрессии ВПГ-1 в различных группах

Таблица 12. Распределение выраженности экспрессии антигенов ВПГ-2 в различных группах

Выраженность экспрессии вирусов	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Отрицательная «-»	4 80%	35 92%	37 97,4%	21 91,3%	12 86%
Незначительная «+/-»	1 20%	2 5%	1 2,6%	2 8,7%	2 14%
Слабая «+»	0 0%	1 3%	0 0%	0 0%	0 0%

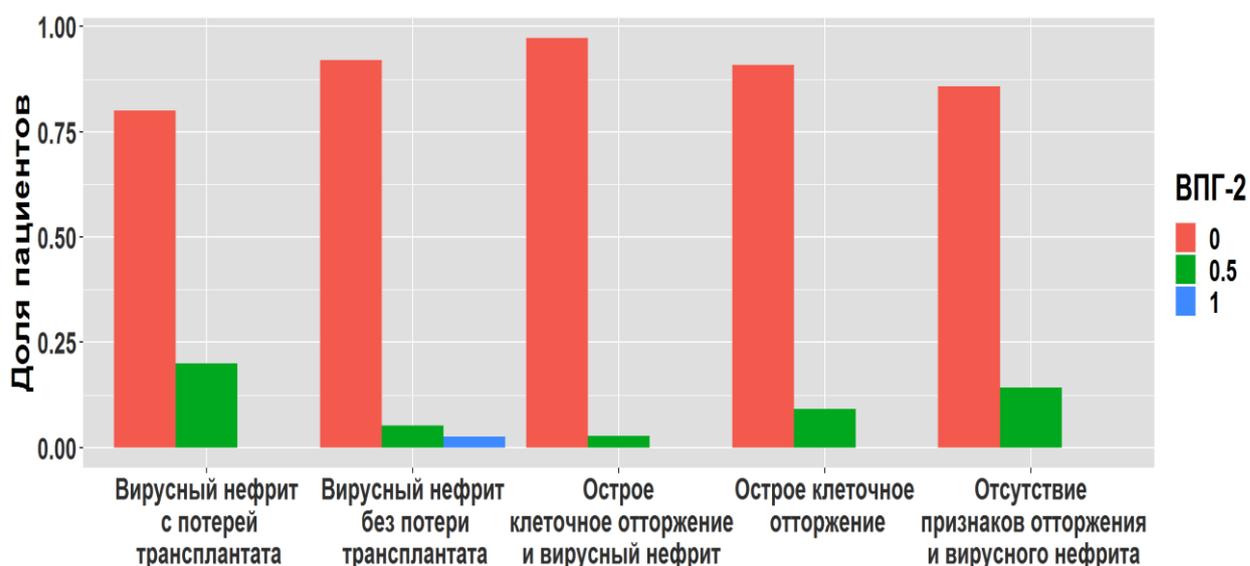


Рисунок 24. Распределение выраженности экспрессии антигенов ВПГ-2 в различных группах

3.9. Полиомавирусная нефропатия

Хотя пункционная биопсия трансплантата является золотым стандартом диагностики полиомавирусной нефропатии (ПВН), позволяя обнаружить характерную морфологическую картину при типичном течении инфекции, на ранних стадиях заболевания постановка диагноза при

гистологическом исследовании может представлять сложность из-за возможности очагового поражения паренхимы, неравномерного распространения зон инфильтрации и склероза, а также отсутствия патогномоничных внутриядерных включений вирусных телец на ранних стадиях заболевания [86,111,113,123,131]. Для уточнения диагноза в нашем исследовании потребовалось соотнесение клинических и гистологических признаков. Ведущую роль сыграл метод ПЦР, при помощи которого ВК-вирус был выявлен в крови и моче в 19 случаях у 12 пациентов: 3 случая в группе вирус-индуцированного нефрита без потери трансплантата, 9 случаев в группе сочетанного течения острого отторжения и вирус-индуцированного нефрита, 2 случая в группе острого отторжения и 5 случаев в группе без морфологических признаков острого отторжения и вирусного поражения трансплантата (табл. 13, рис. 25).

Таблица 13. Распространенность ВК-вируса и ПВН в разных группах

	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Наличие ВК-вируса	0	3 (7,9%)	9 (23,6%)	2 (8,7%)	5 (35,7%)
Наличие ПВН	0	0	5 (13,2%)	0	0
Отсутствие ВК-вируса	5 (100%)	35 (92,1%)	24 (63,2%)	21 (91,3%)	9 (64,3%)

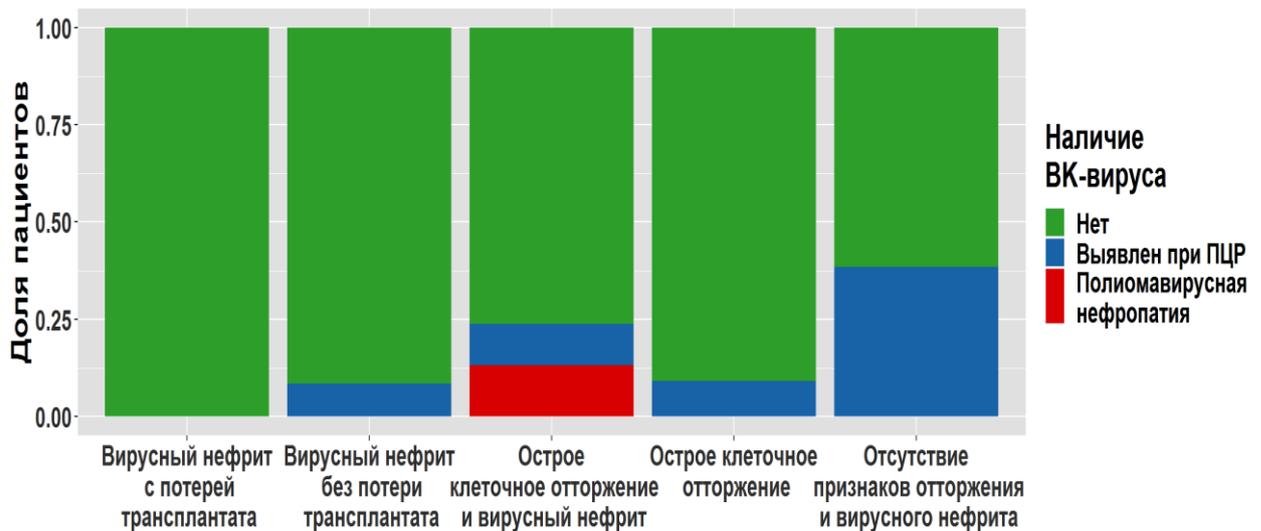


Рисунок 25. Распределение выявления ВК-вируса и ПВН в разных группах.

Характерная морфологическая картина ПВН с очагами некроза канальцевого эпителия, наличием внутриядерных аморфных базофильных включений «матово-стекловидных» телец (рис. 26 а), интерстициальным воспалением, склерозом коркового и мозгового вещества почки наблюдалась в 5 биоптатах от 3-х из этих пациентов, что согласуется с данными о высокой чувствительности ПЦР, позволяющей выявлять слабую репликацию вируса на ранних стадиях, еще не сопровождающихся выраженными гистологическими изменениями [15,46,140,143]. Также отсутствие характерных морфологических признаков ПВН у 9 из 12 пациентов может объясняться возможностью очагового поражения паренхимы (рис. 26 б).

Анализ клинических данных был особенно полезен при оценке случая сочетанного течения ПВН с клеточным отторжением трансплантата у пациентки, в анамнезе которой отмечался сахарный диабет, а выявлению морфологических признаков ПВН предшествовали операция по поводу аллотрансплантации поджелудочной железы и усиление иммуносупрессии для лечения Т-клеточного отторжения трансплантата.

Клиническая картина ПВН неспецифична, и у данной пациентки соответствовала типичному течению инфекции: в большинстве случаев наблюдаются общие признаки инфекции, такие как лихорадка и лейкоцитоз; гематурия и протеинурия обычно отсутствуют; если ПВН ограничена репликацией вируса в мозговом веществе, уровень креатинина в сыворотке может не меняться [154]. Ключевую роль в постановке диагноза сыграло обнаружение ДНК полиомавируса методом ПЦР в моче и, впоследствии, в крови пациентки.

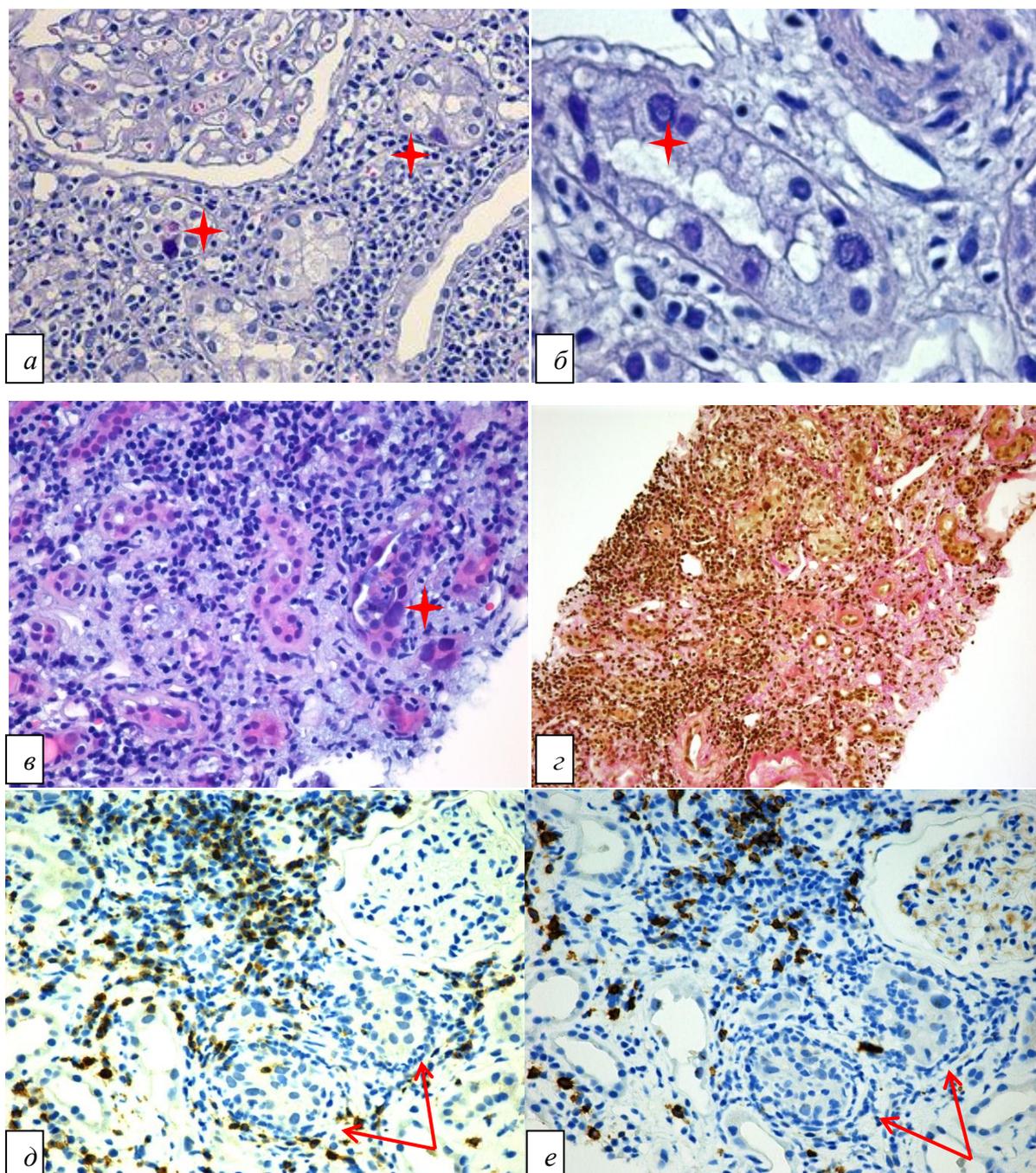


Рисунок 26. Морфологические и ИГХ-изменения при полиомавирусной нефропатии.

а,б,в – изменения ядер (увеличение, гиперхромия, внутриядерные включения ), воспалительная инфильтрация, окраска гематоксилином и эозином, **х 400, 1000 и 200**; **г – неравномерное поражение с чередованием пораженных участков с зонами склероза, окраска пикрофуксином по ван Гизону, х 200**; **д, е – распределение Т- и В-лимфоцитов, формирование гранулемоподобных структур()**, иммуногистохимическое окрашивание с антителами к **CD3 и CD20, х400**.

3.10. Оценка экспрессии антигенов Т- и В-лимфоцитов в биоптатах аллотрансплантатов

При анализе распределения и соотношения экспрессии антигенов Т- и В-лимфоцитов статистически значимая разница выявлялась при сравнении группы нефритов с потерей трансплантата с группой нефрита без потери аллотрансплантата, группой отторжения аллотрансплантата и группой без признаков вирус-индуцированного нефрита и отторжения аллотрансплантата ($p < 0,05$) (рис. 27-29, табл. 14, 15). В случаях потери трансплантата наблюдалась выраженная (80%) и умеренная (20%) степень экспрессии маркера Т-лимфоцитов CD3; незначительная (80%) и слабая (20%) степень экспрессии маркера В-лимфоцитов CD20. В группе вирус-индуцированного нефрита без потери трансплантата отмечалось разнообразие значений с преимущественно умеренной (55,3%) и слабой (36,8%) степенью экспрессии CD3; слабой (47,4%) и незначительной (34,2%) степенью экспрессии CD20. В группе сочетания вирус-индуцированного нефрита с отторжением аллотрансплантата определялась наиболее выраженная степень экспрессии антигенов Т- и В-лимфоцитов: преобладала умеренная (50%) и выраженная (42,1%) степень экспрессии CD3 и преимущественно слабая (57,9%) степень экспрессии CD20. В группе отторжения аллотрансплантата наблюдалась схожая иммуногистохимическая картина: умеренная (56,5%) и выраженная (26,1%) степень экспрессии CD3; слабая (52,2%) и умеренная (30,4%) степень экспрессии CD20. Последовательное включение группы сочетания вирус-индуцированного нефрита с отторжением в объединенную группу вирус-

индуцированного нефрита объединенную группу отторжения аллотрансплантата позволило подтвердить, что большее разнообразие между степенью экспрессии антигенов Т- и В-лимфоцитов характерно для вирус-индуцированного нефрита. В группе без признаков вирус-индуцированного нефрита и отторжения аллотрансплантата наблюдалась в основном слабая (64,3%) степень экспрессии CD3; экспрессия CD20 – от отрицательной до слабо выраженной.

Таблица 14. Распределение выраженности экспрессии CD3 по группам

Выраженность экспрессии CD3	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Незначительная «+/-»	0 (0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	2 (14,3%)
Слабая «+»	0(%)	14 (36,8%)	3(7,9%)	4(17,4%)	9(64,3%)
Умеренная «++»	1 (20%)	21(55,3%)	19(50%)	13(56,5%)	3 (21,4%)
Выраженная «+++»	4 (80%)	3(7,9%)	16 (42,1%)	6(26,1%)	0

Таблица 15. Распределение выраженности экспрессии CD20 по группам

Выраженность экспрессии CD20	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Отсутствие «->»	0 (0%)	3 (7,9%)	2(5,3%)	2 (8,7%)	4 (28,6%)
Незначительная «+/-»	4 (80%)	13(34,2%)	2(5,3%)	2 (8,7%)	5(35,7%)
Слабая «+»	1 (20%)	18 (47,4%)	22(57,9%)	12(52,2%)	5(35,7%)
Умеренная «++»	0 (0%)	4(10,5%)	11(28,9%)	7(30,4%)	0 (0%)
Выраженная «+++»	0 (0%)	0(%)	1(2,6%)	0(%)	0 (0%)

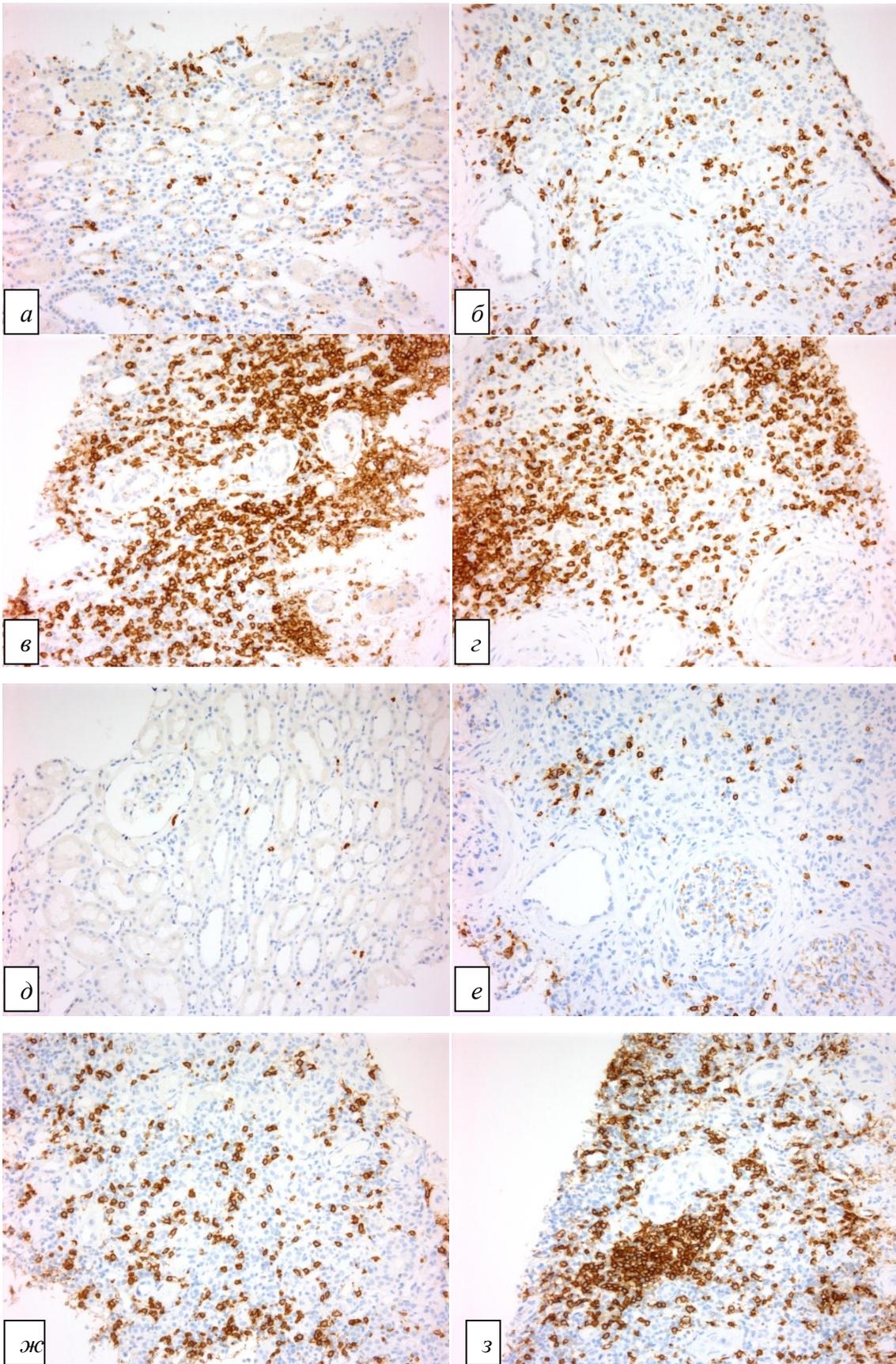


Рисунок 27. Распределение Т-лимфоцитов: а – слабо выраженная экспрессия CD3, б – умеренно выраженная экспрессия CD3, в, г – выраженная экспрессия CD3, и В-лимфоцитов: д – незначительно выраженная экспрессия CD20, е – слабо выраженная экспрессия CD20, ж – умеренно выраженная экспрессия CD20, з – выраженная экспрессия CD20; иммуногистохимическое окрашивание, х200.

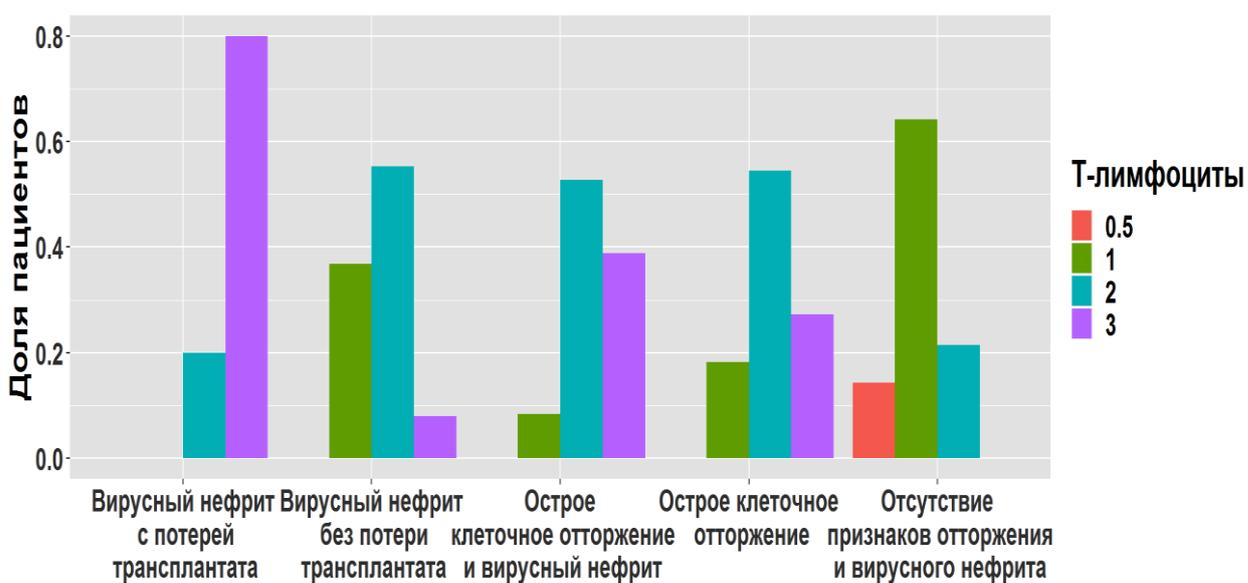


Рисунок 28. Выраженность экспрессии CD3 в биоптатах трансплантатов почек в группах пациентов.

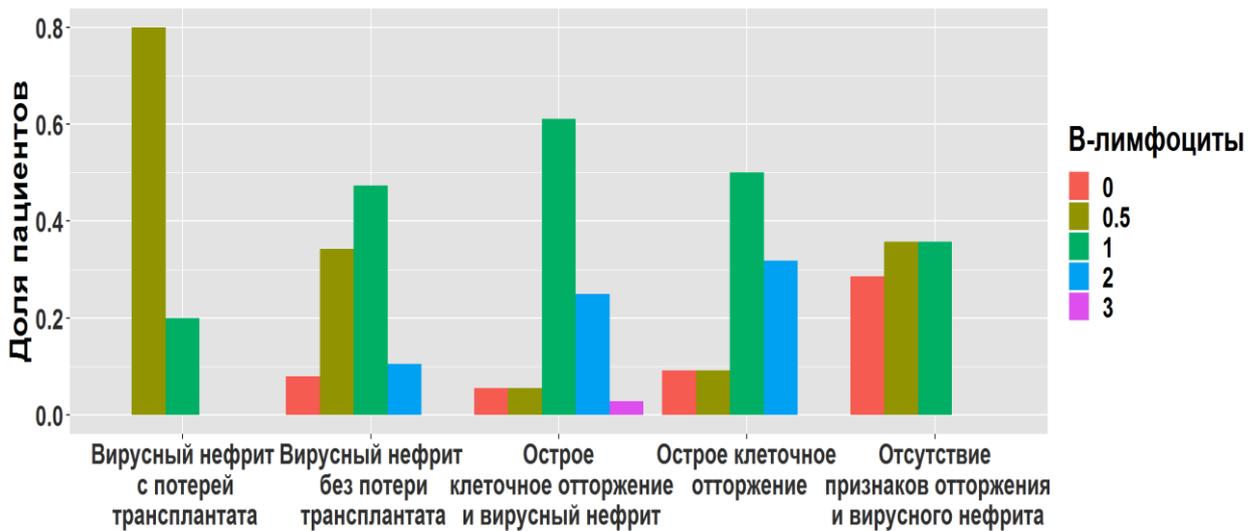


Рисунок 29. Выраженность экспрессии CD20 в биоптатах трансплантатов почек в группах пациентов.

Предполагалось, что наиболее полезной оценка выраженности экспрессии маркеров Т- и В-лимфоцитов окажется для дифференциальной диагностики острого отторжения и интерстициального нефрита, однако достоверного различия между отторжением аллотрансплантата и вирус-индуцированным нефритом на основании сопоставления содержания Т- и В-лимфоцитов обнаружено не было ($p > 0,05$). Экспрессия антигенов Т- и В-лимфоцитов была более выражена в группе отторжения аллотрансплантата и группе сочетания нефрита с отторжением аллотрансплантата. В обеих группах выявлялась преимущественно умеренная экспрессия CD3 и слабая – CD20, что представляло сложность при дифференциальной диагностике. При отдельном рассмотрении объединенной группы отторжения аллотрансплантата присутствовали статистически значимые различия в распределении Т- и В-лимфоцитов (табл. 16,17, рис. 30, 31), однако значения медианы в случаях нефрита и отторжения совпадали, что не позволяет использовать распределение экспрессии антигенов Т- и В-лимфоцитов в качестве диагностического признака.

Таблица 16. Выраженность экспрессии CD3 в аллотрансплататах почек

Выраженность экспрессии	Без отторжения и вирусного нефрита	Вирус-индуцированный нефрит	Объединенная группа острого клеточного отторжения
Незначительная «+/-»	2 (14%)	0 (0%)	0 (0%)
Слабая «+»	9 (64%)	14 (33%)	7 (12%)
Умеренная «++»	3 (21%)	22 (51%)	31 (53%)
Выраженная «+++»	0 (0%)	7 (16%)	20 (34%)

Таблица 17. Выраженность экспрессии CD20 в аллотрансплататах почек

Выраженность экспрессии	Без отторжения и вирусного нефрита	Вирус-индуцированный нефрит	Объединенная группа острого клеточного отторжения
Отсутствие «-»	4 (29%)	3 (7%)	4 (7%)
Незначительная «+/-»	5 (36%)	17 (40%)	4 (7%)
Слабая «+»	5 (36%)	19 (44%)	33 (57%)
Умеренная «++»	0 (0%)	4 (9%)	16 (28%)
Выраженная «+++»	0 (0%)	0 (0%)	1 (2%)

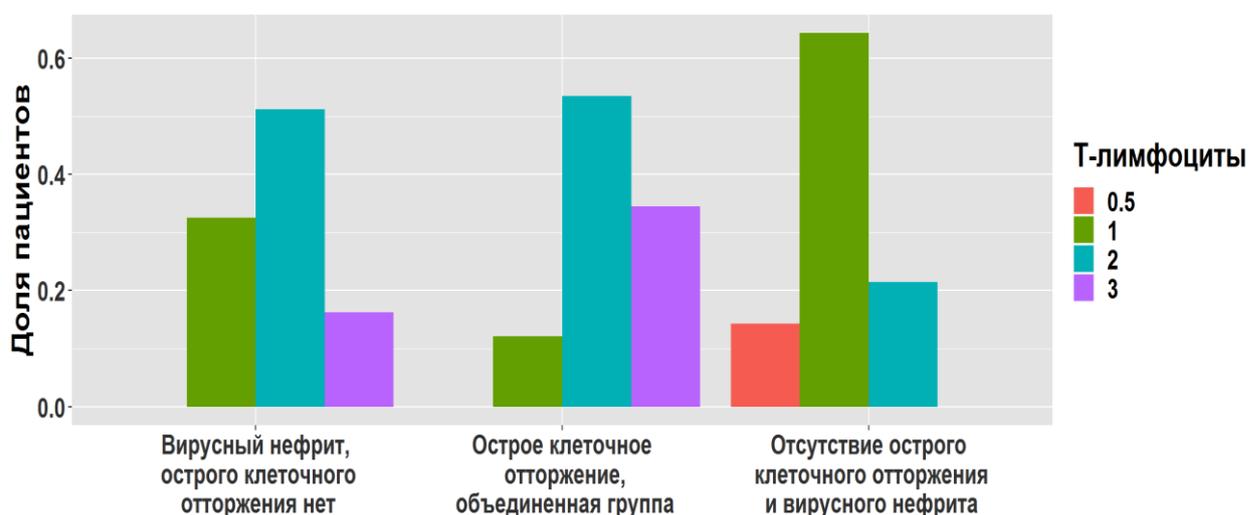


Рисунок 30. Выраженность экспрессии CD3 в биоптатах аллотрансплантатов почек в объединенных группах пациентов

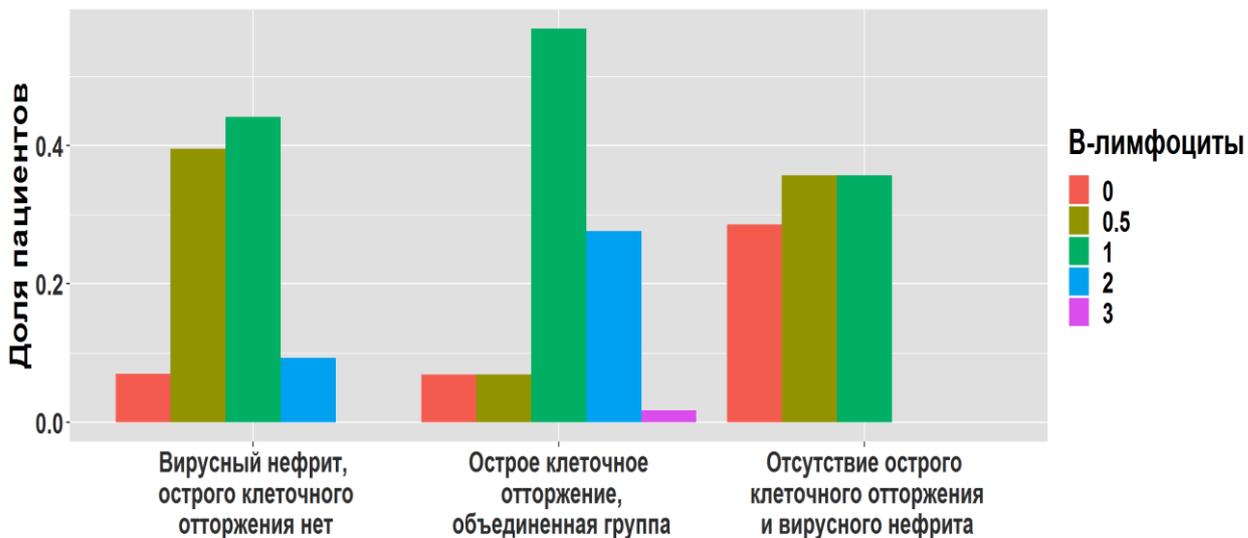


Рисунок 31. Выраженность экспрессии CD20 в биоптатах трансплантатов почек в объединенных группах пациентов

Медиана экспрессии CD3 в аллотрансплантатах из группы без признаков отторжения и вирусного нефрита оценивалась как слабая, в группе вирус-индуцированного нефрита и объединенной группе острого клеточного отторжения – умеренная. Медиана экспрессии CD20 в аллотрансплантатах из группы без признаков отторжения и вирусного нефрита оценивалась как незначительная, в группе вирус-индуцированного нефрита и объединенной группе острого клеточного отторжения – слабая. В обоих случаях разброс значений экспрессии был несколько выше среди пациентов с Т-клеточно-опосредованным отторжением аллотрансплантата.

Несмотря на отсутствие статистически значимых различий, за исключением группы с потерей трансплантата, рассмотрение каждого случая в отдельности подтвердило, что проведение ИГХ-исследования с антителами к Т- и В-лимфоцитам облегчает определение тубулита и оценку интерстициального воспаления и упрощает дифференциальную диагностику острого отторжения, пограничных изменений, вирусного поражения.

3.11. Анализ клинических данных

Исследование уровней креатинина и протеинурии

Повышение уровня креатинина и протеинурии относятся к факторам риска ухудшения выживаемости и потери трансплантата. При оценке протеинурии и повышения уровня креатинина были выявлены ассоциации с различными морфологическими изменениями. Данные изменения отмечались как у пациентов с вирусным нефритом, так и у пациентов с реакцией отторжения и, в особенности, с хронической трансплантационной гломерулопатией (удвоение контуров БМКК Banff-критерий «сg»), что не позволяет отнести подобные изменения к специфичным и описывается в многочисленных исследованиях [20,32,53,61,130,135,153,178,179,202,207].

Исследование связи отторжения и вирусного поражения с типом аллотрансплантата

Имеются исследования, посвященные сравнению выживаемости трансплантатов, полученных от живых и умерших доноров, говорящие о лучших показателях долгосрочной выживаемости реципиентов и трансплантатов при трансплантации от живых доноров. Однако о прямой связи типа трансплантата с отторжением и вирусным поражением трансплантата не сообщалось – данные состояния упоминались лишь косвенно, в числе возможных осложнений [95,137,138,178,179]. Среди пациентов, включенных в наше исследование, родственный тип аллотрансплантата встречался в 58 случаях, трупный тип аллотрансплантата – в 60 случаях. Тип аллотрансплантата не оказывал влияния на частоту потери трансплантата и развитие таких осложнений, как нефрит и отторжение ($p = 1$) (табл. 18).

Таблица 18. Распределение типов аллотрансплантата по группам

Тип трансплантата	Вирусный нефрит с потерей трансплантата n=5	Вирусный нефрит без потери трансплантата n=38	Острое клеточное отторжение и вирусный нефрит n=38	Острое клеточное отторжение n=23	Отсутствие признаков отторжения и вирусного нефрита n=14
Родственный трансплантат	2 40%	19 50%	20 55,6%	9 41%	8 57%
Трупный Трансплантат	3 60%	19 50%	16 44,4%	13 59%	6 43%

Исследование связи морфологических признаков поражения аллотрансплантата с повышением артериального давления

Ввиду роли почек в регулировании артериального давления, в посттрансплантационном периоде у всех реципиентов аллотрансплантата проводилось регулярное измерение уровня артериального давления. Есть сведения об усилении протеинурии при артериальной гипертензии. Однако данные о связи морфологических изменений со значением артериального давления противоречивы, и в большинстве случаев ассоциаций не отмечается [19,53,178,207]. В нашем исследовании анализ показателей артериального давления, мониторинг которого имеет важное значение для клиницистов, также не выявил связи с морфологическими признаками поражения трансплантата ($p = 1$): благодаря применению гипотензивной терапии повышение артериального давления до 140 наблюдалось лишь у 1 пациента, до 135 – у 2 пациентов и до 130 – у 8 пациентов из 98 человек.

3.12. Функция аллотрансплантата и изменение иммуносупрессивной терапии

Сравнить выживаемость аллотрансплантата по группам не представлялось возможным, поскольку из аллотрансплантата одного пациента в разное время могло быть взято несколько биопсий, которые при исследовании были включены в разные группы в соответствии с выявленными особенностями морфологической и иммуногистохимической картины. По этой причине анализ основывался на таких клинических данных, как модификация режимов иммуносупрессивной терапии и изменения функции трансплантата. Изменение функции трансплантата расценивалось следующим образом: ухудшение/улучшение/на одном уровне. Вмешательство в терапию заключалось в: усилении иммуносупрессивной терапии / ослаблении иммуносупрессивной терапии / отмене иммуносупрессивной терапии / без изменений в иммуносупрессивной терапии. Из обозначенных пяти групп значимые изменения данной терапии были предприняты только в трех группах.

Лечение пациентов из *группы без морфологических и иммуногистохимических признаков отторжения и вирус-индуцированного поражения* в ткани биоптатов не подвергалось коррекции. При дальнейшем наблюдении функция аллотрансплантата оставалась стабильно хорошей за исключением двух пациентов. Один пациент в этой группе потерял трансплантат через два года после биопсии в результате несанкционированной отмены иммуносупрессии, второй пациент (ребенок до 5 лет) потерял трансплантат попросту 23 дней с момента биопсии с нормальной морфологической картиной и 3 дней с момента биопсии, отнесенной в группу «вирус-индуцированный нефрит с потерей трансплантата».

В трех группах (вирус-индуцированный нефрит, острое клеточное отторжение и пограничные изменения, сочетание клеточного отторжения и пограничных изменений с вирус-индуцированным нефритом) два

трансплантата потеряны, один пациент умер, остальные на данный момент живы и имеют функционирующие трансплантаты. Пять биопсий из группы вирус-индуцированного нефрита с потерей трансплантата рассматривались как законченные случаи – произведена трансплантатэктомия.

В группе вирус-индуцированного нефрита в 84% случаев описанные морфологические изменения не сопровождались клиническими проявлениями, функции трансплантированных почек оставались адекватными. Модификации иммуносупрессивной терапии не предпринимались за исключением одного случая, когда происходил возврат базовой иммуносупрессивной терапии после рождения ребенка. В 16% случаев (6 биопсий) функция трансплантатов ухудшалась, чему предшествовало усиление иммуносупрессивной терапии в четырех случаях, хаотичные изменения иммуносупрессивной терапии из-за некомплайнтности пациентки в одном случае (трансплантат потерян спустя два года после ПБТ), еще в одном случае потеря трансплантата произошла через несколько дней после ПБТ, когда времени для маневров в иммуносупрессивной терапии не оставалось.

В группе острого клеточного отторжения и пограничных изменений тактика при выявлении морфологической картины острого отторжения была стандартной, почти у всех пациентов проводилось усиление иммуносупрессивной терапии, функция трансплантатов оставалась либо стабильно хорошей, либо улучшалась за исключением двух пациентов. У первого пациента трансплантат утратил функцию по прошествии 13 месяцев с момента биопсии. У второго пациента усиление иммуносупрессивной терапии после первой ПБТ привело к ухудшению функции трансплантата, дальнейшее усиление терапии после второй ПБТ сопровождалось улучшением функции трансплантата, третья ПБТ у этого же пациента классифицирована в группе сочетанного течения вирусного поражения и отторжения трансплантата (развитие полиомавирусной нефропатии), и реакция на нее описана ниже.

В группе сочетания клеточного отторжения с вирус-индуцированным нефритом функция трансплантата оставалась неизменной в 43% случаев (17 биопсий), которым на основании морфологической картины в пяти случаях увеличили иммуносупрессию, в семи случаях оставили без перемен (сюда входят четвертая и пятая биопсии описанного ранее пациента с картиной полиомавирусной нефропатии), и снизили также в пяти случаях. В 17% случаев (7 биопсий) функция трансплантата улучшалась после следующих маневров в терапии: в 3 случаях увеличение иммуносупрессии, в 2 случаях терапия не изменялась, еще в 2 случаях иммуносупрессия изменялась посредством замены ингибиторов кальциневрина на ингибитор пролиферативного сигнала, что приводит к активизации противовирусного иммунитета. В 38% случаев (15 биопсий) описанные морфологические изменения стали поводом для усиления иммуносупрессии, которое сопровождалось ухудшением функции трансплантата, что не позволяет исключить роли вирусных инфекций в снижении функции трансплантата.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гистологическая оценка пункционных биоптатов почечных трансплантатов является основным методом диагностики состояния аллотрансплантата и позволяет обнаружить развитие осложнений до появления клинических проявлений поражения трансплантата [172,188].

Результаты проведенного исследования позволили охарактеризовать морфологические и иммуногистохимические особенности острого отторжения и вирусного поражения трансплантата почки с целью их дифференциальной диагностики.

При морфологическом исследовании биоптатов наибольшее значение для диагностики состояния трансплантата имели Banff-критерии «t» и «i», степень выраженности которых при морфологической оценке биоптатов из группы с острым клеточным отторжением и пограничными изменениями в отдельных случаях достигала значений «i2» и «t2». Учитывая, что

морфологическая картина острого клеточного отторжения, особенно тубулоинтерстициального типа, имеет те же проявления, что вирус-индуцированный нефрит: воспалительная инфильтрация интерстиция, тубулит, некроз эпителия канальцев – сохранение функции трансплантата зависит от грамотного проведения дифференциальной диагностики этих осложнений [55,86,192].

Современные схемы иммуносупрессивной терапии значительно снизили частоту острого клеточного отторжения [86,170], что повысило интерес исследователей к диагностике пограничных изменений, определение которых по значению Banff критерия «i» – i0 либо i1 все еще неоднозначно. Поскольку нет общепринятых различий ранних проявлений вирус-индуцированного нефрита и пограничных изменений аллотрансплантата, в случаях отсутствия морфологических признаков вирусного поражения, значении Banff критерия «i» – i0 либо i1 и Banff критерия «t» – t0 либо t1 – мы рассматривали тубулит как раннее проявление острого отторжения и ставили диагноз «пограничные изменения». Для улучшения визуализации тубулита целесообразно проводить иммуногистохимическое исследование с антителами к Т- и В-лимфоцитам.

Отмечена важность дифференциальной диагностики при исследовании случаев с пограничными изменениями или острым Т-клеточно-опосредованным отторжением у пациентов с наличием полиомавирусной нефропатии, пиелонефрита или других инфекционных заболеваний аллотрансплантата, а также при выявлении антитело-опосредованного отторжения в сочетании с рецидивирующим гломерулитом или гломерулонефритом de novo [98,109,186].

Также в нашем исследовании при диагностике острого отторжения интерес представлял Banff-критерий «v». В двух случаях из группы с сочетанием клеточного отторжения и пограничных изменений с вирус-индуцированным нефритом определен Banff-критерий «v1»: было диагностировано острое клеточное отторжение стадии 2a. Наличие

интимального артериита у данных пациентов привело к трудности в дифференциальной диагностике острого клеточного и острого гуморального отторжения трансплантата почки. Дифференциальная диагностика острого гуморального отторжения с вирус-индуцированным нефритом также сложна, поскольку при обеих патологиях в биоптатах трансплантата почки наблюдаются зоны кровоизлияний и некроз эпителия канальцев. ИГХ-исследование с антителами к C4d компоненту комплемента проводится во всех биоптатах и имеет ведущее значение в случаях с поражением микрососудистого русла, ранней дисфункцией трансплантата, наличием ДСА либо антитело-опосредованного отторжения в анамнезе. В случаях тяжелого течения вирус-индуцированного нефрита, вызванного репликацией аденовируса или ВК-вируса, может наблюдаться морфологическая картина, сходная с антитело-опосредованным отторжением, однако C4d+ депозиты в ПТК в биоптатах данных пациентов не выявляются [4,107,121,122, 146,156,190].

Диагностическую ценность патогномоничных морфологических изменений, характерных для вирусного поражения почечного трансплантата, подтвердило выявление крупных гиперхромных ядер с внутриядерными включениями и гранулемоподобных структур в 100% случаев у пациентов из группы вирус-индуцированного нефрита с потерей трансплантата и в 68% случаев в группе вирус-индуцированного нефрита без потери трансплантата. Однако для дифференциальной диагностики с острым отторжением трансплантата проведения только морфологического исследования биоптатов является недостаточным.

Для достоверной диагностики вирус-индуцированного поражения потребовалось проведение иммуногистохимического исследования с антителами к оппортунистическим вирусам. При исследовании биоптатов с характерными морфологическими изменениями отмечена преимущественно умеренно выраженная степень экспрессии антител к аденовирусам. В группе вирус-индуцированного нефрита без потери аллотрансплантата, по

сравнению с остальными исследованными группами, преобладала более высокая степень экспрессии антител к аденовирусам. Сопоставление биоптатов реципиентов с группой сравнения показало, что наличие аденовируса достоверно чаще было выявлено в посттрансплантационном периоде, что подтверждает роль иммуносупрессивной терапии в развитии аденовирусной инфекции [84,94].

У пациентов с иммуносупрессией, по сравнению с иммунокомпетентными лицами, отмечается более пролонгированная, тяжелая, потенциально приводящая к летальным последствиям аденовирусная инфекция. Инкубационный период впервые возникшей аденовирусной инфекции составляет от 2 дней до 2 недель. В большинстве случаев инфекция диагностируется в первый год после трансплантации, включая инфекции *de novo* и вирусную реактивацию. Продуктивная аденовирусная инфекция почечного трансплантата наблюдается редко, чаще всего в течение первых 3 месяцев после трансплантации [54,86,88,205].

В данном исследовании наиболее тяжелое течение аденовирусной инфекции с потерей трансплантата чаще наблюдалось у детей в раннем посттрансплантационном периоде, сопровождающемся интенсивной иммуносупрессивной терапией. Поражение, угрожающее развитием системных осложнений и дисфункцией с потерей аллотрансплантата, развивается преимущественно у детей до 5 (по некоторым данным до 9) лет, что в первую очередь связывают с возможностью первичного инфицирования и несформированностью детского иммунитета [13, 14, 16, 24,70,81,97].

При выявлении вирусных включений в эпителии канальцев дифференциальная диагностика аденовирус-индуцированного нефрита требует определения иных типов вирусных инфекций. В первую очередь исключают течение полиомавирусной нефропатии и ЦМВ-опосредованного интерстициального нефрита, которым не свойственно преобладание таких изменений, как деструкция канальцев с формированием фокусов некроза и

разрушением тубулярной базальной мембраны, гранулематозное воспаление с палисадным расположением макрофагов вокруг пораженных канальцев и кровоизлияния в интерстиций. Преобладание нейтрофилов в смешанном клеточном инфильтрате с макрофагами и гистиоцитами также более характерно для нефрита при аденовирусной инфекции. Коинфекция при аденовирус-индуцированном нефрите встречается редко: в отдельных случаях наблюдается одновременное течение ПВН и практически никогда — признаки ЦМВ-инфекции [40,48,68,148]. В случае отсутствия вирусных включений при гранулематозном интерстициальном нефрите следует проводить дифференциальную диагностику с влиянием лекарственных препаратов, васкулитами, ассоциированными с антинейтрофильными цитоплазматическими аутоантителами, туберкулезом, саркоидозом и грибковыми инфекциями.

При иммуногистохимическом исследовании аденовирус был обнаружен в 70,3% случаях, ВПГ I типа – в 42,4% случаев, ЦМВ – в 0,8% случаев. Одновременное выявление аденовируса и ВПГ I типа у пациентов с картиной вирус-индуцированного нефрита не позволило достоверно оценить роль герпес-вирусов в развитии морфологических изменений. Результаты иммуногистохимического исследования с антителами к герпес-вирусам подтвердили широкое распространение оппортунистических вирусов, в особенности вируса простого герпеса I типа и ЭБВ, которыми по данным литературы с детского возраста инфицировано до 90% населения [70,86,88,117,118,162,187]. Данные вирусы способны латентно персистировать в организме и подвергаться реактивации при снижении клеточного иммунитета. В нашем исследовании ВПГ I типа наблюдался у пациентов с потерей трансплантата в 100% случаев.

Депозиты C4d в перитубулярных капиллярах не характерны для аденовирусных инфекций. Их обнаружение указывает на возможное течение гуморального отторжения, что и было обнаружено в данном исследовании: в объединенной группе вирус-индуцированных нефритов C4d+ депозиты в

ПТК наблюдались лишь в 1 случае из 81 (пациент с сочетанием хронического гуморального отторжения, пограничных изменений и слабо выраженной аденовирусной интерстициальной нефропатией). Взаимоотношения между аденовирусной инфекцией и отторжением аллотрансплантата остаются спорными. Возможно, что эти два процесса взаимосвязаны, хотя прямых доказательств не существует. Также как при ПВН, ассоциированной с острым отторжением аллотрансплантата почки [25], остается неясным, вызывает ли вирусная инфекция отторжение непосредственно, или отторжение является следствием изменения уровня иммуносупрессии в результате лечения инфекции. Аденовирусная инфекция может привести к острому отторжению аллотрансплантата после уменьшения иммуносупрессивной терапии, и наоборот, увеличение иммуносупрессии, используемой для лечения острого отторжения, может активировать латентную аденовирусную инфекцию. Одновременное течение аденовирус-индуцированного нефрита и Т-клеточно-опосредованного отторжения встречается нечасто и представляет диагностическую проблему. В таких ситуациях в пользу Т-клеточно-опосредованного отторжения говорит в первую очередь выраженность тубулита, а также преобладание Т-лимфоцитов в инфильтрате и наличие васкулита [68,75-77].

Дифференциальная диагностика аденовирусного нефрита проводилась с прочими типами вирусных инфекций, в первую очередь с полиомавирусной нефропатией (ПВН), которым не свойственно преобладание таких изменений, как деструкция канальцев с формированием фокусов некроза и разрушением базальных мембран, гранулематозное воспаление с палисадным расположением макрофагов вокруг пораженных канальцев и кровоизлияния в интерстиций [2,4,5,21,23,68,74-79].

По данным литературы, при диагностике методом ПЦР на ранних сроках после трансплантации репликация вируса отмечается у 40-50% пациентов, но морфологическая картина полиомавирусной нефропатии и дисфункция трансплантата наблюдаются значительно реже: в 1-5% случаев

[9,101]. ПЦР-исследование позволяет обнаружить ДНК вируса в моче раньше, чем в крови, что объясняется тропизмом ВК-вируса к уротелию и может указывать на прогрессирование поражения эпителия канальцев с последующим выходом вируса в кровь при лизисе клеток. Есть мнения, что ПЦР тесты плазмы крови имеют наивысшую положительную прогностическую ценность для ПВН [79], поскольку уровни вирусной нагрузки в плазме более 10000 копий на 1 мл прогнозируют заболевание с вероятностью 74% [86]. Однако указанные уровни вирусной нагрузки не были подтверждены в крупных многоцентровых исследованиях, и результаты по вирусной нагрузке показывают большие межлабораторные различия.

Важным является своевременное выявление развития Т-клеточно-опосредованного отторжения и / или антитело-опосредованного отторжения, которые могут конкурировать с ПВН [75,120-122,190]. По данным литературы, отторжение следует лечить, поскольку кратковременное усиление иммуносупрессии и терапии, направленной на подавление отторжения, даже с использованием антител к лимфоцитам, не приводит к «взрывной» репликации полиомавируса или значительному увеличению виремии [148]. В нашем исследовании, напротив, усиление иммуносупрессивной терапии для лечения Т-клеточного отторжения трансплантата привело к прогрессированию ПВН и ухудшению функции трансплантата. По литературным данным, отторжение диагностируется при обнаружении трансплантационного эндартериита или гломерулита, выраженного тубулита в областях, не содержащих внутриядерных включений вируса, при выявлении тубулярной экспрессии МНС класса II (HLA-DR) или C4d+ депозитов в ПТК [26,148]. Есть предположение, что в случаях ПВН, при которых клеточный инфильтрат содержит большое количество плазматических клеток (более 15%), преобладание IgM-содержащих плазматических клеток может свидетельствовать о вирусной нефропатии, тогда как при отторжении преобладает продукция IgG. В период

разрешения заболевания при ПВН возможно преходящее усиление воспалительной инфильтрации, которое трактуется как ассоциированный с полиомавирусом интерстициальный нефрит или реактивное воспаление, связанное со снижением доз иммуносупрессии, а не как проявление клеточного отторжения [37,68,125].

В то время как острое С4d-позитивное антитело-опосредованное отторжение или острое Т-клеточно-опосредованное отторжение с трансплантационным эндартериитом могут быть легко диагностированы, дифференциальная диагностика ПВН и сопутствующего острого Т-клеточно-опосредованного отторжения тубулоинтерстициального типа довольно трудна [68,125].

Учитывая сходство морфологических проявлений и диаметрально противоположные подходы к терапии ПВН и Т-клеточно-опосредованного отторжения, выявление ведущего звена патологического процесса имеет принципиальное значение для дальнейшего лечения. Ряд авторов предполагают, что ИГХ-исследование не эффективно при дифференциальной диагностике отторжения и вызванного вирусом нефрита [17,87,113], поскольку ИГХ-фенотипирование воспалительных клеток при ПВН показывает наличие плазматических клеток (CD138), В-клеток (CD20), Т-клеток (CD3) или моноцитарных инфильтратов. Тем не менее, наше ИГХ исследование с антителами к Т-лимфоцитам (CD3) и В-лимфоцитам (CD20) позволило сравнить распространенность тубулита и интерстициальной инфильтрации, хотя различий в составе клеточного инфильтрата, как и ожидалось, выявлено не было.

Выявление вирус-индуцированного поражения аллотрансплантата требует внимания к клиническим и лабораторным данным, вызывающим настороженность в отношении вирусной инфекции. Несмотря на высокую диагностическую значимость морфологического и иммуногистохимического исследований, нельзя исключить возможность ложноотрицательного результата иммуногистохимического исследования, обусловленную большим

количеством серотипов аденовируса, и случаи со стертой морфологической картиной, при которых изменения ядер могут напоминать регенераторные. Кроме того, стоит учитывать очаговый характер поражения трансплантата, который наблюдается как при аденовирусном нефрите, так и при полиомавирусной нефропатии, а также ограниченный объем диагностического материала, получаемый при пункционной биопсии. В случаях полиомавирусной нефропатии установить диагноз позволяет проведение ПЦР. При аденовирус-индуцированном нефрите, в отдельных случаях однозначно подтвердить диагноз только гистологическими методами оказывается невозможно – требуется наблюдение в динамике.

При анализе клинических и лабораторных данных, изменения в УЗ-картине, повышение уровня креатинина и протеинурии указывали на ухудшение состояния трансплантата почки, однако носили неспецифический характер и не позволяли провести различие между острым отторжением и вирус-индуцированным поражением аллотрансплантата. Вопрос о влиянии пола реципиента и родственного либо трупного типа трансплантата на развитие осложнений мало изучен, литературные данные противоречивы – в нашем исследовании связи данных факторов с развитием нефрита и острого отторжения трансплантата обнаружено не было. Возраст реципиентов оказался значимым в группе нефрита с потерей трансплантата, что согласуется с данными литературы о тяжелом течении аденовирусной инфекции у детей [117,168]. В остальных группах связь возраста с развитием вирусного поражения и острого отторжения трансплантата не отмечена.

Исходя из вышесказанного, в группу риска дисфункции и потери аллотрансплантата почки из-за вирус-индуцированного нефрита и острого отторжения трансплантат входят дети младшего возраста, пациенты с наличием вирусного анамнеза или снижением клеточного иммунитета, преимущественно в первые месяцы после трансплантации. При наличии у реципиентов клинических симптомов инфекционного процесса (рвота, диарея, лихорадка); изменений при лабораторных (повышение уровня

креатинина и протеинурии, выявление вирусов при проведении ПЦР) и инструментальных (УЗИ трансплантата почки) исследованиях проведение морфологического и иммуногистохимического исследования эффективно для исключения вирус-индуцированного нефрита и острого отторжения трансплантата почки.

Грамотная интерпретация морфологической и иммуногистохимической картины биопсий почечных аллотрансплантатов позволяет лечащим докторам назначать пациентам корректную иммуносупрессивную терапию и длительно поддерживать функционирование трансплантата, обеспечивая высокое качество жизни реципиентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашем исследовании пациенты были разделены на 5 групп с учетом морфологической, иммуногистохимической и клинической картины.

При распределении пациентов по группам на основании морфологической оценки основное значение имели Banff-критерии «t» и «i». В группе вирусного нефрита с потерей трансплантата критерии «i» во всех случаях равнялись нулю: интерстициальное воспаление в сочетании с характерной морфологической картиной было расценено как проявление интерстициального нефрита, а не клеточного отторжения. Тубулит в большинстве случаев не определялся – отмечалось вирус-индуцированное поражение эпителия канальцев. В группе вирус-индуцированного нефрита наблюдалась схожая морфологическая картина с менее выраженными специфическими морфологическими признаками. Наибольшие значения критериев «i» и «t» наблюдались в группе с острым клеточным отторжением и пограничными изменениями. Похожие значения критериев «i» и «t» определялись также в группе с сочетанием клеточного отторжения и пограничных изменений с вирус-индуцированным нефритом, что

представляет проблему дифференциальной диагностики и лечения данных осложнений.

Отмечалась связь наличия патогномичных морфологических изменений с развитием аденовирус-индуцированного нефрита, что позволяет подтвердить вирусную природу нефрита, а также косвенно использовать данный критерий для дифференциальной диагностики с отторжением трансплантата. При сопоставлении морфологических проявлений нефрита со степенью выраженности экспрессии антигенов аденовируса были выявлены статистически значимые различия между группой вирус-индуцированного нефрита с прочими группами, что подтвердило значимость и эффективность проведения ИГХ-исследования при подозрении на развитие вирус-индуцированного нефрита.

При сопоставлении исследуемой группы с группой сравнения экспрессия антигенов аденовируса достоверно чаще наблюдалась в посттрансплантационном периоде, подтверждая роль иммуносупрессивной терапии в развитии аденовирусной инфекции.

ИГХ-исследование подтвердило широкую распространенность герпес-вируса в популяции, но достоверная связь выявления ВПГ-1 и ВПГ-2 с развитием специфических морфологических изменений установлена не была. Часто встречалась сочетанная экспрессия антител к ВПГ-1 и аденовирусам. Экспрессия антигенов ВПГ-1 отмечалась у иммунокомпромитированных пациентов с тяжелым течением вирус-индуцированного нефрита, однако значимых различий с группой сравнения, не подвергавшейся иммуносупрессивной терапии, обнаружено не было.

Выявление ДНК ЦМВ методом ПЦР не сопровождалось специфическими морфологическими изменениями в биоптатах аллотрансплантатов.

Представляла сложность диагностика случаев с сочетанием полиомавирусной нефропатии и острого отторжения: постановка диагноза потребовала оценки анамнеза, клинических данных, лабораторных

показателей, результатов ИГХ исследования. Наиболее значимым оказалось выявление ДНК методом ПЦР в крови и моче пациентов, что позволило не только подтвердить диагноз, но и определить репликацию ДНК ВК-вируса в ранние сроки, до развития морфологической картины ПВН, причем в моче ДНК ВК-вируса выявлялась раньше, чем в плазме крови, вследствие репликации вируса в уротелии.

C4d+ депозиты наблюдались в сосудах микроциркуляторного русла у пациентов с хроническим и острым гуморальным отторжением. ИГХ-исследование с антителами к C4d показательно не только при дифференциальной диагностике гуморального и клеточного отторжения, но и при подозрении на вирус-индуцированное поражение аллотрансплантата, морфологическая картина которого может напоминать антителоопосредованное отторжение.

При оценке распределения и соотношения экспрессии антигенов Т- и В-лимфоцитов значимая разница выявлялась при сравнении группы нефритов с потерей трансплантата и прочих групп: в случаях потери трансплантата наблюдалась выраженная степень экспрессии CD3 и незначительная – CD20. Постановка диагноза «пограничные изменения» основывалась на выявлении тубулита. Проведение ИГХ-исследования с антителами к Т- и В-лимфоцитам облегчает определение тубулита и оценку интерстициального воспаления.

Отмечалось наличие связи повышения уровня креатинина и протеинурии с морфологическими изменениями. Связи трупного либо родственного типа трансплантата, а также пола пациентов с развитием нефрита и частотой потери трансплантата не обнаружено. Ассоциации показателей артериального давления с морфологическими признаками вирус-индуцированного поражения аллотрансплантата также не выявлено. УЗИ не позволило дифференцировать острое отторжение и вирус-индуцированное поражение трансплантата, хотя выявило ряд изменений аллотрансплантата: увеличение толщины трансплантата и коркового слоя, расширение чашечно-

лоханочной системы, повышение периферического сопротивления в почечных сосудах.

В большей части случаев изменение иммуносупрессивной терапии, опирающееся на результаты морфологических и иммуногистохимических исследований, приводило к улучшению или сохранению функции аллотрансплантата. При ПВН коррекция иммуносупрессивной терапии требовалась во всех случаях. При выявлении аденовирусной этиологии развития интерстициального нефрита в большинстве случаев изменение режима иммуносупрессивной терапии не требовалось, однако в случаях тяжелого течения с потерей аллотрансплантата обнаружение вирусов в ткани аллотрансплантата с помощью ИГХ-исследования позволило существенно видоизменить терапию. Ухудшение функции трансплантатов в 10,5% случаев в группе вирус-индуцированного нефрита и в 38% случаев из группы сочетания клеточного отторжения с вирус-индуцированным нефритом после усиления иммуносупрессивной терапии не позволяет исключить роли вирусных инфекций в снижении функции трансплантата, а также указывает на сложность подбора иммуносупрессивной терапии у пациентов с сочетанием острого отторжения и вирусной инфекции трансплантата. У 2 пациентов из данной группы включение в иммуносупрессивную терапию препарата, приводящего к активизации противовирусного иммунитета, вызвало улучшение функции аллотрансплантата.

Таким образом, учитывая разнообразие факторов, влияющих на течение инфекции в почечном аллотрансплантате, при подозрении на вирус-индуцированный нефрит целесообразно сочетать морфологическое исследование с иммуногистохимическим и оценкой комплекса клинических данных.

ВЫВОДЫ

1. Установлены морфологические изменения, характерные для вирусного нефрита (внутриядерные включения вирусных частиц, гранулемоподобные структуры). Выявлены статистически значимые

- различия частоты морфологических изменений между группами вирусного нефрита с потерей трансплантата и без потери по сравнению с группой острого отторжения трансплантата и группой сочетанного течения отторжения и вирус-индуцированного нефрита.
2. Показана более выраженная экспрессия антигенов аденовируса в аллотрансплантатах пациентов в группе вирус-индуцированного нефрита без потери аллотрансплантата по сравнению со следующими группами: острого отторжения трансплантата; сочетанного течения отторжения и нефрита; группы без морфологических проявлений.
 3. При ИГХ-исследовании антигены вируса простого герпеса I типа обнаружены в биоптатах аллотрансплантатов в 42,4%, вируса простого герпеса II типа в незначительном количестве – в 6,8%, цитомегаловируса – в 0,8% случаев. Достоверная связь выявления вирусов простого герпеса I и II типов и цитомегаловируса с развитием морфологических изменений не установлена.
 4. Показана необходимость определения ДНК полиомавируса методом ПЦР в крови и моче пациентов при дифференциальной диагностике сочетанного течения полиомавирусной нефропатии и острого отторжения почечного трансплантата: репликация полиомавируса выявлена при отсутствии характерных для полиомавирусной нефропатии морфологических изменений в 73,7% случаев.
 5. Оценка экспрессии антигенов Т- и В-лимфоцитов выявила значимую разницу при сравнении группы нефрита с потерей трансплантата и прочих групп. Достоверного различия экспрессии антигенов Т- и В-лимфоцитов между группами с отторжением аллотрансплантата и вирус-индуцированного нефрита не обнаружено, что не позволяет рекомендовать использование этого признака для дифференциальной диагностики.
 6. Тип аллотрансплантата (родственный или трупный) не оказывает влияния на частоту его потери и развитие таких осложнений, как

нефрит и острое отторжение. Взаимосвязь вирусного поражения и возраста отмечена в группе нефрита с потерей трансплантата. В прочих группах достоверной связи между возрастом, а также полом и значением артериального давления с морфологическими признаками поражения трансплантата не выявлено.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При наличии клинической либо морфологической картины инфекционного поражения, а также у пациентов из группы риска должно проводиться ИГХ-исследование с антителами к аденовирусу и герпес-вирусам.
2. Рекомендовано использование ПЦР для выявления ДНК ЦМВ в крови в целях раннего выявления и предотвращения развития ЦМВ-болезни в связи с тем, что морфологические проявления нефрита могут быть неспецифическими, а экспрессия ЦМВ в аллотрансплантате отсутствовать.
3. При подозрении на ПВН необходимо проведение ПЦР для выявления вируса в крови и моче, т.к. морфологическая диагностика данной инфекции на ранних стадиях представляет определенные сложности в связи с возможностью очагового поражения паренхимы и отсутствия патогномичных внутриядерных включений на ранних стадиях заболевания.
4. Особое внимание требуется при дифференциальной диагностике пограничных изменений с вирус-индуцированным нефритом без выраженной специфической морфологической картины поражения. Применение антител к Т- и В-лимфоцитам упрощает оценку проникновения лимфоцитов в эпителий канальцев и распространения воспалительного инфильтрата в интерстиции.
5. Отсутствие экспрессии антител к С4d позволяет исключить антителоопосредованное отторжение при дифференциальной диагностике с вирус-индуцированным поражением трансплантата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волынчик Е.П., Каабак М.М., Стенина И.И., Балакирев Э.М., Горяинов В.А. Некоторые аспекты изучения качества жизни реципиентов после трансплантации почки. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009;11(4):26-29. DOI: 10.15825/1995-1191-2009-4-26-29
2. Кабулбаев К.А. Инфекции после трансплантации почки (Обзор литературы). Нефрология и диализ. 2009. 11(4): 293-298
3. Морозова М.М. и др. Динамика морфологических изменений при гуморальном отторжении почечного аллотрансплантата при АВО-несовместимости донора и реципиента. Архив патологии. 2013. 75(5): 19-25. ISSN 0004-1955
4. Мотин Ю.Г., Омельченко О.В., Букий Т.П., Бгатова Н.П., Грызлов А.Ю. Клиническое наблюдение сочетания острого отторжения трансплантата с полиомавирусной нефропатией. Архив патологии. 2017;79(3):42-46. DOI: 10.17116/patol201779342-46
5. Мотин Ю.Г., Омельченко О.В., Лохин Д.Б., Гаппоев С.В., Семенова Е.Н., Прохожев А.Ю., Яковлев В.А., Григоров Е.В., Грызлов А.Ю., Ключев А.Л. Поражение гломерулярного аппарата почки при полиомавирусной нефропатии трансплантата. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2019;21(1):82-87. DOI: 10.15825/1995-1191-2019-1-82-87
6. Сандриков В. А. и др. Ультразвуковое исследование в оценке комбинированной трупной трансплантации панкреатодуоденального комплекса и почки. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2008;(4):17-24 . ISSN 1607-0771
7. Столяревич Е.С., Томилина Н.А. Поздняя дисфункция трансплантированной почки: причины, морфологическая характеристика, подходы к профилактике и лечению. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009;11(3):114-122. DOI: 10.15825/1995-1191-2009-3-114-122

8. Столяревич Е., Артюхина Л., Ким И., Куренкова Л., Томилина Н. Морфологические особенности позднего отторжения трансплантированной почки и их прогностическое значение. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2014;16(2):30-38. DOI: 10.15825/1995-1191-2014-2-30-38
9. Столяревич Е.С. Прокопенко Е.И. Поражение почечного трансплантата при инфекциях различной этиологии (Наблюдения, представленные на клиничко-морфологической конференции, состоявшейся 25.11.2010 г. в Московском городском нефрологическом центре) Нефрология и диализ 2011.13(4): 447-54
10. Столяревич Е.С., Жилинская Т.Р., Артюхина Л.Ю., Ким И.Г., Зайденов В.А., Томилина Н.А. Морфологическая структура патологии почечного аллотрансплантата и ее влияние на отдаленный прогноз. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2018;20(1):45-54. DOI: 10.15825/1995-1191-2018-1-45-54
11. Томилина Н.А. Андрусев А.М. Перегудова Н.Г. Шинкарев М.Б. Заместительная терапия терминальной хронической почечной недостаточности в Российской Федерации в 2010-2015 гг. Отчет по данным Общероссийского Регистра заместительной почечной терапии Российского диализного общества, Часть первая. Нефрология и диализ. 2017;19(4) Приложение: 58. DOI: 10.28996/1680-4422-2017-4suppl-1-95
12. Томилина Н.А., Столяревич Е.С., Ким И.Г., Артюхина Л.Ю. Отдаленные результаты трансплантации почки в аспекте разных вариантов поддерживающей иммуносупрессии. Трансплантология. 2014;(3):6-16.
13. Чухловин А.Б., Эйсмонт Ю.А., Добронравов В.А., Буш М.В., Эмануэль В.Л., Смирнов А.В. Частота и динамика полиомавирусной инфекции после трансплантации почек. Нефрология. 2014;18(4):51-56.
14. Швецова М.А., Пыков М.И., Молчанова Е.А., Каабак М.М. Ультразвуковое исследование почечного аллотрансплантата с

- немедленной первичной функцией у детей в раннем послеоперационном периоде. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2008. 6: 29-37. ISSN 1607-0771
15. Adam B., Randhawa P., Chan S., et al. Banff Initiative for Quality Assurance in Transplantation (BIFQUIT): Reproducibility of polyomavirus immunohistochemistry in kidney allografts. *Am J Transplant.* 2014 Sep;14(9):2137-47. DOI:10.1111/ajt.12794.
 16. Addo M.M, Rosenberg E.S. Cellular immune responses in transplantation-associated chronic viral infections. *Transpl Infect Dis.* 2002 Mar;4(1):31-40. PMID: 12123424 DOI: 10.1034/j.1399-3062.2002.00006.x
 17. Ahuja M, Cohen EP, Dayer AM, et al. Polyoma virus infection after renal transplantation. Use of immunostaining as a guide to diagnosis. *Transplantation* 2001;71(7):896-899. DOI: 10.1097/00007890-200104150-00013
 18. Al-Aly Z., Reddivari V., Moiz A., et al. Renal allograft biopsies in the era of C4d staining: the need for change in the Banff classification system. *Transplant Int* 2008;21(3):268-275. DOI: 10.1111/j.1432-2277.2007.00604.x
 19. Alenazi SF, Almutairi GM, Sheikho MA, Al Alshehri MA, Alaskar BM, Al Sayyari AA. Nonimmunologic Factors Affecting Long-Term Outcomes of Deceased-Donor Kidney Transplant. *Exp Clin Transplant.* 2019 May 14. DOI: 10.6002/ect.2018.0396.
 20. Alpay N., Özçelik Ü., Eren E., Uslu B. Renal Transplantation in High Immunological Risk Patients: A Single-Center Experience. *Transplant Proc.* 2019 Aug 9. pii: S0041-1345(18)31776-7. DOI: 10.1016/j.transproceed.2019.04.075.
 21. Arias L.F, Hernández S., Prats D., Sanchez-Fructoso A., Márques M., Alvarez T., Barrientos A., Blanco J. Epstein-Barr virus latency in kidney specimens from transplant recipients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003; 18 (12): 2638-43. DOI: 10.1093/ndt/gfg430

22. Ashoor, I.F. & Dharnidharka, V.R. Non-immunologic allograft loss in pediatric kidney transplant recipients. *Pediatr Nephrol* (2019) 34: 211. DOI:10.1007/s00467-018-3908-4
23. Azevedo L.S., Pierrotti L.C., Abdala E., Costa S.F., Strabelli T.M., Campos S.V., Ramos J.F., Latif A.Z., Litvinov N., Maluf N.Z., Caiaffa Filho H.H., Pannuti C.S., Lopes M.H., Santos V.A., Linardi Cda C., Yasuda M.A., Marques H.H. Cytomegalovirus infection in transplant recipients. *Clinics (Sao Paulo)*. 2015; 70(7): 515–523.
24. Bae SH, Chung BH, Park YK, Jo K, Yang CW, Kim YS, Choi BS. Cytomegalovirus induced interstitial nephritis and ureteral stenosis in renal transplant recipient. *Korean J Intern Med*. 2012 Dec;27(4):470-473. DOI: 10.3904/kjim.2012.27.4.470.
25. Balba GP, Javaid B, Timpone JG Jr. BK polyomavirus infection in the renal transplant recipient. *Infect Dis Clin North Am*. 2013 Jun;27(2):271-83. DOI: 10.1016/j.idc.2013.02.002. Epub 2013 Apr 17.
26. Batal I., Zainah H., Stockhausen S., et al. The significance of renal C4d staining in patients with BK viruria, viremia, and nephropathy. *Mod Pathol* 2009;22(11):1468-1476. DOI: 10.1038/modpathol.2009.118
27. Berg U.B., Bohlin A.B., Tydén G. Influence of donor and recipient ages and sex on graft function after pediatric renal transplantation. *Transplantation* 1997; 64(10):1424-8 DOI: 10.1097/00007890-199711270-00008
28. Bil-Lula I., Woźniak M. Co-infection with human polyomavirus BK enhances gene expression and replication of human adenovirus. *Arch Virol*. 2018;163(7):1841-1849. DOI: 10.1007/s00705-018-3810-1.
29. Blazquez-Navarro A., Schachtner T., Stervbo U., Sefrin A., Stein M., Westhoff T.H., Reinke P., Klipp E., Babel N., Neumann A.U., Or-Guil M. Differential T cell response against BK virus regulatory and structural antigens: A viral dynamics modelling approach. *PLoS Comput Biol*. 2018 May 10;14(5):e1005998. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005998.

30. Boan P, Hewison C, Swaminathan R, Irish A, Warr K, Sinniah R, Pryce TM, Flexman J. Optimal use of plasma and urine BK viral loads for screening and predicting BK nephropathy. *BMC Infect Dis.* 2016 Jul 22;16:342. DOI: 10.1186/s12879-016-1652-6.
31. Böhmig GA, Exner M, Habicht A, et al. Capillary C4d deposition in kidney allografts: A specific marker of alloantibody-dependent graft injury. *J Am Soc Nephrol* 2002 Apr;13(4):1091-9. PMID: 11912271.
32. Bouatou Y., Viglietti D., Pievani D., Louis K., Duong Van Huyen JP, Rabant M., Aubert O, Taupin JL, Glotz D, Legendre C., Loupy A, Lefaucheur C. Response to treatment and long-term outcomes in kidney transplant recipients with acute T cell-mediated rejection. *Am J Transplant.* 2019 Jul;19(7):1972-1988. DOI: 10.1111/ajt.15299.
33. Buchmann TN, Wolff T, Bachmann A, et al. Repeat true surveillance biopsies in kidney transplantation. *Transplantation* 2012;93(9):908-913.
34. Carratalà J, Montejo M, Pérez-Romero P. Infections caused by herpes viruses other than cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30 Suppl 2:63-9. DOI: 10.1016/S0213-005X(12)70084-8.
35. Cecka JM. The OPTN/UNOS Renal Transplant Registry 2003. *Clin Transpl* 2003:1-12.
36. Chikeka IO, Paulk A, Haririan A, Papadimitriou JC, Drachenberg CB. Concurrent cytomegalovirus glomerulitis and BK polyomavirus-associated nephropathy in a kidney allograft. *Transpl Infect Dis.* 2016 Apr;18(2):247-50. DOI: 10.1111/tid.12498.
37. Comoli P., Hirsch HH, Ginevri F. Cellular immune responses to BK virus. *Current Opin Organ Transplant* 2008;13(6):569-574. DOI: 10.1097/MOT.0b013e3283186b93
38. Cordero E., Casasola C., Ecarma R., Danguilan R. Cytomegalovirus disease in kidney transplant recipients: incidence, clinical profile, and risk factors.

- Transplant Proc. 2012 Apr;44(3):694-700. DOI: 10.1016/j.transproceed.2011.11.053.
39. Crespo M., Pascual M., Tolkoff-Rubin N., et al. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation* 2001;71(5):652-658. PMID: 11856785
40. Cukuranovic J., Ugrenovic S., Jovanovic I., Visnjic M., Stefanovic V. Viral infection in renal transplant recipients. *The Scientific World Journal* 2012; 2012: 1-18. DOI: 10.1100/2012/820621
41. Dabbs D.J., eds. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*, 4th edition; Churchill Livingstone Elsevier, USA, 2014: 56-62.
42. Davies J.K, Koh M.B, Lowdell M.W. Antiviral immunity and T-regulatory cell function are retained after selective alloreactive T-cell depletion in both the HLA-identical and HLA-mismatched settings. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2004;10(4):259-68. DOI: 10.1016/j.bbmt.2003.12.001
43. Dawood U.S., Nelson A, Wu D., Otto S., Russ G.R. Disseminated adenovirus infection in kidney transplant recipient. *Nephrology (Carlton)*. 2014;19 Suppl 1:10-3. DOI: 10.1111/nep.12192.
44. De Paolis P, Gervasio E, Tedesco M, Favaro' A, Iappelli M, Di Giulio S. Cytomegalovirus and BK polyomavirus infection after renal transplantation. *G Ital Nefrol.* 2009 Mar-Apr;26 Suppl 45:S46-53. PMID: 19382094
45. Dharnidharka VR, Lamb KE, Zheng J, Schechtman KB, Meier-Kriesche HU. Lack of significant improvements in long-term allograft survival in pediatric solid organ transplantation: A US national registry analysis. *Pediatr Transplant.* 2015 Aug;19(5):477-83. DOI: 10.1111/petr.12465.
46. Drachenberg CB, Hirsch HH, Papadimitriou JC, Gosert R, Wali RK, Munivenkatappa R, Nogueira J, Cangro CB, Haririan A, Mendley S, Ramos E. Polyomavirus BK versus JC replication and nephropathy in renal transplant recipients: a prospective evaluation. *Transplantation.* 2007 Aug 15;84(3):323-30. DOI: 10.1097/01.tp.0000269706.59977.a5

47. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hirsch HH, Wali R, Crowder C, Nogueira J, Cangro CB, Mendley S, Mian A, Ramos E. Histological patterns of polyomavirus nephropathy: correlation with graft outcome and viral load. *Am J Transplant.* 2004 Dec;4(12):2082-92. DOI: 10.1046/j.1600-6143.2004.00603.x
48. Drachenberg C.B., Beskow C.O., Cangro C.B., Bourquin P.M., Simsir A., Fink J., Weir M.R., Klassen D. K., Bartlett S.T., Papadimitriou J.C. Human Polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology. *Human Pathology.* 1999; 30(8):970–77. DOI: 10.1016/s0046-8177(99)90252-6
49. Drachenberg C.B., Papadimitriou J.C., Ramos E. Histologic versus molecular diagnosis of BK polyomavirus – associated nephropathy: a shifting paradigm? *Clin. J. Am. Soc.Nephrol.* 2006; 1(3): 374 –379. DOI: 10.2215/CJN.02021205
50. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Wali R, et al. BK polyoma virus allograft nephropathy: ultrastructural features from viral cell entry to lysis. *Am J Transplant* 2003;3(11):1383-1392. DOI: 10.1046/j.1600-6135.2003.00237.x
51. Echavarría M. Adenoviruses in immunocompromised hosts. *Clin.Microbiol. Rev.* 2008; 21(4):704-15. DOI: 10.1128/CMR.00052-07
52. Engen R.M., Huang M.L., Park G.E., Smith J.M., Limaye A.P. Prospective Assessment of Adenovirus Infection in Pediatric Kidney Transplant Recipients. *Transplantation.* 2018;102(7):1165-1171. DOI: 10.1097/TP.0000000000002100.
53. Filippone EJ, McCue PA, Farber JL. Transplant glomerulopathy. *Mod Pathol.* 2018 Feb;31(2):235-252. DOI: 10.1038/modpathol.2017.123.
54. Florescu D.F., Schaenman J.M.; AST Infectious Diseases Community of Practice. Adenovirus in solid organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* 2019 Mar 12:e13527. DOI: 10.1111/ctr.13527.

55. Florescu M.C., Miles C.D., Florescu D.F. What do we know about adenovirus in renal transplantation? *Nephrol. Dial. Transplant.* 2013; 28(8):2003-10. DOI: 10.1093/ndt/gft036
56. Fusaro F, Murer L, Busolo F, Rigamonti W, Zanon GF, Zacchello G. CMV and BKV ureteritis: which prognosis for the renal graft? *J Nephrol.* 2003 Jul-Aug;16(4):591-4. PMID: 14696764
57. Gavin P.J., Katz BZ. Intravenous ribavirin treatment for severe adenovirus disease in immunocompromised children. *Pediatrics.* 2002;110(1 Pt 1):e9. DOI: 10.1542/peds.110.1.e9
58. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, et al. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant* 2007;7(9):2124-2132. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.01895.x
59. Grellier J., Hirsch H.H., Mengelle C., Esposito L., Hebral A.L., Bellière J., Weissbach F., Izopet J., Del Bello A., Kamar N. Impact of donor BK polyomavirus replication on recipient infections in living donor transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2018 Aug;20(4):e12917. DOI: 10.1111/tid.12917.
60. Guilbert M, Latour M, Fortin M, et al. Biopsy proven polyoma-JC associated nephropathy eleven years after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2012;23(Abstract Suppl):882A.
61. Günay E., Çelebi T., Şen S., Aşçı G., Sarsik Kumbaraci B., Gökalp C., Yılmaz M., Töz H. Investigation of the Factors Affecting Allograft Kidney Functions: Results of 10 Years. *Transplant Proc.* 2019 May;51(4):1082-1085. DOI: 10.1016/j.transproceed.2019.02.014. Epub 2019 Feb 21.
62. Haas M. Chronic allograft nephropathy or interstitial fibrosis and tubular atrophy: what is in a name? *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2014 May;23(3):245-50. DOI: 10.1097/01.mnh.0000444811.26884.2d.
63. Haas M.. The Revised (2013) Banff Classification for Antibody-Mediated Rejection of Renal Allografts: Update, Difficulties, and Future

- Considerations. *Am J Transplant.* 2016 May;16(5):1352-7. DOI: 10.1111/ajt.13661.
64. Haas M., Kraus ES, Samaniego-Picota M, Racusen LC, Ni W, Eustace JA. Acute renal allograft rejection with intimal arteritis: Histologic predictors of response to therapy and graft survival. *Kidney Int.* 2002 Apr;61(4):1516-26. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2002.00254.x
65. Halloran PF, Pereira AB, Chang J, et al. Microarray diagnosis of antibody-mediated rejection in kidney transplant biopsies: An international prospective study (INTERCOM). *Am J Transplant.* 2013 Nov;13(11):2865-74. DOI: 10.1111/ajt.12465.
66. Halloran PF, Reeve JP, Pereira AB, Hidalgo LG, Famulski KS. Antibody-mediated rejection, T cell-mediated rejection, and the injury-repair response: New insights from the Genome Canada studies of kidney transplant biopsies. *Kidney Int.* 2014 Feb;85(2):258-64. DOI: 10.1038/ki.2013.300.
67. Hamada AM, Yamamoto I, Kawabe M, Katsumata H, Yamakawa T, Katsuma A, Nakada Y, Kobayashi A, Koike Y, Miki J, Yamada H, Kimura T, Tanno Y, Ohkido I, Tsuboi N, Yamamoto H, Yokoo T. Clinicopathological features and outcomes of kidney allografts in plasma cell-rich acute rejection: A case series. *Nephrology (Carlton).* 2018 Jul;23 Suppl 2:22-26. DOI: 10.1111/nep.13277.
68. Hara S. Cell mediated rejection revisited: Past, current, and future directions. *Nephrology (Carlton).* 2018 Jul;23 Suppl 2:45-51. DOI: 10.1111/nep.13283.
69. Hara S. Current pathological perspectives on chronic rejection in renal allografts. *Clin Exp Nephrol.* 2017 Dec;21(6):943-951. DOI: 10.1007/s10157-016-1361-x.
70. Hebert SA, Swinford RD, Hall DR, Au JK, Bynon JS. Special Considerations in Pediatric Kidney Transplantation. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2017 Nov;24(6):398-404. DOI: 10.1053/j.ackd.2017.09.009.

71. Herzenberg AM, Gill JS, Djurdjev O, et al. C4d deposition in acute rejection: an independent long-term prognostic factor. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(1):234-41. PMID: 11752043
72. Hirohashi T, Chase CM, Della Pelle P, et al. A novel pathway of chronic allograft rejection mediated by NK cells and alloantibody. *Am J Transplant* 2012;12(2):313-321. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03836.x
73. Hirsch HH, Vincenti F, Friman S, Tuncer M, Citterio F, Wiecek A, et al. Polyomavirus BK replication in de novo kidney transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine: a prospective, randomized, multicenter study. *Am J Transplant*. 2013;13(1): 136–145. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2012.04320.x
74. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP, Mihatsch MJ, Nickleit V, Ramos E, Randhawa P, Shapiro R, Steiger J, Suthanthiran M, Trofe J. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation*. 2005 May 27;79(10):1277-86. DOI: 10.1097/01.tp.0000156165.83160.09
75. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, Steiger J. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med*. 2002 Aug 15;347(7):488-96. DOI: 10.1056/NEJMoa020439
76. Hirsch HH, Randhawa P; AST Infectious Diseases Community of Practice. BK polyomavirus in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013 Mar;13 Suppl 4:179-88. DOI: 10.1111/ajt.12110.
77. Hirsch HH, Ramos E. Retransplantation after polyomavirus-associated nephropathy: just do it? *Am J Transplant* 2006;6:7-9. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2005.01171.x
78. Hirsch HH, Drachenberg CB, Steiger J, et al. Polyomavirus associated nephropathy in renal transplantation: critical issues of screening and

- management. *Adv Exp Med Biol.* 2006;577:160-73. DOI: 10.1007/0-387-32957-9_11
79. Hirsch HH, Knowles W., Dickenmann M, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002;347(7):488-496. DOI: 10.1056/NEJMoa020439
80. Hoffman J.A. Adenovirus infections in solid organ transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant.* 2009;14(6):625-33. DOI: 10.1097/MOT.0b013e3283324e1b.
81. Hoffman J.A. Adenoviral disease in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatr Transplant.* 2006;10(1):17-25. DOI: 10.1111/j.1399-3046.2006.00427.x
82. Horita S, Nitta K, Kawashima M, et al. C4d deposition in the glomeruli and peritubular capillaries associated with transplant glomerulopathy. *Clin Transplant.* 2003 Aug;17(4):325-30. PMID: 12868988.
83. International Registry in Organ Donation and Transplantation Preliminary Numbers 2018. IRODaT Newsletter 2018 - March 2019 www.irodat.org
84. Ison M.G. Adenovirus infections in transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 43 (3): 331-339. DOI: 10.1086/505498
85. Issa N, Cosio FG, Gloor JM, et al. Transplant glomerulopathy: risk and prognosis related to anti-human leukocyte antigen class II antibody levels. *Transplantation* 2008;86(5):681-685. DOI: 10.1097/TP.0b013e3181837626
86. Jennette J.C., Olson J.L., Silva F.G., D'Agati V.D., eds. *Heptinstall's pathology of the kidney 7th Edition*; Philadelphia: Wolters Kluwer; 2014: 1422-38, 1456-1460.
87. Jeong HJ, Hong SW, Sung SH, et al. Polyomavirus nephropathy in renal transplantation: a clinico-pathological study. *Transplant Int* 2003;16(9):671-675.

88. Karuthu Shamila, Emily A. Blumberg. Common Infections in Kidney Transplant Recipients. *CJASN* Dec 2012, 7 (12) 2058-2070; DOI: 10.2215/CJN.04410512
89. Karim A.; Farrugia D.; Cheshire J.; Mahboob S.; Begaj I; Ray D; Sharif A. Recipient Age and Risk for Mortality After Kidney Transplantation in England. *Transplantation*. 2014;97(8): 832–838 DOI: 10.1097/01.TP.0000438026.03958.7b
90. Knoll GA. Kidney transplantation in the older adult. *Am J Kidney Dis*. 2013 May;61(5):790-7. DOI: 10.1053/j.ajkd.2012.08.049.
91. Koo DD, Roberts IS, Quiroga I, et al. C4d deposition in early renal allograft protocol biopsies. *Transplantation*. 2004 Aug 15;78(3):398-403. DOI: 10.1097/01.tp.0000128328.68106.54
92. Kosulin K. Intestinal HAdV Infection: Tissue Specificity, Persistence, and Implications for Antiviral Therapy. *Viruses*. 2019 Aug 30;11(9). pii: E804. DOI: 10.3390/v11090804.
93. Kozakowski N., Regele H. Biopsy diagnostics in renal allograft rejection: from histomorphology to biological function. *Transpl Int*. 2009 Oct;22(10):945-53. DOI: 10.1111/j.1432-2277.2009.00885.x.
94. Kozłowski T., Nিকেleit V., Andreoni K. Donor-transmitted adenovirus infection causing kidney allograft nephritis and graft loss. *Transpl Infect Dis* 2011;13(2):168-173. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2010.00572.x
95. Kute V.B., Vanikar A. V., Shah P.R, Gumber M.R., Patel H.V., Modi P. R., Rizvi S.J., Shah V.R., Modi M.P, Kanodia K.V., Trivedi H.L.. Outcome of live and deceased donor renal transplantation in patients aged ≥ 55 years: A single-center experience. *Indian J Nephrol*. 2014 Jan-Feb; 24(1): 9–14. DOI: 10.4103/0971-4065.125049
96. Lachiewicz A.M., Cianciolo R., Miller M.B., Derebail V.K. Adenovirus causing fever, upper respiratory infection, and allograft nephritis complicated by persistent asymptomatic viremia. *Transpl Infect Dis*. 2014;16(4):648-52. DOI: 10.1111/tid.12248.

97. Lee B., Park E., Ha J., Ha I.S., Il Cheong H., Kang H.G. Disseminated adenovirus infection in a 10-year-old renal allograft recipient. *Kidney Res Clin Pract.* 2018;37(4):414-417. DOI: 10.23876/j.krcp.18.0048.
98. Leboeuf C., Wilk S., Achermann R., Binet I. et al. BK Polyomavirus-Specific 9mer CD8 T Cell Responses Correlate With Clearance of BK Viremia in Kidney Transplant Recipients: First Report From the Swiss Transplant Cohort Study. *American Journal of Transplantation.* 2017, vol. 17, no. 10, p. 2591-2600 DOI: 10.1111/ajt.14282
99. Lefaucheur C., Gosset C., Rabant M., Viglietti D., Verine J., Aubert O., Louis K., Glotz D., Legendre C., Duong Van Huyen JP, Loupy A. T cell-mediated rejection is a major determinant of inflammation in scarred areas in kidney allografts. *Am J Transplant.* 2018 Feb;18(2):377-390. DOI: 10.1111/ajt.14565.
100. Lefaucheur C., Loupy A., Vernerey D., et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: A population-based study. *Lancet* 2013 Jan 26;381(9863):313-9. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61265-3.
101. Lorentzen EM, Henriksen S, Kaur A, Kro GB, Hammarström C, Hirsch H, Midtvedt K, Rinaldo C. Early fulminant BK polyomavirus-associated nephropathy in two kidney transplant patients with low neutralizing antibody titers receiving allografts from the same donor. *Virol J.* 2020 Jan 10;17(1):5. DOI: 10.1186/s12985-019-1275-9.
102. Li P., Cheng D., Wen J., Xie K., Li X., Ni X., Ji S., Chen J. Risk factors for BK virus infection in living-donor renal transplant recipients: a single-center study from China. *Ren Fail.* 2018 Nov;40(1):442-446. DOI: 10.1080/0886022X.2018.1489843.
103. Liapis H, Gaut JP, Klein C, et al. Banff histopathological consensus criteria for pre-implantation kidney biopsies. *Am J Transplant.* 2017 Jan;17(1):140-150. DOI: 10.1111/ajt.13929.

104. Lion T. Adenovirus persistence, reactivation, and clinical management. *FEBS Lett.* 2019 Aug 14. DOI: 10.1002/1873-3468.13576.
105. Lodhi SA, Lamb KE, Meier-Kriesche HU. Solid organ allograft survival improvement in the United States: the long-term does not mirror the dramatic short-term success. *Am J Transplant.* 2011 Jun;11(6):1226-35. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03539.x.
106. Lopez S.M.C., Michaels M.G., Green M. Adenovirus infection in pediatric transplant recipients: are effective antiviral agents coming our way? *Curr Opin Organ Transplant.* 2018;23(4):395-399. DOI: 10.1097/MOT.0000000000000542.
107. Lorenz M., Regele H., Schillinger M., et al. Risk factors for capillary C4d deposition in kidney allografts: evaluation of a large study cohort. *Transplantation* 2004;78(3):447-452. DOI: 10.1097/01.tp.0000128344.94808.03
108. Loupy A., Haas M. Solez K., Racusen L., Glotz D., Seron D, Nankivell BJ, Colvin RB, Afrouzian M, Akalin E0, Alachkar N, Bagnasco S, Becker JU, Cornell L, Drachenberg C, Dragun D, de Kort H, Gibson IW, Kraus ES, Lefaucheur C, Legendre C, Liapis H, Muthukumar T, Nিকেleit V, Orandi B, Park W, Rabant M, Randhawa P, Reed EF, Roufosse C, Seshan SV, Sis B, Singh HK, Schinstock C, Tambur A, Zeevi A, Mengel M. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology. *Am J Transplant.* 2017 Jan;17(1):28-41. DOI: 10.1111/ajt.14107.
109. Loupy A., Vernerey D., Tinel C., et al. Subclinical rejection phenotypes at 1 year post-transplant and outcome of kidney allografts. *J Am Soc Nephrol.* 2015 Jul;26(7):1721-31. DOI: 10.1681/ASN.2014040399.
110. Lynch J.P., Kajon A.E. Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Semin Respir Crit Care Med.* 2016;37(4):586-602. DOI: 10.1055/s-0036-1584923.

111. Malik O., Saleh S., Suleiman B., Ashqar B., Maibam A., Yaseen M., Elrefaei A., Hines A., Cornea V., El-Husseini A., Mei X., Gedaly R., Castellanos AL, Waid T. Prevalence, Risk Factors, Treatment, and Overall Impact of BK Viremia on Kidney Transplantation. *Transplant Proc.* 2019;51(6):1801-1809. DOI: 10.1016/j.transproceed.2019.03.035.
112. Mannon RB, Matas AJ, Grande J, et al. Inflammation in areas of tubular atrophy in kidney allograft biopsies: A potent predictor of allograft failure. *Am J Transplant.* 2010 Sep;10(9):2066-73. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03240.x.
113. Mannon RB, Hoffmann SC, Kampen RL, et al. Molecular evaluation of BK polyomavirus nephropathy. *Am J Transplant* 2005;5(12):2883-2893. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2005.01096.x
114. Marfo K., Lu A., Ling M., et al. Desensitization protocols and their outcome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6(4):922-936. DOI: 10.2215/CJN.08140910
115. Margaret L. Gulley, Weihua Tang . Using Epstein-Barr viral load assays to diagnose, monitor, and prevent Posttransplant Lymphoproliferative Disorder. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010; 23(2): 350-366. DOI: 10.1128/CMR.00006-09.
116. Martín-Dávila P., Fortún Abete J. Cytomegalovirus infection in kidney transplant patients: what is the best way to prevent it? *Nefrología* 2008; 28 (3): 253-256. PMID: 18590490
117. Martins PN, Pratschke J., Pascher A., et al. Age and immune response in organ transplantation. *Transplantation.* 2005;27;79(2):127-32. DOI: 10.1097/01.tp.0000146258.79425.04
118. Masutani K. Viral infections directly involved in kidney allograft function. *Nephrology (Carlton).* 2018;23 Suppl 2:31-37. DOI: 10.1111/nep.13285.

119. Mauiyyedi S, Crespo M, Collins AB, et al. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. *J Am Soc Nephrol.* 2002 Mar;13(3):779-87. PMID: 11856785
120. Mayr M., Nickeleit V., Hirsch HH, et al. Polyomavirus BK nephropathy in a kidney transplant recipient: critical issues of diagnosis and management. *Am J Kidney Dis* 2001;38(3):E13. DOI: 10.1053/ajkd.2001.26917
121. McGilvray I.D., Lajoie G., Humar A., Cattral M.S. Polyomavirus infection and acute vascular rejection in a kidney allograft: coincidence or mimicry. *Am. J. Transplant.* 2003; 3(4): 501-504. DOI:10.1034/j.1600-6143.2003.00066
122. McGregor SM, Chon WJ, Kim L, Chang A, Meehan SM. Clinical and pathological features of kidney transplant patients with concurrent polyomavirus nephropathy and rejection-associated endarteritis. *World J Transplant.* 2015;5(4):292-299. DOI:10.5500/wjt.v5.i4.292
123. Meehan SM, Kadambi PV, Manaligod JR, Williams JW, Josephson MA, Javaid B. Polyoma virus infection of renal allografts: relationships of the distribution of viral infection, tubulointerstitial inflammation, and fibrosis suggesting viral interstitial nephritis in untreated disease. *Hum Pathol.* 2005;36(12):1256-1264. DOI:10.1016/j.humpath.2005.08.026
124. Mehta V., Chou P.C., Picken M.M. Adenovirus disease in six small bowel, kidney and heart transplant recipients; pathology and clinical outcome. *Virchows Arch.* 2015;467(5):603-8. DOI: 10.1007/s00428-015-1846-0.
125. Menter T., Mayr M., Schaub S., et al. Pathology of resolving polyomavirus-associated nephropathy. *Am J Transplant* 2013;13(6): 1474-1483. DOI: 10.1111/ajt.12218
126. Meijer E, Cornelissen JJ. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: molecular monitoring and early treatment of high-risk

- patients. *Curr Opin Hematol.* 2008 Nov;15(6):576-85. DOI: 10.1097/MOH.0b013e328311f438.
127. Mengel M., Sis B., Halloran PF. SWOT analysis of Banff: strengths, weaknesses, opportunities and threats of the international Banff consensus process and classification system for renal allograft pathology. *Am J Transplant.* 2007 Oct;7(10):2221-6. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.01924.x
128. Mengel M,Reeve J,Bunnag S, et al.Scoring total inflammation is superior to the current Banff inflammation score in predicting outcome and the degree of molecular disturbance in renal allografts.*Am J Transplant.* 2009 Aug;9(8):1859-67. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02727.x.
129. Menter T, Mayr M, Schaub S, Mihatsch MJ, Hirsch HH, Hopfer H. Pathology of resolving polyomavirus-associated nephropathy. *Am J Transplant.* 2013;13(6):1474-1483. DOI:10.1002/ajt.12218
130. Mező B., Heilos A., Böhmig GA, Eskandary F., Wahrmann M., Bond G., Kozakowski N., et al. Complement Markers in Blood and Urine: No Diagnostic Value in Late Silent Antibody-Mediated Rejection.*Transplant Direct.* 2019 Jun 27;5(7):e470. DOI: 10.1097/TXD.0000000000000915.
131. Mindlova M., Boucek P., Saudek F., et al. Kidney retransplantation following graft loss to polyoma virus-associated nephropathy: an effective treatment option in simultaneous pancreas and kidney transplant recipients. *Transplant Int* 2008;21(4):353-356. DOI: 10.1111/j.1432-2277.2007.00620.x
132. Morgantetti GF, Balancin ML, de Medeiros GA, Dantas M, Silva GEB. Cytomegalovirus infection in kidney allografts: a review of literature. *Transl Androl Urol.* 2019 May;8(Suppl 2):S192-S197. DOI: 10.21037/tau.2018.10.14.
133. Morrissey PE, Reinert S, Yango A, et al. Factors contributing to acute rejection in renal transplantation: the role of noncompliance. *Transplant Proc* 2005;37(5):2044-2047. DOI: 10.1016/j.transproceed.2005.03.017

134. Mowry SE, Strocker AM, Chan J, Takehana C, Kalantar N, Bhuta S, Shapiro NL. Immunohistochemical analysis and Epstein-Barr virus in the tonsils of transplant recipients and healthy controls. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008 Sep;134(9):936-9. DOI: 10.1001/archotol.134.9.936.
135. Nafar M., Kalantari S., Omrani MD, Samavat S., Arsang-Jang S., Taheri M., Ghafouri-Fard S. Suppressor of cytokine signaling genes in renal transplant receivers: Association with transplant fate. *Transpl Immunol.* 2019 Oct;56:101228. DOI: 10.1016/j.trim.2019.101228.
136. Nanmoku K., Ishikawa N., Kurosawa A., Shimizu T., Kimura T., Miki A., Sakuma Y., Yagisawa T. Clinical characteristics and outcomes of adenovirus infection of the urinary tract after renal transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2016;18(2):234-9. DOI: 10.1111/tid.12519.
137. Nemati .E, Einollahi B., Lesan Pezeshki M., Porfarziani V., Fattahi MR. Does kidney transplantation with deceased or living donor affect graft survival? *Nephrourol Mon.* 2014 Jul 5;6(4):e12182. DOI: 10.5812/numonthly.12182.
138. Neugarten J., Kasiske B., Silbiger SR, Nyengaard JR. Effects of sex on renal structure. *Nephron.* 2002;90(2):139-44. DOI: 10.1159/000049033
139. Neugarten J. Gender and progression of renal disease. *JASN* November 2002, 13 (11) 2807-2809; DOI: 10.1097/01.ASN.0000035846.89753.D4
140. Nিকেলেইট V., Singh HK. Polyomaviruses and disease: is there more to know than viremia and viruria? *Curr Opin Organ Transplant.* 2015 Jun;20(3):348-58. DOI: 10.1097/MOT.0000000000000192.
141. Nিকেলেইট V., Singh HK, Mihatsch MJ. Polyomavirus nephropathy: morphology, pathophysiology, and clinical management. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003 Nov;12(6):599-605. DOI: 10.1097/01.mnh.0000098765.18213.06
142. Nিকেলেইট V., Singh HK, Randhawa P., Drachenberg CB, Bhatnagar R., Bracamonte E., Chang A., Chon WJ, Dadhania D., Davis VG, Hopfer H.,

- Mihatsch MJ, Papadimitriou JC, Schaub S., Stokes MB, Tungekar MF, Seshan SV; Banff Working Group Polyomavirus Nephropathy. The Banff Working Group Classification of Definitive Polyomavirus Nephropathy: Morphologic Definitions and Clinical Correlations. *J Am Soc Nephrol*. 2018 Feb;29(2):680-693. DOI: 10.1681/ASN.2017050477.
143. Nicleleit V., Hirsch HH, Zeiler M., et al. BK-virus nephropathy in renal transplants-tubular necrosis, MHC-class II expression and rejection in a puzzling game. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(3):324-332. DOI: 10.1093/ndt/15.3.324
144. Nicleleit V., Klimkait T., Binet IF, et al. Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy. *N Engl J Med* 2000;342(18):1309-1315. DOI: 10.1056/NEJM200005043421802
145. Nicleleit V., Zeiler M., Gudat F., et al. Detection of the complement degradation product C4d in renal allografts: diagnostic and therapeutic implications. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(1):242-251. PMID: 11752044
146. Nicleleit V., Andreoni K. The classification and treatment of antibody-mediated renal allograft injury: where do we stand? *Kidney Int* 2007; 71(1):7-11. DOI: 10.1038/sj.ki.5002003
147. Nicleleit V., Singh HK, Mihatsch MJ. Polyomavirus nephropathy: morphology, pathophysiology, and clinical management. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003;12:599-605 DOI: 10.1097/00041552-200311000-00005
148. Nicleleit V., Mihatsch MJ. Polyomavirus allograft nephropathy and concurrent acute rejection: a diagnostic and therapeutic challenge. *Am J Transplant* 2004;4(5):838-839. PMID: 15084184
149. Nicleleit V., Steiger J., Mihatsch MJ. BK virus infection after kidney transplantation. *Graft* 2002;5(December Suppl):46-57.
150. Obeid K.M. Infections with DNA Viruses, Adenovirus, Polyomaviruses, and Parvovirus B19 in Hematopoietic Stem Cell Transplant

- Recipients and Patients with Hematologic Malignancies. *Infect Dis Clin North Am.* 2019;33(2):501-521. DOI: 10.1016/j.idc.2019.02.005.
151. Øien, Cecilia Montgomery; Reisæter, Anna Varberg; Leivestad, Torbjørn; Dekker, Friedo W.; Line, Pål Dag; Os, Ingrid. Living Donor Kidney Transplantation: The Effects of Donor Age and Gender on Short- and Long-Term Outcomes. *Transplantation.* 2007;83(5): 600-606. DOI: 10.1097/01.tp.0000255583.34329.dd
152. Parasuraman R.,Zhang P.L., Samarapungavan D., Rocher L.,Koffron A. Severe necrotizing Adenovirus tubulointerstitial nephritis in a kidney transplant recipient. *Case Rep. Transplant.* 2013; 2013: 969186. DOI: 10.1155/2013/969186
153. Peabody J., Billings P., Valdenor C., Demko Z., Moshkevich S., Paculdo D., Tran M. Variation in Assessing Renal Allograft Rejection: A National Assessment of Nephrology Practice.*Int J Nephrol.* 2019 May 13;2019:5303284. DOI: 10.1155/2019/5303284. eCollection 2019.
154. Petrogiannis-Haliotis T, Sakoulas G, Kirby J, et al. BK-related polyomavirus vasculopathy in a renal-transplant recipient. *N Engl J Med* 2001;345(17):1250-55. DOI: 10.1056/NEJMoa010319
155. Pettengill M.A., Babu T.M., Prasad P., Chuang S., Drage M.G., Menegus M., Lamson D.M., Lu X, Erdman D, Pecora N. Probable Donor-Derived Human Adenovirus Type 34 Infection in 2 Kidney Transplant Recipients From the Same Donor. *Open Forum Infect Dis.* 2018;26;6(3):ofy354. DOI: 10.1093/ofid/ofy354.
156. Pollinger HS, Stegall MD, Gloor JM, et al. Kidney transplantation in patients with antibodies against donor HLA class II. *Am J Transplant* 2007;7(4):857-863. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2006.01699.x
157. Prommool S., Jhangri GS, Cockfield SM, Halloran PF. Time dependency of factors affecting renal allograft survival. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11(3):565-73. PMID: 10703681.

158. 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 Jun;3(6):708-14. DOI: 10.1034/j.1600-6143.2003.00072.x.
159. Rady K., Walters G., Brown M., Talaulikar G. Allograft adenovirus nephritis. *Clin Kidney J*. 2014;7(3):289-92. DOI: 10.1093/ckj/sfu020.
160. Ramos E., Vincenti F., Lu WX, et al. Retransplantation in patients with graft loss caused by polyoma virus nephropathy. *Transplantation* 2004;77(1):131-133 DOI: 10.1097/01.TP.0000095898.40458.68
161. Raymond P. Stowe, M. Kristen Peek, Malcolm P. Cutchin, and James S. Goodwin. Reactivation of Herpes Simplex Virus Type 1 is Associated with Cytomegalovirus and Age. *J Med Virol*. 2012 Nov; 84(11): 1797–1802. DOI: 10.1002/jmv.23397
162. Razonable R.R., Paya C.V. Herpesvirus infections in transplant recipients: current challenges in the clinical management of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infections. *Herpes*. 2003 Dec;10(3):60-5. PMID: 14759337
163. Reischig T, Kacer M, Hes O, Machova J, Nemcova J, Kormunda S, Pivovarcikova K, Bouda M. Viral load and duration of BK polyomavirus viraemia determine renal graft fibrosis progression: histologic evaluation of late protocol biopsies. *Nephrol Dial Transplant*. 2019 Apr 9. pii: gfz061. DOI: 10.1093/ndt/gfz061.
164. Reischig T., Jindra P., Hes O., Bouda M, Kormunda S., Treska V. Effect of cytomegalovirus viremia on subclinical rejection or interstitial fibrosis and tubular atrophy in protocol biopsy at 3 months in renal allograft recipients managed by preemptive therapy or antiviral prophylaxis. *Transplantation*. 2009 Feb 15;87(3):436-44. DOI: 10.1097/TP.0b013e318192ded5.
165. Reischig T., Jindra P., Svecová M., Kormunda S., Opatrný K Jr, Treska V. The impact of cytomegalovirus disease and asymptomatic

- infection on acute renal allograft rejection. *J Clin Virol.* 2006 Jun;36(2):146-51. DOI: 10.1016/j.jcv.2006.01.015
166. Requião-Moura LR, deMatos AC, Pacheco-Silva A. Cytomegalovirus infection in renal transplantation: clinical aspects, management and the perspectives. *Einstein (Sao Paulo).* 2015 Jan-Mar;13(1):142-8. DOI: 10.1590/S1679-45082015RW3175.
167. Ribeiro A, Wornle M, Motamedi N, et al. Activation of innate immune defense mechanisms contributes to polyomavirus BK-associated nephropathy. *Kidney International* 2012;81(1):100-111. DOI: 10.1038/ki.2011.311
168. Rocholl C., Gerber K., Daly J., Pavia A.T., Byington C.L. Adenoviral infections in children: the impact of rapid diagnosis. *Pediatrics.* 2004;113(1):51-56. DOI: 10.1542/peds.113.1.e51
169. Rodríguez Cubillo B, Pérez Flores I, Calvo N, Pascual A, Cortés JA, Moreno MA, Blanco J, Sánchez Fructuoso A. Antibody-Mediated Acute Vascular Rejection of Kidney Allografts: Fifteen-Year Follow-up. *Transplant Proc.* 2016 Nov;48(9):2917-2919. DOI: 10.1016/j.transproceed.2016.09.015.
170. Roufosse C.; Simmonds N.; Clahsen-van Groningen M. Haas M.; Henriksen K, et al. A 2018 Reference Guide to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology. *Transplantation: November 2018 - Volume 102 - Issue 11 - p 1795–1814* DOI: 10.1097/TP.0000000000002366.
171. Rynans S, Dzieciatkowski T, Młynarczyk G. Adenovirus infection in immunocompromised patients. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2013; 11(67):964-72. DOI: 10.5604/17322693.1066199.
172. Sakai K., Oguchi H., Muramatsu M., Shishido S. Protocol graft biopsy in kidney transplantation. *Nephrology (Carlton).* 2018 Jul;23 Suppl 2:38-44. DOI: 10.1111/nep.13282.
173. Saliba M., Kfoury Assouf H., Abbas S., Abi Hanna P., Kamel G., Barbari A. Adenovirus Infection as a Cause of Fever of Unknown Origin

- and Allograft Dysfunction in a Kidney Transplant Recipient. *Exp Clin Transplant*. 2019;17(3):411-413. DOI: 10.6002/ect.2017.0181.
174. Salvatierra O Jr1, Millan M., Concepcion W. Pediatric renal transplantation with considerations for successful outcomes. *Semin Pediatr Surg*. 2006 Aug;15(3):208-17. DOI: 10.1053/j.sempedsurg.2006.03.007
175. Sanders ML, Swee M., Fraer M, Kuppachi S., Ten Eyck P., Rastogi P. BK virus histopathologic disease severity does not predict allograft outcome in renal transplant recipients. *Ann Diagn Pathol*. 2019 Jun 27;42:1-6. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2019.06.012.
176. Sarat Kuppachi, Deepkamal Kaur, Danniele G. Holanda, Christie P. Thomas. BK polyoma virus infection and renal disease in non-renal solid organ transplantation. *Clinical Kidney Journal*, 2016 April: 9(2): 310–318, DOI: 10.1093/ckj/sfv143
177. Schwarz A., Linnenweber-Held S., Heim A, Framke T., Haller H., Schmitt C. Viral Origin, Clinical Course, and Renal Outcomes in Patients With BK Virus Infection After Living-Donor Renal Transplantation. *Transplantation*. 2016 Apr;100(4):844-53. DOI: 10.1097/TP.0000000000001066.
178. Seeman T. Management of proteinuria in the transplanted patient. *Pediatr Nephrol*. 2015 Jun;30(6):889-903. DOI: 10.1007/s00467-014-2876-6.
179. Shaheen M.F., Shaheen F.A., Attar B., Elamin K., Al Hayyan H., Al Sayyari A. Impact of recipient and donor nonimmunologic factors on the outcome of deceased donor kidney transplantation. *Transplant Proc*. 2010;42(1):273-6. DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.12.052.
180. Shapiro NL, Tang CG, Bhattacharyya N. Association between Epstein-Barr virus seroconversion and immunohistochemical changes in tonsils of pediatric solid organ transplant recipients. *Laryngoscope*. 2011 Aug;121(8):1718-25. DOI: 10.1002/lary.21871.

181. Simon K., Dziemianko I. Clinical picture of Herpesviridae infections among immunocompromised patients: bone marrow and solid organ transplants recipients. *Przegl Epidemiol.* 2003;57(2):289-97. PMID: 12910597
182. Singh HK, Andreoni KA, Madden V, True K, Detwiler R, Weck K, Nickeleit V. Presence of urinary Haufen accurately predicts polyomavirus nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2009 Feb;20(2):416-27. DOI: 10.1681/ASN.2008010117.
183. Singh HK, Reisner H, Derebail VK, Kozlowski T, Nickeleit V. Polyomavirus nephropathy: quantitative urinary polyomavirus-Haufen testing accurately predicts the degree of intrarenal viral disease. *Transplantation.* 2015 Mar;99(3):609-15. DOI: 10.1097/TP.0000000000000367.
184. Sis B, Mengel M, Haas M, Colvin RB, Halloran PF, Racusen LC, Solez K, et al. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant.* 2010 Mar;10(3):464-71. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02987.x.
185. Sis B., Jhangri GS, Riopel J., et al. A new diagnostic algorithm for antibody-mediated microcirculation inflammation in kidney transplants. *Am J Transplant* 2012;12:1168-1179. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03931.x
186. Sis B, Campbell PM, Mueller T, et al. Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant* 2007;7(7):1743-1752. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.01836.x
187. Snyder JJ, Israni AK, Peng Y, Zhang L, Simon TA, Kasiske BL. Rates of first infection following kidney transplant in the United States. *Kidney Int.* 2009 Feb;75(3):317-26. DOI: 10.1038/ki.2008.580.

188. Solez K. History of the Banff classification of allograft pathology as it approaches its 20th year. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010 Feb;15(1):49-51. DOI: 10.1097/MOT.0b013e328334fedb.
189. Solez K., Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant*. 2008 Apr;8(4):753-60. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2008.02159.x.
190. Solis Morgane, Velay Aurélie, Porcher Raphaël, Domingo-Calap Pilar, et al. Neutralizing Antibody–Mediated Response and Risk of BK Virus–Associated Nephropathy. *JASN* January 2018, 29 (1): 326-334; DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2017050532>
191. Steubl D., M Baumann, T Schuster, M Fischereder, BK Krämer, U Heemann and J Lutz. Risk factors and interventional strategies for BK polyomavirus infection after renal transplantation. *Scandinavian journal of urology and nephrology* 2012 Dec 28;46(6):466-74. DOI: 10.3109/00365599.2012.726643
192. Storsley L., Gibson I.W. Adenovirus interstitial nephritis and rejection in an allograft. *J. Am. Soc.Nephrol*. 2011; 22(8):1423-27. DOI: 10.1681/ASN.2010090941
193. Stowe RP, Kozlova EV, Yetman DL, Walling DM, Goodwin JS, Glaser R. Chronic herpesvirus reactivation occurs in aging. *Exp Gerontol*. 2007 Jun;42(6):563-70. DOI: 10.1016/j.exger.2007.01.005
194. Toupance O., Bouedjoro-Camus MC, Carquin J, Novella JL, Lavaud S, Wynckel A, Jolly D, Chanard J. Cytomegalovirus-related disease and risk of acute rejection in renal transplant recipients: a cohort study with case-control analyses. *Transpl Int*. 2000;13(6):413-9. DOI: 10.1007/s001470050723
195. Trojnar Z., Ciepiela O., Demkow U. A. The prevalence of IgG and IgA against adenoviruses in serum of children aged 11-26 months,

- hospitalised in the Clinical Paediatric Hospital in Warsaw, Poland. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2014; 39(1): 91–95. DOI: 10.5114/ceji.2014.42131
196. Tsoumakas K., Giamaïou K., Goussetis E., Graphakos S., Kossyvakis A., Horefti E., Mentis A., Elefsiniotis I., Pavlopoulou ID. Epidemiology of viral infections among children undergoing hematopoietic stem cell transplant: A prospective single-center study. *Transpl Infect Dis.* 2019;21(4):e13095. DOI: 10.1111/tid.13095.
197. Van Tol M.J., Kroes A.C., Schinkel J., Dinkelaar W., Claas E.C., Jolvan der Zijde C.M., Vossen J.M. Adenovirus infection in pediatric stem cell transplant recipients: increased risk in young children with a delayed immune recovery. *Bone Marrow Transplantation.* 2005; 36(1): 39–50. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705003
198. Vanichanan J Udomkarnjananun S., Avihingsanon Y., Jutivorakool K. Common viral infections in kidney transplant recipients. *Kidney Res Clin Pract.* 2018;37(4):323-337. DOI: 10.23876/j.krcp.18.0063.
199. Varga M., Rempört A, Czebe K, Péter A, Toronyi E, Sárváry E, Fehérvári I, Sulyok B, Járay J. Cytomegalovirus infection after solid-organ transplantation, its risk factors, direct and indirect effects and prevention strategies. *Orv Hetil.* 2008 Mar 23;149(12):551-8. DOI: 10.1556/OH.2008.28324.
200. Veer M., Abdulmassih R., Como J., Min Z., Bhanot N. Adenoviral nephritis in a renal transplant recipient: Case report and literature review. *Transpl Infect Dis.* 2017;19(4). DOI: 10.1111/tid.12716.
201. Verghese PS. Pediatric kidney transplantation: a historical review. *Pediatr Res.* 2017 Jan;81(1-2):259-264. DOI: 10.1038/pr.2016.207.
202. Völker LA, Burkert K, Scholten N, Grundmann F, Kurschat C, Benzing T, Hampl J, Becker JU, Müller RU. A case report of recurrent membranoproliferative glomerulonephritis after kidney transplantation due to ventriculoatrial shunt infection. *BMC Nephrol.* 2019 Aug 5;20(1):296. DOI: 10.1186/s12882-019-1472-1.

203. Wiseman A.C. Polyomavirus nephropathy: a current perspective and clinical considerations. *Am J Kidney Dis.* 2009 Jul;54(1):131-42. DOI: 10.1053/j.ajkd.2009.01.271.
204. Womer K, Meier-Krieschke HU, Patton P, et al. Preemptive retransplantation for BK virus nephropathy: successful outcome despite active viremia. *Am J Transplant* 2006;6:209-213. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2005.01137.x
205. Xu J., Patel K.V., Dsouza M., Almendral J., Mody K., Iyer D. Disseminated adenovirus infection in heart and kidney transplant. *Turk Kardiyol Dern Ars.* 2018;46(3):231-233. DOI: 10.5543/tkda.2017.74957.
206. Yi-Jung Li, Yung-Chang Chen, Ping-Chin Lai, Ji-Tseng Fang, et al. A direct association of polyomavirus BK viremia with deterioration of renal allograft function in renal transplant patients. *Clinical Transplantation* 2009, 23(4):505-10 • DOI: 10.1111/j.1399-0012.2009.00982.x
207. Yılmaz S., Özçakar ZB, Taktak A., Kurt-Şükür ED, Çakar N., Yalçınkaya F. Proteinuria in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant.* 2018;22(1). DOI: 10.1111/petr.13068.
208. Yoshikawa T. Significance of human herpesviruses to transplant recipients. *Curr Opin Infect Dis.* 2003;16(6):601-6. DOI: 10.1097/01.qco.0000104302.87920.91
209. Zamora M.R. DNA viruses (CMV, EBV, and the herpesviruses). *Semin Respir Crit Care Med.* 2011;32(4):454-70. DOI: 10.1055/s-0031-1283285.
210. Zeier M., Döhler B., Opelz G., Ritz E. The effect of donor gender on graft survival. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(10):2570-6. DOI: 10.1097/01.asn.0000030078.74889.69