

Subklinické akutní rejekce v protokolárních biopsiích 3 měsíce po transplantaci ledviny

I. Matl¹, E. Honsová², A. Lodererová², V. Lánská³, O. Viklický¹

¹ Klinika nefrologie IKEM Praha, přednosta doc. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

² Pracoviště klinické a transplantační patologie IKEM Praha, přednostka prim. MUDr. Eva Honsová, Ph.D.

³ Oddělení lékařské statistiky IKEM Praha

Souhrn: Cíl: Primárním cílem této studie bylo zjištění prevalence subklinických akutních rejekcí a hraničních změn v protokolárních biopsiích ve 3 měsících po transplantaci a zhodnocení možné korelace s některými klinickými a laboratorními parametry. **Materiál a metody:** Biopsie byly provedeny u souboru 194 nemocných se stabilizovanou funkcí štěpu. Pacienti byli léčeni imunosupresivním režimem s cyklosporinem A (n = 34), takrolimem (n = 152) nebo sirolimem/everolimem (n = 10). Biopstické vzorky byly zpracovány standardní parafinovou technikou a barveny podle protokolu laboratoře. Ve všech vzorcích byla provedena detekce C4d jako průkaz spoluúčasti rejekce protilátkové povahy imunofluorescenční technikou nebo imunohistochemicky. **Výsledky:** Ze 192 hodnotitelných vzorků byly zjištěny subklinické akutní rejekce společně s hraničními změnami ve 24 případech (12,5%). U pacientů s tímto nálezem byla průměrná hodnota sérového kreatininu statisticky významně vyšší ($185,2 \pm 2,2 \mu\text{mol/l}$) oproti hodnotě u pacientů s normálním biopstickým nálezem ($128,2 \pm 28,3 \mu\text{mol/l}$) ($p < 0,001$). Za použití ROC analýzy bylo zjištěno, že dělicí hranicí pro odlišení normálních nálezů od možné subklinické rejekce je hodnota sérového kreatininu $170 \mu\text{mol/l}$. Byla zjištěna též významná závislost mezi akutními rejekcemi v době před protokolární biopsií a subklinickými akutními rejekcemi společně s hraničními změnami v protokolární biopsii. Pozitivita C4d byla diagnostikována v 6 případech. Typ imunosupresivní léčby (cyklosporin vs takrolimus) neměl na výskyt subklinických akutních rejekcí a hraničních změn žádný vliv. **Závěr:** Hlavním závěrem této práce je zjištění, že akutní rejekce časně po transplantaci a hodnota sérového kreatininu $\geq 170 \mu\text{mol/l}$ ve 3 měsících po transplantaci jsou rizikovými faktory pro vznik subklinické akutní rejekce, a to i humorálního typu a hraničních změn.

Klíčová slova: transplantace ledvin – subklinická akutní rejekce – hraniční změny – protokolární biopsie – imunosupresivní léčba

Subclinical acute rejections in protocol biopsies at 3 months after kidney transplantation

Summary: *Aim:* The primary aim of the study was detection of subclinical acute rejection and borderline changes in protocol biopsies at 3 months after transplantation, and assessment of possible clinical and laboratory associations. *Methods:* Biopsy was carried out in 194 patients with stabilized graft function. Patients were treated with immunosuppressive regimen based on cyclosporine A (n = 34), tacrolimus (n = 152), or sirolimus/everolimus (n = 10). Samples were processed by standard paraffine technique, and stained according to laboratory protocol. All samples were tested by immunofluorescence or immunohistochemical procedures for C4d presence as a sign of humoral rejection. *Results:* Of 192 representative samples, subclinical acute rejection and borderline changes were found in 24 samples (12.5%). In patients with this finding, the mean serum creatinine was significantly higher ($185.2 \pm 2.2 \mu\text{mol/L}$), than in patients with normal finding ($128.2 \pm 28.3 \mu\text{mol/L}$) $p < 0.001$. Using the ROC curve analysis of serum creatinine, the cut-off point $170 \mu\text{mol/L}$ was found to discriminate normal findings from subclinical rejection and borderline changes. A significant correlation between acute rejections before protocol biopsy and subclinical acute rejections together with borderline changes in protocol biopsy was found. C4d positivity was found in 6 samples. Immunosuppressive therapy (cyclosporine versus tacrolimus) did not have any impact on subclinical acute rejections and borderline changes prevalence. *Conclusions:* The main conclusion of this study is a finding, that acute rejection early after renal transplantation and serum creatinine $\geq 170 \mu\text{mol/l}$ at three months after transplantation are risks for development of subclinical acute rejection, even of humoral type, or borderline changes.

Key words: kidney transplantation – protocol biopsy – subclinical acute rejection – borderline changes – immunosuppressive therapy

Úvod

V běžné klinické praxi se stav transplantovaných ledvin posuzuje převážně nepřímými metodami hodnotícími jejich funkci. Zlatým standardem je v tomto směru sérový kreatinin jako nejjednodušší metoda pro opakovaná vyšetření při dlouhodobém sledování. U pacientů se stabilizovanou funkcí je pak protokolární biopsie (PB) jedinou

možností k rozpoznání pochodů odehrávajících se ve štěpu.

Na rozdíl od diagnostické biopsie indikované při zhoršení funkce transplantované ledviny, PB se provádějí podle předem stanoveného časového plánu v různých časových obdobích. První protokolární biopsií může být perioperační biopsie dárce nebo biopsie nulté hodiny (po reperfuzi štěpu),

která má výpovědní hodnotu především pro zhodnocení preexistujících fibrózy a cévních změn. V potransplantačním průběhu jsou klíčovým obdobím první 3 měsíce po transplantaci, kdy PB odhalují hlavně subklinické akutní rejekce (SAR). Význam těchto nálezů spočívá v tom, že podle některých studií [27] existuje vztah mezi SAR a rozvojem chronické transplan-

Tab. 1. Demografie souboru nemocných.

	n	%
soubor nemocných	194	100
muži/ženy	119/75	61/39
průměrný věk (roky)	50,6 ± 12,2	
příčiny renálního selhání		
• glomerulonefritida	69	35,6
• tubulointersticiální nefritida	42	21,6
• polycystické ledviny	22	11,3
• nefroskleróza	27	13,9
• diabetická nefropatie	10	5,2
• jiné	24	12,3
průměrný počet dní PB po transplantaci	94,8 ± 9,9	
• I. transplantace	146	75,2
• II. transplantace	23	12
• III. transplantace	3	1,5
• transplantace ze žijícího dárce	22	11,3
panel reaktivní protilátky PRA ≥ 50 %	15	7,6
pacienti s rejekcí před PB	67	34,5
imunosupresivní režim s		
• CSA	34	17,5
• TAC	150	77,3
• SIR/EVE	10	5,2

PB – protokolární biopsie

tační nefropatie. Včasná léčba SAR tak může takovýto nepříznivý vývoj ovlivnit. Pozdní PB, prováděné nejčastěji v 6, 12 a 24 měsících po transplantaci, sledují převážně intersticiální a cévní změny. Různý stupeň fibrózy/sklerózy v intersticiu a v glomerulech se semi-quantitativním hodnocením má prognostický význam pro další osud štěpu [14,21,22]. PB také umožní časně rozpoznání nefrotoxicity kalcineurinových inhibitorů nebo diagnózu polyoma virové infekce štěpu dříve, než se projeví zhoršenou funkcí štěpu.

SAR se definuje jako histomorfologický nálezní akutní rejekce bez doprovodného zhoršení funkce štěpu [16]. Tyto nálezy mohou mít různou míru postižení podle banffské klasifikace [19], od hraničních změn (HZ) po různé, nejčastěji však nižší stupně akutní rejekce; především intersticiální celulární rejekci, bez nebo s humorální rejekční složkou.

První PB byly provedeny již počátkem 80. let minulého století [1] s vymezeným cílem zjistit do té doby neznámý morfologický obraz u štěpů s normální

funkcí. Širší zájem o ně se obnovil až v polovině 90. let 20. století [20], kdy se objevuje pojem subklinické rejekce. PB měly i své odpůrce [17], ale v posledních letech se staly akceptovanou metodou na většině pracovišť. Neexistuje však jednotné rutinní schéma jejich provádění.

Cílem této práce bylo zjistit stratifikaci morfologických nálezů a prevalence SAR u pacientů 3 měsíce po transplantaci a zhodnotit vztahy klinických faktorů ke vzniku SAR.

Soubor nemocných a metodika

Do souboru bylo zařazeno 194 nemocných, kteří měli při posledních 3 ambulantních kontrolách stabilizovanou funkci transplantované ledviny a kteří podepsali informovaný souhlas s biopsií. Biopsie byly provedeny 3 měsíce po transplantaci. Demografická charakteristika souboru je v tab. 1. Nemocní byli léčeni imunosupresivním režimem na bázi cyklosporinu A (CSA, n = 34) nebo takrolimu (TAC, n = 152) v kombinaci s prednisonem a mykofenolátem mofetilem a na bázi sirolimu nebo eve-

rolimu (SIR/EVE, n = 10) v kombinaci s prednisonem a takrolimem. Pacienti s nálezem SAR byli léčeni metylprednisolonem dle schématu používaným u akutních rejekcí.

Biopsie byly prováděny při krátkodobé hospitalizaci po sonografickém zaměření z konvexity štěpu jehlou o síle 14 Gauge. Následující den byla provedena sonografická kontrola případných komplikací biopsie. Biopsické vzorky byly zpracovány standardní parafinovou technikou a barveny podle protokolu biopsické laboratoře. Ve všech vzorcích byl proveden průkaz C4d imunofluorescenční technikou nebo imunohistochemicky.

Histomorfologické změny byly hodnoceny podle kritérií banffské klasifikace [15]. Tato diagnostická klasifikace histopatologických změn v transplantované ledvině byla poprvé ustanovena na konferenci v Banffu v Kanadě v roce 1991 a od té doby opakovaně upravována a rozšiřována. Je používána na většině transplantačních pracovišť a umožňuje srovnatelné posuzování nálezů. Hodnotí kvantitativně akutní rejekce podle přítomnosti zánětlivého infiltrátu v intersticiu, tubulech a cévách. Podle klasifikace z roku 1997 [15] byly v tomto souboru diagnostikovány HZ nebo SAR od stupně IA.

Krevní vzorky pro biochemická vyšetření byly odebírány v den biopsie. Glomerulární filtrace (GF) byla kalkulována z hodnoty sérového kreatininu, urey a albuminu podle metody MDRD [18].

Výsledky byly statisticky hodnoceny metodami: t-test, ev. Mann-Whitney test, χ^2 kontingenční tabulky a analýza ROC.

Výsledky

Z celkového počtu 194 biopsií byly 2 vzorky nehodnotitelné. Ze 192 hodnotitelných vzorků byly zjištěny SAR společně s HZ ve 24 případech (12,5%). Normální nálezní byl ve více než polovině vzorků (107, 55,7%). Ve 21 (10,7%) biopsických vzorcích byly morfologické znaky chronické transplantační nefro-

patie, tj. fibróza štěpu mírného stupně, obvykle spolu s cévními změnami a kulatobuněčnou zánětlivou celulizací přítomnou pouze ve fibróze. Další údaje jsou uvedeny v tab. 2. V 6 případech (3% vzorků) byla diagnostikována pozitivita C4d v peritubulárních kapilárách jako známka spoluúčasti rejekce protilátkové povahy. Z toho ve 3 případech doprovázela slabší pozitivita C4d chronickou transplantaci nefropatii, v 1 případě byla rezidua po předchozí léčené akutní humorální rejekci, ale u zbývajících 2 pacientů byla splněna kritéria humorální rejekce.

V souvislosti s protokolární biopsií nevznikly žádné vážnější komplikace, které by vyžadovaly invazivní intervenci nebo prodloužily hospitalizaci. Menší komplikace byly při sonografických kontrolách zjištěny u 20 pacientů (10,1%), z toho byly perirenální hematomy u 2 pacientů (1%), arteriovenózní píštěle u 14 (7,1%) a současný nález hematomu a arteriovenózní píštěle u 4 (2%).

Celkem 67 (34,5%) pacientů mělo 1 nebo 2 akutní rejekce v 3měsíčním období po transplantaci před protokolární biopsií. U pacientů s histomorfologickým nálezem SAR + HZ byl prů-

Tab. 2. Histomorfologické nálezy.

Nález	n	%
nerepresentativní vzorek	2	1
normální nález	107	55,7
subklinická akutní rejekce SAR	14	7,3
hraniční změny HZ	10	5,1
chronická transplantaci nefropatie	21	10,7
kalcineurinová toxicita	13	6,7
jiné	27	14

měrný počet rejekcí po transplantaci vysoce významně vyšší než u pacientů s normálním nálezem v protokolární biopsii (graf 1).

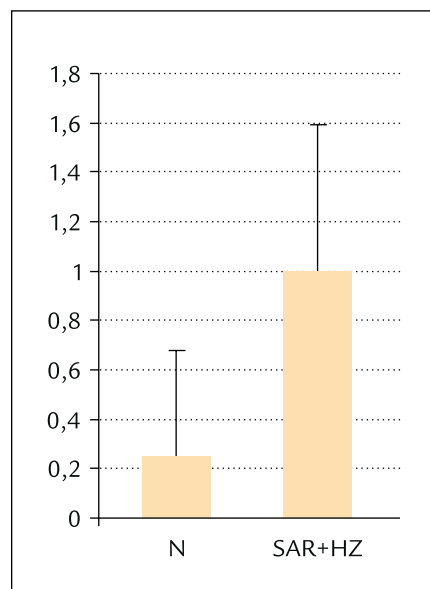
Průměrná hodnota sérového kreatininu (S-kr) byla ve skupině SAR + HZ $185,2 \pm 96,1 \mu\text{mol/l}$ a hodnota GF (MDRD) $0,69 \pm 0,25 \text{ ml/s}$. Tyto hodnoty byly významně vyšší ($p < 0,001$) oproti hodnotám u pacientů s normálním nálezem ($128,2 \pm 28,3 \mu\text{mol/l}$, resp. $0,85 \pm 0,18 \text{ ml/s}$). Pomocí ROC analýzy byla hodnota S-kr $170 \mu\text{mol/l}$ určena jako dělicí hranice (cut off point) pro riziko SAR + HZ (graf 2). Nemocní se S-kr $\geq 170 \mu\text{mol/l}$ měli 20násobně vyšší riziko SAR + HZ (OR 20,2; CI = [61–67,3]). Pro tuto hodnotu má použitá statistická metoda specifitu 95,3% a senzitivitu 50%. Je tak možno

odvodit pro S-kr $< 170 \mu\text{mol/l}$ negativní prediktivní hodnotu, tj. pravděpodobnost normálního nálezu 89,3% a pro S-kr $\geq 170 \mu\text{mol/l}$ pozitivní prediktivní hodnotu, tj. pravděpodobnost nálezu SAR + HZ 70,6%.

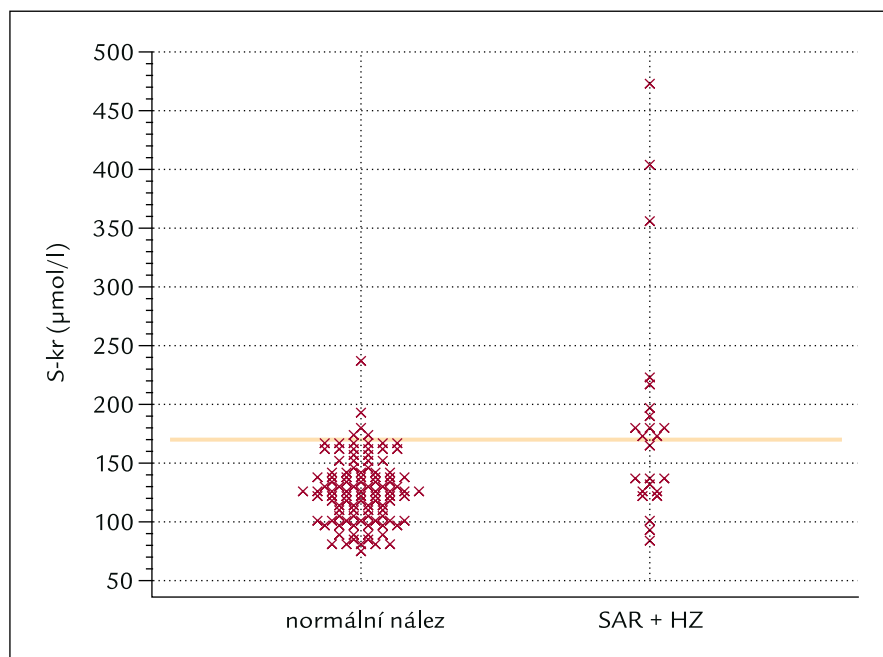
Ve skupině pacientů léčených imunosupresivním režimem s CSA byla prevalence SAR + HZ 11,7% a průměrná hodnota S-kr $144,7 \pm 51,4 \mu\text{mol/l}$. Hodnoty těchto parametrů ve skupině pacientů léčených imunosupresivním režimem s TAC (12,5%, resp. $144,1 \pm 50,6 \mu\text{mol/l}$) byly bez statisticky významného rozdílu.

Diskuze

Se zavedením nových imunosupresivních protokolů významně poklesl počet rejekčních epizod. Z dlouhodo-



Graf 1. Průměrné počty akutních rejekcí po transplantaci u nemocných s normálním nálezem (N) a změnami SAR + HZ ($p < 0,001$).



Graf 2. Hodnoty S-kr u nemocných s normálním histomorfologickým nálezem a změnami SAR + HZ.

bého pohledu však zůstalo přežívání štěpů prakticky nezměněno.

Výskyt SAR a HZ je nejvyšší časně po transplantaci, v dalším průběhu klesá [16]. Tento jev můžeme potvrdit, porovnáme-li současný výskyt 12,5% SAR + HZ v této studii s 6,6% v naší předchozí studii, ve které byly protokolární biopsie prováděny v 1 roce po transplantaci [11]. Ve 3 měsících po transplantaci se v 7 publikovaných souborech [5,8,10,14,21,24,26] s celkovým počtem 627 pacientů pohybovala prevalence SAR + HZ ve velmi širokém rozmezí od 10 do 90%. Většina souborů měla počet členů nižší než 100, pouze jeden soubor [24] byl větší (282 pacientů) než náš soubor. Jednou z příčin velkého rozptylu hodnot tak mohla být chyba malých čísel. Nejvyšší výskyt (90%) byl u nejmenšího souboru [10]. Tato studie byla navíc atypická tím, že byla retrospektivní a také v podskupině HLA identických příjemců štěpů ze žijících dárců byly HZ překvapivě nalezeny v 8/10 případech. V početně největším souboru byly SAR + HZ zjištěny v 18%, tj. hodnota srovnatelná s naším nálezem 12,5%. Soubory byly publikovány v rozmezí 10 let a nejnižší prevalence byla v souborech z poslední doby [5,8], takže nelze vyloučit jako další příčinu rozptylu hodnot i celkovou míru imunosupresivní léčby [15]. Nižší výskyt SAR se popisuje u režimů s takrolimem [4,13] nebo po přidání mykofenolátu mofetilu [2]. Sami jsme však v našem souboru žádný rozdíl mezi imunosupresivním režimem s cyklosporinem a takrolimem ve výskytu SAR + HZ nezaznamenali.

Normální nález byl v našem souboru poměrně častý (v 56%), srovnatelný se 43% v sestavě Seróna et al [24]. Prevalence chronické transplantační nefropatie i kalcineurinové toxicity byly spíše nižší, což by dohromady mohlo vést k úvahám o použité optimální imunosupresi, avšak žádné další doklady pro takové tvrzení nejsou.

Ve výše uvedených 7 souborech protokolárních biopsií ve 3 měsících není zmínka o vyšetřování C4d pozitivitu.

Do banffské klasifikace byla protilátkou zprostředkovaná akutní rejekce zařazena až v roce 2003 [18]. Prevalence C4d je známa jen v časných protokolárních biopsiích 7 dní po transplantaci [9,25], kde byla poměrně vysoká (30% a 13%). Nejčastěji byla spojena s akutní humorální rejekcí, což odpovídá obvykle časnému nástupu humorální rejekce. V protokolárních biopsiích ve 3 měsících by měl být nález akutní humorální rejekce spíše výjimkou. C4d pozitivita může přetrvávat po prodělané akutní rejekci nebo být známkou nastupující chronické humorální rejekce tak, jak tomu je i v našem souboru.

U pacientů s nálezem SAR + HZ byl vysoce významně vyšší průměrný počet akutních rejekcí po transplantaci oproti pacientům s normálním nálezem. Můžeme tak potvrdit závěry některých studií [2,7,12,15], že akutní rejekce jsou významným rizikovým faktorem pro existenci SAR a HZ. Naopak SAR může být rizikovým faktorem pro rozvoj chronické transplantační nefropatie. Proto budou pacienti s léčenou SAR dlouhodobě sledováni a vývoj jejich štěpů bude porovnán se štěpy bez SAR.

Významné bylo zjištění, že pacienti s SAR a HZ měli vyšší průměrné hodnoty S-kr oproti pacientům s normálním histomorfologickým nálezem. Toto zjištění by mohlo na první pohled odporovat základní definici SAR, ale protokolární biopsie byly prováděny jen u pacientů se stabilizovanými hodnotami. Stabilizovaná funkce byla i u pacientů s nedostatečným rozvojem funkce štěpu a nejvyššími hodnotami S-kr, jak ukazuje graf 2. Analýza ROC ukázala hodnotu S-kr nad 170 $\mu\text{mol/l}$ spojenou s vysokým rizikem přítomnosti SAR a HZ, ale prediktivní pozitivní hodnota tohoto nálezu byla vzhledem k rozptylu hodnot nižší než negativní prediktivní hodnota, která byla poměrně vysoká (89,3%).

Komplikace po PB byly jen nezávažné, a potvrdila se tak bezpečnost této metody. Arteriovenózní pístěle se

zjišťují při použití dopplerometrické ultrasonografie asi v 10% [3]. 7% pístělí v našem souboru je tak dobře srovnatelných. Další vývoj fistulí se sleduje, ale uvádí se, že většina fistulí spontánně vymizí. Podrobnější rozbor arteriovenózních fistulí byl proveden v olo-mouckém transplantačním centru a publikován v časopise Vnitřní lékařství [6].

Na základě všech těchto poznatků považujeme za vhodné provádět pravidelně PB v časném potransplantačním období, zejména pak u pacientů s neúplně rozvinutou, i když stabilizovanou funkcí.

Závěr

V této studii byl prokázán 12,5% výskyt subklinické akutní rejekce a hraničních změn ve 3 měsících po transplantaci. Závažné bylo zjištění protilátkové aktivity s pozitivitou C4d u 2/14 subklinických akutních rejekcí a u 3/21 nálezů chronické transplantační nefropatie. Akutní rejekce před biopsií a hodnota sérového kreatininu $\geq 170 \mu\text{mol/l}$ mohou signalizovat zvýšené riziko pro přítomnost subklinické akutní rejekce a hraničních změn.

Studie byla podpořena Interní grantovou agenturou Ministerstva zdravotnictví ČR, grant NR 8897-4.

Literatura

1. Burdick JF, Beschoner WE, Smith WJ et al. Characteristics of early routine renal allograft biopsies. *Transplantation* 1984; 38: 679–684.
2. Choi BS, Shin MJ, Shin SJ et al. Clinical significance of an early protocol biopsy in living-donor renal transplantation: ten-year experience at a single center. *Am J Transplant* 2005; 5: 1354–1360.
3. Furness PN, Philpott CM, Chorbajian MT et al. Protocol biopsy of the stable renal transplant: a multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation* 2003; 76: 969–973.
4. Gloor JM, Cohen AJ, Lager DJ et al. Subclinical rejection in tacrolimus-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 2002; 73: 1965–1968.
5. Helanterä I, Ortiz F, Helin H et al. Timing and value of protocol biopsies in well-matched kidney transplant recipients –

a clinical and histopathologic analysis. *Transplant Int* 2007; 20: 982–990.

6. Horčíčka V Jr, Krejčí K, Zadražil J et al. Arteriovenózní pístěl jako komplikace biopsie ledvin. *Vnitř Lék* 2002; 48: 432–437.

7. Kanetsuna Y, Yamaguchi Y, Toma H et al. Histological evaluation of renal allograft protocol biopsies in the early period and 1 year after transplantation. *Clin Transplant* 2003; 17 (Suppl 10): 25–29.

8. Kee TYS, Chapman JR, Connell PJ et al. Treatment of subclinical rejection diagnosed by protocol biopsy of kidney transplants. *Transplantation* 2006; 82: 36–42.

9. Koo DD, Roberts IS, Quiroga I et al. C4d deposition in early allograft protocol biopsies. *Transplantation* 2004; 78: 398–403.

10. Legendre C, Thervet E, Skhiri H et al. Histologic features of chronic allograft nephropathy revealed by protocol biopsies in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1998; 65: 1506–1509.

11. Matl I, Viklický O, Voska L et al. Naše první zkušenosti s protokolární biopsií transplantovaných ledvin. *Čas Lék Čes* 2004; 143: 253–256.

12. Mengel M, Gwinner W, Schwarz A et al. Infiltrates in protocol biopsies from renal allografts. *Amer J Transplantation* 2007; 7: 356–365.

13. Moreso F, Alperovich G, Fulladosa X et al. Histologic findings in protocol biopsies performed in stable renal allo-

grafts under different immunosuppressive schedules. *Transplant Proc* 2003; 35: 1666–1668.

14. Nankivell BJ, Fenton-Lee CA, Kuypers DRJ et al. Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome. *Transplantation* 2001; 71: 515–523.

15. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CLS et al. Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 242–249.

16. Nankivell BJ, Chapman JR. The significance of subclinical rejection and the value of protocol biopsies. *Amer J Transplantation* 2006; 6: 2006–2012.

17. Ponticelli C, Banfi G. The case against protocol kidney biopsies. *Transplant Proc* 2002; 34: 1716–1718.

18. Racusen LC, Colvin RB, Solez K. Antibody-mediated rejection criteria – an addition to the Banff '97 classification of renal allograft rejection. *Amer J Transplantation* 2003; 3: 708–714.

19. Racusen LC, Solez K, Colvin B et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55: 713–723.

20. Rush D, Jeffery JT, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. *Transplantation* 1995; 59: 511–514.

21. Rush D, Nickerson P, Gough J et al. Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 2129–2134.

22. Scholten EM, Rowshani AT, Cremers S et al. Untreated rejection in 6-month protocol biopsy is not associated with fibrosis or with loss of graft function. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2622–2632.

23. Schück O, Smrčková I, Teplan V et al. Nová metoda stanovení glomerulární filtrace na podkladě sérové koncentrace kreatininu, močoviny a albuminu (MDRD). *Vnitř Lék* 2004; 50: 507–509.

24. Serón D, Moreso F, Ramón JM et al. Protocol renal allograft biopsies and the design of clinical trials aimed to prevent or treat chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2000; 69: 1849–1855.

25. Sund S, Hovig T, Reisaeter A et al. Complement activation in early protocol kidney graft biopsies after living-donor transplantation. *Transplantation* 2003; 75: 1204–1213.

26. Tichý T, Tichý M, Zadražil J et al. Histologické nálezy v protokolárních biopsiích transplantovaných ledvin. *Čes Slov Patol* 2003; 39: 11–16.

27. Veronese FV, Noronha IL, Manfro RC et al. Protocol biopsies in renal transplant patients: three years' follow-up. *Transplant Proc* 2002; 34: 500–501.

doc. MUDr. Ivo Matl, CSc.

www.ikem.cz

e-mail: ivo.matl@ikem.cz

Doručeno do redakce: 21. 5. 2008

Přijato po recenzi: 15. 8. 2008

www.mhwa.cz