

ПРОЦЕНА БРЗИНЕ ПРОГРЕСИЈЕ ХРОНИЧНОГ ОДБАЦИВАЊА ТРАНСПЛАНТИСАНОГ БУБРЕГА ПОМОЋУ НУКЛЕАРНОГ АНТИГЕНА ПРОЛИФЕРАЦИЈЕ ЋЕЛИЈА

Сања СИМИЋ-ОГРИЗОВИЋ, Ангелина СТАРЧЕВИЋ-БОЖОВИЋ,
Радмила БЛАГОЈЕВИЋ, Драгана РАДИВОЈЕВИЋ, Љубица БУКАНОВИЋ
Институт за урологију и нефрологију Клинике за нефрологију, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ: Хронично одбацивање трансплантисаног бубрега је најважнији и најчешћи узрок хроничне инсуфицијенције калема. Циљ студије је испитивање експресије нуклеарног антигена пролиферације ћелија у васкуларном, гломерулном и тубулоинтерстицијумском делу ткива, добијеног биопсијом трансплантисаног бубрега с хроничним одбацивањем, и могућност предвиђања брзине прогресије хроничне инсуфицијенције калема помоћу овог метода. Ретроспективно, после биопсије калема, процењиван је клинички ток 27 болесника с дијагнозом хроничног одбацивања, а болесници су сврстани у две групе према брзини прогресије хроничне инсуфицијенције калема: група с брзом прогресијом од десет болесника и група са спором прогресијом од 17 болесника. За испитивање експресије нуклеарног антигена пролиферације ћелија коришћен је имунохистохемијски стрептавидин-биотин-пероксидазни метод бојења с моноклонским антителом (*PC-10, DACO*). Експресија нуклеарног антигена пролиферације ћелија у ћелијама глатких мишића и лимфоцитима интима крвних судова, у мезангијуму гломерула и у лимфоцитима тубулоинтерстицијумског дела процењивана је семиквантитативно (скала од нуле до три), а разлика између група је статистички тестирана. Поређење између група је показало да је интензитет пролиферације ћелија у групи с брзом прогресијом значајно већи него у групи са спором прогресијом у сва три посматрана дела ткива добијеног биопсијом: васкуларни (2,6 vs 1,23), гломерулни (1,9 vs 0,88) и тубулоинтерстицијумски (2,0 vs 0,44). Такође, постоји и статистички значајна позитивна корелација између нагиба регресионе линије и интензитета пролиферације ћелија у васкуларном ($r = 0,671$), гломерулном ($r = 0,552$) и тубулоинтерстицијумском ($r = 0,567$) делу. Испитивања су показала да интензитет пролиферације ћелија у сва три посматрана дела значајно корелише с брзином прогресије хроничне инсуфицијенције калема и да је могуће предвидети брзину прогресије тубулоинтерстицијумске хроничне инсуфицијенције калема помоћу процене експресије нуклеарног антигена пролиферације ћелија.

Кључне речи: трансплантација бубрега, хронично одбацивање, нуклеарни антиген пролиферације ћелија. (СРП АРХ ЦЕЛОК ЛЕК).

Последњих година знатно је продужено време преживљавања болесника, као и трансплантисаног бубрега, у раном посттрансплантационом периоду, пре свега услед напретка у презервацији органа, бољем лечењу акутних одбацивања, као и због мање смртности услед инфекција [1]. Међутим, време преживљавања калема у каснијем посттрансплантационом периоду остало је исто, без обзира на велики напредак у имуносупресивној терапији. Ипак, хронично одбацивање остаје најважнији узрок хроничне инсуфицијенције калема. Подаци из литературе указују да је хронично одбацивање одговорно за губитак чак 50 посто калема у току десет година после трансплантације [2–4].

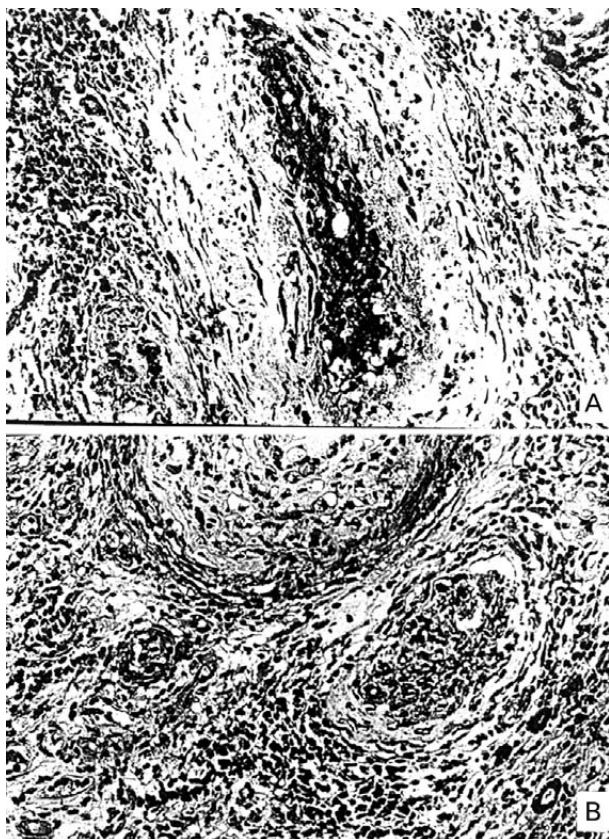
Хронично одбацивање се одликује спорим и прогресивним смањењем филтрације гломерула, праћеним протеинуријом и артеријском хипертензијом, а хистопатолошки акумулацијом инфламационих ћелија, пролиферацијом фибробласта, ћелија глатких мишића и мезангијума. Ове промене воде ка артериосклерози, гломерулосклерози и фибрози интерстицијума. Прогресивне морфолошке промене у васкуларном, гломерулском и тубулоинтерстицијумском делу калема бубрега, што одликују хронично одбацивање, директно корелишу са смањењем функције бубрега и губитком калема [5].

Мало је студија у којима је проучавана могућност предвиђања брзине прогресије хроничне инсуфицијенције калема узроковане хроничним одбацивањем. Имајући то у виду и користећи нуклеарни антиген пролиферације ћелија (*PCNA*) као маркер пролиферације ћелија, циљ ове ретроспективне студије био је да се процени да ли се на основу интензитета пролиферације ћелија у васкуларном, гломерулском и тубулоинтерстицијумском делу ткива калема с хроничним одбацивањем, добијеног биопсијом, може предвидети брзина прогресије хроничне инсуфицијенције калема узроковане хроничним одбацивањем.

МЕТОД РАДА

У раду је ретроспективно анализовано 27 болесника код којих је учињена трансплантација бубрега у Институту за урологију и нефрологију Клиничког центра Србије у Београду између 1987. и 1994. године, с претходно постављеном дијагнозом хроничног одбацивања. Двадесет и један болесник је био мушког пола, а шест женског, просечне старости $33,81 \pm 10,54$ година (од 18 до 56 година). Код 22 болесника бубрег је трансплантисан од живог сродног дараваца, а код пет од умрле особе.

Дијагноза хроничног одбацивања постављена је на основу клиничких параметара, као што су: протеинурија већа од 1 g/24h , артеријска хипертензија, креатинин у серуму преко $200 \text{ } \mu\text{mol/L}$ најраније шест месеци после трансплантације, и на основу патохистолошког налаза (класификација по Банфу).



СЛИКА 1. Експресија PCNA у васкуларном делу ткива калема добијеног биопсијом код болесника с брзом прогресијом – А (PCNA × 87,5) и болесника са спором прогресијом – В (PCNA × 87,5).

FIGURE 1. PCNA staining in renal allograft biopsy-vascular compartment-fast progression group – A (PCNA × 87.5) and slow progression group – B (PCNA × 87.5).

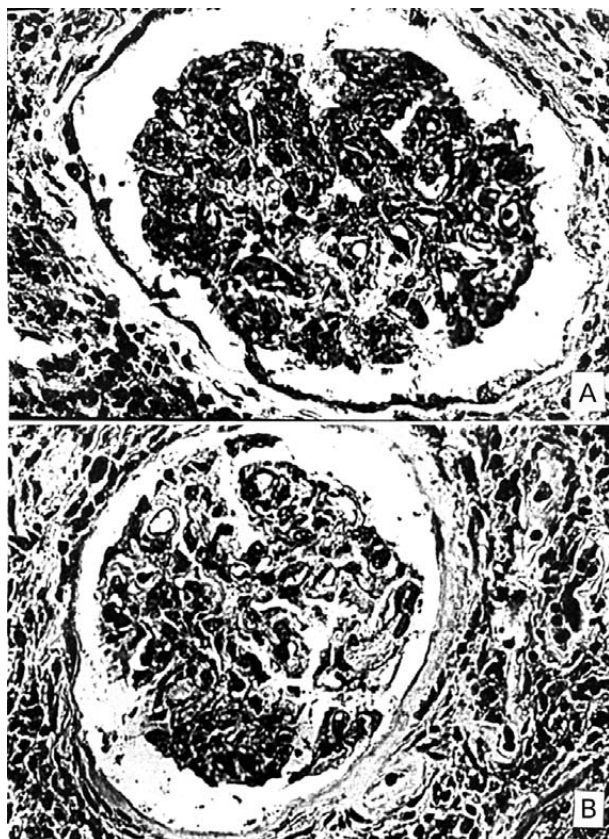
Клинички ток болесника је ретроспективно, од дана биопсије, анализиран и надгледан 24 месеца код 14 болесника, до почетка хемодијализе код 11 болесника, и до изненадне смрти код два болесника. Према брзини прогресије хроничног одбацивања болесници су сврстани у две групе: у групу с брзом прогресијом (нагиб регресионе линије већи од минус 0,130) и у групу са спором прогресијом (нагиб регресионе линије мањи од минус 0,130).

Имуносупресивна терапија је примењивана према протоколу, а састојала се од антилимфоцитног глобулина, циклоспорина, азатиоприма и стероидних хормона.

Метод испитивања моноклонског антитела на нуклеарни антиген пролиферације ћелија

У раду су коришћени парафински исечци ткива болесника код којих је раније утврђена дијагноза хроничног одбацивања калема (27 болесника). За испитивање моноклонског антитела на нуклеарни антиген пролиферације ћелија у ткиву, добијеном биопсијом, коришћен је стрептавидин-биотин-пероксидазни метод бојења (кит моноклонског нуклеарног антигена пролиферације ћелија фирме DAKO) према наведеним упутствима [6].

Позитиван налаз на нуклеарни антиген пролиферације ћелија у појединим деловима патохистолошког препарата кодиран је од „један“ до „три“, а патохистолошки препарат нормалних тонзила служио је као позитиван контролни налаз.



СЛИКА 2. Експресија PCNA у гломерулском делу ткива калема добијеног биопсијом код болесника с брзом прогресијом – А (PCNA × 350) и болесника са спором прогресијом – В (PCNA × 350).

FIGURE 2. PCNA staining in renal allograft biopsy-glomerular compartment-fast progression group – A (PCNA × 350) and slow progression group – B (PCNA × 350).

ТАБЕЛА 1. Подаци о болесницима.

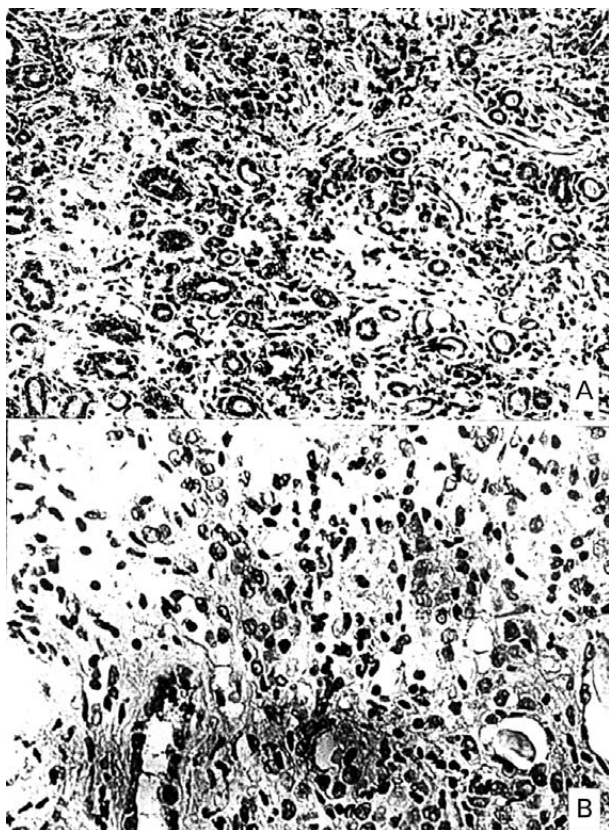
TABLE 1. Data on patients.

Групе Groups	Пол (м/ж) Sex (m/f)	Старост (године) Age (years)	Давалац (ж/к) Donor origin (l/c)	Нагиб регресионе линије Slope of regression line
Брзо прогресијућа Fast progression	9/1	34.27 ± 9.88	10/0	-0.278 ± 0.086
Споро прогресијућа Slow progression	12/5	37.4 ± 0.7	12/5	-0.087 ± 0.039
Статистичка значајност Statistical difference	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	P < 0.05

ж – живи сродни давалац; l – living related donor;
к – кадавер; c – cadaver;

Статистички методи

У раду су примењене дескриптивне статистичке анализе, као што је аритметичка средина с мерама дисперзије, стандардна девијација, а за тестирање статистичких значајности разлика коришћен је т-тест. Прогресија инсуфицијенције калема бубрега процењивана је на основу нагиба регресионе линије, добијене на основу промене реципрочне концентрације креатинина у функцији времена. Степен корелације између испитиваних параметара утврђиван је помоћу коефицијента линеарне корелације.



СЛИКА 3. Експресија PCNA у тубулоинтерстицијумском делу ткива калема добијеног биопсијом код болесника с брзом прогресијом – А (PCNA × 87.5) и болесника са спором прогресијом – В (PCNA × 350).

FIGURE 3. PCNA staining in renal allograft biopsy-TIN compartment-fast progression group – А (PCNA × 87.5) and slow progression group – В (PCNA × 350).

РЕЗУЛТАТИ

У табели 1 су приказани подаци о болесницима по групама. Може се уочити да се групе нису статистички значајно разликовале по заступљености полова, просечној старости и врсти трансплантације. Постоји статистички значајна разлика у брзини прогресије хроничне инсуфицијенције калема, односно, нагиб регресионе линије за групу болесника с брзом прогресијом хроничног одбацивања значајно је већи од нагиба групе болесника са спором прогресијом.

На сликама 1–3 приказана је експресија нуклеарног антигена пролиферације ћелија у васкуларном, гломерулском и тубулоинтерстицијумском делу ткива калема добијеног биопсијом. Нуклеарни антиген пролиферације ћелија је протеин у једру ћелије који учествује у циклусима ћелија, посебно у регулацији пролиферације ћелија, тако да представља маркер пролиферације. Помоћу моноклонског антитела, које се везује за овај антиген у једру ћелија у пролиферацији, једра се обоје од светлораон до тамнораон.

У табелама 2 и 3 приказани су резултати семиквантитативне процене експресије нуклеарног антигена пролиферације ћелија у гломерулима (пролиферација ћелија мезангијума), интерстицијуму и тубулима (пролиферација лимфоцита) и крвним судовима

ТАБЕЛА 2. Семиквантитативна процена експресије PCNA у ткиву болесника, добијеном биопсијом, с брзом прогресијом хроничне инсуфицијенције калема трансплантисаног бубрега.
TABLE 2 Scores of PCNA immunoreactivity in glomerular, TIN and vascular compartment - patients from fast progression group.

Болесници Patients	Пролиферација мезангијума у гломерулима Glomerular mesangial proliferation	Пролиферација лимфоцита у TIN-у Lymphocytes in TIN	Пролиферација лимфоцита и ГМЋ у интими крвних судова SMC and lymphocytes in vascular intima
1.	2	2	3
2.	2	2	2
3.	2	3	2
4.	3	2	3
5.	1	2	3
6.	2	2	3
7.	1	2	3
8.	2	2	2
9.	2	1	3
10.	2	2	2

ГМЋ = ћелије глатких мишића
SMC = smooth muscle cells

ТАБЕЛА 3. Семиквантитативна процена експресије PCNA у ткиву добијеном биопсијом код болесника са спором прогресијом хроничне инсуфицијенције калема трансплантисаног бубрега.

TABLE 3. Scores of PCNA immunoreactivity in glomerular, TIN and vascular compartment - patients from slow-progression group.

Болесници Patients	Пролиферација мезангијума у гломерулима Glomerular mesangial proliferation	Пролиферација лимфоцита у TIN-у Lymphocytes in TIN	Пролиферација лимфоцита и ГМЋ у интими крвних судова SMC and lymphocytes in vascular intima
1.	0	1	1
2.	1	2	1
3.	1	1	1
4.	1	1	1
5.	1	1	1
6.	1	1	0
7.	1	1	1
8.	1	3	2
9.	1	1	2
10.	0	1	2
11.	1	1	1
12.	1	1	1
13.	1	1	1
14.	2	2	2
15.	0	0	1
16.	2	2	2
17.	0	1	1

ГМЋ = ћелије глатких мишића
SMC = smooth muscle cells

(пролиферација ћелија глатких мишића и лимфоцита) код болесника с брзом и спором прогресијом хроничне инсуфицијенције калема, узрокованом хроничним одбацивањем. У табели 4 приказани су резултати поређења експресије нуклеарног антигена пролиферације ћелија између испитиваних група. Експресија нуклеарног антигена пролиферације ћелија, односно интензитет пролиферације ћелија, значајно је већа у групи болесника с брзом прогресијом у сва три посматрана дела ткива калема добијеног биопсијом.

Такође, испитивања су показала да интензитет пролиферације ћелија у васкуларном, тубулоинтерстицијумском и гломерулском делу ткива добијеног биопсијом значајно корелише с нагибом регресионе линије односно брзином прогресије хроничне инсуфицијенције калема (Табела 5).

ТАБЕЛА 4. Поређење аритметичких средина семиквантитативне процене експресије PCNA у ткиву добијеног биопсијом код болесника с брзом и групе болесника са спором прогресијом хроничне инсуфицијенције калема трансплантисаног бубрега.

TABLE 4. Means ± standard deviation of PCNA immunoreactivity scores in different tissue compartments in fast and slow progression group and statistical significance of differences between the means of the groups.

Групе Groups	Пролиферација мезангијума у гломерулима Glomerular mesangial proliferation	Пролиферација лимфоцита у TIN-у Lymphocytes in TIN	Пролиферација лимфоцита и ГМЋ у интими крвних судова SMC and lymphocytes in vascular intima
Брзо прогресишућа Fast progression	1.9 ± 0.53	2.0 ± 0.44	2.6 ± 0.48
Споро прогресишућа Slow progression	0.88 ± 0.58	1.2 ± 0.64	1.23 ± 0.54
Статистичка значајност Statistical difference	p < 0.01	p < 0.05	p < 0.0001

ГМЋ = ћелије глатких мишића.
SMC = smooth muscle cells.

ТАБЕЛА 5. Коефицијент корелације (r) између експресије PCNA у различитим деловима ткива добијеног биопсијом и нагиба регресионе линије израчунато за све болеснике.

TABLE 5. Coefficient of correlation (r) between PCNA immunoreactivity scores in different tissue compartments and slope of regression lines of all patients examined.

	Пролиферација мезангијума у гломерулима Glomerular mesangial proliferation	Пролиферација лимфоцита у TIN-у Lymphocytes in TIN	Пролиферација лимфоцита и ГМЋ у интими крвних судова SMC and lymphocytes in vascular intima
R	0.552	0.567	0.671
P	< 0.01	< 0.01	< 0.01

ГМЋ = ћелије глатких мишића.
SMC = smooth muscle cells.

ДИСКУСИЈА

Узроци хроничне инсуфицијенције трансплантисаног бубрега, осим хроничног одбацивања, може бити и нефротоксичност циклоспорина, понављање епизоде акутног одбацивања, рекурентна болест бубрега, хируршке и уролошке компликације. Међутим, хронично одбацивање је најважније, јер најчешће доводи до губитка калема у каснијем посттрансплантационом периоду. Овај поремећај се одликује најизраженијом анемијом, артеријском хипертензијом и протеинуријом, али и најбржом прогресијом болести [7].

У многим студијама с нативним бубрезима, испитујући корелацију филтрације гломерула с морфолошким променама у гломерулима или интерстицијуму, доказано је да на прогресију болести бубрега утичу међусобне интеракције промена у структури ткива бубрега и функције бубрега [8–10]. Нажалост, слични радови у трансплантационој нефрологији ретки су.

Последњом изменом Банфове класификације искристализовано је степенавање хроничних промена у гломерулима при одбацивању. Појава тзв. плус-минус дуплих контура на квадрат у капиларној петљи, које настају услед интерпозиције мезангијума, представљају најспецифичније промене у хроничној трансплантационој гломерулопатији [11]. Керби (Kerby) и сарадници [12] су указали на повећану експресију

фактора раста фибробласта-један, рецептора фактора раста фибробласта и нуклеарног антигена пролиферације ћелија у мезангијским и епителним ћелијама при хроничном одбацивању трансплантисаног бубрега.

Последњих година је показано да на исход прогресивних облика гломерулонефритиса нативних бубрега утиче пре степен промена у тубулоинтерстицијуму него степен промена у гломерулима [13, 14]. У хроничном одбацивању трансплантисаног бубрега промене у тубулоинтерстицијуму могу бити веома опсежне, с оштећењем тубула, запаљењем и фиброзом интерстицијума. У студији Торма (Thorm) и сарадника [15] показано је да мерење пролиферације ћелија у биопсијским ткивима калема, нуклеарни антиген пролиферације ћелија може бити добар показатељ акутног одбацивања ћелија, чак и ако се инфилтрати ћелија налазе у фокусима.

Појава оклузивних промена у крвним судовима ткива калема бубрега главно је обележје хроничног одбацивања. Тачни патофизиолошки догађаји који доводе до стварања неоинтима нису још увек довољно расветљени. У студији у којој су лезије интима у хроничном одбацивању проучаване морфолошки и имунохистохемијски, Гулдесбро (Gouldsbrough) и сарадници [16] су уочили комплексне и активне интеракције између ћелија ендотела, макрофагних ћелија, лимфоцита Т и ћелија глатких мишића. Такође, Керби и сарадници [17] су указали на повећану експресију фактора раста фибробласта-један, рецептора за фактор раста фибробласта и нуклеарног антигена пролиферације ћелија на зиду крвних судова у хроничном одбацивању трансплантисаног бубрега.

Из наведеног се може закључити да је повећана експресија нуклеарног антигена пролиферације ћелија, како у ћелијама гломерула тако и у инфилтратима интерстицијума, већ у литератури описивана како у акутним тако и у хроничним одбацивањима трансплантисаног бубрега. С друге стране, у хемато-онколошким студијама често се нуклеарни антиген пролиферације ћелија користи не само као маркер пролиферације ћелија већ и као фактор прогнозе [18–20].

У овој студији први пут је процењена могућност да се, помоћу испитивања експресије нуклеарног антигена пролиферације ћелија у ткивима калема с хроничним одбацивањем, предвиди брзина прогресије хроничне инсуфицијенције калема. Испитивања су показала да две групе болесника с различитом брзином прогресије хроничне инсуфицијенције калема показују и различит интензитет пролиферације ћелија у васкуларном, гломерулском и тубулоинтерстицијумском делу, односно да је пролиферација интензивнија у групи болесника с брзом прогресијом. Такође, сигнификантно значајна корелација је доказана између нагиба регресионе криве и степена пролиферације ћелија.

На основу наведених испитивања може се закључити да је употребом нуклеарног антигена пролиферације ћелија као маркера пролиферације ћелија, могуће предвидети брзину хроничне инсуфицијенције калема узроковану хроничним одбацивањем.

PCNA IN ASSESSMENT OF PROGRESSION RATE OF CHRONIC RENAL ALLOGRAFT REJECTION

S. SIMITSH-OGRIZOVITSH, LJ. DJUKANOVITSH, A. STARCHEVITSH-BOZHOVITSH,
R. BLAGOJEVITSH, D. RADIVOJEVITSH

Institute of Urology and Nephrology, Ward of Nephrology, Belgrade

Since the introduction of kidney transplantation, the short-term patient and graft survival have been progressively improving, but the long-term graft survival and half-life of transplants have not. Beyond doubt, chronic rejection (CR) remains the major cause of chronic graft failure and is responsible for the loss over 10 years of 50% of grafts. (1-4).

CR is characterized clinically by proteinuria, hypertension and declining renal function, and pathologically by arteriosclerosis, glomerulosclerosis and interstitial fibrosis. The progressive morphological changes of glomerular, vascular and tubulointerstitial (TIN) compartments in renal allografts experiencing chronic rejection correlate directly with declining renal function and the eventual graft loss [5]. In consideration of this fact and using proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as a marker of cell proliferation, a retrospective analysis of renal allograft biopsies was carried out with the aim to determine whether quantification of the cell proliferation activity in three tissue compartments may be used as a prognostic index of CR progression.

SUBJECTS AND METHODS

Clinical course and biopsy specimens of 27 patients with clinically and morphologically confirmed (Banff schema) diagnosis of CR were retrospectively evaluated.

Patients were transplanted between 1988 and 1994 at our Institute and regularly followed-up for at least 2 years after transplantation (14 patients), or till haemodialysis has been resumed (11 patients) or till death (2 patients).

The progression rate of renal graft function deterioration was estimated by slopes of regression lines obtained by plotting $1/sCr$ vs time. According to the progression rate after biopsy patients were divided into two groups: fast progression group (10 patients) and slow progression group (17 patients).

Immunosuppressive regimens included induction with anti-lymphocyte globulin followed with cyclosporine, steroids and azathioprine.

Immunohistochemistry. Sections of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue were stained for PCNA with monoclonal mouse anti-proliferating cell nuclear antigen (clone PC 10, Dako) as follows in ref. [6]. PCNA immunoreactivity of smooth muscle cells and lymphocytes in vascular intima, lymphocytes in TIN and glomerular mesangium proliferation was assessed by semiquantitative scoring (scale 0-3). Normal tonsil was used as a positive control. Differences between groups were evaluated using Student's t-test. Pearson's correlation test was used to study the relationship between variables. P values <0.05 were considered as significant.

RESULTS

Data on patients are presented in Table 1. The only statistical difference was in progression of chronic graft failure presented by regression lines obtained by plotting $1/sCr$ vs time.

PCNA protein expressions in vascular, glomerular and TIN compartments for both groups are presented in Figs. 1-3. PC 10 immunoreactivity was confined to the nucleus. The pattern of staining was granular or diffuse.

Individual values of the scores of PCNA immunoreactivity in different tissue compartments for the groups examined are presented in Tables 2 and 3. Comparison of the means of PCNA immunoreactivity scores in different tissue compartments of fast and slow progression group showed that cells proliferation in glomerular, TIN and vascular compartments are significantly higher in the fast than in the slow progression group (Table 4). Besides, significant positive correlation was found between the slopes of the regression lines plotting $1/sCr$ vs. time and cells proliferation scores for all compartments (Table 5).

DISCUSSION

Chronic graft failure may occur due to CR, cyclosporine nephrotoxicity, repeated acute rejection, recurrent glomerular diseases, surgical and urological complications, but CR was recognized as the most common cause of chronic graft failure and renal graft loss [7].

Progression of renal disease reflects the interactive effects of changes in the structure and function. This notion has been examined many times in the native kidneys by studies correlating glomerular filtration rate with architectural deterioration in the glomerular or interstitial compartment [8-10]. Meanwhile, the similar studies in human renal allograft are scarce.

Increased PCNA immunodetection in glomerular cells as well as in interstitial infiltrates was described in acute and chronic renal graft rejection and diagnostic value of this finding was analyzed [12,15]. Similarly, PCNA was often examined immunohistochemically in lymphoma and solid tumours as a marker of cell proliferation, but its reliability as a prognostic factor was also evaluated [18-20]. In the present study the prognostic value of PCNA expression in different tissue compartments of renal grafts experiencing CR was examined for the first time. The present study revealed that two groups examined with the different chronic graft failure progression rate as the main difference had significantly different proliferation of cells in glomerular, TIN and vascular compartments. PCNA immunoreactivity scores in these three compartments were significantly higher in the fast than in slow progression group. The significant positive correlation between the slope of the regression line plotting $1/sCr$ vs. time and cell proliferation in glomerular, TIN and vascular compartments was also found. Therefore, it was suggested that the measurement of PCNA expression in renal graft tissue might be used as a prognostic index.

Key Words: Renal allograft rejection, PCNA marker. (SRP ARH CELOK LEK).

SANJA SIMIĆ-OGRIZOVIĆ
Institut za urologiju i nefrologiju
Klinika za nefrologiju
11 000 Beograd, Pasterova 2
Tel.: 3618-444/2434
E-mail: dst@Eunet.yu

ЛИТЕРАТУРА

1. Paul LC. Chronic renal transplant loss. *Kidney Int* 1995;47:1491-9.
2. Hiesse C, Rieu P, Larue JR, Kriaa F, Goupy C, Benoit G et al. Late graft failure and death in renal transplant recipients: analysis in a single-center population of 1500 patients. *Transplant Proc* 1997;29:240-2.
3. Stein-Oakley AN, Jablonski P, Tzanidis A, Baxter K, Howden BO, Marrshal VC et al. Development of chronic injury and nature of interstitial infiltrate in a model of chronic renal allograft rejection. *Transplantation* 1993;56:1299-305.
4. Massay ZA, Guijarro C, Wiederkehr MR, Ma ZM, Kasiske BL. Chronic renal allograft rejection: Immunologic and nonimmunologic risk factors. *Kidney Int* 1996;49:518-24.
5. Tullius SG, Hnacock WW, Heemann U, Azurna H, Tilney NL. Reversibility of chronic renal allograft rejection. Critical effect of time after transplantation suggests both host immune dependent and independent phases of progressive injury. *Transplantation* 1994;58:93-9.
6. Schmitt FC, Rabenhorst SH, Maecla SA, Colturato V, Melo LN. Estimation of growth fraction in fine needle aspirates from non-Hodgkin-s lymphoma using proliferating cell nuclear antigen. Correlation with the Kiel classification. *Acta Cytol* 1996;40:199-204.
7. Simic-Ogrizovic S, Djukanovic Lj, Stojkovic D, Blagojevic R, Sindjic M, Radivojevic D et al. Characteristic of chronic graft failure. *Med Istraz* 1999;33:50-6.
8. Neilson E.G. Tubulointerstitial injury and its role in progressive renal damage: Summary and conceding remarks. *Kidney Int* 1994;45(Suppl 45):116-7.
9. Lan HY, Nikolic-Paterson DJ, Mu W, Atkins RC. Local macrophage proliferation in the progression of glomerular and tubulointerstitial injury in rat anti-GBM glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995;48:753-60.
10. Ingram A, Parbtani A, Thai K, Ly H, Shankland SJ, Morrissey G et al. Dietary supplementation with L-arginin limits cell proliferation in the remnant glomerulus. *Kidney Int* 1995;48:1857-65.
11. Solez K, Alexen RA, Benediktson, Burdik JF, Cohen AH, Colvin RB et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: The Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993;44:411-22.
12. Kerby JD, Verran DJ, Luo KL, Ding Q, Tagouri Y, Herrera G A et al. Immunolocalization of FGF-1 and receptors in glomerular lesions associated with chronic human renal allograft rejection. *Transplantation* 1996;27:19-200.
13. Strutz F, Neilson EG. The role of lymphocytes in the progression of interstitial disease. *Kidney Int* 1994;45(Suppl 45):106-10.
14. D-Amico G. Tubulointerstitium as predictor of progression of glomerular disease. *Nephron* 1999;83:289-95.
15. Thorn M, Palmer A, Catteli V, Cook T. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as a diagnostic marker of acute rejection in routinely processed biopsies of renal allografts. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:153-5.
16. Goulesbrough DR, Axelsen RA. Arterial endothelialitis in chronic renal allograft rejection: a histopathological and immunocytochemical study. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:35-40.
17. Kerby JD, Verran DJ, Luo KJL, Ding Q, Tagouri Y, Herrera GA et al. Immunolocalization of FGF-1 and receptors in human renal allograft vasculopathy associated with chronic rejection. *Transplantation* 1996;62(4):467-75.
18. Kamel OW, Warlike RA, Banks PM. Localisation of proliferating cell nuclear antigen (PCNA/cyclin) in workshop cases of Hodgkin-s disease and Non-Hodgkin-s lymphomas. *Semin Diagn Pathol* 1992;9:311-4.
19. Hall PA, Levison DA, Woods AI. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin section: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Path* 1990;162:285-94.
20. Klemi PJ, Alnen K, Jalkanen S. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as a prognostic factor in non-Hodgkin-s lymphoma. *Br J Cancer* 1992;66:739-43.

Ругоиис је дослиавлен Уредништву 6. III 2001. године