

Использование плазмафереза для коррекции реперфузионной травмы при пересадке почки

М.М. Каабак, В.А. Горяйнов, И.В. Дьяченко

Отдел трансплантации органов Российского научного центра хирургии РАМН, отделение трансплантации почки и экстракорпоральных методов лечения Российской детской клинической больницы МЗ РФ, Москва

Correction of ischemia/reperfusion injury with plasmapheresis in kidney transplantation

M.M. Kaabak, V.A. Goriainov, I.V. Dyachenko

Ключевые слова: трансплантация, почка, травма ишемии/реперфузии.

Для профилактики реперфузионной травмы у 32 пациентов в течение первых 4 часов после реперфузии почечного аллотрансплантата был проведен сеанс плазмафереза. Оценивались частота отсроченной функции трансплантата, актуаральная выживаемость трансплантатов и пациентов, а также удельный прирост креатинина (мкмоль/л/сут). Полученные результаты сравнивались с двумя контрольными группами: 32 пациента, оперированных до начала исследования, и 31 пациент, оперированный после завершения исследования. Продемонстрировано существенное уменьшение доли трансплантатов с отсроченной функцией и улучшение отдаленных результатов в группе больных, получивших плазмаферез.

To evaluate an efficacy of plasmapheresis in prevention of ischemia/reperfusion injury we compared the incidence of delayed graft function, as well as long-term results in 32 patients, received plasmapheresis within first 4 hours after graft reperfusion with historic controls (32 patients transplanted before starting of investigated group and 31 patients transplanted after the investigated group was completed). Graft function was considered as delayed if patient received at least two dialysis during first week after transplantation. To compare long term results, actuarial patient and graft survival were calculated and degree of serum creatinine rising was estimated (as micromol/liter/day). Significant reduction of delayed graft function and improved long-term results in investigated group are demonstrated and discussed.

Анализ литературы

Травма ишемии/реперфузии и отторжение

Функциональные возможности трансплантированной почки в большой степени определяются обстоятельствами операции и ближайшего послеоперационного периода. В частности, травма ишемии/реперфузии (И/Р), включая разные патогенетические механизмы, в том числе образование свободных радикалов, может, с одной стороны, уничтожить часть нефронов, с другой – запустить процессы, повреждающие нефроны в ближайшем или отдаленном будущем.

Один из таких процессов – увеличение экспрессии антигенов 2-го класса системы HLA клетками донорского органа вследствие И/Р-травмы – обнаружен в эксперименте на животных многими авторами [1–5]. Это обстоятельство заставляет с еще большим вниманием отнестись к травме И/Р и ее возможной роли в развитии как острого, так и хронического отторжения. Эти результаты были подтверждены в клиническом исследовании Fuggle и соавторов из Оксфорда [6]. Изучались предоперационные биопсии почечных аллотрансплантатов, полученных от живых родствен-

ных и трупных доноров. При иммунофлюоресцентном анализе в почках от доноров-трупов были обнаружены высокие уровни эндотелиального E-селектина, ICAM-1, VCAM-1 (молекулы адгезии сосудистых клеток), а также увеличение экспрессии антигенов HLA-DR в проксимальных канальцах, в то время как в почках от живых родственных доноров содержание этих маркеров было значительно ниже. Авторы объясняют такие различия не только разницей в продолжительности ишемии, но также и другими патофизиологическими механизмами, имеющими место у трупа и повреждающими почки перед изъятием органов (травма, в том числе и повторные эпизоды И/Р, инфекция и т. д.).

Существует мнение [7], что первоначальная травма трансплантата, обусловленная собственно процессом пересадки органа, главным образом И/Р-травма, абсолютно необходима для начала процесса отторжения. В работе Lu и соавторов рассмотрены известные механизмы, приводящие к активации иммунитета в ответ на травму, и их тесная взаимосвязь с процессом отторжения аллотрансплантата [7].

Начало воспалительного процесса связано с четырьмя главными этапами. Первое: активация эндотелия сигналами (цитокинами), поступающими от находя-

щихся в непосредственной близости поврежденных интерстициальных клеток и появление на поверхности эндотелия молекул адгезии. Второе: непрочная фиксация лейкоцитов к эндотелию в результате обратимого взаимодействия с П(Р)- и И(Е)-селектином, молекулами адгезии-1 сосудистых клеток (VCAM-1) и гиалуронатом поверхности активированного эндотелия. Третье: находясь в состоянии непрочной связи с эндотелием, лейкоциты сами получают сигналы активации в виде таких хемокинов, как интерлейкин-8 (IL-8), протеин-1-хемотрактант моноцитов (MCP-1), изменяющих структуру поверхностных β_2 -интегринов таким образом, что они вступают в прочную связь с их контрлигандами на эндотелии. β_2 -интегринами лейкоцитов являются LFA-1, Mac-1 и VLA-4, их контрлиганды на эндотелии – межклеточные молекулы адгезии первого и второго типов (ICAM-1, ICAM-2) и VCAM-1. Четвертое: лейкоциты проникают сквозь эндотелий (диapedез).

Таким образом, ключевыми молекулами, регулирующими процесс проникновения лейкоцитов в травмированный орган, являются хемокины, цитокины и молекулы адгезии. Распознавание этих молекул происходит внутриклеточными механизмами, системами комплемента и свертываемости.

Среди лейкоцитов, инфильтрирующих трансплантат в ответ на И/Р-травму, присутствуют дендритные клетки. Если И/Р-травма имела место у донора (вследствие нестабильности гемодинамики), донорские дендритные клетки, проникшие в трансплантат, попадают в организм реципиента, мигрируют в лимфоузлы и селезенку и, являясь антиген-презентирующими клетками, прямым путем активируют Т-лимфоциты реципиента. Активированные Т-лимфоциты приобретают молекулы адгезии LFA-1 и VLA-4, необходимые для миграции в аллотрансплантат. После трансплантации, переживая И/Р-травму в организме реципиента, аллотрансплантат инфильтрируется дендритными клетками (макрофагами) нового хозяина. Эти клетки фагоцитируют донорские белки, мигрируют в лимфоузлы и селезенку реципиента, где представляют донорские белки (антигены) в связи с МНС реципиента Т-лимфоцитам, обеспечивая не прямой путь их активации. Затем активированные Т-лимфоциты приобретают поверхностные молекулы адгезии LFA-1 и VLA-4.

Эффективная активация этих Т-лимфоцитов в аллотрансплантате требует двух типов сигналов. Первый тип сигналов поступает от донор-специфических рецепторов на поверхности Т-лимфоцита при их контакте с антигеном. Второй тип сигналов называется ко-стимулирующим или дополнительным. При отсутствии сигналов второго типа чаще развивается толерантность, чем активный ответ. Известно много молекул, обеспечивающих ко-стимулирующий сигнал, в частности теплостойкий антиген (HSA) и межклеточные молекулы адгезии первого типа (ICAM-1). Лучше всех изучены В7-1 (CD80) и В7-2 (CD86). Они обеспечивают ко-стимулирующий сигнал, взаимодействуя с CD28 Т-лимфоцитов. При И/Р-травме почки происходит высвобождение TNF α и других цитокинов, приводящее к усилению экспрессии В7. Кроме того, количество В7 на поверхности антиген-презентирующих клеток (почечные эндотелий и эпителий, дендритные клетки) увеличивается в результате взаимодействия CD40 и его ли-

ганда CD154, запускающегося в результате И/Р-травмы (синонимы CD154, CD40L, gp39, ТВАМ). Таким образом, И/Р-травма почки, приводя к активации В7, направляет взаимодействие антигенов и донор-специфических рецепторов Т-лимфоцитов в сторону развития отторжения скорее, чем в сторону толерантности.

Клинические данные, подтверждающие гипотезу о причинно-следственной связи между И/Р-травмой и отторжением, могут быть разделены на пять групп.

Во-первых, клинические данные свидетельствуют о наличии воспаления в почках человека, перенесших И/Р-травму в условиях, исключающих отторжение. При биопсии собственных почек человека, перенесших И/Р-травму, было обнаружено умеренное интерстициальное воспаление и тубулит [8]. Умеренная воспалительная инфильтрация была также обнаружена в почках после аутоотрансплантации у собак и при трансплантации от однойцовых близнецов у людей [9].

Во-вторых, если И/Р-травма запускает отторжение, которое в большинстве случаев предотвращается иммуносупрессивной терапией, то следует допустить, что чем тяжелее была перенесенная И/Р-травма, тем чаще должно встречаться отторжение. Огромное количество клинических данных говорит о прямой связи между послеоперационным ОКН и отторжением, хотя анализ большинства материалов и затруднен из-за того, что больные с ОКН часто получают другую иммуносупрессию, в частности анти-Т-лимфоцитарные антитела. В работе Troppmann и соавторов эта проблема разрешена. Все наблюдавшиеся этими авторами 457 пациентов получали АЛГ, а назначение циклоспорина было отсрочено независимо от функции трансплантата. Различие во встречаемости отторжения было существенным у больных с ОКН и без него (57% и 40% соответственно; $p < 0,004$) [10]. Другим методом оценки И/Р-травмы, кроме наличия или отсутствия ОКН, является сывороточный креатинин на 10-й день после операции. Было показано, что у пациентов с более высоким креатинином в эти сроки чаще встречается отторжение [11].

Далее, если И/Р-травма запускает отторжение, то чем она слабее, тем реже должно встречаться отторжение. Хорошо известно, что результаты трансплантации от родственных доноров лучше, чем от трупных доноров. Обстоятельства трансплантации от живого донора связаны с меньшей И/Р-травмой. Лучшая выживаемость трансплантатов может объясняться как меньшей интенсивностью отторжения, так и большим количеством функционирующих нефронов в трансплантате, а также сочетанием этих двух причин. В пользу гипотезы о меньшей интенсивности отторжения свидетельствует тот факт, что выживаемость трансплантатов от живых родственных доноров зависит от совместимости. Так, полужизнь HLA-идентичного трансплантата составляет 25 лет, при совпадении одного гаплотипа – 16 лет, при отсутствии совпадений – 11,9 лет ($p < 0,025$) [12].

Если принять, что И/Р-травма запускает отторжение, то следует ожидать, что лечение, направленное на ослабление И/Р-травмы, должно также уменьшать интенсивность отторжения. В клинической практике использовалось два типа такой терапии. Во-первых, применение супероксид дисмутаза, связывающей такие известные медиаторы И/Р-травмы, как свободные радикалы, приводило к снижению частоты эпизодов

острого отторжения [13, 14, 15]. Во-вторых, моноклональные антитела против молекул адгезии ICAM-1 и LFA-1 улучшают течение И/Р-травмы, уменьшая воспаление и предотвращая активацию Т-лимфоцитов, ингибируя костимулирующий сигнал, передаваемый при взаимодействии ICAM-1 антигенпрезентирующих клеток с LFA-1 Т-лимфоцитов [16, 17]. Первые клинические данные свидетельствуют о способности этих антител предотвращать как посттрансплантационный ОЖН, так и отторжение [18, 19].

Наконец, почечные канальцы в большей степени, чем клубочки, являются мишенью острого клеточного отторжения [20]. Это может быть следствием того, что канальцевые клетки более чувствительны к И/Р-травме, и, как упоминалось выше, травмированные канальцевые клетки высвобождают хемокины и цитокины, способствующие формированию воспалительного инфильтрата и дифференциации Т-лимфоцитов.

Доказательства гуморального механизма травмы ишемии/реперфузии

Взаимосвязь механизмов И/Р-травмы и отторжения, рассмотренная в работе Lu и соавторов, допускает возможность взаимодействия указанных процессов на уровне обмена информацией либо через интерстициальную жидкость, либо непосредственно между клетками. Приводимые ниже две работы свидетельствуют в пользу значимой роли циркулирующих факторов в патогенезе И/Р-травмы.

В эксперименте на крысах, проведенном Namid Rabb и соавторами, И/Р-травма моделировалась перерезанием почечных ножек с двух сторон на 30 минут [21]. В послеоперационном периоде оценивалась проницаемость легочных сосудов (ПЛС) по степени экстравазации синьки Эванса, вводимой через бедренную вену через 0, 24, 48 и 96 часов после И/Р-травмы. Было установлено, что ПЛС значимо ($p < 0,05$) увеличивается как в сравнении с контролем (лапаротомия и выделение почечных ножек без их перерезания), так и с дооперационным уровнем, достигая максимума через 48 часов после И/Р-травмы, причем изменения ПЛС полностью соответствуют тяжести И/Р-травмы почек, оцениваемой по изменениям сывороточного креатинина и мочевины. Интраперитонеальное введение за 2 часа до и через 24 после И/Р-травмы вещества CNI-1493 (амидиногидразон) предотвращало увеличение ПЛС, не влияя на течение И/Р-травмы почек. CNI-1493 подавляет активацию макрофагов, ингибируя высвобождение (но не транскрипцию) таких провоспалительных цитокинов, как IL-1, TNF, IL-6, и не влияет на высвобождение противовоспалительных цитокинов, таких, как IL-10 и трансформирующий фактор роста β (TGF β). Приведенный эксперимент свидетельствует о роли циркулирующих факторов, в частности цитокинов, в повреждении тканей, не находящихся в непосредственной близости от органа, подвергнувшегося И/Р-травме.

Исследование активации системы эндотелина-1 (ЭТ-1) при И/Р-травме, предпринятое группой ученых из Швейцарии [22], позволило установить, что после 30-минутного пережатия почечных артерий у крыс происходит увеличение сывороточной концентрации ЭТ-1 в 2,7 раза, увеличение тканевого содержания ЭТ-1 в

1,8 раза в почках, в 1,9 раза – в стенке почечных артерий, в 2,3 раза – в стенке аорты по сравнению с контролем. Значительно увеличивается клиренс ЭТ-1 – полужизнь сывороточного ЭТ-1 возрастает с 7,2 (у контрольных животных) до 23,3 с (у животных с И/Р-травмой почек). Экспрессия РНК-рецепторов ЭТ_A и ЭТ_B увеличивалась в исследованной группе животных в аорте в 2,4 раза и в почечных артериях в 2,2 раза по сравнению с контролем. Описанная дисфункция эндотелия демонстрирует универсальную роль эндотелина в патогенезе И/Р-травмы, причем эта роль не ограничивается, видимо, действием этого фактора непосредственно в ткани, перенесшей ишемию.

Реперфузионная травма почек приводит к изменениям, напоминающим хроническое отторжение, в условиях отсутствия иммунологической аллореактивности

Отдаленные последствия изолированной (без возможной роли отторжения) И/Р-травмы исследовались в эксперименте на крысах группой ученых из США [23]. После односторонней нефрэктомии артерия оставшейся почки пережималась на 30–35 минут. Контролем служили животные после односторонней нефрэктомии. У исследуемой группы животных в послеоперационном периоде имело место значительное увеличение уровня креатинина крови (до $5 \pm 0,4$ мг% по сравнению с $0,5 \pm 0,1$ мг% в контрольной группе), затем он быстро снижался, но никогда не достигал уровня контроля. Достигнув минимума в $0,9 \pm 0,2$ мг% к 8-й неделе, к 20-й неделе креатинин крови у исследуемой группы поднимался до уровня $1,7 \pm 0,5$ мг%, свидетельствуя о том, что неполное восстановление после перенесенной И/Р-травмы приводит к дальнейшему снижению функции почки. Кроме креатинина крови, в этом эксперименте оценивалась протеинурия. Последняя к 20-й неделе в опытной группе составила 275 ± 40 мг/сут по сравнению с 96 ± 39 мг/сут в контроле. Авторы не выявили корреляции между тяжестью первоначальной И/Р-травмы (оцениваемой по уровню креатинина) и степенью протеинурии, но обнаружили, что снижение почечной функции к 20-й неделе было максимальным у животных, перенесших наиболее тяжелую И/Р-травму. При морфологическом исследовании почек через 20 недель после И/Р-травмы была обнаружена картина, схожая с таковой в модели хронической трансплантационной нефропатии: сегментарная атрофия и дилатация канальцев, гиалиновые цилиндры в некоторых из них. Часть клубочков была коллабирована, около половины оставшихся имели сегментарный склероз, гипертрофию висцеральных эпителиальных клеток и сенехии с капсулой Боумана. Единственным отличием было отсутствие поражения сосудов.

Несколько ранее Azuma и соавт. [24] исследовали И/Р-травму в экспериментах на 344 крысах. Создавались 45-минутная ишемия одной почки в сочетании с удалением другой почки у части животных. Исследования проводились в сроки от 4 часов до 52 недель после реперфузии. Активация ICAM-1 (межклеточные молекулы адгезии первого типа), системы эндотелина и антигенов HLA 2-го класса наблюдалась на 2–5-й день после травмы. Т-клетки и макрофаги нарастали пери-

одически, протеинурия развивалась в среднем через 8 недель только у животных с удаленной интактной почкой. У этих же животных после 16-й недели развивались прогрессирующие морфологические изменения. Эти данные позволили авторам сделать вывод о том, что тяжелая И/Р-травма единственной почки может быть важным антигеннезависимым фактором риска развития дисфункции почки и ее недостаточности. Авторы полагают, что И/Р-травма может играть роль в развитии хронического отторжения.

В следующей работе этих же авторов [25] после односторонней нефрэктомии у крыс линии Lewis другая почка выделялась, охлаждалась, и ее ножка пережималась на 45 минут, затем зажим снимался. При этом изучались отдаленные последствия И/Р-травмы (до 48 недель) и методы фармакологической профилактики. Было подтверждено, что через 8 недель у животных с И/Р-травмой единственной почки развивается прогрессирующая протеинурия. Растворимый лиганд для P(Р)- и E(Е)-селектина (гликопротеиды, запускающие адгезию лейкоцитов к эндотелию, то есть первый патогенетический механизм после И/Р-травмы), блокирующий их провоспалительное действие, значительно снижает дисфункцию почек, оцениваемую по уровню протеинурии, и повреждение тканей, оцениваемое при гистологическом исследовании. Авторы, однако, допускают, что такого рода коррекция И/Р-травмы приводит к уменьшению дисфункции почек не благодаря неизвестным пока длительным процессам, возникающим в И/Р-травмированной почке, а благодаря сохранению массы функционирующих нефронов при первоначальной травме.

Исследования по профилактике И/Р-травмы были продолжены этими авторами при поддержке Bristol-Myers-Squibb [26, 27]. В ряде работ в экспериментах с односторонней нефрэктомией у крыс и последующей перфузией другой почки раствором на основе UW и в условиях 45 мин ишемии исследован патогенез повреждения почки при И/Р-травме. Как и в предыдущих исследованиях, было обнаружено появление и прогрессирование протеинурии на 5–12-й неделе после И/Р-травмы. Вещество CTLA4Ig, блокирующее активацию Т-клеток по пути CD28-B7, вводимое либо сразу после реперфузии, либо через 1 неделю, предотвращает развитие дисфункции почки, а вводимое через 4 недели – не предотвращает последнюю. Авторы утверждают, что «патогенетический механизм, ответственный за хроническую дисфункцию органа, развивающуюся после И/Р-травмы, остается неизвестным. Молекулярные исследования с использованием RT-PCR указывают на присутствие в органе, подвергшемся ишемии, ключевых Т-клеток, активации моноцитов/макрофагов и воспалительных цитокинов, хемоаттрактантов и факторов роста, однако вклад каждого из перечисленных агентов в развитие хронической дисфункции нуждается в дальнейшем исследовании». INF γ и TNF α являются мощными индукторами экспрессии HLA-антигенов 2-го класса [28] и B7 [29]: оба фактора вносят вклад в усиление «иммуногенности» органа, перенесшего ишемию». Предложены также весьма смелые гипотезы, согласно которым «в условиях отсутствия иммунного ответа к аллоантигенам (имеется в виду описанная модель И/Р-травмы), интересно предположить, что ишеми-

ческая травма может привести к «экспозиции» неоантигенов, которые могут распознаваться Т-клетками на инфильтрирующих антигенпрезентирующих клетках, экспрессирующих антигены 2-го класса MHC, и способна обеспечить костимулирующий сигнал. Известно также, что свободные радикалы обеспечивают сигнал для активации Т-клеток. Поэтому альтернативная гипотеза заключается в следующем: Т-клетки активируются свободными радикалами, высвобождающимися при травме холодной ишемии/реперфузии. CTLA4Ig, блокируя второй или костимулирующий сигнал активации Т-клеток, ингибирует полную активацию Т-клеток и предотвращает травмирование органа». Однако авторы осознают, что их результаты не доказывают патогенетическую роль Т-клеток в травме холодной ишемии/реперфузии, так как возможно, что блокада B7 может прямо влиять на моноциты/макрофаги или эндотелиальные клетки.

Динамика развития И/Р-травмы

Большое значение для выбора тактики борьбы с И/Р-травмой играет динамическое взаимодействие различных патогенетических механизмов, а именно время активации тех или иных ступеней. В остром исследовании германских ученых изучалась динамика развития И/Р-травмы после клинической трансплантации трушной почки по определению уровня экскреции с мочой протеогликана гепарана сульфата и по уровню и качественному составу протеинурии у больных с хорошей начальной функцией аллотрансплантата [30]. Повышение экскреции протеогликана гепарана сульфата происходит вследствие И/Р-повреждения базальной мембраны клубочков. Следствием потери протеогликана гепарана сульфата базальными мембранами является протеинурия. Таким образом, по изменению в моче концентрации протеогликана гепарана сульфата и уровню и качественному составу (неселективная клубочковая/канальцевая или селективная клубочковая) протеинурии можно в некоторой степени судить о динамике развития И/Р-травмы. Было установлено, что в первой фазе И/Р-травмы (до 7 часов) концентрация протеогликана гепарана сульфата нарастает. Во второй фазе (7–48 часов) концентрация протеогликана гепарана сульфата снижается в три раза, начальная неселективная клубочковая протеинурия сменяется умеренной селективной клубочковой протеинурией в результате синтеза *de novo* протеогликана гепарана сульфата. В третьей фазе (после 48 часов) клубочковая протеинурия у большинства пациентов исчезает вследствие нормализации уровня протеогликана гепарана сульфата в базальной мембране гломерул.

Некоторое представление о динамике усиления иммуногенности почечного аллотрансплантата дает другая экспериментальная работа [31]. Исследовалась активация экспрессии молекул HLA 2-го класса на непрофессиональных антигенпрезентирующих клетках (клетки эпителия почечных канальцев, так называемые F1К-клетки) провоспалительными цитокинами. Было обнаружено, что усиление экспрессии MHC 2 в результате инкубации F1К-клеток совместно с INF γ в значительной мере снижалось при добавлении к культуре клеток липополисахаридов (LPS). Причем

если LPS добавлялись в культуру клеток, инкубированных с INF γ , более чем через 12 часов, ингибирования усиления экспрессии HLA 2 не происходило. Другими авторами получены такие же данные об ингибировании INF γ -индуцированной активации экспрессии MHC 2-го класса на профессиональных антигенпрезентирующих клетках другими провоспалительными цитокинами (TNF α , IL-1 β) [32, 33]. Из этих исследований можно сделать вывод, что INF γ -зависимый процесс усиления иммуногенности становится необратимым через 12 часов после начала действия INF γ .

Динамика уровня P(Р)-селектина после И/Р-травмы изучалась другой группой ученых [34]. Было установлено в эксперименте на мышах (30-минутная ишемия и определение уровня P-селектина через 20 мин, 2, 5, 10 и 24 часа после реперфузии), что уровень P-селектина достигает максимума в 20 минут, плато держится до 5 часов и снижается к 10 часам.

Подводя итог, можно сделать вывод, что влияние И/Р-травмы как на функциональные возможности трансплантата, так и на изменения его иммуногенности начинаются непосредственно после реперфузии, достигают своего максимума через 5–7 часов, и через 12 часов они становятся резистентными к терапевтическому воздействию.

Методы оценки И/Р-травмы в клинике

Для анализа влияния И/Р-травмы на результаты трансплантации, а также для оценки эффективности мероприятий, предлагаемых для борьбы с И/Р-травмой, необходим простой и надежный метод оценки степени И/Р-травмы. В доступной литературе нам не удалось обнаружить описание такого метода.

Предлагалось интраоперационное определение кровотока в трансплантате непосредственно после реперфузии. Однако этот метод обладает, по меньшей мере, одним недостатком. Наиболее острый период И/Р-травмы продолжается до 12 часов после реперфузии, и предполагаемый метод должен позволять оценивать И/Р-травму в динамике на протяжении этих 12 часов. Однако многократная доплерометрия кровотока в течение первых послеоперационных часов представляется трудоемкой и малодоступной.

Отдельные авторы полагают возможным использовать в будущем технику RT-PCR для определения экспрессии генов молекул, ответственных за развитие И/Р-травмы и острого отторжения, в материале, полученном при тонкоигольной аспирации из трансплантата, а также в моче и крови [35]. Однако на сегодняшний день надежное проведение таких тестов возможно только в материале, полученном при пункции трансплантата гильотинной иглой, а следовательно, этот метод обладает теми же недостатками, что и доплерометрия, отличаясь большей дороговизной.

Предложен также и описанный выше метод, который заключается в почасовом определении протеинурии [30]. Отличаясь простотой и дешевизной, этот метод позволяет судить о динамике И/Р-травмы лишь у больных, не имеющих остаточной функции собственных почек при достаточном (не

менее 40 мл/ч) диурезе.

Таким образом, на сегодняшний день мы не располагаем методом, пригодным для оценки И/Р-травмы в клинике у всех больных, и вынуждены разрабатывать методы борьбы с И/Р-травмой на основании данных, полученных при анализе разницы в результатах трансплантации почки в зависимости от применявшейся коррекции И/Р-травмы.

Обоснование эффективности плазмафереза в коррекции травмы ишемии/реперфузии

Мы не смогли найти в литературе данных об использовании плазмафереза для коррекции И/Р-травмы. В середине 1970-х годов плазмаферез активно использовался для лечения разных заболеваний почек, особенно нефритов с антителами к базальной мембране клубочков. Однако с накоплением опыта показания к проведению плазмафереза значительно сузились. Американское Общество Афереза выделяет четыре категории показаний [36].

– категория I: терапевтический гемаферез является стандартной и приемлемой процедурой, но это не означает абсолютную необходимость его использования во всех случаях. Присвоение этой категории основано на хорошо организованных исследованиях с надежным контролем.

– категория II: терапевтический гемаферез, как правило, приемлем, однако рассматривается скорее как дополнение к другим видам терапии, чем как средство первого ряда.

– категория III: существующий опыт недостаточен для установления эффективности терапевтического гемафереза. Доступны единичные отчеты.

– категория IV: доступные исследования свидетельствуют о неэффективности терапевтического гемафереза.

Ниже приводятся данные того же общества, имеющие отношение к заболеваниям почек (табл. 1).

Schneider [35], рассматривая эффективность плазмафереза при аутоиммунных заболеваниях, утверждает, что плазмаферез используется в критических ситуациях при любых иммунологических заболеваниях, однако является стандартной терапией только при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре, тромботической тромбоцитопенической пурпуре и гемолитико-уремическом синдроме, криоглобулинемии, синдроме Гудпасчера, остром синдроме Guillain–Barre и обострении миастении гравис [37]. При системных заболеваниях соединительной ткани, гранулематозе

Таблица 1

Показания к проведению плазмафереза

Заболевание	Процедура	Категория
Криоглобулинемия	Плазмаферез	I
Синдром Гудпасчера	Плазмаферез	I
Тромботическая тромбоцитопеническая пурпура	Плазмаферез	I
Гемолитико-уремический синдром	Плазмаферез	II
Миелома и паратиреоидизм	Плазмаферез	II
Быстропрогрессирующие гломерулонефриты без антител к базальной мембране клубочков	Плазмаферез	II
Отторжение органовых аллотрансплантатов	Фотоферез	III
Отторжение почечных аллотрансплантатов	Плазмаферез	IV

Вегенера и микроскопическом полиангиите Американское общество Афереза определяет плазмаферез как дополнительную терапевтическую возможность.

Автор утверждает, что хотя не существует пока общепринятого протокола, эффективность метода мало зависит от техники проведения плазмафереза. Как правило, при использовании оборудования с постоянным потоком в качестве субституата используется 5% альбумин и физиологический раствор поваренной соли в соотношении 1:1. Замене подвергается один объем циркулирующей плазмы (около 40 мг/кг) три или четыре раза в неделю.

При исследованиях с неспецифическими маркированными антителами удалось выяснить, что при плазмаферезе происходит практически полное удаление циркулирующих антител, однако практически не изменяется количество фиксированных в тканях антител. В клинике влияние фиксированных в тканях антител может быть непрямым образом оценено по нарастанию концентрации антител через 6–7 часов после плазмафереза. Этот своеобразный «синдром отмены», возможно, дополняется диффузией антител из лимфоидных тканей, катаболизмом иммуноглобулинов вследствие их удаления, а также удалением антиидиотипных антител. Новый синтез – другой источник антител, нарастание которых до исходного уровня происходит через 7–14 дней.

Эффективность метода автор связывает с тем, что, кроме циркулирующих антител и иммунных комплексов, происходит удаление и других патогенов, таких, как провоспалительные цитокины и растворимые молекулы адгезии, однако данных для анализа слишком мало.

Приведенные данные, а также здравый смысл свидетельствуют в пользу эффективности плазмафереза при интоксикациях как эндо-, так и экзогенных, ограниченных по времени образования (поступления в организм) патогена достаточно коротким промежутком времени. К интоксикации такого рода может быть отнесена реперфузионная травма. По нашему мнению, позитивное действие плазмафереза на функцию трансплантата возможно в результате коррекции реперфузионной травмы двумя патогенетическими механизмами:

1) выведение из организма продуктов перекисного окисления и анаэробного метаболизма в трансплантате, то есть непосредственное снижение интенсивности реперфузионной травмы;

2) уменьшение воспалительной инфильтрации И/Р-травмированной почки, а также дезинтеграция

иммунного ответа организма в ранние сроки после экспозиции аллоантигенов путем удаления циркулирующих цитокинов и хемокинов, то есть снижение интенсивности процессов, приводящих к острому или хроническому отторжению.

Целью настоящей работы явилось изучение эффективности плазмафереза, применяемого в раннем посттрансплантационном периоде с целью уменьшения И/Р-травмы трансплантата для улучшения отдаленных результатов пересадки почки.

Материалы и методы

С 11 января 1997 года по 1 декабря 1998 года было выполнено 32 пересадки трупной почки. Во всех случаях в первые четыре часа после реперфузии пациентам проводился сеанс плазмафереза. Ниже эта группа пациентов обозначается как группа «ПФ».

Применявшийся нами плазмаферез был необычен как по своему объему (100–150% ОЦК), так и по качественному составу субституата: 30–50% кристаллоидов, 25–30% пятипроцентного альбумина, 25–30% свежемороженой плазмы (в зависимости от функции трансплантата). Для удаления плазмы использовались плазмофильтры фирмы «Фрезениус» PF-1 и PF-2.

Для контроля были сформированы следующие группы. Первая: 32 пересадки, выполненные непосредственно перед началом серии «ПФ», с 6.06.95 по 9.09.96. Ниже эта группа обозначается «до ПФ». Вторая: 31 трансплантация, выполненная после завершения серии ПФ, с 7.01.99 по 18.06.00. Ниже эта группа обозначается «после ПФ». Необходимость формирования двух контрольных групп связана с тем, что исследуемая группа имеет существенные и разнонаправленные различия с каждой из контрольных по исходным характеристикам, влияние которых на результат трансплантации бесспорно (табл. 3). Заболевания, вызвавшие терминальную ХПН у больных исследуемой и контрольных групп приведены в табл. 2. Исходные характеристики трех групп больных представлены в табл. 3.

Среди причин терминальной ХПН во всех группах преобладает врожденная и наследственная патология (более 50%). По частоте заболеваний, склонность которых к рецидивированию в трансплантате хорошо известна (геморрагический васкулит, оксалоз, гемолитико-уремический синдром), а также по числу больных с хроническим гломерулонефритом, исследуемая группа не различается значимо с контрольными.

Исследуемая группа уступает группе «до ПФ» по числу больных высокого иммунологического риска (повторные трансплантации, число больных с уровнем лимфоцитотоксических антител >30%), но превосходит по этим параметрам группу «после ПФ». Средний уровень лимфоцитотоксических антител в исследуемой группе существенно ниже, чем в группе «до ПФ», но при сравнении с группой «после ПФ» статистически достоверных различий нет. Индукция иммуносупрессии с помощью препарата АТГ в группе «до ПФ» не проводилась ни у одного больного, но в группе «после ПФ» таких больных было больше, чем в исследуемой группе. Наличие двух

Таблица 2

Причины терминальной ХПН в исследованных группах реципиентов аллогенной почки

Диагноз	«до ПФ»	«ПФ»	«после ПФ»
Хронический гломерулонефрит	8 (25%)	9 (28,1%)	7 (22,6%)
Поликистоз почек	5 (15,6%)	3 (9,4%)	2 (6,5%)
Рефлюкс-нефропатия	3 (9,4%)	3 (9,4%)	6 (19,4%)
Гидронефроз	2 (6,25%)	1 (3,1%)	1 (3,2%)
Гипоплазия/дисплазия почек	12 (37,5%)	12 (37,5%)	10 (32,3%)
Синдром Альпорта	–	1 (3,1%)	3 (9,8%)
Геморрагический васкулит	1 (3,1%)	1 (3,1%)	1 (3,2%)
Оксалоз	–	1 (3,1%)	–
Гемолитико-уремический синдром	–	1 (3,1%)	–
Нефропатия неясной этиологии	1 (3,1%)	–	1 (3,2%)
<i>Итого</i>	<i>32 (100%)</i>	<i>32 (100%)</i>	<i>31 (100%)</i>

Таблица 3

Характеристика исследованных групп по клиническим и демографическим параметрам

	«до ПФ»	«ПФ»	«после ПФ»
Количество больных	32	32	31
Возраст больных, годы (M ± m)	8–20 (14,01 ± 0,7)	9–19 (14,03 ± 0,7)	10–20 (14,2 ± 0,7)
Пол больных, м/ж	12/20	17/15	16/15
Продолжительность диализа, месяцы (M ± m)	4–47 (16,3 ± 0,9)	3–31 (14,5 ± 0,7)	1–80 (19,6 ± 0,9)
HLA-несовместимости AB/Dx	2,6 ± 0,3/ –	2,7 ± 0,3/ 1,0 ± 0,2	2,9 ± 0,3/ 1,1 ± 0,2
Срок холдовой ишемии, часы (M ± m)	9–25 (18,6 ± 0,9)	10–30 (18,5 ± 0,8)	8–23 (17,1 ± 0,7)
Пол донора, м/ж	30/2	28/4	23/8
Возраст донора, годы (M ± m)	9–55 (33,7 ± 1,04)	17–50 (36,5 ± 1,1)	19–55 (35,3 ± 1,1)
Повторные пересадки	10 (31%)	8 (25%)	5 (16%)
АТГ для индукции	0	9 (28%)	14 (45%)*
Уровень лимфоцитотокси- ческих АТ, % (M ± m)	0–86 (14,9 ± 0,8)*	0–35 (4,9 ± 0,4)	0–47 (5,5 ± 0,4)
Больные с лимфоцитотокси- ческими АТ > 30%	5 (16%)	2 (6%)	2 (7%)

* – различия достоверны по сравнению с группой «ПФ» (p < 0,005).

Результаты и обсуждение

Выживаемость трансплантатов представлена на рис. 1, выживаемость пациентов – на рис. 2. Преимущества группы «ПФ» очевидны и практически не нуждаются в комментариях. Если по выживаемости трансплантатов группа «после ПФ» в сроки до 12 месяцев (достаточное количество наблюдений) приближается к группе «ПФ», то по летальности имеет самый худший результат.

В табл. 4 приведены данные о первичной функции трансплантатов. Функция трансплантата расценивалась как отсроченная, если в течение первой недели после трансплантации больному проводилось не менее двух сеансов гемодиализа. Существенное снижение доли трансплантатов с отсроченной функцией в исследуемой группе по сравнению с обеими контрольными является, вероятно, самым очевидным доказательством возможности коррекции реперфузионной травмы с помощью плазмафереза.

По мере накопления информации в постоянно обновляемой компьютерной базе данных наряду с ее совершенствованием стало возможным использование для сопоставления результатов трансплантации, кроме актуаральной выживаемости, таких показателей, как клиренс креатинина при последнем контрольном обследовании (рассчитанный по формуле Cockcroft–Gault [38]), удельный прирост креатинина (мкмоль/л/сут), определенный у больных с трансплантатами, функционирующими более года, при сравнении уровня креатинина крови через год после трансплантации с уровнем креатинина при последнем контроле.

За 1,5 года было сделано четыре обращения к базе данных, результаты которых представлены в табл. 5.

В связи со значительными потерями трансплантатов в контрольных группах (см. графики актуаральной выживаемости) при сопоставлении этих показателей возникала значительная диспропорция между исследуемой и контрольными группами по количеству больных в отдаленные сроки после трансплантации. Поэтому группа «до ПФ» была сформирована по другому принципу: в нее были включены не 32 трансплантации, выполненные непосредственно перед началом группы «ПФ», а из всех трансплантаций, выполненных до начала группы «ПФ», были выбраны последние 32 пациента

Таблица 4

Первичная функция трансплантатов

	«до ПФ»	«ПФ»	«после ПФ»
Доля трансплантатов с отсроченной функцией, %	47*	19	29*

* – различия достоверны по сравнению с группой «ПФ» (p < 0,005).

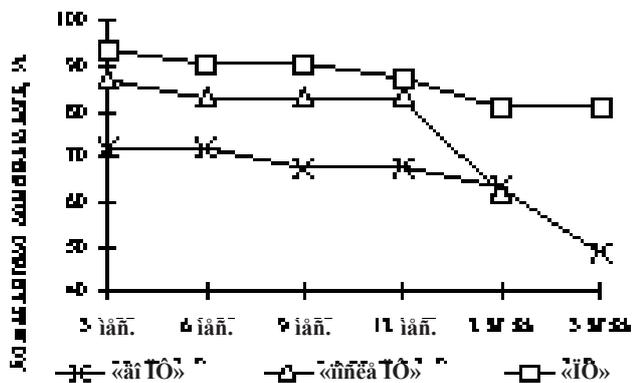


Рис. 1. Актуаральная выживаемость трансплантатов

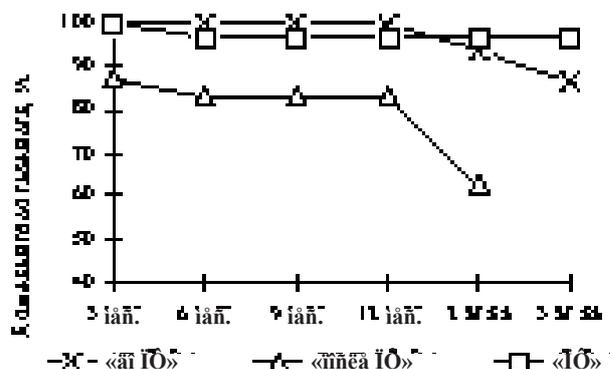


Рис. 2. Актуаральная выживаемость пациентов

Таблица 5

Функциональные характеристики трансплантатов

Дата обращения	Удельный прирост креатинина (мкмоль/л/сут)			Клиренс креатинина (мл/мин)			Срок наблюдения (дни)			Количество больных		
	«до ПФ»	«ПФ»	«после ПФ»	«до ПФ»	«ПФ»	«после ПФ»	«до ПФ»	«ПФ»	«после ПФ»	«до ПФ»	«ПФ»	«после ПФ»
29.10.99	0,0545 ± 0,0004*	-0,0023 ± 0,0001					854	457		32	21	
7.08.00		-0,0026 ± 0,0001						703			26	
12.02.01	0,0656 ± 0,0005*	-0,0151 ± 0,0002	-0,0001 ± 0,00003	51,39 ± 1,41*	67,02 ± 1,61	76,28 ± 2,42*	1902	841	422	26	26	13
21.05.01	0,0509 ± 0,0005*	-0,0064 ± 0,0002	0,0177 ± 0,0004*	52,77 ± 1,48*	70,46 ± 1,65	72,67 ± 2,36 ^{NS}	1935	1006	487	24	26	13

* – различия достоверны по сравнению с группой «ПФ» (p < 0,005) внутри одного обращения;
^{NS} – различия статистически не значимо по сравнению с группой «ПФ» (p > 0,05) внутри одного обращения.

с трансплантатами, функционировавшими не менее года. Таким образом, группа «до ПФ» в табл. 4 состоит из больных, трансплантаты которых должны *a priori* иметь более стабильную функцию, и преимущества группы «ПФ», иллюстрируемые табл. 5, стали более весомыми. Следует отметить, что в таблице приведены сведения о больных, трансплантаты которых функционируют не менее года. Изменение количества больных при более поздних обращениях происходит в результате продол-

жающихся потерь трансплантатов (уменьшение) или в результате преодоления годовичного рубежа новыми больными (увеличение).

Для большей наглядности данные из табл. 5 представлены в графическом виде (рис. 3 и 4). Клиренс креатинина в группе «ПФ» существенно выше, чем в группе «до ПФ», но ценность этого наблюдения невелика, так как в группе «после ПФ» сроки наблюдения значительно больше. В группе «после ПФ» клиренс креатинина существенно выше, чем в группе «ПФ» при третьем обращении к базе данных (средний срок наблюдения 422 дня в группе «после ПФ» и 841 день в группе «ПФ»), но снижается при следующем обращении (средний срок наблюдения 487 дней в группе «после ПФ» и 1006 дней в группе «ПФ») в такой степени, что различия с группой «ПФ» утрачивают статистическую достоверность.

Обращает на себя внимание постоянно отрицательное значение удельного прироста креатинина для группы «ПФ» при всех обращениях к базе данных (средние сроки наблюдения от 458 до 1006 дней). В других группах эта величина была отрицательной только один раз: в группе «после ПФ» при среднем сроке наблюдения 422 дня. При следующем обращении (средний срок 487 дней) удельный прирост креатинина стал положительным. Такое быстрое и значительное изменение объясняется, во-первых, небольшим числом больных (13), во-вторых, относительно небольшим сроком после трансплантации. В группе «до ПФ» (больные, трансплантаты которых работали не менее года, то есть трансплантаты с заведомо более стабильной функцией) значение удельного прироста креатинина было положительным, но оставалось стабильным (от 0,0509 до 0,0656 мкмоль/л/сут) при среднем сроке наблюдения от 854 до 1935 дней.

Выводы

Группа пациентов, получивших в первые часы после реперфузии сеанс плазмафереза, имеет наиболее высокую выживаемость трансплантатов, причем такой показатель, как удельный прирост креатинина, позволяет надеяться на то, что разница в выживаемости трансплантатов сохранится или даже увеличится.

Проведение плазмафереза в первые часы после операции приводит к существенному снижению доли трансплантатов с отсроченной функцией.

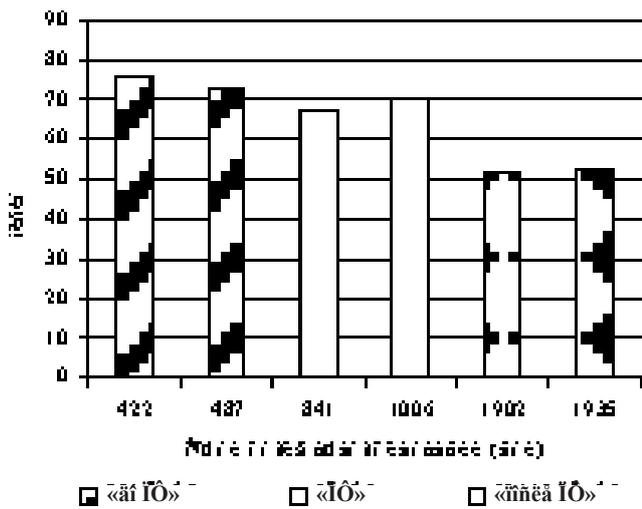


Рис. 3. Клиренс по креатинину

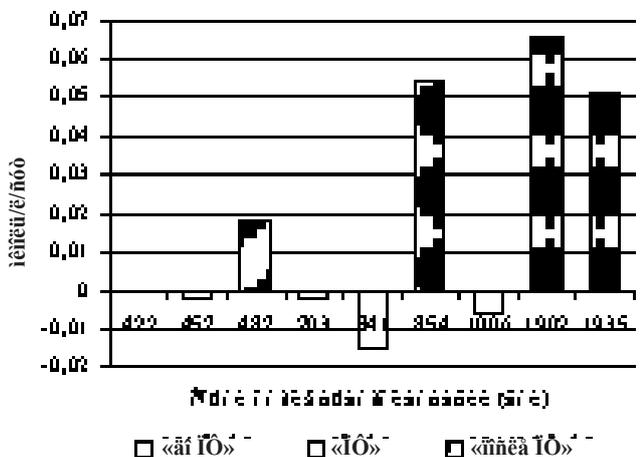


Рис. 4. Удельный прирост креатинина (мкмоль/л/сут)

К сожалению, мы не имеем прямых доказательств того, что эти позитивные изменения являются следствием коррекции реперфузионной травмы в результате проведения плазмафереза в ближайшем п/о-периоде. Это объясняется трудностью динамического контроля за развитием реперфузионной травмы и является предметом наших дальнейших исследований.

Литература

1. Ibrahim S, Jacobs F, Zukin Y, Enriquez D, Holt D, Baldwin W 3rd, Sanfilippo F, Rainer LE. Immunohistochemical manifestations of unilateral kidney ischemia. *Clin Transplant*; 1996; 10 (6 Pt 2): 646–652.
2. Sboskes DA, Parfrey NA, Halloran PF. Increased major histocompatibility complex antigen expression in unilateral ischemic acute tubular necrosis in the mouse. *Transplantation* 1990; 49: 201–207.
3. Takada M, Nadeau KC, Shaw GD, Marquette KA, Tilney NL. The cytokine-adhesion molecule cascade in ischemia/reperfusion injury of the rat kidney. Inhibition by a soluble P-selectin ligand. *J Clin Invest* 1997; 1; 99 (11): 2682–2690.
4. Salabudeen A, Wang C, McDaniel O, Lagoo-Denadyalan S, Bigler S, Barber H. Antioxidant Iazaroid U-74006F improves renal function and reduces the expression of cytokines, inducible nitric oxide synthase, and MHC antigens in a syngeneic renal transplant model. Partial support for the response-to-injury hypothesis. *Transplantation* 1996; 15; 62 (11): 1628–1633.
5. Waddell TK, Gorczynski RM, DeCampos KN, Patterson GA, Slutsky AS. Major histocompatibility complex expression and lung ischemia-reperfusion in rats. *Ann Thorac Surg* 1996; 62 (3): 866–872.
6. Koo DDH, Welsb KL, McLaren AJ, Boake JA, Morris PJ, Fuggle S. Cadaver versus living donor kidneys: Impact of donor factors on antigen induction before transplantation. *Kidney International*, 1999; 4 (56): 1551–1559.
7. Lu CY, Penfield JG, Kieler ML, Vazquez MA, Jeyarajah DR. Hypothesis: Is renal allograft rejection initiated by the response to injury sustained during the transplant process? *Kidney International*, 1999; 6 (55): 2157–2168.
8. Marcussen N, Lai R, Olsen TS, Solez K. Morphometric and immunohistochemical investigation of renal biopsies from patients with transplant ATN, native ATN, or acute graft rejection. *Transplant Proc* 1996; 28: 470–476.
9. Porter KA. *Renal Transplantation, in Pathology of the Kidney* / edited by R.H. Heptinstall, Boston, Little, Brown & Co., 1992; 1799–1934.
10. Troppmann C, Gillinchman AB, Benedetti E, Almond PS, Gruesser RW, Najarian JS, Matas AJ. Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaveric renal transplantation: The multivariate analysis. *Transplantation* 1995; 59: 962–968.
11. Cosio FG, Pelletier RP, Falkenbain ME, Henry ML, Elkhammas EA, Davies EA, Bumgardner GL, Ferguson RM. Impact of acute rejection and early allograft function on renal allograft survival. *Transplantation* 1997; 63: 1611–1615.
12. Cecka JM. The UNOS scientific renal transplant registry, in *Clinical Transplantation 1996* / edited by J.M. Cecka, P. Terasaki, Los Angeles, UCLA Tissue Typing Laboratory, 1996; 1–14.
13. Land W, Messmer K. The impact of ischemia/reperfusion injury on specific and non-specific? Early and late chronic events after organ transplantation. *Transplantation Rev* 1996; 10: 108–127.
14. Pollak R, Andrisevic JH, Maddux MS, Gruber SA, Paller MS. A randomized double blind trial of the use of human recombinant superoxide dismutase in renal transplantation. *Transplantation* 1993; 55: 57–60.
15. Land W, Schneeberger H, Schleibner S.T., Illner WD., Abendroth D., Rutili G., Arfors KE., Messmer K. Beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on both acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants. *Transplantation* 1994; 57: 211–217.
16. Kelly KJ, Williams WW Jr, Colvin RB, Bonventre JV. Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 91: 812–816.
17. Isobe M, Yagita H, Okumura K, Ihara A. Specific acceptance of cardiac allograft after treatment with antibodies to ICAM-1 and LFA-1. *Science* 1992; 255: 1125–1127.
18. Hourmant M, Bedrossian J, Durand D, Lebranchu, Renoult E, Caudrelier P, Buffet R, Soullillou J.P. A randomized multicenter trial comparing leukocyte function-associated antigen-1 monoclonal antibody with rabbit antithymocyte globuline as induction treatment in first kidney transplantation. *Transplantation* 1996; 62: 1565–1570.
19. Haug CE, Colvin RB, Delmonico FL, Auchincloss H, Jr, Tolkoff-Rubin N, Preffer FI, Rotblein R, Norris S, Schar Schmidt L, Cosimi AB. A phase 1 trial of immunosuppression with anti-ICAM-1 (CD54) mAb in renal allograft recipients. *Transplantation* 1993; 55: 766–773.
20. Porter KA. *Renal Transplantation, in Pathology of the Kidney* / edited by R.H. Heptinstall, Boston, Little, Brown & Co., 1992; 1799–1934.
21. Kramer AA, Postler G, Salhab KF, Mendez C, Carey LC, Rabb H. Renal ischemia/reperfusion leads to macrophage-mediated increase in pulmonary vascular permeability. *Kidney Int* 1999; 55: 2362–2367.
22. Ruschitzka F, Shaw S, Gysl D, Noll G, Barton M, Thomas F, Lüscher. Endothelial dysfunction in acute renal failure: role of circulating and tissue endothelin-1. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 953–962.
23. Pagtalunan ME, Olson JL, Tilney NL, Meyer TW. Late consequences of acute ischemic injury to a solitary kidney. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10; 9: 1940–1949.
24. Azuma H, Nadeau K, Takada M, Mackenzie HS, Tilney NL. Cellular and molecular predictors of chronic renal dysfunction after initial ischemia/reperfusion injury of a single kidney. *Transplantation* 1997; 27; 64 (2): 190–197.
25. Takada M, Nadeau KC, Shaw GD, Tilney NL. Prevention of late renal changes after initial ischemia/reperfusion injury by blocking early selectin binding. *Transplantation* 1997; 15; 64 (11): 1520–1525.
26. Chandraker A, Takada M, Nadeau KC, Peach R, Timley N, Sayegh M. CD28-B7 blockade in organ dysfunction secondary to cold ischemia/reperfusion injury. *Kidney International* 1997; 52: 1678–1684.
27. Takada M, Chandraker A, Nadeau KC, Sayegh MH, Tilney NL. The role of the B7 costimulatory pathway in experimental cold ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* 1997; 1; 100 (5): 1199–1203.
28. Goes N, Urmos J, Ramassar V, Halloran PF. Ischemic acute tubular necrosis induces an extensive local cytokine response. Evidence for induction of interferon-gamma, transforming growth factor-beta 1: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin-2, and interleukin-10. *Transplantation* 1995; 59: 565–572.
29. Larsen CP, Ritchie SC, Hendrix R, Linsley PS, Hatcock KS, Hodes RJ, Pearson TC. Regulation of immunostimulatory function and costimulatory molecule (B7-1 and B7-2) expression on murine dendritic cells. *J Immunol* 1994; 152: 5208–5219.
30. Stefanidis I, Heintz B, Stocker G, Mrowka C, Sieberth H.G., Haubeck HD. Association between heparan sulfate proteoglycan excretion and proteinuria after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7 (12): 2670–2676.
31. Banu N, Meyers CM. INF- γ and LPS differentially modulate class II MHC and B7-1 expression on murine renal tubular epithelial cells. *Kidney International* Vol 1999; 55: 2250–2263.
32. Hogaboam C, Snider DP, Collins SM. Cytokine modulation of T-lymphocyte activation by intestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology* 1997; 112: 1986–1995.
33. Melbus O, Koerner TJ, Adams DO. Effects of TNF alpha on the expression of class II MHC molecules in macrophages induced by INF gamma: Evidence for suppression at the level of transcription. *J leukoc Biol* 1994; 49: 21–27.
34. Zizzi HC, Zibari GB, Granger DN, Singh I, Cruz LD, Abreo F, McDonald JC, Brown MF. Quantification of P-selectin expression after renal ischemia and reperfusion. *J Pediatr Surg* 1997; 32 (7): 1010–1013.
35. Streblau J, Paulakis M, Lipman M, Mastlinski W, Shapiro M, Strom TB. The intragraft gene activation of markers reflecting T-cell activation and -cytotoxicity analyzed by quantitative RT-PCR in renal transplantation. *Clin Nephrol* 1996; 46 (1): 30–33.
36. *Replacement of renal function by dialysis* / edited by Claude Jacobs, Carl M. Kjellstrand, Karl M. Koch, James F. Winchester (editor-in-chief). Fourth edition. Kluwer academic publishers 1996.
37. Matthias Schneider. Plasmapheresis and immunoadsorption: Different techniques and their current role in medical therapy. *Kidney International*, 1998; 53; Suppl. 64, S-61–S-65.
38. Cockroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16: 31.