

Received: 2003.07.16

Accepted: 2003.10.17

Published: 2004.02.18

Prewencja i terapia uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego w przeszczepianiu nerek

Prevention and therapy of ischemia-reperfusion injury in renal transplantation

Maria Boratyńska, Dorota Kamińska, Oktawia Mazanowska

Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Uszkodzenie nerek jeszcze przed zabiegiem przeszczepienia stanowi znaczący problem kliniczny i może się przyczyniać do opóźnienia podjęcia czynności przeszczepionego narządu, a nawet jej braku. Wpływa zarówno na wczesną czynność przeszczepionej nerki jak i pogarsza jej długotrwałe przeżycie. Złożony mechanizm patogenetyczny uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego daje możliwość podjęcia interwencji terapeutycznej w wielu miejscach. Przyjmując, że rodniki tlenowe powodują uszkodzenie komórek śródbłonna i zapoczątkowują uwalnianie różnych mediatorów zapalnych oraz ekspresję cząsteczek adhezyjnych podczas niedokrwienia, a zwłaszcza następowej reperfuzyj, czynniki które je hamują lub unieszkodliwiają będą chronić narząd przed uszkodzeniem. Leki wpływające na wewnątrzkomórkowe stężenie jonów wapnia mogą przeciwdziałać wysokim stężeniom Ca^{2+} w uszkodzonych komórkach. Przeciwdziałanie aktywacji granulocytów obojętnochłonnych, prewencja zaburzeń w regionalnym przepływie krwi, zahamowanie indukcji odpowiedzi immunologicznej w czasie uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego mogą poprawić rokowanie w uszkodzeniu niedokrwiennie-reperfuzyjnym. Poznanie mechanizmów tego procesu może ułatwić wprowadzenie nowych leków do prewencji i terapii uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego, może też umożliwić indywidualizację terapii oraz stworzyć dogodne warunki do podjęcia wczesnej interwencji farmakologicznej.

Słowa kluczowe:

uszkodzenie niedokrwiennie-reperfuzyjne • przeszczepianie nerek

Summary

The transplantation of vascularized organs requires discontinuation of the organ blood supply. Ischemia-reperfusion injury is a serious issue in organ transplantation, bearing the potential to shorten graft and patient survival. It can affect early and late posttransplant kidney allograft function and is caused by numerous factors, including reactive oxygen species generation, aberrations of intracellular calcium concentration, activation of mononuclear cells, endothelial cells damage, capillary obstruction and the no-reflow phenomenon. During this period, biochemical and inflammatory events occur within the tissue, leading to graft dysfunction. This multifactorial process can be targeted by therapeutic interventions. In this paper, current data on the therapy and prevention of ischemia-reperfusion injury in renal transplantation is presented. The use of antioxidants, enriched preservation solutions, calcium channel blockers, factors limiting lipid peroxidation, inhibition of neutrophil-mediated acute inflammation, and immunosuppressive agents, as well as ischemic preconditioning or pulsatile perfusion can be proposed to prevent graft damage.

Key words:

ischemia-reperfusion injury • renal transplantation

Full_text PDF:

http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/4825.pdf

Word count:

6741

Tables:

-

Figures:

-

References:

75

Adres autorki:

Dr hab. Maria Boratyńska, Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej AM, ul. Traugutta 57/59, 50-417 Wrocław, e-mail: borat@iitd.pan.wroc.pl

WSTĘP

Uszkodzenie nerek jeszcze przed zabiegiem przeszczepienia stanowi znaczący problem kliniczny, dotyczy to około 30% chorych poddanych zabiegowi przeszczepienia nerki od dawcy zmarłego. Powoduje to konieczność dłuższej hospitalizacji, wykonywania badań dodatkowych, a czasem jest przyczyną niepotrzebnie stosowanej nadmiernej immunosupresji. Podnosi koszty przeszczepu i pogarsza jakość życia chorych oraz długotrwałe przeżycie przeszczepionej nerki. Uszkodzenie ischemiczno-reperfuzyjne w transplantacji może się przyczyniać do opóźnienia podjęcia czynności przeszczepionego narządu, a nawet jej braku. Wpływa tak na wczesną czynność przeszczepionej nerki, jak i pogarsza jej długotrwałe przeżycie. Jest ważniejszym czynnikiem rokowniczym niż dobór w zakresie antygenów zgodności tkankowej [6, 41, 49, 67].

Głównymi przyczynami prowadzącymi do uszkodzenia tkanek w czasie ischemii i reperfuzyj są: generacja wolnych rodników tlenowych przez oksydazę ksantynową, zwiększone "jednoelektronowe" przeciekanie mitochondrialnego łańcucha elektronowego, uwolnienie jonów żelaza, aktywacja neutrofilów, zwiększone wytwarzanie reaktywnych form tlenu wskutek wzmożenia metabolizmu kwasu arachidonowego, zwiększenie wytwarzania tlenu azotu i w konsekwencji nadtlenoazotynu [2].

Złożony mechanizm patogenetyczny uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego w wielu miejscach umożliwia podjęcie interwencji terapeutycznej.

Przyjmując, że rodniki tlenowe powodują uszkodzenie komórek śródbłonna i zapoczątkowują uwalnianie różnych mediatorów zapalnych oraz ekspresję cząstek adhezyjnych podczas niedokrwienia, a zwłaszcza następowej reperfuzyj, czynniki, które je hamują lub unieszkodliwiają będą chronić narząd przed uszkodzeniem.

Mechanizmy obronne przed działaniem reaktywnych form tlenu można podzielić ze względu na czas działania na:

- prewencyjne - mające na celu niedopuszczenie do reakcji reaktywnych form tlenu ze związkami biologicznie czynnymi,
- interwencyjne - przerywające łańcuchowe reakcje, przez które są tworzone dalsze rodniki tlenowe,
- naprawcze - usuwające skutki kontaktu reaktywnych form tlenu z biomolekułami [2].

Związkami czynnymi są:

1. Enzymy rozkładające reaktywne formy tlenu, m.in. enzymy, takie jak: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza, peroksydaza glutationowa, ceruloplazmina.

2. Drobnocząsteczkowe antyutleniacze (antyoksydanty), czyli substancje redukujące anionorodnik ponadtlenkowy O_2^- do nadtlenu wodoru, takie jak: glutation, askorbinian, tokoferole, N-acetylocysteina, koenzym Q10.

3. Zmiatacze wolnych rodników reagujące z rodnikami ponadtlenkowymi i niedopuszczające do rozprzestrzeniania się reakcji wolnorodnikowych (adrenalina, bilirubina, biliwerdyna, kwas moczowy, mannitol i in.).

4. Wchodzące w skład centrum aktywnych dysmutaz ponadtlenkowych jony metali grup przejściowych (miedzi, manganu, cynku i żelaza).

5. Białka przechowujące jony metali w formie niedostępnej dla reakcji Habera-Weissa (transferyna, ceruloplazmina).

6. Białka szoku termicznego [37].

ANTYOKSYDANTY I ZMIATACZE WOLNYCH RODNIKÓW TLENYCH

Witamina E (α -tokoferol) jest endogennym antyoksydantem obecnym w błonie komórkowej i lipoproteinach osocza. Wspólnie z kwasem L-askorbinowym (witamina C) reagują z hydroksyłowymi i peroksyłowymi rodnikami zapobiegając peroksydacji lipidów błon komórkowych. Podawanie szczurom przez 72 godziny przed prowokowanym niedokrwieniem i reperfuzyją witaminy E powodowało znaczne zmniejszenie stężenia dialdehydu malonowego (MDA, jako wykładnika obecności zwiększonej ilości reaktywnych form tlenu) w tkance nerkowej oraz poprawę czynności nerek [57]. Podobne efekty uzyskano dodając wit. E do płynu perfundującego (EuroCollins) w czasie autotransplantacji nerki u psów [14]. Badania prowadzone na królikach wykazały, że podawanie witaminy C w okresie zabiegu przeszczepienia nerki znosi skutki peroksydacji lipidów - obniża stężenia lipidów o aktywności czynnika aktywującego płytki (PAF-like lipids) i mieloperoksydazy oraz poprawia czynność narządu [38]. W przeprowadzanych badaniach klinicznych u ludzi wykazano, że podawanie 500 g kwasu askorbinowego tuż przed reperfuzyją powodowało zmniejszenie nasilenia stężenia IL-6 i MDA we krwi pobieranej z żyły nerkowej po reperfuzyj [31]. Podobnie, dożylnie podawanie mieszanki multiwitaminowej, bądź samej wit. E redukowało uszkodzenie reperfuzyjne w przeszczepianiu nerek [45].

Koenzym Q10 (ubihydrochinon), antyoksydant obecny w błonach biologicznych także zapobiega uszkodzeniu ischemiczno-reperfuzyjnemu. Stosowany łącznie z pentoksyfiliną u szczurów niwelował zmiany enzymatyczne związane z niedokrwieniem i reperfuzyją [56].

Zastosowanie N-acetylocysteiny, związku o właściwościach antyoksydacyjnych było badane w różnych modelach ischemii i reperfuzji oraz w procesach chorobowych wywołanych przez rodniki tlenowe. N-acetylocysteina podawana szczurom przed wywołaniem niedokrwienia zapobiegała spadkowi aktywności enzymów antyoksydacyjnych - katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationu. Gdy stosowano ją z substancjami o działaniu rozszerzającym naczynia - nitroprusydkiem sodu lub fosforamidonem - inhibitorem enzymu konwertującego endotelinę, uzyskano efekt synergistyczny [16]. Podobnie u zwierząt otrzymujących N-acetylocysteinę w godzinę przed i godzinę po niedokrwieniu nerki obserwowano zmniejszenie ekspresji kinaz aktywowanych stresem (SAPK) nawet do 70%, wyższy wskaźnik filtracji kłębuszkowej w pierwszej i siódmej dobie po niedokrwieniu oraz poprawę wykładników histologicznych stanu nerki w tydzień po zabiegu [15].

Allopurinol, strukturalny analog hipoksantyny, konkurencyjnie hamuje oksydazę ksantynową i wytwarzanie rodników tlenowych w badaniach doświadczalnych i klinicznych. Podawany szczurom przed, w czasie i po wywołanym niedokrwieniu znacząco redukuje stężenia wykładników peroksydacji lipidów [24]. Allopurinol jest składnikiem wielu płynów do przechowywania przeszczepianych narządów u ludzi, m.in. szeroko stosowanego University of Wisconsin solution (UW) - podobnie jak glutation, stosowany w celu uzupełnienia wewnątrzkomórkowych zapasów peroksydazy glutationu (enzymu antyoksydacyjnego, umiejscowionego w cytosolu i mitochondriach, rozkładającego H_2O_2 do H_2O). Zastosowanie do końcowej perfuzji płynu zawierającego allopurinol, a dodatkowo m.in.: deferoksaminy i glutation (Carolina Rinse Solution) powodowało poprawę wczesnej czynności narządu i zwiększało przeżycie przeszczepu u szczurów poddanych przeszczepieniu nerki po okresie co najmniej 30-godzinnej zimnej niedokrwienia [72].

Inne nieenzymatyczne zmiatacze wolnych rodników: dimetyliomocznik, adenozyzna i mannitol, neutralizujące rodniki hydroksylowe, od wielu lat są stosowane w klinice w zapobieganiu uszkodzeniu ischemiczno-reperfuzyjnemu jako składniki płynów stosowanych do perfuzji i przechowywania narządów.

Lazaroid (21-aminosteroid, U-74006F) chroni tkanki przed uszkodzeniem po urazie i ischemii. Wymiatą rodniki tlenowe i hamuje tworzenie O_2^- przez oksydazę NADPH w neutrofilach. Zmniejsza peroksydację lipidów. Podawano go szczurom rasy Wistar-Furth przed pobraniem nerki oraz przed

reperfuzją. U zwierząt tych w siódmej dobie po zabiegu przeszczepienia nerki wykazywano lepszą czynność nerki, oraz mniejszy wzrost ekspresji mRNA dla cytokin (IL-2, IL-6, IFN- γ , TNF- α), cząsteczek MHC klasy I i II oraz indukowanej syntetazy tlenu azotu (iNOS) niż u osobników nieleczonych [58].

L-karnityna zmniejsza wytwarzanie wolnych rodników tlenowych, utlenianie kwasów tłuszczowych w mitochondriach, przeciwdziała aktywacji PAF, przez co wykazuje działanie ochronne w stosunku do błon komórkowych. Była podawana królikom w czasie reperfuzji i znacząco obniżała stężenie dehydrogenazy mleczanowej (wskaźnika uszkodzenia komórek), poprawiała wykładniki biochemiczne oraz histologiczne czynności nerki [42]. U szczurów otrzymujących przed wywołaniem niedokrwienia karnitynę w dawce 100 mg/kg m.c. nie obserwowano wzrostu stężenia MDA we krwi i tkance nerkowej, podobnie nie obserwowano zmian histologicznych nerki [18].

Pirogronian, wykorzystywany preferencyjnie przez mitochondria w czasie hipoksji podawany przez tydzień przed i tydzień po wywołaniu niedokrwienia nerki przez zaciśnięcie tętnicy nerkowej nerki u szczurów zmniejszała intensywność nacieków monocytarnych i ekspresję mRNA dla ICAM-1 [9].

ZWIĄZKI CHELATUJĄCE JONY ŻELAZA

Czynniki chelatujące jony żelaza i miedzi - deferoksamina i ceruloplazmina, zapobiegając wytwarzaniu w reakcji Habera-Weissa katalizowanej przez jony żelaza rodnika wodorotlenowego (OH) również zapobiegały uszkodzeniom ischemiczno-reperfuzyjnym. Deferoksamina podawana królikom przed wywołaniem niedokrwienia zmniejszała wytwarzanie wolnych rodników tlenowych w większym stopniu niż mannitol. Podobnie, czynność nerki w drugiej dobie po zabiegu była lepsza u zwierząt z grupy leczonej deferoksaminy [25]. Wlew deferoksaminy przed zaciśnięciem tętnic nerkowych na okres 60 minut u królików powodował znaczną poprawę mikrokrążenia w korze nerek czyli zmniejszał nasilenie braku przepływu krwi (no-reflow) [13].

Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), peroksydaza glutationu i katalaza są endogennymi enzymami, które działają wspólnie wymiatając wolne rodniki tlenowe przez co chronią tkanki przed uszkodzeniem. Początkowo w klinicznej transplantacji użyto dysmutazę ponadtlenkową izolowaną z erytrocytów wołu, w następnych badaniach zastosowano ludzką rekombinowaną dysmutazę ponadtlenkową (rh-SOD). Zespół Landa w randomizowanej podwójnie ślepej próbie, która objęła 177 biorców nerki, 81 chorym podała 200

mg rh-SOD na kilka minut przed reperfuzją. Biorcy, którzy otrzymali rh-SOD mieli dwukrotnie mniej epizodów ostrego odrzucania i trzykrotnie mniej nieodwracalnych odrzuczeń w czasie pierwszego roku po przeszczepieniu. Było to następstwem działania antyoksydacyjnego, które zapobiegło zwiększeniu immunogenności nerki przez zahamowanie ekspresji antygenów HLA, cząsteczek adhezyjnych i cytokin. W czasie wieloletniej obserwacji dwukrotnie rzadziej wystąpiło przewlekłe odrzucanie, istotnie wyższy był odsetek chorych z czynnym przeszczepem w siódmym roku, a obliczony półokres przeżycia był trzykrotnie dłuższy w porównaniu z grupą kontrolną. Korzystny wpływ rh-SOD na wieloletnie przeżycie jest wynikiem złagodzenia uszkodzenia śródbłonna, co w konsekwencji zapobiega obliteracji naczyń przeszczepu. Takie uzasadnienie jest zgodne z ogólnie przyjętą hipotezą przewlekłego odrzucania jako "odpowiedzi na uszkodzenia". Zarówno w tym, jak i w przeprowadzonym przez Pollacka badaniu nie stwierdzono wpływu rh-SOD na wczesne funkcjonowanie przeszczepu (częstość ostrej martwicy cewek nerkowych, liczba przeprowadzonych po transplantacji zabiegów hemodializ) [35]. Przeprowadzono próbę kliniczną na 117 biorcach przeszczepu nerki, z których 58 otrzymywało rh-SOD w dawce 10 mg/kg m.c. tuż przed reperfuzją i natępnie 10 mg/kg m.c. w godzinę po puszczeniu zacisków naczyniowych. Nie obserwowano żadnych statystycznie istotnych różnic pomiędzy obiema grupami w stężeniu kreatyniny w surowicy czy klirensie kreatyniny w szóstej dobie po zabiegu przeszczepienia nerki [53]. W doświadczalnej transplantacji syngenicznej aorty z przedłużonym czasem zimnego niedokrwienia podawanie rh-SOD nie zapobiegło ekspresji czynników wzrostu, zgrubieniu błony wewnętrznej i zmianom martwiczym w obrębie błony środkowej [44]. Tak więc dysmutacja rodników ponadtlenkowych nie we wszystkich badaniach przyniosła korzyść [21, 44, 73].

LEKI WPŁYWAJĄCE NA WEWNĄTRZKOMÓRKOWE STĘŻENIE JONÓW WAPNIA

Zmiany w poziomie wewnątrzkomórkowego Ca^{2+} są ściśle związane z uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym i przejściem od uszkodzenia odwracalnego do śmierci komórki. W prawidłowych warunkach stężenie Ca^{2+} wewnątrzkomórkowego jest małe w porównaniu z płynem pozakomórkowym. Nieodwracalnie uszkodzone komórki zawierają duże stężenie Ca^{2+} . Blokery kanału wapniowego teoretycznie mogą zredukować te nieprawidłowości. W badaniach klinicznych biorcom przeszczepu nerki ze zwłok podawano diltiazem. Nerka dawcy była perfundowana płynem EuroCollins z dodatkiem diltiazemu (20 mg/l), biorca otrzymywał diltiazem dożylnie

tuż przed zabiegiem (0,28 mg/kg m.c.) oraz przez dwa dni po przeszczepie w ciągłej infuzji 0,0022 mg/min/kg m.c.). W późniejszym okresie diltiazem był podawany doustnie. Wagner i współpr. uzyskali zmniejszenie częstości opóźnienia podjęcia czynności po przeszczepie. Zmniejszyła się potrzeba zabiegów hemodializ, a czynność nerki była lepsza u leczonych diltiazemem już w siódmej dobie po zabiegu. Zmniejszenie uległa też częstość występowania ostrego odrzucania w pierwszym miesiącu po przeszczepieniu [47, 48]. Podobne wyniki przedstawili inni autorzy. Dodanie nifedypiny do płynu perfundującego w modelu zwierzęcym również poprawiało czynność przeszczepionej nerki niezależnie od zmniejszenia oporu naczyniowego [57]. Werapamil był stosowany w okresie niedokrwienia nerki u szczurów. Jego korzystne działanie było wzmacniane przez podawanie łącznie z analogiem prostacykliny (iloprost). Takie postępowanie powodowało niemal całkowite ustąpienie wykładników uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego [17].

W przekazywaniu sygnału przez jony wapnia bierze udział proteinaza cysteiny - kalpaina. Aktywowana przez wzrost stężenia Ca^{2+} wpływa na rozszczepianie wielu białek, w tym czynników transkrypcyjnych. Podanie inhibitora kalpajny 30 minut przed wywołaniem niedokrwienia zmniejszało uszkodzenie nerki u szczurów, poprawiało klirens kreatyniny, w tkance nerkowej obserwowano zmniejszenie wzrostu stężeń MDA i mieloperoksydazy oraz histologicznych wykładników uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego u szczurów [8].

Amrynon, lek hamujący fosfodiesterazę III odpowiadającą za rozkład cAMP w komórkach, działał korzystnie przez zmniejszenie stężenia wewnątrzkomórkowego wapnia, zapobieganie aktywacji neutrofilów i poprawę mikrokrążenia. Szczurom podawano go na początku reperfuzyji, po 45-minutowym niedokrwieniu. Stężenia kreatyniny i mocznika w surowicy, a także stężenia MDA i mieloperoksydazy w tkance nerkowej były istotnie mniejsze w grupie leczonej [32].

PRZECIWDZIAŁANIE AKTYWACJI GRANULOCYTÓW OBOJĘTNOCHŁONNYCH

Pierwotnymi efektorowymi komórkami uszkodzenia ischemiczno-reperfuzyjnego są granulocyty obojętne. Nagromadzenie aktywowanych neutrofilów w postischemicznych tkankach jest znamioną cechą odpowiedzi zapalnej wtórnej do niedokrwienia i reperfuzyji [75].

Neutrofile są zatrzymywane w miejscu zapalenia w wyniku przylegania do śródbłonna naczyń. Proces ten

jest wielostopniowy i zależy od stanu aktywacji granulocytów i śródbłonna. Rozpoczyna się od aktywacji selektyn E i P na powierzchni śródbłonna. Zahamowanie receptorów dla neutrofilów na komórkach śródbłonna znacznie zmniejsza uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne. O istotnej roli selektyn świadczy to, że podanie rozpuszczalnego liganda sialyl-Lewis X, który wiąże wszystkie trzy selektyny: E, P, L, efektywnie redukuje uszkodzenie reperfuzyjne w doświadczeniach na zwierzętach [5, 40]. Podawanie 5 µg rozpuszczalnego liganda dla P-selektyny w czasie perfuzji niedokrwionej nerki oraz dożylnie 50 µg w trzy godziny po reperfuzji powodowało brak wzrostu ekspresji selektyny E, hamowanie tworzenia się nacieków limfocytarnych w nerce szczurów oraz syntezy cytokin z nimi związanych, a także ekspresji cząsteczek MHC klasy II [63]. Podobnie stosowanie rozpuszczalnego liganda dla P- i E-selektyny (sPSGL) łącznie z cyklosporyną przed i po reperfuzji lub dodawanie go do płynu perfundującego zapobiegało uszkodzeniu narządów u szczurów [23, 34, 64].

Aktywowane integryny (LFA-1, VLA-4) reagują z ich ligandami (ICAM-1, VCAM-1) powodując bardziej ścisłe połączenia leukocytów z komórkami śródbłonna (zjawisko zatrzymania) [5, 62]. Efektywnym sposobem zahamowania funkcji neutrofilów jest zastosowanie przeciwciał monoklonalnych przeciw integrynom CD11a i b/CD18, odpowiedzialnym za aktywację i adhezję neutrofilów. Małpom podawano odulimonab (anti-LFA-1 mAb) przez trzy dni zaczynając od chwili pobrania nerki. Narządy przeszczepiano po okresie zimnego niedokrwienia 2 lub 24 godzin. Grupy leczone odulimonabem wykazywały znacząco lepszą czynność nerki w 72 godziny po autotransplantacji. Nie obserwowano tak dobrego efektu, gdy okres niedokrwienia wynosił 24 godziny [10]. Podanie antysensowych nukleotydów dawcom nerki w modelu zwierzęcym lub przeciwciał monoklonalnych przeciw ICAM-1 redukowało sekwestrację neutrofilów i postischemiczne uszkodzenie tkanki [61]. Przeciwciała anti-ICAM-1 stosowane w próbie klinicznej przeprowadzonej u 18 biorców przeszczepu nerki ze zwłok chroniło narząd przed uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym zależnym od granulocytów, a także indukowanym nadtlaniem wodoru. Do badania zakwalifikowano chorych ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia opóźnionego podjęcia czynności przez nerkę (chorzy wysokocuczeleni, długi czas zimnego niedokrwienia) [11].

ZAHAMOWANIE PEROKSYDACJI LIPIDÓW

Rodniki tlenowe indukują peroksydację błon lipidowych i aktywację fosfolipazy A₂, katalizującą

tworzenie kwasu arachidonowego i lizofosfolipidów z fosfolipidów błon komórkowych. Kwas arachidonowy może być następnie metabolizowany przez lipooksygenazę lub cyklooksygenazę, dostarczając LTB₄ i TxA₂. Lizofosfolipidy mogą być przekształcone w PAF [38]. Inhibitory lipooksygenazy i cyklooksygenazy mogą redukować generację LTB₄, TxA₂ i tym sposobem hamować aktywację i migrację neutrofilów do uszkodzonych tkanek. Dodanie trimetazydyny, inhibitora beta-oksydazy kwasów tłuszczowych do płynu perfuzyjnego przyspieszało podjęcie czynności przez nerkę w modelach zwierzęcych oraz poprawę jakości nerki w ocenie histologicznej z użyciem mikroskopu świetlnego i elektronowego [4, 26, 29]. Glikol polietylenowy (PEG) dodany do płynu perfuzyjnego może tworzyć odwracalne kompleksy z lipidami błon komórkowych, zabezpieczając komórki przed wnikaniem wody, zmniejszając uszkodzenia spowodowane przez wolne rodniki oraz zmniejszając immunogenność tkanek. Powodowało to poprawę tak wczesnej, jak i odległej czynności nerek w modelach zwierzęcych [20, 26, 29]. Antagoniści PAF, po podaniu na krótko przed reperfuzją zapobiegali uszkodzeniu nerki po syngenicznym przeszczepieniu nerki u szczurów [72].

PREWENCJA ZABURZEŃ W REGIONALNYM PRZEPLYWIE KRWI

Zaburzenie w regionalnym przepływie krwi (no-reflow) jest jednym z najważniejszych czynników odpowiedzialnych za opóźnienie czynności przeszczepu na skutek uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego. Ważną rolę odgrywa endotelina 1 (ET-1), uwalniana pod wpływem hipoksji, a także pod wpływem produktów peroksydacji lipidów, która może nie tylko wpływać na napięcie ściany naczyniowej, ale i adhezję leukocytów. Zastosowanie antagonisty receptora dla endoteliny 1 przez pierwszy tydzień po przeszczepie w modelach eksperymentalnych skutecznie chroniło nerkę przed uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym. Szczury były poddawane zabiegowi autotransplantacji nerki po pięciogodzinnym okresie zimnego niedokrwienia. Otrzymywały bosentan - nioselektywnego antagonistę receptorów ETA/ETB przez siedem dni po przeszczepie. W ocenie histologicznej w siódmej dobie po zabiegu grupa leczona wykazywała znacznie mniejsze nasilenie martwicy cewek oraz odwarstwienie komórek nabłonka, podobnie lepszą czynność nerki [30].

Wiele następstw działania endoteliny 1 może być zahamowanych przez tlenek azotu (NO), syntetyzowany konstytutywnie bądź po stymulacji. Obniża on ekspresję endoteliny 1 i jej aktywność oraz działa

relaksująco na naczynia, co może działać ochronnie na niedokrwiony narząd. Jednak makrofagowa oksydaza tlenu azotu wytwarza duże ilości nadtlenoazotynu o silnych właściwościach utleniających. L-arginina poprzez swój pobudzający wpływ na syntezę NO zmniejszała efekty niedokrwienia nerki szczurów, ale tylko wtedy, gdy była podawana bardzo krótko po zabiegu. Dłuższa, kilkudniowa podaż doustna powodowała nasilenie uszkodzeń niedokrwicznych, szczególnie dotyczących cewek proksymalnych i wzrost śmiertelności zwierząt, prawdopodobnie ze względu na cytotoksyczne działanie dużych stężeń tlenu azotu [66]. Szczury, którym do wody pitnej dodawano L-argininę do stężenia 1% przez siedem dni po zabiegu allotransplantacji nie wykazywały spadku filtracji kłębuszkowej ani wzrostu oporu naczyniowego [70]. L-arginina była dodawana do płynu perfundującego custodiol w stężeniu 1 mmol/l psom poddanym autotransplantacji nerki po okresie zimnego niedokrwienia trwającego 72 godziny. Leczone zwierzęta wykazywały statystycznie istotnie niższe wartości stężeń kreatyniny i BUN, po 72 godzinach od zabiegu. Podobnie niższe były stężenia MDA we krwi jako wykładnik zmniejszonej peroksydacji lipidów [19].

Prostacyklina PGI₂, której niedobór obserwuje się w uszkodzeniu reperfuzyjnym, zmniejsza ciężkość postischemicznej ostrej niewydolności nerek. Jej cytotropekcyjne działanie polega na zwiększeniu syntezy ATP i innych cyklicznych nukleotydów w komórkach oraz zahamowaniu enzymów generujących wolne rodniki tlenowe. Ponadto działa rozszerzająco na naczynia i zapobiega agregacji płytek. W przeszczepianiu nerek stosowano analog PGI₂ - Ilprost, który był dodawany do płynu perfundującego nerkę. W porównaniu z grupą kontrolną obserwowano istotnie mniejszy odsetek opóźnionej czynności przeszczepu, chorzy wymagali mniejszej liczby dializ i mieli istotnie szybszy spadek kreatyniny [47].

Antyproteazy, hamują aktywność enzymów proteolitycznych i zmniejszają przepuszczalność naczyń w mikrokrażeniu. Antytrombina III poprzez swoje działanie przeciwzapalne, podana przed reperfuzyją zmniejszała skutki uszkodzenia tkanki nerkowej szczurów [50]. Funkcję ochronną pełni także aprotynina - inhibitor proteaz, była podawana królikom przed symulowanym niedokrwieniem [51].

ZAHAMOWANIE INDUKCJI ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ W CZASIE USZKODZENIA NIEDOKRWIENNO-REPERFUZYJNEGO

TNF-alfa i IL-1 są mediatorami odpowiedzi zapalnej w uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym. Przeciwi-

ciała mono- i poliklonalne dla TNF-alfa stosowane w modelach doświadczalnych efektywnie zmniejszały zarówno uszkodzenie dotkniętej tkanki jak i odległych narządów. Podawanie rozpuszczalnych receptorów dla TNF-alfa blokuje aktywność TNF-alfa i ma podobne działanie hamujące w uszkodzeniu poniedokrwicznym [12]. Ochronny wpływ mogą wywierać także przeciwciała przeciw IL-1, antagoniści receptora IL-1 oraz przeciwciała przeciw IL-8 - próbowano je stosować w zapobieganiu i leczeniu niedokrwienia w obrębie kończyn dolnych i mózgu [43].

Dane doświadczalne wskazują, że nasilenie apoptozy w niedokrwionych i reperfundowanych narządach zależy od stanu równowagi pomiędzy czynnikami pro- i antyzapalnymi. Wśród tych ostatnich należy przede wszystkim wymienić IL-10, której podawanie lub stosowanie leków zwiększających jej syntezę może zahamować nie tylko uszkodzenie tkanek mediowane przez neutrofile i apoptozę, lecz też zmniejszać immunogenność tkanek poprzez zahamowanie ekspresji cząsteczek MHC klasy I i II [12].

Zahamowanie tzw. drugiego sygnału niezbędnego do aktywacji limfocytów T przekazywanego przez układ molekuł pomocniczych B7/CD28 przez podawanie CTLA4Ig w modelu zwierzęcym powodowało zmniejszenie uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego. Szczurom podawano CTLA4Ig od chwili autogenicznego przeszczepienia nerki przez siedem dni. W badaniu tkanki nerkowej wykazano znaczące zmniejszenie ekspresji prozapalnych cytokin, czynników chemotaktycznych i czynników wzrostu. Leczone zwierzęta wykazywały znacząco mniejsze nasilenie białkomoczu po 40 tygodniach. W osobnym doświadczeniu wykazano, że podaż CTLA4Ig mogła rozpoczynać się nawet 7 dni po niedokrwieniu powodując znaczące zmniejszenie się białkomoczu w późniejszym okresie. Przeprowadzone badania wykazały, że blokada przekazywania sygnału CD28-B7 odgrywa ważną rolę w prewencji rozwoju dysfunkcji przeszczepionej nerki, nawet przy braku różnic antygenowych [7, 63].

Wykazano, że dożylnie podawanie dawcom nerek małych dawek cyklosporyny A (3 mg/kg m.c.) lub FK506 (takrolimusu, 0,3 mg/kg m.c.) sześć godzin przed wywołaniem niedokrwienia zmniejszało nasilenie apoptozy po reperfuzyji (fragmentację DNA, aktywność kaspazy, ekspresję genów promujących apoptozę) i wpływało na poprawę czynności nerki u szczurów, prawdopodobnie w wyniku wzbudzenia syntezy białka szoku termicznego 70 (HSP-70) [71]. Podaż dawcom mykofenolanu mofetylu w doświadczeniach na zwierzętach powodowała nieprawidłową

glikozylację śródbłonkowych cząstek adhezyjnych, co prowadziło do zmniejszonej immunogenności oraz zmniejszała syntezę NO przez indukowaną syntetazę tlenu azotu (iNOS) [22, 39, 52].

TECHNIKI PREKONDYCJONOWANIA

Na modelach zwierzęcych wykazano, iż możliwe jest zmniejszenie uszkodzenia spowodowanego przez zimne niedokrwienie poprzez wstępne kondycjonowanie narządu (preconditioning). Polega ono na spowodowaniu krótkiego (10-minutowego) niedokrwienia wraz z następującą krótką reperfuzją. Takie postępowanie uniemożliwiało przekształcenie dehydrogenazy w oksydazę ksantynową i tworzenie wolnych rodników [53]. U szczurów najkorzystniejsze wyniki uzyskiwano przez zastosowanie wstępnego ciepłego niedokrwienia przez 15 min z następującą 10-minutową reperfuzją. Taki schemat powodował optymalne zwiększenie stężenia NO w tkance nerkowej. Dłuższe niedokrwienie powodowało uszkodzenie DNA przez działanie wolnych rodników (głównie nadtlenoazoty) wytwarzanych przez iNOS [67].

Poprzez wpływ na endogenne mechanizmy obronne organizmu można również wpływać na zmniejszenie skutków ischemii-reperfuzji. Białka szoku termicznego (HSPs) są zaliczane do najbardziej efektywnych substancji. Wykazano, że poddanie szczurów hipertermii przed stymulowanym niedokrwieniem i reperfuzją powodowało znaczną poprawę późniejszej czynności nerek. Jednoczesne podawanie kwercetyny - inhibitora syntezy HSPs znosiło to działanie [33]. Podawanie dawcom zawierającej kobalt protoporfiryny, która zwiększa syntezę białka indukowanego stresem oksygenazy hemu 1 (HO-1) powodowało poprawę wskaźników histologicznych i funkcjonalnych przeszczepionej nerki u szczurów [69]. Ochronną rolę w uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym pełni adenozyzna. Hamuje ona agregację płytek krwi, hamuje syntezę mediatorów naczynioskurczowych, działa przeciwzapalnie przez hamowanie: generacji anionorodnika ponadtlenkowego, degranulacji granulocytów wielojądrowych, syntezy eikozanoidów, dopełniacza, cytokin, cząstek adhezyjnych oraz przez aktywowanie antyoksydantów. Wstępne krótkie

niedokrwienie powoduje wzrost syntezy kinazy proteiny C oraz białka $G_{i/o}$ - niezbędnych do aktywacji receptora adrenergicznego, co wykazuje działanie ochronne [36].

Możliwe jest zmniejszenie uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego przez działanie czynników fizycznych. Obecnie są stosowane dwa sposoby przechowywania narządu przed przeszczepieniem. Pierwszy polega na zanurzeniu narządu w oziębionym płynie transportowym. Drugi wymaga zastosowania pulsacyjnej perfuzji przechowywanego narządu. Po wstępnym przepłukaniu narząd jest umieszczany w urządzeniu, które za pomocą układu pomp w pulsacyjny sposób dostarcza oziębiony płyn przez tętnicę nerkową, aż do czasu transplantacji. Liczne badania wykazały, że ten sposób przechowywania wpływa na zmniejszenie częstości występowania opóźnionej czynności przeszczepionej nerki, poprawia wskaźniki przeżycia przeszczepu po roku i dwóch latach, skraca długość hospitalizacji po przeszczepieniu. Wymaga użytkowania złożonej aparatury oraz znacznie podnosi koszty transplantacji. Pozwala jednak na poprawę jakości narządu, szczególnie w przypadku, gdy okres przechowywania jest długi - powyżej 30 godzin [1, 55, 60].

Złożony mechanizm patogenetyczny uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego sprawia, że teoretycznie istnieje wiele miejsc, w których można próbować modulować odpowiedź organizmu na czynnik uszkadzający. Zastosowanie metod diagnostyki molekularnej może stwarzać podstawy do lepszego poznania mechanizmów tego procesu, co może ułatwić wprowadzenie nowych leków do prewencji i terapii uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego, może też umożliwić indywidualizację terapii oraz stworzyć dogodne warunki do podjęcia wczesnej interwencji farmakologicznej, zanim dojdzie do często nieodwracalnego upośledzenia czynności przeszczepu. Bezpośrednia ingerencja w molekularne mechanizmy odpowiedzi immunologicznej wciąż wydaje się kwestią przyszłości ponieważ nasze poznanie skomplikowanej sieci wzajemnych powiązań cytokin i czynników wzrostu jest na poziomie pierwszego przybliżenia.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Balupuri S., Strong A., Hoernich N., Snowden C., Mohamed M., Manas D., Kirby J., Talbot D.: Machine perfusion for kidneys: how to do it at minimal costs. *Transpl. Int.* 2001, 14, 103-107.
- [2] Bartosz G.: Mechanizmy obrony. W: *Druga twarz tlenu*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1995, 133-188.
- [3] Bartosz G.: *Medycyna pisana na nowo*. W: *Druga twarz tlenu*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1995, 218-221.
- [4] Baumert H., Goujon J.M., Richer J.P., Lacoste L., Tillement J.P., Eugene M., Carreter M., Hauet T.: Renoprotective effect of tri-metazidine against ischemia-reperfusion injury and cold storage preservation: a preliminary study. *Transplantation* 1999, 68, 300-303.
- [5] Beekhuizen H., Van De Gevel J.S.: Endothelial cell adhesion molecules in inflammation and posts ischemic reperfusion injury. *Transplant. Proc.* 1998, 30, 4251-4256.
- [6] Boratyńska M., Szepietowski T., Szewczyk Z.: Acute rejection and delayed graft function-risk factors of graft loss. *Ann. Transplant.* 1996, 1, 19-22.
- [7] Chandraker A., Takada M., Nadeau K.C., Peach R., Tilney N.L., Sayegh M.H.: CD28/B7 blockade in organ dysfunction secondary to cold ischaemia/reperfusion injury. *Kidney Int.* 1997, 52, 1678-1684.

- [8] Chatterjee P.K., Brown P.A. J., Cuzzocrea S., Zacharowski K., Stewart K.N., Mota-Filipe H., McDonald M.C., Thiemermann C.: Calpain inhibitor-1 reduces renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *Kidney Int.* 2001, 59, 2073-2083.
- [9] Cicalese L., Yacoub W., Subbotin V., Kuddus R., Fung J.J., Stanko R., Rao A.S.: Pyruvate inhibits the chronic damage which ensues after ischemia/reperfusion injury of kidneys. *Transplant. Proc.* 1999, 31, 1033.
- [10] Da Silva M., Petruzzo P., Virieux S., Tiollier J., Badet L., Martin X.: A primate model of ischemia-reperfusion injury for preclinical evaluation of the antileucocyte function associated antigen 1 monoclonal antibody odulimnab. *J. Urol.* 2001, 166, 1915-1919.
- [11] Haug C.E., Colvin R.B., Delmonico F.L., Auchincloss H. J.R., Tolkoff-Rubin N., Preffer F.L., Rothlein R., Norris S., Scharshmidt L., Cosimi A.B.: A phase I trial of immunosuppression with anti-ICAM-1 (CD54) mAb in renal allograft recipients. *Transplantation* 1993, 55, 766-772.
- [12] Daemen M.A.R.C., Van De Ven M.V.C.M., Heineman E., Buurman W.A.: Involvement of endogenous interleukin-10 and tumor necrosis factor- α in renal ischemia-reperfusion injury. *Transplantation* 1999, 67, 792-800.
- [13] Defraigne J.O., Pincemail J., Detry O., Franssen C., Meurisse M., Limet R.: Preservation of cortical microcirculation after kidney ischemia-reperfusion: value of iron chelator. *Ann. Vasc. Surg.* 1994, 9, 227-228.
- [14] Demirbas A., Bozoklu S., Özdemir A., Bilgin L., Haberal M.: Effect of alpha-tocopherol on the prevention of reperfusion injury caused by free oxygen radicals in the canine kidney autotransplantation model. *Transplant. Proc.* 1993, 25, 2274.
- [15] Dimari J., Megyesi J., Udvarhelyi N., Price P., Davis R., Safirstein R.: 1997: N-acetyl cysteine ameliorates ischemic renal failure. *Am. J. Physiol.* 272: F292-298.
- [16] Dobashi K., Singh I., Orak J. K., Asayama K., Singh A. K.: Combination therapy of N-acetylcysteine, sodium nitroprusside and phosphoramidon attenuates ischemia-reperfusion injury in rat kidney. *Mol. Cell. Biochem.* 2002, 240, 9-17.
- [17] Dosluoglu H.H., Aktan A.O., Yegen C., Okboy N., Yalem A.S., Ercam S.: The cytoprotective effects of verapamil and iloprost (ZK 36374) on ischemia/reperfusion injury in kidneys. *Transpl. Int.* 1993, 6, 138-142.
- [18] Ergun O., Ulman C., Kilicalp A. S., Ulman I.: Carnitine as a preventive agent in experimental renal ischemia-reperfusion injury. *Urol. Res.* 2001, 29,186-189.
- [19] Erkasap S., Ates E.: L-arginine-enriched preservation solution decreases ischemia/reperfusion injury in canine kidneys after long-term cold storage. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000, 15, 1224-1227.
- [20] Faure J.P., Hauet T., Han Z., Goujon J. M., Petit I., Maucó G., Eugene M., Carretier M., Papadopoulos V.: Polyethylene glycol reduces early and long-term cold ischemia-reperfusion and renal medulla injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002, 302, 861- 870.
- [21] Fellström B., Akıyrek L. M., Backman U., Larsson E., Melin A.J., Zezina L.: Postischemic reperfusion injury and allograft arteriosclerosis. *Transplant. Proc.* 1998, 30, 4279-4280.
- [22] Fuller B.J.: Ischemia/reperfusion injury and inflammation. *Transplantation* 2000, 69, 327-328.
- [23] Fuller T.F., Sattler B., Binder L., Vetterlein F., Ringe B., Lorf T.: Reduction of severe ischemia/reperfusion injury in rat kidney grafts by a soluble P-selectin glycoprotein ligand. *Transplantation* 2001, 72, 216-222.
- [24] Green C.J., Healing G., Simpkin S., Gower J., Fuller B.J.: Allopurinol inhibits lipid peroxidation in warm ischaemic and reperfused rabbit kidneys. *Free Radic. Res. Commun.* 1989, 6, 329-337.
- [25] Haraldsson G., Sorensen V., Nilsson U., Pettersson S., Rashid M., Schersten T., Akerlund S., Jonsson O.: Effect of pre-treatment with deferoxamine and mannitol on radical production and kidney function after ischemia-reperfusion. A study on rabbit kidneys. *Acta Physiol. Scand.* 1995, 154, 461-468.
- [26] Hauet T., Baumert H., Amor I. B., Goujon J.M., Gibelin H., Godart C., Vandewalle A., Carretier M., Eugenen M.: Protection of autotransplanted pig kidneys from ischemia-reperfusion injury by polyethylene glycol. *Transplantation* 2000, 70, 1569-1575.
- [27] Hauet T., Goujon J.M., Vandewalle A.: To what extent can limiting cold ischaemia/reperfusion injury prevent delayed graft function. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2001, 16, 1982-1985.
- [28] Hauet T., Goujon J.M., Vandewalle A., Baumert H., Lacoste L., Tillement J.P., Eugene M., Carretier M.: Trimetazidine reduces renal dysfunction by limiting the cold ischemia/reperfusion injury in autotransplanted pig kidneys. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2000, 11, 138-148.
- [29] Hauet T., Tallineau C., Goujon J.M., Carretier M., Eugene M., Tillement J.P.: Efficiency of trimetazidine in renal dysfunction secondary to cold ischemia-reperfusion injury: a proposed addition to University of Wisconsin solution. *Cryobiology* 1998, 37, 231-244.
- [30] Herrero I., Torras J., Riera M., Condom E., Coll O., Cruzado J. M., Hueso M., Bover J., Lloberas N., Alsina J., Grinyó J. M.: Prevention of cold ischaemia-reperfusion injury by an endothelin receptor antagonist in experimental renal transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999, 14, 872-880.
- [31] Hower R., Minor T., Schneeberger H., Theodorakis J., Rembold S., Hoffmann G.O., Fraunberger P., Isselhard W., Land W.: Assessment of oxygen radicals during kidney transplantation-effect of radical scavenger. *Transpl. Int.* 1996, 9 (Suppl. 1) S479-482.
- [32] Karabulut R., Somnez K., Sancak B., Turkyilmaz Z., Demirogullardi B., Ozen I. O., Ekingen G., Candan S., Basaklar A.C., Kale N.: Effects of amrinone on bilateral renal ischemia/reperfusion injury. *Urol. Res.* 2002, 30, 164-168.
- [33] Kelly K.J., Baird N.R., Greene A.L.: Induction of stress response proteins and experimental renal ischemia/reperfusion. *Kidney Int.* 2001, 59, 1798-1802.
- [34] Kusaka M., Zandi-Nejad K., Kato S., Beato F., Nagano H., Shaw G.D., Tilney N.L.: Exploitation of the continuum between early ischemia/reperfusion injury and host alloresponsiveness: indefinite kidney allograft survival by treatment with a soluble P-selectin ligand and low-dose cyclosporine in combination. *Transplantation* 1999, 67, 1255-1261.
- [35] Land W., Schneeberger H., Schleibner S., Illner W.-D., Abendroth D., Rutili G., Arfors K.E., Messmer K.: The beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants. *Transplantation* 1994, 57, 211-217.
- [36] Lee H.T., Emala C.W.: Protein kinase C and G_{i/o} proteins are involved in adenosine- and ischemic preconditioning-mediated renal protection. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001, 12: 233-240.
- [37] Liczmański A.E.: Toksyczność tlenu II. Mechanizmy obronne. *Post. Biochem.* 1988, 34, 293-310.
- [38] Lloberas N., Torras J., Herrero-Fresneda I., Cruzado J.M., Riera M., Hurtado I., Grinyó J.M.: Postischemic renal oxidative stress induces inflammatory response through PAF and oxidized phospholipids. Prevention by antioxidant treatment. *FASEB J.* 2002, 16, 908-910.
- [39] Lui S.L., Chan L.Y.Y., Zhang X.H., Zhu W., Chan T.M., Fung P.C.W., Lai K.N.: Effect of mycophenolate mofetil on nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression during renal ischaemia-reperfusion injury. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2001, 16, 1577-1582.
- [40] Massberg S., Messmer K.: Nature of ischemia/reperfusion injury. *Transplant. Proc.* 1998, 30, 4217-4223.
- [41] McLaren A.J., Jassem W., Gray D. W., Fuggle S.V., Welsh K.I., Morris P.J.: Delayed graft function: risk factors and the relative effects of early function and acute rejection on long-term survival in cadaveric renal transplantation. *Clin. Transplant.* 1999, 13, 266-272.
- [42] Mister M., Noris M., Szymczuk J., Azzolini N., Aiello S., Abbate M., Trochimowicz L., Gagliardini E., Arduini A., Perico N., Remuzzi G.: Propionyl-L-carnitine prevents renal function deterioration due to ischemia/reperfusion. *Kidney Int.* 2002, 61, 1064-1078.

- [43] Mukaida N., Matsumoto T., Yokoi K., Harada A., Matsushima K.: Inhibition of neutrophil-mediated acute inflammation injury by an antibody against interleukin-8 (IL-8). *Inflamm. Res.* 1998, 47 (Suppl. 3) S151-157.
- [44] Myllarniemi M., Raisanen-Sokolowski A., Vuoristo P., Kallio E., Land W., Hayry P.: Lack of effect of recombinant human superoxide dismutase on cold ischemia-induced arteriosclerosis in syngeneic rat aortic transplants. *Transplantation* 1996, 61, 1018-1022.
- [45] Nagel E., Meyer zu Vilsendorf A., Bartels M., Pichlmayr R.: Antioxidative vitamins in prevention of ischemia/reperfusion injury. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 1997, 67, 298-306.
- [46] Neumayer H.H., Schreiber M., Wagner K.: Prevention of delayed graft function in cadaveric kidney transplants by the calcium antagonist diltiazem and the prostacyclin-analogue iloprost—outcome of a prospective randomized clinical trial. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1989, 301, 289-295.
- [47] Neumayer H.H., Schreiber M., Wagner K.: Prevention of delayed graft function in cadaveric kidney transplants by the calcium antagonist diltiazem and the prostacyclin-analogue iloprost—outcome of a prospective randomized clinical trial. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1989, 301, 289-295.
- [48] Neumayer H.H., Wagner K.: Prevention of delayed graft function in cadaver kidney transplants by diltiazem: outcome of two prospective, randomized clinical trials. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1987, 10 (Suppl. 10) S170-77.
- [49] Ojo A.O., Wolfe R.A., Held P.J., Port F.K., Schmouder R.L.: Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation* 1997, 63, 968-974.
- [50] Ozden A., Sarioglu A., Demirkan N.C., Bilgihan A., Duzcan E.: Antithrombin III reduces renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Res. Exp. Med.* 2001, 200, 195-203.
- [51] Ozer Z., Sucu N., Dusmez D., Tamer L., Altunkan A.A., Dikmengil M., Oral U.: Effect of aprotinin on ischemia-reperfusion in the rabbit kidney. *Pharmacol. Res.* 2001, 44, 455-460.
- [52] Paul L.C., Valentin J-F., Bruijn J.A., Zhang S.: Donor treatment with mycophenolate mofetil protects against ischemia-reperfusion injury. *Transplant. Proc.* 1999, 31, 1026.
- [53] Peralta C., Bulbena O., Xaus C., Prats N., Cutrin J. C., Poli G., Gelpi E., Roselló-Catafau J.: Ischemic preconditioning: a defense mechanism against the reactive oxygen species generated after hepatic ischemia reperfusion. *Transplantation* 2002, 73, 1203-1211.
- [54] Pollak R., Andrišević J.H., Maddux M.S., Gruber S. A., Paller M.S.: A randomized double-blind trial of the use of human recombinant superoxide dismutase in renal transplantation. *Transplantation* 1993, 55, 57-60.
- [55] Polyak M.M., Arrington B.O., Stubenbord W.T., Boykin J., Brown T., Jean-Jacques M.A., Estevez J., Kapur S., Kinkhabwala M.: The influence of pulsatile preservation on renal transplantation in the 1990s. *Transplantation* 2000, 69, 249-258.
- [56] Portakal O., Inal-Erden M.: Effects of pentoxifylline and coenzyme Q10 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clin. Biochem.* 1999, 32, 461-466.
- [57] Ramella-Virieux S.G., Steghens J.P., Barbieux A., Zech P., Hadj-Aissa A.: Nifedipine improves recovery function of kidneys preserved in high-sodium, low-potassium cold-storage solution: study with the isolated perfused rat kidney technique. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997, 12, 449-455.
- [58] Rhoden E.L., Pereira-Lima L., Telöken C., Lucas M.L., Belló-Klein A., Rhoden C. R.: Beneficial effect of α -tocopherol in renal ischemia-reperfusion in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 2001, 87, 164-166.
- [59] Salahudeen A., Wang C., Mcdaniel O., Lagoo-Denadyalan S., Bigler S., Barber H.: Antioxidant lazaroid 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, 62, 628-1633.
- [60] Sellers M.T., Gallichio M.H., Hudson S.L., Young C.J., Bynon J.S., Eckhoff D.E., Deierhoi M.H., Diethelm A.G., Thompson J.A.: Improved outcomes in cadaveric renal allografts with pulsatile preservation. *Clin. Transplant.* 2000, 14, 543-549.
- [61] Stepkowski S.M., Chen W., Bennett C.F., Condon T.P., Stecker K., Tian L., Kahan B.D.: Phosphorothioate/methoxyethyl-modified ICAM-1 antisense oligonucleotides improves prevention on ischemic/reperfusion injury. *Transplant. Proc.* 2001, 33, 3705-3706.
- [62] Tajra L.C., Martin X., Margonari J., Blanc-Brunat N., Ishibashi M., Vivier G., Steghens J.P., Kawashima H., Miyasaka M., Dubernard J.M., Revillard J.P.: Antibody-induced modulation of the leukocyte CD11b integrin prevents mild but not major renal ischaemic injury. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000, 15, 1556-1561.
- [63] Takada M., Chandraker A., Nadeau K.C., Sayegh M.H., Tilney N.L.: The role of B7 costimulatory pathway in experimental cold ischemia/reperfusion injury. *J. Clin. Invest.* 1997, 100, 1199-1203.
- [64] Takada M., Nadeau K.C., Shaw G.D., Marquette K.A., Tilney N.L.: The cytokine-adhesion molecule cascade in ischemia/reperfusion injury of the rat kidney. *J. Clin. Invest.* 1997, 99, 2682-2690.
- [65] Takada M., Nadeau K.C., Shaw G.D., Tilney N.L.: Early cellular and molecular changes in ischemia/reperfusion injury: inhibition by a selectin antagonist, P-selectin glycoprotein ligand-1. *Transplant. Proc.* 1997, 29, 1324-1325.
- [66] Tomé L.A., Yu L., De Castro I., Campos S.B., Seguro A.C.: Beneficial and harmful effect of L-arginine on renal ischemia. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999, 14, 1139-1145.
- [67] Torras J., Herrero-Fresneda I., Lloberas N., Riera M., Cruzado J.M., Grinyó J.M.: Promising effect of ischemic preconditioning in renal transplantation. *Kidney Int.* 2002, 61, 2218-2227.
- [68] Troppmann C., Gillingham K.J., Benedetti E., Almond P.S., Gruessner R.W., Najarian J.S., Matas A.J.: Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaver renal transplantation. The multivariate analysis. *Transplantation* 1995, 59, 962-968.
- [69] Tullius S. G., Nieminen-Kelhä M., Buelow R., Reutzel-Selke A., Martins P.N., Pratschke J., Bachmann U., Lehmann M., Southard D., Iyer S., Schmidbauer G., Sawitzki B., Reinke P., Neuhaus P., Volk H-D.: Inhibition of ischemia/reperfusion injury and chronic graft deterioration by single-donor treatment with cobalt-protoporphyrin for the induction of heme oxygenase-1. *Transplantation* 2002, 74, 591-598.
- [70] Vos I.H.C., Rabelink T.J., Dorland B., Loos R., Van Middelaar B., Gröne H-J., Joles J.A.: L-arginine supplementation improves function and reduces inflammation in renal allografts. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001, 12, 361-367.
- [71] Yang C.W., Ahn H.J., Han H.J., Kim W.Y., Li C., Shin M.J., Kim S.K., Park J.H., Kim Y.S., Moon I.S., Bang B.K.: Pharmacological preconditioning with low-dose Cyclosporine of FK506 reduces subsequent ischemia/reperfusion injury in rat kidney. *Transplantation* 2001, 72, 1753-1759.
- [72] Yin M., Buurman W.A., Daemen J.W., Kootstra G.: The PAF antagonist TCV-309 reduces graft PMN infiltration and enhances early function of 24-hour-preserved rat kidneys with long warm ischemia. *Transplantation* 1996, 61, 1443-1446.
- [73] Yin M., Currin R. T., Peng X-X., Mekeel H.E., Schoonhoven R., Lemasters J.J.: Carolina rinse solution minimizes kidney injury and improves graft function and survival after prolonged cold ischemia. *Transplantation* 2002, 73, 1410-1420.
- [74] Yin M., Wheeler M.D., Connor H.D., Zhong Z., Bunzendahl H., Dikalova A., Samulski R.J., Schoonhoven R., Mason R.P., Swenberg J.A., Thurman R.G.: Cu/Zn-superoxide dismutase gene attenuates ischemia-reperfusion injury in the rat kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001, 12, 2691-2700.
- [75] Ysebaert D.K., De Greef K.E., Vercauteren S.R., Ghielli M., Verpooten G.A., Eyskens E.J., De Broe M.E.: Identification and kinetics of leukocytes after severe ischemia/reperfusion renal injury. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000, 15, 1562-1574.