

Нефрология и диализ, Т. 7, 2005, №1.

СНИЖЕНИЕ ДОЗЫ И ОТМЕНА ЦИКЛОСПОРИНА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ  
ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ НА ФОНЕ НАЗНАЧЕНИЯ МОФЕТИЛА  
МИКОФЕНОЛАТА ИЛИ РАПАМИЦИНА.

Российский научный центр хирургии Российской академии медицинских наук.  
М.М.Каабак, Н.Н.Бабенко, Ж.И.Куракина.

Ключевые слова: хроническая трансплантационная нефропатия,  
циклоспорин, СеллСепт.

РЕЗЮМЕ

У 31 реципиента почечных аллотрансплантатов было осуществлено постепенное снижение дозы циклоспорина ниже терапевтического диапазона на фоне назначения ММФ или рапамицина. Всем больным перед началом отмены циклоспорина выполнялась пункционная биопсия трансплантата, которая у семи больных выявила отсутствие патологии, у остальных – разнообразные патологические изменения. У 23 пациентов циклоспорин был отменен полностью, и продолжительность наблюдения после отмены циклоспорина составила от 56 до 638 дней ( $284 \pm 153$ ). После отмены циклоспорина был потерян 1 трансплантат вследствие прогрессирования ХТН. У остальных пациентов обнаружено снижение креатина крови, увеличение клубочковой фильтрации, статистически достоверное снижение мочевины крови и артериального давления.

DOSE REDUCTION OR COMPLETE CYCLOSPORINE WITHDRAWAL  
CONVOYED WITH MMF OR RAPAMYCIN ADMINISTRATION IN KIDNEY  
ALLOGRAFT RECIPIENTS.

National Research Center Of Surgery, Russian Academy Of Medical Sciences  
M.M.Kaabak, N.N.Babenko, J.I.Kurakina.

ABSTRACTS

In 31 kidney allograft recipients cyclosporine (CsA) dosage was gradually reduced below therapeutic window conveyed MMF or Rapamycin administration. Before start of the cyclosporine withdrawal graft biopsy was performed and revealed normal picture in 7 patients, different pathological findings in the rests. Follow up duration after cyclosporine withdrawal was  $284 \pm 153$  days. One graft was lost after CsA withdrawal due to CAN progression. In other patients increase of glomerular filtration rate ( $p < 0,05$ ) and decrease of blood urea and creatinine levels, as well as blood pressure were found. Only decrease of blood urea and blood pressure were statistically significant.

Key words: chronic allograft nephropathy, cyclosporine, CellCept.

## СНИЖЕНИЕ ДОЗЫ И ОТМЕНА ЦИКЛОСПОРИНА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ НА ФОНЕ НАЗНАЧЕНИЯ МОФЕТИЛА МИКОФЕНОЛАТА ИЛИ РАПАМИЦИНА.

Десять лет назад в распоряжении трансплантологов не было альтернативных препаратов, позволяющих эффективно предотвращать отторжение и не обладающих нефротоксичностью. В настоящее время существуют режимы иммуносупрессии, позволяющие отказаться от циклоспорина в отдаленном послеоперационном периоде. Отказ от длительного применения циклоспорина связан со стремлением избежать его постоянного нефротоксического действия. Именно нефротоксичность циклоспорина А, по мнению ряда ученых, является одним из факторов, сдерживающих улучшение отдаленных результатов трансплантации почки.

Так у крыс, получавших различные дозы циклоспорина перорально в течение 14 дней, наблюдается четкая связь между побочными эффектами, связанными с циклоспорином, и экспозицией животных препарату. Степень увеличения концентрации мочевины и уменьшения магния в сыворотке четко зависят от площади под 24-часовой кривой концентрация/время и, таким образом, от экспозиции препарата.

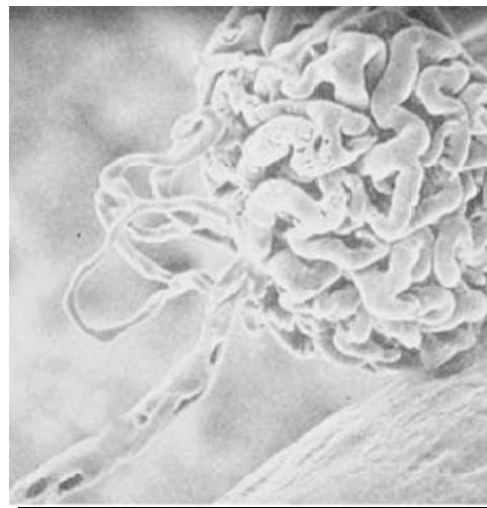
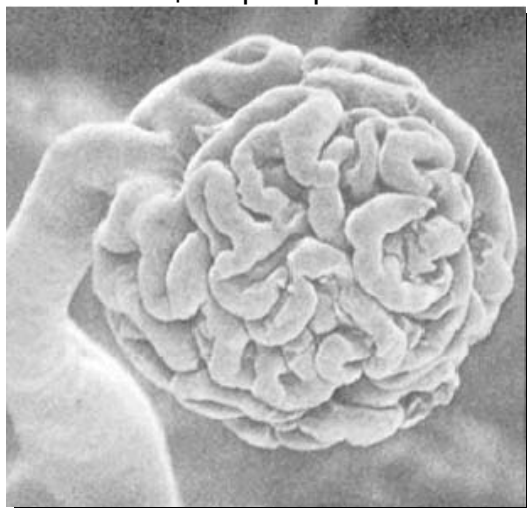


Рисунок 1. Спазм афферентной артериолы клубочка крысы через 14 дней приема циклоспорина А. (English et al., Transplantation, 44: 135-141, 1987) [7].

Следовательно, циклоспорин не представляет собой какой-то особый препарат, а подчиняется основным правилам фармакологии, причем наблюдается взаимосвязь между его эффектами на организм и биодоступностью. Это явление легко продемонстрировать на животных, когда можно использовать дозы, вызывающие токсичность, однако более трудно продемонстрировать у человека, где такие высокие дозы использовать нельзя.

Сделаем анализ побочных эффектов циклоспорина на функцию почки.

Побочные эффекты, а именно увеличение концентрации мочевины и креатинина в сыворотке и снижение концентрации магния в сыворотке указывают, что на функцию почек оказывают влияние два различных процесса. Изменения концентрации мочевины и креатинина в сыворотке отражают гемодинамическую дестабилизацию в почке, которая приводится в действие сердцем и системой кровообращения. Напротив, снижение концентрации магния в сыворотке отражают нарушения в канальцевой системе почек, что

определяется транспортными характеристиками клеток канальцев. Кроме того, циклоспорин может вызывать структурные изменения в почке. На биоптатах почки, полученных от больных, получающих циклоспорин, могут обнаруживаться патологические явления в канальцах и в сосудах. Поскольку деструктуризация может затрагивать как систему канальцев, так и систему сосудов почек и может быть функциональной по своей природе, можно построить решетку два на два, содержащую все возможные варианты изменений.

Это сделано на рисунке Morgan M (таблица 1) [14].

Таблица 1.  
Влияние циклоспорина на почки.

ИЗМЕНЕНИЯ КАНАЛЬЦЕВ		ИЗМЕНЕНИЯ СОСУДОВ	
Дисфункция канальцев	Тубулопатия (проксимальные отделы канальцев)	Дисфункция сосудов	Васкулопатия афферентной артериолы
обратима	обратима	обратима	Редко и необратима

Дисфункция канальцев и тубулопатия являются частыми и не особенно важными в клиническом плане, более того, они обратимыми. Деструктуризация канальцев встречается довольно редко и при более высоких дозах, и также является обратимой. Дисфункция сосудов также встречается часто, более важна в клиническом плане и обратима. Наконец, васкулопатии с сопутствующими изменениями интерстиция являются частыми, наблюдаются при более высоких дозах циклоспорина, и после своего появления являются уже необратимыми. Таким образом, индивидуальные нарушения структуры и функции микроструктур трансплантата имеют не только различную распространенность, но также и различное значение для больного и врача.

Существуют веские основания для того, чтобы разграничивать различные типы почечных побочных эффектов. Таким образом, можно избежать некоторых концептуальных трудностей, возникающих в связи с использованием слова «нефротоксичность» для сборного описания побочных эффектов на почки.

Хие Н. с соавторами выделил четыре особенно часто встречающиеся суждения, отражающих определенную путаницу относительно природы и значения побочных эффектов циклоспорина на почки. Два таких заблуждения имеют хождение в экспериментальной области, а два связаны с клинической практикой [24].

Первое заключается в том, что без модели «нефротоксичности» на животном невозможно идентифицировать более безопасные производные циклоспорина. Действительно, животных моделей, отображающих изменения структуры сосудов, не существует, однако, есть хорошие модели для изучения нарушения структуры канальцев, функции канальцев и функции сосудов. Поскольку степень дисфункции сосудов у человека отражает частоту структурных изменений в сосудах, производные циклоспорина, вызывающие меньшие дисфункции сосудов у животных, должны вызывать меньшее повреждение сосудов у человека.

Второе заблуждение заключается в том, что производные циклоспорина, которые являются менее «нефротоксичными», могут идентифицироваться на основании роста или переживания клеток канальцев в культуре. Напомним, что клеточный рост не является нормальным свойством почечных канальцевых

клеток и некроз клеток обычно не обнаруживается в почках, поврежденных циклоспорином. Также чаще всего изучают те факторы, связанные со структурой канальцев, которые не отражают ни изменений функции канальцев, ни изменений функции сосудов, не говоря уже о структуре сосудов. Таким образом, эти методы игнорируют то обстоятельство, что именно сосуды, а не канальцы сильнее всего повреждаются циклоспорином.

Третье подобное суждение, существующее уже в клинической практике, заключается в том, что «нефротоксичность», проявляющаяся в нарушении работы почки, указывает на ее перманентное повреждение и связана со структурными повреждениями почечной ткани. Однако чаще всего почечная дисфункция отражает только изолированные повреждения и дисфункции сосудов и канальцев. Наблюдается увеличение креатинина, мочевины и мочевой кислоты сыворотки, снижение магния сыворотки и иногда калия сыворотки. Эти процессы обычно полностью обратимы и не связаны с какими-либо структурными повреждениями почки.

Наконец, последнее заблуждение, связанное с клинической практикой, заключается в том, что больные, у которых наблюдались «нефротоксические» эпизоды, а функция почек в последующем нормализовалась в результате снижения дозы или отмены препарата, не имеют постоянного повреждения почек. Структурные повреждения в почках могли произойти, но будут оставаться необнаруженными, если не сделать пункционную биопсию почки. Структурные изменения почки не обязательно должны сопровождаться снижением ее функции, более того, после прекращения терапии циклоспорином в случае имеющих структурных изменений функция почки может улучшиться, поскольку ее снижение обусловлено преимущественно функциональными, а не структурными нарушениями.

Соответственно, при оценке почечных побочных эффектов циклоспорина в ходе их экспериментального изучения или при оценке риска для больного важно определить, о каком типе побочного эффекта идет речь. Побочные эффекты, вызванные экспериментально, имеют различное клиническое значение, и не в одинаковой степени важны для безопасности больного. Объединение их в общее понятие «нефротоксичность» без дополнительного разграничения может привести к неадекватным выводам из экспериментальных исследований, и дать некорректные оценки в отношении безопасности больного.

Побочные действия на почку на структурном уровне проанализированы и резюмированы Morris P.J. с соавторами [15] (таблица 2).

Таблица 2.  
Структурные изменения почек.

Тубулопатия проксимальные канальцы)	Васкулопатия (афферентные артериолы)
Изометрические вакуоли, гигантские митохондрии, некроз отдельных клеток, микрокальцификация	Эндотелиальные нарушения, повреждение мышечной стенки, окклюзия артерий, облитерация сосудов
	Гломерулярный склероз, локальная ишемия, атрофия канальцев, полосовидный интерстициальный фиброз
В основном обратимо	В основном необратимо

Могут отмечаться изменения канальцевой системы, которые главным образом связаны с клетками проксимальных отделов канальцев. Наиболее часто встречающееся – это присутствие изометрических вакуолей. Реже отмечается наличие телец включения, представляющих собой гигантские митохондрии, или же некроз единичных клеток. Кроме того, может наблюдаться микрокальцификация белка Тамма-Хорсфолла в дистальной части канальца. Эти процессы в значительной степени обратимы при снижении доз или полной отмене препарата.

Сосудистые проблемы связаны с афферентными артериолами в точках, где они входят в клубочек. Здесь повреждение эндотелиальных и гладкомышечных клеток может приводить к окклюзии и облитерации артериол. За этим следует коллапс и, в конечном счете, склероз соответствующего клубочка, в результате чего развивается местная ишемия ткани. Поскольку это связано с атрофией канальца и интерстициальным фиброзом, указанные эффекты могут представлять собой ответ ткани на местную ишемию. Это наиболее серьезные побочные эффекты циклоспорина, поскольку они носят постоянный характер и необратимы.

Резюме о побочных эффектах на почки, связанных с функциональными нарушениями сделал Дж. Мейсон с соавторами в 1994 году [13] (таблица 3).

Таблица 3.

Функциональные изменения	
Дисфункция канальцев	Дисфункция сосудов
Реабсорбция ионов Mg, секреция ионов K <sup>+</sup> и H <sup>+</sup> , выделение мочевой кислоты	Вазоконстрикция, перфузия почки, скорость фильтрации
Mg в сыворотке, K <sup>+</sup> и HCO <sup>-</sup> в сыворотке, мочевая кислота в сыворотке	Креатинин сыворотки, мочевина сыворотки
Полная обратимость	Полная обратимость

Функциональные изменения канальцев включают, главным образом, снижение реабсорбции ионов магния. Механизм этого явления остается неясным. Отмечается снижение выделения ионов калия и водорода, а иногда также снижение выделения мочевой кислоты. Указанные канальцевые эффекты приводят к характерным изменениям химического состава сыворотки, включая снижение концентрации магния и небольшое увеличение концентрации калия, мочевой кислоты и бикарбоната в сыворотке. Все эти явления обратимы и проходят после отмены препарата.

Васкулопатии проявляются наиболее заметно в форме вазоконстрикции, не ограничивающейся только почкой, но отмечаются также и на системном уровне кровотока, где такие изменения могут приводить к гипертонии.

Большое количество данных указывает на то, что повреждение сосудов циклоспорином возникает исходно в афферентных артериолах [18]. Циклоспорин, вероятнее всего за счет прямого воздействия, повреждает эндотелиальные клетки и приводит к спазму афферентных артериол и к нарастающему структурному нарушению их стенок. Как функциональные, так и структурные компоненты афферентной артериолопатии приводят к сужению просвета сосудов. Это в свою очередь приводит к одному из трех процессов в расположенном «ниже по течению» кровеносном русле гломерул: некоторые из них подвергаются ишемическому коллапсу, у других развивается склероз, третьи выглядят нормально [18,19]. Увеличение предгломерулярного

афферентного сопротивления выше по кровяному руслу от нормальных и проходимых гломерул снижает фильтрационное давление, и в результате снижается скорость клубочковой фильтрации [19,20]. Насколько мы знаем, только этот функциональный вазоспастический компонент индуцированного циклоспорином повреждения почек является потенциально обратимым. Потеря фильтрационной площади, обусловленная коллапсом гломерул или их облитерация за счет склерозирования, вызывает дальнейшее снижение скорости клубочковой фильтрации. Этот компонент повреждения безусловно является необратимым. Судя по атрофии соответствующего канальца и фиброзу окружающего интерстиция, не только клубочек, но и весь связанный с ним нефрон подвергается абляции [18,19,20].

Keown PA, при изучении, хронической нефропатии, связанной с лечением циклоспорином, выяснил что нефропатия проявляется в виде мало выраженной азотемии (что отражает пониженную клубочковую фильтрацию), а так же в форме артериальной гипертензии. Уровень азотемии остается относительно постоянным в течение длительного времени, создавая впечатление, что нефропатия не прогрессирует. Однако серийные биоптаты почек показывают нарастающее облитерирование кортикальных микрососудов (артериол и гломерулярных капилляров), несмотря на стабильную скорость клубочковой фильтрации и неизменный уровень азотемии [11]. Морфологическое исследование показывает, что немногочисленные остающиеся гломерулы, вероятно, подвергаются гипертрофии. Гипертрофированные гломерулы обеспечивают компенсацию прогрессирующей потери поврежденных клубочков. После того как доля поврежденных гломерул начинает превышать определенный порог, клубочковая фильтрация начинает снижаться. Только на этой поздней, декомпенсированной стадии нефропатии азотемия начинает нарастать вплоть до появления почечной недостаточности в терминальной стадии.

Даже при наличии развившегося структурного повреждения почки именно функциональные изменения сосудов, проявляющиеся в форме вазоконстрикции, ответственны за дисфункцию почки в ходе лечения циклоспорином. Лишь в случаях тяжелейшего структурного повреждения за снижение почечных функций отвечает потеря функционирующих гломерул. Поскольку довольно ясно, что изменения в структуре и функционировании сосудов почки являются наиболее значительными побочными эффектами циклоспорина, важно выяснить механизмы, лежащие в их основе. Так как степень вазоконстрикции в почке у человека обладает прогностической ценностью в отношении развития сосудистых и интерстициальных нарушений, изучение механизма вазоконстрикции у животных может прояснить механизм, ведущий к повреждению сосудов у человека.

В одном из механизмов, который был предложен Kahan BD для объяснения вазоконстрикции за счет циклоспорина, ведущая роль была отведена увеличению продукции тромбоксана и снижению продукции простаглицлина. Эта теория была основана на наблюдении, что выделение тромбоксана повышено, а выделение простаглицлина снижено в моче крыс, получающих циклоспорин [9]. Однако другие исследования показали (Kremer SG, 1988), что функция почек снижается после пяти дней введения циклоспорина в различных дозах, а выделение тромбоксана и простаглицлина остается без изменений [12]. Через десять дней лечения выделение тромбоксана действительно возрастает, однако сходным образом увеличивается и выделение простаглицлина. Таким образом, повышенная продукция тромбоксана или сниженная продукция простаглицлина вряд ли

вызовут раннюю дисфункцию почек, хотя они и могут оказать влияние на развитие поздних нарушений.

Еще один механизм, (Cooper P) возможно участвующий в развитии вазоконстрикции, заключается в том, что циклоспорин способствует увеличению уровня внутриклеточного кальция в ответ на стимуляцию веществами, вызывающими вазоконстрикцию. В гладкомышечных клетках пик кальция в ответ на стимуляцию ангиотензином или вазопрессином резко увеличивается в присутствии циклоспорина [5]. Эти сократимые клетки могут таким образом становиться гиперактивными в присутствии циклоспорина и сокращаться в большей степени в ответ на любое стимулирование, вызываемое тем или иным вазоконстриктором.

Дополнительный механизм, (Kaskel FJ) который возможно стимулирует вазоконстрикцию, это истощение объема плазмы, наблюдаемое у животных, получающих циклоспорин. У крыс объем плазмы уменьшается примерно на 20% после нескольких недель применения циклоспорина по сравнению с контролем. После инъекции радиоактивного альбумина было установлено, что исчезновение альбумина из кровотока происходит гораздо быстрее у животных, получающих циклоспорин, по сравнению с контрольными животными. Поэтому создается впечатление, что эндотелий становится проницаемым для альбумина, в результате чего объем плазмы снижается. Вазоконстрикцию можно тогда отчасти объяснить физиологически адекватным ответом, нацеленным на то, чтобы компенсировать уменьшение объема плазмы [10].

Наконец еще один механизм (Muller-Schweinitzer), вызывающий вазоконстрикцию, может включать активацию ренина в стенках почечных артерий. Сужение почечных артерий свиньи в ответ на ангиотензин 1 или ангиотензин 2 происходит не зависимо от присутствия или отсутствия циклоспорина. Однако вазоконстрикторная реакция на ангиотензиноген, т.е. субстрат ренина, является значительно более мощной в присутствии циклоспорина, чем в его отсутствии. Поскольку ответ на ангиотензин 1 или ангиотензин 2 не меняется, повышенная реакция на субстрат ренина позволяет думать об активации ренина и повышенном образовании ангиотензина 1 и ангиотензина 2. Этот механизм местной активации ренина и повышенной продукции ангиотензиногена в стенке сосуда может объяснить, почему вазоконстрикция доминирует в богатых ренином сосудах почки [16].

Итак, циклоспорин оказывает множественное действие на почку. В его эффекте присутствуют компоненты, воздействующие как на канальцы, так и на сосудистое звено, вызывающие как функциональные, так и структурные повреждения. Побочные эффекты циклоспорина обусловлены механизмом его действия (блокада кальциевого канала). За последние несколько лет появились другие препараты, не обладающие нефротоксичностью. К таким препаратам относится СеллСепт (ММФ). СеллСепт имеет механизм действия, не сопровождающийся нефротоксичностью, и сопоставим по мощности иммуносупрессивного действия с циклоспорином.

ММФ – ингибитор пролиферации Т и В лимфоцитов. ММФ оказывает более сильное иммуносупрессивное действие, чем азатиоприн при сходном уровне токсичности. Хотя ММФ существенно снижает частоту острого отторжения, оценить его влияние на отдаленное выживание трансплантата труднее. Несколько клинических исследований других новых препаратов (Рапамицина, блокаторов рецепторов интерлейкина-2) также выявили достоверное уменьшение частоты острого отторжения аллотрансплантата почки. Однако до настоящего времени не удавалось продемонстрировать статистически достоверное улучшение отдаленных результатов. Вероятно,

невозможность выявить такое преимущество вызвана небольшим числом пациентов и недостаточным сроком наблюдения.

Помимо доказанного положительного влияния ММФ на острое отторжение экспериментальные и клинические исследования позволяют предполагать, что он имеет дополнительные преимущества, которые могут сглаживать течение хронической нефропатии трансплантата.

Эффективность и безопасность этого препарата в комбинации с малыми дозами циклоспорина и кортикостероидами была изучена в ряде клинических исследований. В частности, анализ Европейского клинического исследования по применению ММФ для профилактики острого отторжения [17] продемонстрировал статистически недостоверную тенденцию к небольшому улучшению трехлетней выживаемости больных, получавших ММФ в дозе 2-3 г/сут (81,2% и 84,8% соответственно) по сравнению с теми, кто получал плацебо (78%,  $P=0,12$ ). При проведении последующего анализа процент гибели трансплантатов через 3 года (исключая случаи смерти самих пациентов) выявили благоприятный эффект ММФ (13,2% в группе ММФ в дозе 2 грамма в сутки и 22% в группе плацебо,  $P=0,03$ ).

Проведенный в США на популяции в 66774 больных анализ поздней гибели трансплантата по Каплану-Майеру (с исключением случаев смерти пациентов) показал, что при лечении ММФ 4-х летнее выживание трансплантатов было достоверно лучше, чем при лечении азатиоприном (85,6% и 81,9% соответственно,  $p<0,0001$ ). Анализ выживания пациентов по Каплану-Майеру в сроки больше 6 месяцев после трансплантации продемонстрировал лучшее 4-х летнее выживание при лечении ММФ по сравнению с таковым при лечении азатиоприном (91,4% и 89,8%,  $p=0,002$ ) [21].

Мировой опыт снижения дозы циклоспорина на фоне назначения ММФ в настоящее время невелик. В доступной нам литературе мы нашли небольшое количество публикации на эту тему. В каждой из работ отмена циклоспорина производилась у небольшого числа пациентов – от 12 до 70. Общее количество больных – 156. Ниже приводится краткое описание этих работ.

Schrama и соавт., 2000 год, проанализировали группу из 17 больных со сниженной функцией почки (не менее 6 месяцев после трансплантации) [23]. После начала приема ММФ в дозе 1 грамм 2 раза в сутки дозу циклоспорина снижали от стандартной до низкой (медиана минимальных концентраций соответственно 130 мкг/л и 45 мкг/л) с последующей полной отменой. Терапия преднизолоном продолжалась (7,5 мг/сут).

На этапе снижения дозы циклоспорина у одного пациента развилась диарея, потребовавшая отмены ММФ и возвращения прежней дозы циклоспорина. У другого пациента также на этапе снижения дозы циклоспорина развилось острое отторжение, купированное стероидами. Прием ММФ был прекращен и доза циклоспорина возвращена к исходной, после чего функция почки восстановилась.

Полная отмена циклоспорина была произведена у 15 больных и сопровождалась снижением среднесуточного систолического АД с  $152\pm 13$  до  $145\pm 13$  ( $p<0,01$ ), диастолического АД с  $93\pm 9$  до  $89\pm 12$  ( $p<0,05$ ), повышением скорости клубочковой фильтрации с  $46,6\pm 8,8$  до  $58\pm 10,5$  ( $p<0,01$ ). Наблюдение за больными продолжалось в течение трех лет. Двое больных прекратили прием ММФ через год после полной отмены циклоспорина, один из-за развития саркомы Капоши, другой из-за рецидивирующих инфекций.

Было отмечено, что отмена циклоспорина не привела к отрицательным последствиям, более того постепенная замена циклоспорина на ММФ безопасна и в большинстве случаев эффективна: она положительно влияет на



артериальное давление, клубочковую гемодинамику и липидный профиль. Так же было отмечено снижение частоты сердечно-сосудистых заболеваний.

Houde и соавт., 2000 год, в своем исследовании описал результаты лечения 17 взрослых пациентов, перенесших трансплантацию почки, которых из-за нефротоксического действия циклоспорина, обнаруженного при биопсии (атрофия канальцев, гиалиноз артериол) перевели со схемы иммуносупрессии, включавшей циклоспорин А и преднизолон на сочетание ММФ и преднизолон. После замены циклоспорина на ММФ у всех пациентов уровень креатинина в сыворотке снижался в среднем на  $26 \pm 17\%$ . Период наблюдения за пациентами составил  $20 \pm 8$  месяцев после отмены циклоспорина, в течение которых сохранялось указанное выше снижение креатинина и не было эпизодов острого отторжения. Это исследование показывает, что ММФ и преднизолон могут быть использованы как альтернативная эффективная схема иммуносупрессии у пациентов после трансплантации почки, у которых циклоспорин оказывает нефротоксический эффект [8].

Aleksic с соавторами (2000 год) также продемонстрировали эффективность частичной замены циклоспорина на ММФ. Двенадцати больным, перенесшим трансплантацию почки и получавшим схему иммуносупрессии, основанную на циклоспорине (плюс азатиоприн и/или стероиды) и имевшим средний уровень креатинина плазмы  $2,5 \text{ мг}\%$  в сроки от 211-1813 дней, начали терапию ММФ в суточной дозе 2 грамма в сутки. Прием азатиоприна прекращали, а дозу циклоспорина медленно снижали до получения минимальной концентрации 70-120 мкг/л. Проводили мониторинг клиренса креатинина, уровня креатинина, азота мочевины и мочевой кислоты крови. В результате была отмечена положительная динамика уровня креатинина, который снизился с  $2,5 \pm 0,8 \text{ мг/дл}$  до  $1,9 \pm 0,6 \text{ мг/дл}$  ( $p=0,04$ ).

В сроки до 1 года после перехода на ММФ был выявлен один случай отторжения 1b степени, который купировали увеличением пероральной дозы стероидов, с последующей биопсией через 2 недели. Еще один пациент, давший согласие на участие в исследовании, был исключен из-за побочных явлений со стороны желудочно-кишечного тракта, однако в то же самое время у него развился стероидный психоз. Авторы отмечают, что случаев цитомегаловирусной инфекции в этой группе больных не было [4].

Итак, исследования у реципиентов почечных трансплантатов, получающих лечение ММФ, продемонстрировали положительные результаты в виде улучшения функции трансплантированной почки

Cristopher RK Dudley [6] утверждает, что характерным признаком поздней дисфункции трансплантата является постоянно прогрессирующе увеличивающийся креатинин сыворотки крови. Отмена нефротоксичных ингибиторов кальцинейрина, таких как циклоспорин, способна стабилизировать или улучшить функцию трансплантата. Целью рандомизированного мультицентрового контролируемого исследования было оценить эффект добавления ММФ к иммуносупрессивному режиму после отмены циклоспорина у пациентов с хронической трансплантационной нефропатией, подтвержденной морфологически. 143 пациента были включены в исследование и разделены на группы с постепенной отменой циклоспорина ( $n=73$ ) или продолжающих терапию циклоспорином ( $n=70$ ). В течение полутора лет наблюдения в группе пациентов, получавших ММФ, у 58% больных функция почек стабилизировалась или улучшилась, по сравнению с 28% в группе пациентов, получавших циклоспорин ( $p=0,002$ ). В группе пациентов, получавших циклоспорин, продолжал расти уровень креатинина крови, в то время как у пациентов, получавших ММФ, он снизился. У двух больных в группе

циклоспорина и у одного в группе ММФ развился эпизод острого отторжения. 2 случая гибели трансплантата зарегистрированы только в группе циклоспорина, три летальных исхода были в группе ММФ (сепсис, печеночная недостаточность, инфаркт миокарда). Таким образом замена циклоспорина на ММФ у пациентов с возрастающим уровнем креатинина после трансплантации безопасна и существенно тормозит дальнейшее ухудшение функции почек.

Peter Schnuelle et al [22], опубликовали результаты открытого рандомизированного контролируемого исследования, проведенного в Германии. Длительное назначение циклоспорина ассоциируется с различными побочными эффектами, такими как артериальная гипертензия, гиперлипидемия, нефротоксичность, что может обуславливать развитие хронической трансплантационной нефропатии и рост сердечно-сосудистой смертности. Для ответа на вопрос о соотношении риска токсичности длительной иммуносупрессии и развития ранних кризов отторжения в исследовании сравниваются режимы поддерживающей терапии ММФ и стероидами без циклоспорина и комбинации циклоспорина с кортикостероидами после ранней конверсии с трехкомпонентной схемы: циклоспорин, ММФ и КС. 84 пациента со стабильной функцией трансплантата, получающих ММФ, КС и циклоспорин распределялись на 2 группы с отменой циклоспорина (n=44) или с отменой ММФ (n=40) спустя 3 месяца после трансплантации. Конечная точка исследования – состояние функции почек через год, другими параметрами эффективности были выбраны выживание пациента и трансплантата, частота раннего острого отторжения, артериальное давление, уровень липидов в сыворотке крови.

В начале исследования характеристика групп была сходной по демографическим показателям, состоянию функции почек, дозы циклоспорина, уровню артериального давления и объему сопутствующей терапии. Как клиренс креатинина, так и значение клубочковой фильтрации были значительно лучше в группе ММФ (71,7 vs 60, 9 мл/мин и 73,2 vs 61,9 мл/мин соответственно). Перевод на терапию ММФ сопровождался снижением систолического и диастолического артериального давления (128/76 vs 139/82 мм.рт.ст) и более благоприятным липидным профилем. Не отмечено различий в выживании трансплантата (97,7 vs 100%) и пациентов (100%). Ранние эпизоды острого отторжения отмечались чаще после полной отмены циклоспорина, но различие было статистически недостоверным.

Кроме плановой отмены циклоспорина в литературе встречаются описания случаев, когда отмена CsA была произведена в связи с отсутствием препарата в отдаленные сроки после операции и сопровождалась длительным хорошим выживанием трансплантата [3].

Таким образом, накопленные к настоящему времени данные позволяют считать, что ММФ занял прочное место в арсенале современной иммуносупрессии при трансплантации органов, более того изменение схемы иммуносупрессии с постепенной отменой циклоспорина позволило улучшить отдаленное выживание почечного аллотрансплантата.

Наш первый опыт отмены циклоспорина на фоне назначения ММФ или рапамицина был опубликован ранее [1,2]. Настоящая работа посвящена дальнейшему изучению эффективности и безопасности отмены циклоспорина на фоне назначения ММФ или рапамицина.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

У 31 реципиентов почечных аллотрансплантатов 18 мужчин и 13 женщин, возраст от 6 до 58 лет ( $30 \pm 17$ ), было осуществлено постепенное снижение дозы циклоспорина ниже терапевтического диапазона. У 23 пациентов циклоспорин был отменен полностью, и продолжительность наблюдения после отмены циклоспорина составила от 56 до 638 дней ( $284 \pm 153$ ).

Срок после трансплантации у больных к началу снижения дозы циклоспорина колебался от 6 до 83 месяцев ( $18 \pm 24$ ). Всем больным перед началом отмены циклоспорина выполнялась пункционная биопсия трансплантата (далее по тексту «исходная биопсия»). Результаты этих биопсий сведены в таблицу 4.

Таблица 4.  
Результаты исходных биопсий (Banff 97).

Морфологический диагноз	Количество больных	Срок после трансплантации, дни			
		Min	Max	M	m
Норма	7	186	409	335	78
Пограничные изменения	6	39	396	209	155
CAN 1	4	184	1179	561	476
Cs ассоциированные изменения	9	51	3278	626	1003
AR 1a	1	397			
AR1b CAN 1	1	878			
CAN 0-1	1	404			
CAN2	1	1163			
CAN1 AR 1a	1	373			

AR = острое отторжение.

CAN = chronic allograft nephropathy.

CsA = циклоспорин А.

M = среднее арифметическое, m = стандартное отклонение.

Под циклоспорин-ассоциированными изменениями понимались артериологалиноз, артериосклероз, полосовидный интерстициальный фиброз, а также острая циклоспориновая нефротоксичность. Эти изменения были доминирующими и выявлены при изучении биоптатов 9 пациентов.

Семи больным отмена циклоспорина проводилась с целью профилактики развития хронической нефропатии трансплантата (при исходной биопсии патологии не выявлено), у восьми больных к моменту принятия решения о конверсии уже имелась хроническая нефропатия – у 6 больных 1 ст (в том числе у одного больного в сочетании с острым отторжением 1b и у другого – с острым отторжением 1a, в обоих случаях острое отторжение было субклиническим), у 1 больного - 2 ст. У одного пациента имелись отчетливые признаки CAN, но их выраженность не достигала 1 степени. У одного больного при исходной биопсии было выявлено субклиническое острое отторжение 1a, у 6 пациентов - пограничные изменения. Еще у одного больного единственной патологией при исходной биопсии был склероз артерий (cv1).

При анализе таблицы 1 обращает на себя внимание увеличение срока после трансплантации при ХТН и при циклоспорин-ассоциированных изменениях, что отражает роль длительного действия циклоспорина в патогенезе этих осложнений.

Семнадцать пациентов на момент принятия решения уже получали ММФ и снижение дозы циклоспорина проводилось поэтапно, с тем, чтобы полностью отменить препарат за несколько месяцев. У 12 больных снижению дозы циклоспорина предшествовало постепенное введение ММФ. Снижение дозы циклоспорина начиналось после того, когда была установлена хорошая

переносимость ММФ. Двум пациентам отмена циклоспорина проводилась на фоне назначения рапамицина.

Начальная доза ММФ у взрослых составляла 2 грамма в сутки, у детей – 1200 мг/м<sup>2</sup> в сутки. В дальнейшем доза препарата корректировалась в зависимости от побочных эффектов. Рапамицин назначался в дозе 6 мг в сутки в первый день, затем 2 мг в сутки ежедневно. Далее доза подбирается таким образом, чтобы получать концентрацию препарата в крови от 4 до 12 нг/мл при комбинации с циклоспорином и 12-20 нг/мл после отмены циклоспорина.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У 23 пациентов циклоспорин был отменен полностью. Срок наблюдения за пациентами после отмены циклоспорина 56-638 дней (284±153). Один трансплантат потерян через 6 месяцев после отмены циклоспорина вследствие прогрессирования ХТН. У этой пациентки исходный диагноз – поликистоз почек. В течение года перед трансплантацией произошел тромбоз пяти последовательно сформированных артериовенозных фистул. В течение 10 месяцев после трансплантации хорошая функция пересаженной почки – креатинин крови 1,0±0,2 мг%, клубочковая фильтрация 104±23 мл/мин, протеинурия 61±15 мг/мин. Через 12 месяцев после трансплантации началось снижение функции трансплантата – креатинин 2,6 мг%, клубочковая фильтрация 42 мл/мин, протеинурия 99 мг/сутки. При пункционной биопсии – острое отторжение 1a + ХТН 1 ст (t2, v0, i1, mm<1, ah1, ci1, g0, ct2, cg0, cv1). Иммуносупрессия – CsA + стероиды. Пациентке был назначен ММФ, в течение 2-х месяцев отменен циклоспорин. Дисфункция трансплантата нарастала – через 2 месяца после отмены циклоспорина креатинин крови 4,2 мг%, клубочковая фильтрация 23 мл/мин, протеинурия 360 мг/сутки. При пункционной биопсии, выполненной в этот момент, признаков острого отторжения нет, увеличение степени ХТН (t0, v0, i2, mm1, ah1, ci3, g0, ct3, cg0, cv<1). Нарастание степени атрофии канальцев заставило предположить наличие гидронефроза, однако при УЗИ признаков расширения полостной системы трансплантата обнаружено не было. Единственная аномалия, выявленная при УЗИ – уменьшение количества сосудов в трансплантате при удовлетворительных спектральных характеристиках кровотока.

У 4 пациентов после отмены циклоспорина было диагностировано острое отторжение. Ниже приводится описание пациентов с острым отторжением после конверсии.

У одного пациента острое отторжение развилось в течение месяца после отмены циклоспорина и проявилось себя повышением креатинина на 20% от базового уровня. Диагноз был подтвержден морфологически (острое отторжение 2b). Отторжение было подавлено назначением прежней дозы циклоспорина в течение 2 месяцев, что также было подтверждено морфологически. В последствии (через 1,5 года) циклоспорин у этого пациента был отменен повторно, и при наблюдении в течение года месяцев у него отмечается стабильная функция трансплантата – креатинин крови 1,9±0,24 мг%, клубочковая фильтрация 51±13 мл/мин, протеинурия 159±68 мг/сутки.

У другого пациента отмена циклоспорина была проведена в ранние сроки после трансплантации (20-е сутки) в связи с отрой нейро- и нефротоксичностью. Острое отторжение диагностировано на 41-е сутки на основании двукратного роста креатинина крови и подтверждено морфологически (1b). К терапии был подключен Рапамицин, однако улучшения

функции трансплантата не произошло и при контрольной биопсии на 66 сутки уровень отторжения остался прежним (1b). Была проведена пульс-терапия метилпреднизолоном, что привело к полному восстановлению функции трансплантата. В дальнейшем в течение 8 месяцев этот пациент получал трехкомпонентную иммуносупрессию (ММФ + Рапамицин + стероиды), затем был отменен преднизолон. Функция трансплантата в течение месяца после отмены стероидов остается стабильно удовлетворительной – креатинин крови  $0,6 \pm 0,1$  мг%, клубочковая фильтрация  $141 \pm 23$  мл/мин, протеинурия отсутствует.

У третьей пациентки острое отторжение развилось через 6 месяцев после отмены циклоспорина, через 2 месяца после отмены стероидов и после снижения дозы ММФ до 750 мг/сутки. Столь значительное снижение иммуносупрессии было связано с рецидивирующей герпетической и HCV инфекцией. Отторжение проявляло себя двукратным ростом креатинина крови и было полностью подавлено увеличением дозы ММФ до 2 грамм в сутки и назначением преднизолона в дозе 1,5 таблетки в сутки. В настоящее время (6 месяцев после эпизода отторжения, 3 года после трансплантации) функция трансплантата удовлетворительная – креатинин крови  $0,8 \pm 0,1$  мг%, клубочковая фильтрация  $91 \pm 18$  мл/мин, протеинурия отсутствует.

У четвертой пациентки отторжение развилось через год после отмены циклоспорина и было спровоцировано несанкционированной отменой стероидов. Отторжение проявило себя ростом креатинина крови с 0,9 до 2,3 мг% и было подтверждено морфологически (1a). После пульс-терапии креатинин крови вернулся к исходному уровню. В последствии этой пациентке ММФ был отменен и вновь назначен циклоспорин по двум причинам – в связи с планируемой беременностью и в связи с нашим желанием иметь возможность контролировать прием медикаментов этой девушкой (возможность определения концентрации).

Еще у двух пациентов в разные сроки после отмены циклоспорина при контрольной биопсии было обнаружено острое отторжение, не сопровождавшееся ухудшением функции трансплантата. У одной пациентки (субклиническое отторжение обнаружено через месяц после отмены циклоспорина) доза ММФ была увеличена до 2,5 грамм в сутки, у другой пациентки (субклиническое отторжение диагностировано через 10 месяцев после отмены циклоспорина) базовая иммуносупрессия была изменена – исходная ММФ + Рапамицин + стероиды была заменена на CsA + ММФ + стероиды. Возврат циклоспорина этой пациентке был мотивирован высоким уровнем сенсibilизации – уровень ЛЦТ в течение 5 лет перед трансплантацией колебался от 90 до 100%.

Эффективность наших манипуляций с иммуносупрессией оценивалась по сопоставлению у больных таких параметров, как креатинин и мочевины крови, клубочковая фильтрация, протеинурия, ультрасонография трансплантата с доплерометрией внутрипочечного кровотока, артериальная гипертензия, многократно зафиксированных до начала снижения дозы циклоспорина, после того, когда доза была снижена более чем на 50%, а также после полной отмены препарата. Эти сведения приведены в таблице 5. Статистическая обработка проводилась по методу Стьюдента.

Таблица 5.  
Эффективность отмены циклоспорина.

	Доза циклоспорина 100% $M \pm m$	Доза циклоспорина < 50% $M \pm m$	$p^1$	Доза циклоспорина 0	$p^2$

Число пациентов		31	31		23	
Срок после трансплантации (дни)		553±706	940±977	<0,05	1064±945	<0,05
доза ММФ (мг/сут)		1224±785	1722±454	<0,05	1864±408	<0,05
доза CsA (мг/сут)		228±98	102±54	<0,05	0	<0,05
Концентрация циклоспорина А	T0 (нг/мл)	135±51	85±51	<0,05	0	<0,05
	T1 (нг/мл)	565±232	381±281	<0,05	0	<0,05
	T3 (нг/мл)	543±128	260±145	<0,05	0	<0,05
	AUC (нг/мл/час)	3867±1064	2258±1140	<0,05	0	<0,05
Стероиды (таблетки)		2,9±1,6	2,5±1,5	<0,05	2,3±1,9	Ns
Мочевина крови (мг%)		52±21	46±16	<0,05	37±12	<0,05
Креатинин крови (мг%)		1,6±0,8	1,5±0,6	Ns	1,3±0,4	Ns
Клубочковая фильтрация (мл/мин)		60±23	71±28	<0,05	68±21	Ns
Толщина почки		5,07±0,67	4,9±0,5	Ns	5,07±1,4	Ns
Толщина коры		0,68±0,15	0,73±0,15	Ns	0,73±0,12	Ns
RI, междольевые артерии		0,71±0,13	0,72±0,14	Ns	0,7±0,14	Ns
RI дуговые артерии		0,71±0,13	0,71±0,14	Ns	0,71±0,13	Ns
RI почечная артерия		0,77±0,11	0,75±0,12	<0,05	0,76±0,12	Ns
Протеинурия (мг/сут)		199±195	279±366	Ns	172±211	Ns
Систолическое АД дома		131±15	125±17	<0,05	117±10	<0,05
Диастолическое АД дома		82±10	78±9	Ns	72±7	<0,05
Систолическое АД на приеме		128±12	122±14	<0,05	117±11	<0,05
Диастолическое АД на приеме		79±9	75±9	<0,05	72±7	<0,05
Число гипотензивных препаратов		1,7±1,0	1,5±1,0	<0,05	1,3±1,0	Ns

Ns = статистически не достоверно.

$p^1$  = «Доза циклоспорина 100%» против «Доза циклоспорина < 50%».

$p^2$  = «Доза циклоспорина < 50%» против «Доза циклоспорина 0».

Обнаружены положительные изменения практически по всем контролировавшимся характеристикам. Причем год назад, когда мы анализировали наш первый опыт по снижению дозы циклоспорина на фоне назначения ММФ, статистически достоверным было только увеличение скорости клубочковой фильтрации и снижение артериального давления [18]. Теперь, с увеличением как продолжительности наблюдения, так и числа больных, анализировалась статистическая достоверность различий после более чем двукратного снижения циклоспорина и после полной его отмены. Обнаружено снижение мочевины крови, достоверное как после двукратного снижения, так и после отмены циклоспорина, рост клубочковой фильтрации, достоверный только после двукратного снижения циклоспорина. Также, после двукратного снижения циклоспорина, отмечено достоверное снижение индекса резистивности на почечной артерии. Как и при первом анализе, обнаружено значительное снижение артериального давления. Не достоверным было только снижение диастолического АД, определенного в домашних условиях, в результате двукратного снижения дозы CsA, а также снижение потребности в гипотензивных препаратах после полной отмены CsA.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Постепенная отмена циклоспорина на фоне назначения СеллСепта позволяет улучшить функцию трансплантата и снизить артериальное давление у пациента. Снижение артериального давления позволяет рассчитывать на значительное улучшение отдаленного выживания трансплантатов, поскольку известно, какую роль играет артериальная гипертензия в патогенезе хронической трансплантационной нефропатии. Кроме того, снижение артериального давления позволяет рассчитывать на снижение частоты сердечно-сосудистых заболеваний – основной причины смерти больных с функционирующим трансплантатом.

Наш первый опыт, а также данные литературы свидетельствуют о безопасности такого маневра при условии тщательного наблюдения за больными – потери трансплантатов как у нас, так и у других авторов остаются на приемлемом уровне, более того, складывается впечатление о том, что без конверсии уровень выживания трансплантатов ниже. При развитии после отмены циклоспорина острого отторжения оно легко подвергается обратному развитию.

Работа выполнена при поддержке «Регионального общественного фонда содействия отечественной медицине» (исполнительный директор – д.м.н. О.Р.Мота).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Каабак ММ, Самсонов ДВ, Бабенко НН, Шереметьева ГФ, Морозова ММ, Куракина ЖИ, Чепрасова ТЮ: Рациональное использование рапамицина (сиролимуса) в современной многокомпонентной иммуносупрессии при трансплантации почки. Нефрология и диализ, 2003, Т5, №4, стр 379-387
2. Каабак ММ, Куракина ЖИ: Частичная или полная отмена циклоспорина у пациентов после трансплантации почки на фоне назначения ММФ. Нефрология и диализ, 2002, Т4, №3, стр 191-195
3. Щербакова ЕО, Прокопенко ЕИ, Ватазин АВ, Полякова ГА, Пасов СА, Будникова НЕ, Гулимова СЮ: Пиелонефрит нефункционирующего почечного аллотрансплантата, потребовавший выполнения трансплантатэктомии через 23 года после пересадки почки. Нефрология и диализ, 2003, Т5, №4, стр 401-404
4. Aleksic I, Baryalei M, Pieske B, Scorn B, Strauch J, Sorbu H, Dalichau H: The amelioration of a deteriorated function of allografted kidneys in patients receiving Mycophenolate Mofetil and small doses of Sandimmune. Transplantation, 2000, V70, pp 1586-1590
5. Cooper P, Mason J, Donatsch P, et al: Calcium antagonist therapy prevents chronic cyclosporine nephrotoxicity after renal transplantation: a prospective study. Kidney Int 37:595,1990
6. Dudley Christopher R. K., The MMF «creeping creatinine» study group. MMF substitution for CsA is effective and safe treatment of chronic allograft dysfunction; results of a multi-center randomized controlled study. Am J Transplant, April , 2002 Vol 2, I S3, p. 148, abs 41.
7. English J, Pilepich M V, Sicard G A. The effect of cyclosporine on warm ischemic kidneys in rats. Transplantation, 44: 135-141, 1987
8. Houde I, Isenring P, Boucher D, Noel R, Lachanche J-G: Mycophenolate Mofetil – alternative to cyclosporine A for long term

- immunosuppression in kidney transplantation. *Transplantation*, 2000, V70, pp 1251-1253.
9. Kahan BD: Immunosuppressive therapy with cyclosporine for renal transplantation. *Circulation* 75 (1): 40, 1987
  10. Kaskel FJ, Devarajan P, Arbeit LA, Moore LC: Effects of cyclosporine on renal hemodynamics and autoregulation in rats. *Transplant Proc* 20(3 Suppl 3):603-96, 1988.
  11. Keown PA, Stiller CR, Wallace AC: In: Williams GM, Burdick JF, Solez K (eds): Daily renal hypoperfusion induced by cyclosporine in patients with renal transplantation. *Kidney Transplant Rejection*, New York. Marcel Dekker, 1986
  12. Kremer SG, Margolis B, Goldberg H, et al: Cyclosporine A - a phase I clinical trial and pilot rescue study. *Kidney Int* 33:361, 1988
  13. Mayson J, Thiel G, Spichtin HP, et al: *Transplantation 1994: The year in review*. *Transplantation* 15: 2821, 1994
  14. Moran M, Mozes MF, Maddux MS, et al: Pharmacokinetic strategies for cyclosporine therapy in organ transplantation. *N Engl J Med* 322 ( 17 ): 1183, 1990
  15. Morris PJ, Chapman JR, Allen RD, et al: Immunological and non immunological factors with Neoral in renal transplant recipients: an interim report. *Lancet* 1:586, 1989
  16. Muller-Schweinitzer E, Mason J, Olea Baza I: Mechanisms of cyclosporine-induced hypertension. *Kidney Int* 37:598,1990
  17. Mycophenolate Mofetil in renal transplantation: 3-year results from the placebo-controlled trial. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. *Transplantation*, 1999 V68 p391.
  18. Myers BD, Newton L, Boshkos C, et al : Studies on morphological outcome of cyclosporine-associated arteriopathy after discontinuation of cyclosporine in renal allografts. *Transplantation* 46: 694,1988
  19. Myers BD, Sibley R, Newton L, et al: Cyclosporine A treatment and evaluation of glomerular filtration rate in patients with a transplanted kidney. *Kidney Int* 33:590, 1988
  20. Myers BD: The use of cyclosporine in renal recipients. *Kidney Int* 30 : 964, 1986
  21. Ojo AO, Meier-Kriesche HU, Hanson JA, Leichtman AB, Cibrik D, Magee JC, Wolfe RA, Agodoa LY, Kaplan B: MMF reduces late renal allograft loss independently of acute rejection. *Transplantation*, 2000, V69, pp 2405-2409.
  22. Schnuelle P. et al. Open randomized trial comparing early withdrawal of either Cyclosporine or Mycophenolate Mofetil in stable renal transplantation recipients initially treated with a triple Drug regimen. *J Am Soc Nephrol*, 2002; 13: 536-543
  23. Schrama Y, Joles J, van Tol A, Boer P, Koomas H, Hen R: Conversion to MMF according with gradual cyclosporine withdrawal in stable kidney graft recipients. *Transplantation*, 2000, V69, pp 376-383.
  24. Xue H, Bukoski RD, McCarron DA, et al: Diagnosis of renal transplant rejection in the cyclosporine era. *Transplantation* 43:715, 1987