

Received: 2005.03.04
 Accepted: 2005.07.13
 Published: 2005.08.09

Transplantacja nerki wysoko uczulonym biorcom

Kidney transplantation in highly sensitized patients

Maria Boratyńska

Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Alloreaktywność przeciwciał u chorych oczekujących na przeszczep nerki stanowi barierę dostępu do transplantacji i może być przyczyną ostrej lub przewlekłej dysfunkcji przeszczepu. Odpowiednie postępowanie i przygotowanie chorych pozwala uniknąć zagrożeń i przyspieszyć przeszczepienie.

Po pierwsze, surowice chorych powinny być przesyłane do wszystkich ośrodków przeszczepiających, aby chorzy mogli być typowani z każdym dobrze dobranym dawcą.

Po drugie, należy oznaczyć profil przeciwciał z zastosowaniem zarówno testu mikrocytotoksycznego, jak i cytometrii przepływowej lub testu immunoenzymatycznego, zróżnicować allo- i autoprzeciwciała i oznaczyć swoistość przeciwciał.

Po trzecie, wskazane jest unikanie niezgodności zwłaszcza w *loci* DR i B HLA, zidentyfikowanie akceptowalnych niezgodności antygenów klasy I i II HLA, określenie prawdopodobieństwa ujemnej próby krzyżowej.

Po czwarte, przedtransplantacyjne testy krzyżowe należy wykonywać zarówno techniką mikrocytotoksyczną z limfocytami T i B, jak i z użyciem globuliny antyludzkiej lub metodą cytometrii przepływowej z surowicą bieżącą i z surowicą wcześniej pobraną.

U chorych, dla których nie można znaleźć dawcy z ujemną próbą krzyżową należy obniżyć poziom przeciwciał jedną z wymienionych metod: plazmafereza/immunoadsorpcja z dożylnie podawanymi immunoglobulinami (hiperimmunizowane immunoglobuliny przeciw wirusom cytomegalii) w małych dawkach (100 mg/kg m.c.); wlewy dożylnie immunoglobulin w dużych dawkach (2 g/kg m.c.).

W leczeniu immunosupresyjnym wskazana jest indukcja poliklonalnymi przeciwciałami antylimfocytarnymi, a w leczeniu podstawowym takrolimus z mykofenolanem mofetylu. Po przeszczepieniu obowiązuje monitorowanie miana przeciwciał anty HLA dawcy.

Rozpoznanie ostrego odrzucania zależnego od przeciwciał powinno spełniać następujące kryteria: dysfunkcja przeszczepu, zmiany immuno/histopatologiczne wycinka nerki (złogi C4d, nacieki granulocytarne kapilarów okołokanalikowych, zapalenie naczyń), przeciwciała przeciw dawcy w surowicy krwi.

Słowa kluczowe:

transplantacja nerki • antygeny HLA • allouczulenie • PRA • próby krzyżowe przed przeszczepieniem • leczenie immunosupresyjne • plazmafereza • wlewy immunoglobulin • odrzucanie przeszczepu zależne od przeciwciał • C4d

Summary

The broad alloreactivity of antibodies in patients awaiting renal graft is a barrier to access to transplantation and may be the cause of acute or chronic graft dysfunction.

Proper management of highly sensitized patients allows safe graft transplant and reduced waiting time. First, serum profiles from the patients should be distributed to all transplant centers for typing to every well HLA-matched donor. Secondly, a precise profiling of antibodies must be made, including differentiation of autoantibodies and alloantibodies, and determining the levels and specificities of alloantibodies. Thirdly, only well-matched kidneys are to be transplanted, par-

ticularly important with regard to HLA-DR and HLA-B antigens. The identification of acceptable mismatches in HLA class I and class II antigens and defining the probability of a negative cross-match can help finding a donor. Fourthly, pretransplant cross-matching should be performed by a complement-dependent cytotoxicity method (CDC) with T and B lymphocytes and antihuman globulin augmentation (AHG-CDC), flow cytometry (FC), or immunoenzymatic assay (ELISA) with current and historical sera.

The desensitizing protocols should be kept in reserve for highly sensitized patients who are unlikely to receive a graft. Two of these protocols are plasmapheresis/immunoadsorption with low doses of intravenous immune globulin anti-CMV (100 mg/kg b.w.) or high doses of immune globulin (2 g/kg b.w.). Immunosuppressive treatment should consist of decisive induction and maintenance of immunosuppression, e.g. with ATG, tacrolimus, and mycophenolate mofetil. The monitoring of anti-donor antibodies after transplantation is obligatory. The symptoms of antibody-mediated rejection are graft dysfunction, and characteristic pathologies including C4d staining, vasculitis, neutrophil infiltration, and circulating donor-specific antibody.

Key words: renal transplantation • HLA antigens • allosensitization • PRA • pretransplant cross-matching • immunosuppressive treatment • plasmapheresis • immune globulin • antibody dependent graft rejection • C4d

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/7904.pdf

Word count: 4256

Tables: –

Figures: –

References: 57

Adres autorki: dr hab. Maria Boratyńska prof. nadzw, Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej AM, ul. Traugutta 57, 54-440 Wrocław; e-mail: maria.boratynska@poczta.onet.pl

WPROWADZENIE

Alloreaktywność przeciwciał u osób oczekujących na przeszczepienie nerki stanowi istotną barierę do transplantacji z powodu trudności znalezienia dawcy z ujemną próbą krzyżową, możliwości wystąpienia dysfunkcji przeszczepu oraz znacząco wyższych kosztów leczenia. Obawy ośrodków transplantacyjnych przed niepowodzeniem i kosztami sprawiają, że większość chorych wysoko uczulonych wiele lat oczekuje na przeszczep, a część z nich pomimo znalezienia dawcy z ujemną próbą krzyżową nigdy nie otrzymuje przeszczepu. Liczba chorych wysoko uczulonych wzrasta w miarę jak powracają z niewydolnym przeszczepem na listę oczekujących na kolejny przeszczep.

Badania ostatnich lat umożliwiły opracowanie sposobu postępowania oraz programów odczulania i leczenia hamującego wytwarzanie przeciwciał. Dzięki tym działaniom nastąpiła poprawa wyników przeszczepienia w grupie chorych uczulonych [1,17,18,33]. Roczne przeżycie przeszczepu, według danych United Network of Organ Sharing (UNOS) Scientific Renal Transplant Registry, u biorców z PRA >30% wynosiło 84%, u retransplantowanych 82% i było porównywalne z przeżyciem przeszczepu u biorców bez tych czynników ryzyka [8].

PRZYCZYNY I CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLOPRZECIWCIAŁ

Przeciwciała powstają w wyniku ekspozycji na obce antygeny HLA w czasie ciąży, transfuzji krwi i przeszczepu, ale także podczas uogólnionych infekcji bakteryjnych i wirusowych. U 10% chorych dochodzi do uczulenia już

po jednej transfuzji, po wielokrotnych transfuzjach odsetek uczulonych wzrasta do 50–70%. W konsekwencji mnogich ciąż uczula się 5% kobiet, przetoczenia krwi zwiększają odsetek uczulonych wieloródek do 40%. Niewydolny przeszczep jest przyczyną rozwoju przeciwciał na niezgodne antygeny HLA u poniżej 10% chorych. Również w tej grupie chorych transfuzje mogą zwiększyć odsetek uczulonych nawet do 80%. Ważna rola transfuzji zarówno w indukcji jak i w podtrzymywaniu uczulenia powinna skłaniać do przetwarzania krwi filtrowanej, pozbawionej masy leukocytarnej.

U części chorych reaktywność przeciwciał się zmniejsza lub zanika, u części synteza przeciwciał pozostaje na stałym poziomie, mimo braku czynników immunizujących. Sugeruje się, że przetrwałe uczulenie może być następstwem znaczącej klonalnej ekspansji limfocytów T i B pamięci immunologicznej, długo żyjących komórek plazmatycznych zdolnych do syntezy przeciwciał lub też następstwem przetrwania antygeny w obwodowych tkankach limfoidalnych.

Uczulenie określane jest odsetkiem limfocytów z panelu, z którymi reagują przeciwciała zawarte w surowicy chorego; PRA (panel reactivity antibody). W obecności dopelniacza, przeciwciała powodują śmierć limfocytów, co można stwierdzić *in vitro* w teście mikrocytotoksycznym. Panel zawiera limfocyty wyizolowane z krwi obwodowej 30–50 dawców krwi, tak wybranych, aby reprezentowali większość antygenów HLA występujących w populacji. Pacjenci, których przeciwciała anty-HLA reagują z powyżej 85% limfocytów z panelu uważani są za wysoko

uczulonych. Połowa pacjentów uczulonych ma przeciwciała nie-HLA, skierowane przeciw komórkom śródbłonka, nabłonka, monocytom. Przeciwciała przeciwsródbłonkowe mogą powodować nadostre odrzucanie [30,47]. Rejestr amerykański UNOS podaje, że 30% z 52 000 osób oczekujących na przeszczepienie nerki to osoby wysoko uczulone. W USA w ciągu roku zaledwie około 150 wysoko uczulonych otrzymuje przeszczep. W ośrodkach transplantacyjnych Eurotransplantu znajduje się 30% wysoko uczulonych chorych. W Wielkiej Brytanii 20% osób oczekujących na pierwszy przeszczep jest uczulonych, 77% na drugi przeszczep, w tym 30% ma PRA >85%. Analiza przeciwciał wykazała, że 42% chorych ma przeciwciała przeciw antygenom klasy I HLA, 14% przeciw antygenom klasy II HLA, a 44% chorych ma przeciwciała przeciw antygenom obu klas. Ponadto wykazano, że 11% chorych oczekujących na retransplantację ma przeciwciała anty *locus* C i 23% anty *locus* DQ [11].

Dane Poltransplantu na koniec 2004 roku podają, że wśród oczekujących na przeszczep jest 30% uczulonych, w tym około 10% wysoko uczulonych, co stanowi około 139 osób. W tej grupie chorych nie analizowano profilu przeciwciał, ich miana i swoistości.

ROLA ALLOPRZECIWCIAŁ W USZKODZENIU NARZĄDÓW

Przeciwciała wykazują niezwykłą siłę działania, czego dowodem jest nieodwracalne zniszczenie przeszczepu w ciągu kilkunastu minut po transplantacji. Opisywano śmiertelne, ostre uszkodzenia płuc po przetoczeniu krwi pobranej od wysoko uczulonych wieloródek.

Dużą wrażliwość na przeciwciała anty HLA wykazują przeszczepione nerki, serce, płuca i wątroba [47]. Wprowadzenie przez Patela i Terasaky'ego w 1964 r. cytotoksycznej próby krzyżowej wykonanej z surowicą biorecy i limfocytami dawcy pozwala uniknąć nadostrego odrzucania przeszczepu. Nadostre odrzucanie jest następstwem związania się swoistych przeciwciał z antygenami HLA dawcy, aktywacji dopełniacza, martwicy włóknikowatej ściany naczyń, zakrzepicy i wylewów krwawych do tkanki śródmiąższowej. Uszkodzenie przeszczepu przez przeciwciała może mieć także charakter ostrego lub przewlekłego odrzucania. Mechanizm uszkodzenia wynika z aktywacji dopełniacza, ale może być niezależny od dopełniacza. Adherencja przeciwciał do komórek uruchamia sygnał transdukcji zmieniając fenotyp komórek przeszczepu. Aktywacja śródbłonka zwiększa jego właściwości prokoagulacyjne.

Przeciwciała przyspieszają rozwój transplantacyjnej arteriosklerozy. Wiązanie przeciwciał z antygenami klasy I HLA znajdującymi się na komórkach śródbłonka, komórek mięśni gładkich i nabłonka przeszczepionego narządu stymuluje aktywację i proliferację tych komórek. Zwiększa się ekspresja czynników wzrostu (FGF, bFGF, PDGF) i ich receptorów w naczyniach, a to także nasila proliferację komórek ściany naczyń. Przeciwciała anty-HLA aktywują transkrypcyjny czynnik NF-kappa B, który z kolei reguluje transkrypcję cytokin, chemokin, antyapoptycznych genów sprzyjając proliferacji błony wewnętrznej naczyń [30]. Ten proces leży u podstaw przewlekłego odrzucania przeszczepu, przyczyniając się do skrócenia jego funkcjonowania.

Badania na modelu zwierzęcym wykazały udział mechanizmów humoralnych i komórkowych w immunopatogenezie odrzucania przeszczepu u uczulonych biorców [16,29].

Śledzenie mechanizmów efektorowych odrzucania przeszczepu serca u uczulonych myszy przez wcześniejsze przeszczepy skóry pozwoliło na stwierdzenie obecności złożeń immunoglobulin, dopełniacza i włóknika na śródbłonku naczyń, którym towarzyszyła silna ekspresja wielu chemokin oraz mieszany naciek złożony z granulocytów i komórek jednojądrzastych. W wyniku aktywacji śródbłonka tworzyły się zmiany zakrzepowe. W następstwie uwalnianych chemokin, aktywacji dopełniacza i fragmentu Fc IgG dochodziło do rekrutowania granulocytów oraz komórek jednojądrzastych w rejon uszkodzenia. Manipulacja różnymi składowymi odpowiedzi na aloprzeszczep (usuwanie dopełniacza, granulocytów, limfocytów B) wykazała, że jedynym komponentem, bez którego nie wystąpiło odrzucanie przeszczepu były limfocyty T. Tylko deplecja limfocytów T zapobiegała wystąpieniu odrzucania u uczulonych zwierząt, wskazując jednoznacznie na ich udział w tym procesie.

Doświadczenie pokazuje, że w czasie uczulenia jednocześnie z przeciwciałami powstają klonalno-reaktywne limfocyty T, które nie tylko wspomagają wytwarzanie przeciwciał, ale same biorą czynny udział w uszkodzeniu przeszczepu zależnym od przeciwciał.

To badanie stanowiło podstawę zaproponowanego przez autorów leczenia immunosupresyjnego, które obejmowało indukację monoklonalnymi przeciwciałami anty-receptor IL-2, oraz podawanie cyklosporyny A. Ten schemat leczenia u pacjentów wysoko uczulonych nie był tak skuteczny.

OCENA STANU UCZULENIA

Klasyczny test cytotoksyczny NIH-CDC (National Institute of Health – complement-dependent cytotoxicity) nie wykrywa przeciwciał o niskim mianie oraz przeciwciał, które nie wiążą dopełniacza [5,11]. Te przeciwciała mogą spowodować odrzucanie przeszczepu. Obserwowany w latach 80. ubiegłego wieku znacznie częstszy pierwotny brak czynności przeszczepu w retransplantacjach, był spowodowany ukrytym nadostrym odrzucaniem, na co wskazuje narastanie pierwotnej afunkcji wraz z liczbą przeszczepów; i tak w pierwszym przeszczepie występowała u 8% biorców, w drugim u 14% i w trzecim u 20% biorców [47]. Wprowadzenie czulszych testów krzyżowych zmniejszyło występowanie pierwotnej afunkcji przeszczepu. Krótsze przeżycie przeszczepu wraz ze wzrastającym odsetkiem PRA może odzwierciedlać niewykryte uczulenie na antygeny HLA, zwłaszcza klasy II, których obecność jest trudniejsza do stwierdzenia. Wykrycie tych przeciwciał wymaga zastosowania czułych przedtransplantacyjnych testów krzyżowych, szczególnie u biorców z niezgodnością antygenów HLA-DR [50].

Oznaczanie PRA jest obecnie jedynym testem stosowanym rutynowo w ocenie stanu immunologicznego biorcy. PRA wykazują najsilniejszy związek z odrzucaniem i przeżyciem przeszczepu. Świadczą nie tylko o obecności gotowych przeciwciał, ale także o istnieniu alloreaktywnych klonów limfocytów T i B pamięci immunologicznej,

które po kontakcie ze swoim antygenem rozpoczynają proces odrzucania przeszczepu. Wykrycie PRA testem cytotoksycznym zależy od fenotypu HLA limfocytów z panelu użytych do badania, stąd też ma ograniczoną wartość. Zmienność w odsetku PRA może odzwierciedlać zmiany w składzie limfocytów z panelu, a nie rzeczywistą fluktuację przeciwciał. Czułość wykrywania przeciwciał można zwiększyć stosując test immunoenzymatyczny (ELISA) lub metodę cytometrii przepływową (FC) z zastosowaniem oczyszczonych molekuł HLA [26,38,46,53].

Ustalenie przyczyny uczulenia pozwoli przewidzieć zanikanie lub utrzymywanie się reaktywności przeciwciał. Każdy chory powinien mieć wykonane badania pozwalające na różnicowanie allo- i autoprzeciwciał [2,12]. Autoprzeciwciała nie mają znaczenia dla losów przeszczepu, a ich obecność zaburza interpretację próby krzyżowej. Należą do klasy IgM globulin i ich aktywność może być usunięta przez podgrzewanie surowicy do 55 stopni C lub przez dodanie czynnika redukującego – ditiotritolu (DTT). Określenie swoistości przeciwciał, pozwoli na określenie akceptowalnej i nieakceptowalnej niezgodności antygenów HLA i będzie prognozować znalezienie dawcy z ujemną próbą krzyżową. Kolejnym etapem w przygotowaniu chorego do przeszczepu jest określenie miana przeciwciał oraz klasy immunoglobulin [3]. Wysokie miano przeciwciał stanowi zagrożenie odrzucaniem. Przeciwciała klasy IgG przeciw antygenom klasy I HLA stanowią większe ryzyko niewydolności przeszczepu aniżeli przeciwciała IgM. Nie do końca wiadomo, dlaczego obecność przeciwciał klasy IgM jest mniej szkodliwa, jeśli nie są autoprzeciwciałami. Przeciwciała IgM także wiążą dopełniacz i skierowane przeciwko antygenom HLA mogą spowodować nadostre odrzucenie przeszczepu. Wnioski o nieszkodliwości IgM przeciwciał pochodzą z obserwacji 5 chorych, którzy pomimo dodatniej próby krzyżowej nie mieli powikłań po przeszczepieniu nerki.

PRÓBY KRZYŻOWE PRZED PRZESZCZEPIENIEM NERKI

U pacjentów wysoko uczulonych obowiązuje wykonywanie prób krzyżowych z bieżącą i wcześniej pobraną surowicą. W razie dodatniego wyniku próby krzyżowej z surowicą wcześniejszą nie należy przeszczepiać, pomimo ujemnego wyniku z surowicą bieżącą [51]. U pacjentów z retransplantacją należy unikać powtórzonych niezgodności w układzie HLA. Kolejną zasadą obowiązującą przy przeszczepianiu wysoko uczulonych jest stosowanie, oprócz standardowego testu cytotoksycznego NIH-CDC, czulszych prób krzyżowych. Zaleca się stosowanie testu cytotoksycznego z globuliną antyludzką (AHG-CDC), który wykrywa przeciwciała u 100% uczulonych [11,21]. Podobnie czułą próbą jest test wykonany metodą cytometrii przepływową, aczkolwiek może on dać wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne. Wprowadzone niedawno cząsteczki HLA klasy I, reprezentujące pojedyncze antygeny, otrzymane metodą rekombinacji genetycznej, jako cel dla przeciwciał zwiększają swoistość testu i pomagają różnicować przeciwciała anti-HLA. Standardowy test cytotoksyczny z limfocytami T wykrywa przeciwciała u 40% uczulonych. Czułość testu wzrasta do 75% po zastosowaniu limfocytów B. Uważa się także, że najczulszym testem wykrywania przeciwciał jest test immunoenzymatyczny (ELISA) z użyciem antygenów HLA opłaszczonych na podłożu stałym. Bezpieczne prze-

szczepienie może być przeprowadzone przy ujemnej próbie krzyżowej wykonanej testem cytometrii przepływową zarówno z bieżącą jak i z wcześniej pobraną surowicą. Ryzyko odrzucania wzrasta, gdy próba krzyżowa jest dodatnia z surowicą wcześniej pobraną.

W celu zwiększenia szansy na udany przeszczep surowice wysoko uczulonych powinny się znajdować we wszystkich ośrodkach transplantacyjnych, aby możliwe było wykonanie próby krzyżowej, gdy znajdzie się odpowiednio zgodny w zakresie HLA dawca.

ZASADY DOBORU ANTYGENÓW HLA

Niezgodność HLA-DR i wysoki stopień niezgodności w zakresie antygenów klasy I HLA jest złym prognostycznym wskaźnikiem przeżycia przeszczepu [31,37,45,50].

Poprawę przeżycia przeszczepu u chorych uczulonych można uzyskać przy pełnej zgodności antygenów HLA [31]. Taki dobór jest trudny do osiągnięcia, stąd też analizowano wpływ dobrania w antygenach HLA poszczególnych loci A, B i DR. Z analizy Opelza wynika, że brak niezgodności w locus B i DR zwiększa roczne przeżycie przeszczepu, które u tak dobranych wynosiło 88%, podczas gdy u gorzej dobranych wynosiło tylko 51% [36].

Unikanie niezgodności w zakresie antygenów klasy II HLA także znacząco wpływa na czas funkcjonowania przeszczepu. Bryan i wsp. w grupie biorców z PRA >80%, obserwowali roczne funkcjonowanie przeszczepu u 100% biorców z brakiem niezgodnych antygenów HLA-DR, natomiast przy jednej lub dwóch niezgodnościach w zakresie HLA-DR odpowiednio 65 i 50% [7]. U retransplantowanych, wysoko uczulonych pacjentów wskazane jest oznaczenie antygenów HLA w locus C i DQ, ponieważ przeciwko tym antygenom uczulają się biorcy wielokrotnych przeszczepów.

PROGRAMY UŁATWIAJĄCE ZNALEZIENIE DAWCY Z UJEMNĄ PRÓBĄ KRZYŻOWĄ

Czas oczekiwania pacjentów na przeszczepienie rośnie wraz ze stopniem uczulenia. Według danych UNOS chorzy z PRA <20% oczekują około 606 dni, a z PRA >80% oczekują 2365 dni [49]. Na Centralnej Liście Biorców w Polsce czas oczekiwania tych chorych jest bardzo długi, niektórzy oczekują na przeszczepienie od 17 lat. W wielu krajach powstały programy, które mają skrócić czas oczekiwania na przeszczep przez ułatwienie znalezienia dawcy z ujemną próbą krzyżową. W pierwszej kolejności surowice wysoko uczulonych powinny być typowane z każdym odpowiednio zgodnym HLA dawcą.

W 1985 roku Eurotransplant zapoczątkował program akceptowalnych niezgodności (Acceptable Mismatch Program) [9]. Podobny program pod nazwą SOS istnieje w Wielkiej Brytanii od 1981r. [27]. Funkcjonował też program HIT (Highly Immunized Trials) obejmujący Szwajcarię, Hiszpanię, byłą Czechosłowację i Polskę. W południowo-wschodnich stanach USA od 1997 r. funkcjonuje system KATS (Kentucky Antibody Testing Algorithm) [49]. Programy akceptowalnej niezgodności obejmują chorych z PRA >85%, potwierdzone w dwukrotnych oznaczeniach i po wykluczeniu obecności autoprzeciwciał. Akceptowalną

niezgodność można stwierdzić poprzez analizę ujemnych prób krzyżowych z panelem dawców z pojedynczą niezgodnością z fenotypem pacjenta lub za pomocą gotowych zestawów antygenów HLA. Przedtransplantacyjna próba krzyżowa jest wykonywana testem ELISA lub metodą cytometrii przepływową [9].

Znacznie prostszą metodą określenia akceptowalnych niezgodności jest zastosowanie komputerowego algorytmu HLA matchmaker [10].

Algorytm jest oparty na zasadzie immunogennych epitopów, które są reprezentowane przez triplety aminokwasów na tych częściach molekuly HLA, która jest dostępna dla przeciwciał oraz że „własne” triplety na niezgodnych cząsteczkach HLA *locus* A lub *locus* B nie prowadzą do odpowiedzi immunologicznej [39]. Brak niezgodnych tripletów stanowi akceptowalną niezgodność. Wybór biocytora opiera się na jednym zgodnym antygenie HLA-B, jednym lub dwoma zgodnymi HLA-DR i braku niezgodnych tripletów oraz ujemnym wyniku próby krzyżowej z wcześniejszą i bieżącą surowicą. Program akceptowalnych niezgodności umożliwił przeszczepienie nerki 112 wysoko uczulonym pacjentom w ośrodkach należących do Eurotransplantu w latach 1995–2000. Dwuletnie przeżycie przeszczepu u tych chorych było porównywalne z nieuczulonymi i wynosiło 87%. Czas oczekiwania na przeszczepienie skrócił się do 9,7 miesiąca.

ODCZULANIE CHORYCH OCZEKUJĄCYCH NA PRZESZCZEP

Obniżanie przeciwciał należy rozważyć u chorych z PRA wynoszącym 100%, rzadkim fenotypem HLA występującym <1:10 000 lub też z obecnością przeciwciał przeciw często występującym antygenom HLA, ponieważ czas oczekiwania na przeszczepienie u tych chorych jest zwykle bardzo długi. Obniżenie przeciwciał powinno być zastosowane ponadto u chorych bardzo długo oczekujących, u osób, u których przeszczep jest zabiegiem ratującym życie, z powodu braku możliwości dializoterapii lub też u chorych z innymi pilnymi wskazaniami do przeszczepu oraz u osób, u których próba krzyżowa z rodzinnym dawcą jest dodatnia. W tej ostatniej sytuacji jest jeszcze możliwa krzyżowa wymiana dawców [36].

W ciągu ostatnich kilkunastu lat wprowadzono kilka sposobów redukcji przeciwciał, plazmaferezę, immunoabsorpcję i/lub stosowanie dożylnie podawanych immunoglobulin (Ig) [1,15,19,23,24,32,35,40,42,44,55]. Stosowanie samej plazmaferezy obniża przeciwciała w sposób przemijający i mało efektywny, szczególnie u pacjentów z wysokim mianem przeciwciał. Stosowanie dużych dawek immunoglobulin ma bardziej długotrwałe działanie.

WYMIANA OSOCZA Z MAŁYMI DAWKAMI HIPERIMMUNIZOWANEJ IMMUNOGLOBULINY PRZECIW WIRUSOWI CYTOMEGALII (CMV)

Do eliminacji przeciwciał cytotoksycznych, Zachary i wsp. zastosowali połączenie plazmaferez z małymi dawkami hiperimmunizowanej immunoglobuliny przeciw CMV [55]. Połączenie tych dwóch metod, z których jedna usuwała przeciwciała, a druga blokowała resyntezę przeciwciał anty-HLA skutecznie zmniejszało allouczulenie. Ten sposób postępowania zastosowano u 49 chorych, z których

43 miało dodatnie przedtransplantacyjne próby krzyżowe. U 20 chorych stwierdzono przeciwciała przeciwko antygenom HLA klasy I, u 16 klasy II i u 13 zarówno przeciwko antygenom HLA klasy I i II dawcy narządu. Zabiegi plazmaferezy (wymiana 1 objętości osocza) rozpoczęto 5 dni przed transplantacją i kontynuowano po transplantacji, aż do stabilizacji funkcji przeszczepu. Po każdym zabiegu plazmaferezy podawano dożylnie wlewy immunoglobulin anty-CMV w dawce 100 mg/kg m.c. Niezwiązane Ig były usuwane z następną plazmaferezą. Liczba zabiegów plazmaferezy w połączeniu z wlewami immunoglobulin, potrzebnych do eliminacji przeciwciał przeciw antygenom dawcy zależała od miana przeciwciał i od odsetka PRA. Nie była natomiast zależna od swoistości przeciwciał, czy też liczby swoistości. Immunoglobuliny anty-CMV nie interferowały z testami wykrywającymi przeciwciała przeciw antygenom dawcy, które mogły być badane zarówno testami komórkowymi, jak i testem immunoenzymatycznym, w którym oczyszczone cząsteczki HLA są umieszczone na podłożu stałym lub testem cytometrii przepływową. Zastosowane postępowanie pozwoliło na wyeliminowanie przeciwciał u 89% pacjentów. U 3 osób z wysokim mianem przeciwciał anty DRw52 i DRw53 przeciwciała pozostały na niezmiennym poziomie, mimo podania monoklonalnych przeciwciał anty-CD 20 (Rituximab). Pewną modyfikacją opisanego postępowania było podawanie wszystkim chorym przeciwciał anty-CD 20 i wykonywanie splenektomii w czasie transplantacji. Ten sposób odczulania nie usuwał wszystkich przeciwciał tylko redukował ich miano. Obecność przeciwciał nie wpłynęła na wyniki przeszczepienia [14].

IMMUNOADSORPCJA

Kolejną metodą redukującą uczulenie jest immunoabsorpcja [15,19]. Przede wszystkim jest ona używana do usuwania izoaglutynin w transplantacji z niezgodnością w zakresie grup krwi ABO. Jeden zabieg immunoabsorpcji zmniejsza poziom IgG o 80%. Separacja osocza odbywa się za pomocą CTM-autoferezy (Baxter); 2,5 objętości osocza jest przepuszczana przez kolumny zawierające białko A gronkowca (Exocrim, Szwecja). Immunoabsorpcję wykonywano bezpośrednio przed przeszczepem i co 2–3 dni po przeszczepieniu, aż do stabilizacji funkcji nerki. Liczba wykonywanych zabiegów wynosiła 1–24; średnio 11. Reaktywność PRA obniżyła się z 87 do 53%, a miano z 1:32 do 1:3. Tą metodą przygotowano do retransplantacji 20 pacjentów z PRA >50%. Roczne przeżycie pacjentów i przeszczepu wynosiło odpowiednio 95 i 80% [15].

ODCZULANIE DUŻYMI DAWKAMI IMMUNOGLOBULIN

Inną metodą odczulania wprowadzoną przez Jordana i wsp. jest stosowanie dużych dawek immunoglobuliny [23,24]. Efektywność odczulania prognozowano na podstawie testu *in vitro*, który miał ocenić, czy przeciwciała zawarte w immunoglobulinach zahamują cytotoksyczność przeciwciał biocytora. Wykonanie testu i sposób odczulania był nieco inny w transplantacji rodzinnej i w transplantacji, w której dawcą była osoba zmarła. Test wykonywano podobnie jak CDC; do surowicy biocytora i limfocytów dawcy dodawano immunoglobuliny oraz dopełniacz. Pacjenci oczekujący na przeszczep od dawców zmarłych, zamiast limfocytów jednego, znanego dawcy mieli użytą pulę limfocytów od 50

dawców krwi z różnym profilem HLA. Po stwierdzeniu zahamowania cytotoxyczności przeciwciał pacjenci, którzy mieli rodzinnego dawcę otrzymywali jednorazowo dożylny wlew immunoglobulin 2 g/kg m.c. (maksymalnie 140 g) w czasie dializy. Jeśli powtórzony test krzyżowy był ujemny, przeszczep wykonywano w czasie 24–72 godz. Pacjenci oczekujący na przeszczep od dawców zmarłych otrzymywali co miesiąc 2 g/kg m.c. immunoglobulin przez 4 miesiące. Wlew immunoglobulin w tej samej dawce powtarzano w obu grupach biorców miesiąc po przeszczepieniu.

Ten sposób odczulania pozwolił na przeszczepienie 93% chorych (42 z 45) zakwalifikowanych do podawania immunoglobulin; 26 pacjentów otrzymało nerkę od żywego dawcy, 16 otrzymało przeszczep od dawcy zmarłego, w tym 3 serca z nerką lub wątrobą i 1 wątrobę z nerką. Przed i w czasie zabiegu podawano dożylnie immunoglobulin 2 g/kg m.c. Ostre odrzucanie wystąpiło u 31% biorców. Trzech chorych, tj. 7% straciło przeszczep z powodu odrzucania zależnego od przeciwciał w czasie 2–7 miesięcy. Dwuletnie przeżycie pacjentów i przeszczepu wynosiło odpowiednio 97,6 i 89,1%. Alkalin i wsp. przedstawili badania, z których wynika, że znacznie mniejsze dawki immunoglobulin mogą skutecznie zapobiegać uszkodzeniu przeszczepu przez przeciwciała [1]. Pacjentom uczulonym z dodatnią próbą krzyżową CDC z limfocytami B i dodatnim testem wykonanym cytometrią przepływową autorzy podawali 3 dawki immunoglobulin 100 mg/kg m.c. w dniu transplantacji i co drugi dzień po transplantacji łącznie z 5-dniową indukcją Thymoglobuliną. Odrzucanie zależne od przeciwciał wystąpiło tylko u jednego pacjenta.

MECHANIZM IMMUNOMODULUJĄCEGO DZIAŁANIA IMMUNOGLOBULIN

Immunoglobulin wykazują różnorakie działania na komórkowe i humoralne mechanizmy odpowiedzi immunologicznej. Zawarte w immunoglobulinach przeciwciała antyidiotypowe modyfikują poziom alloprzeciwciał, hamują ich cytotoxyczność. Blokują receptory Fc γ R na monocytach i makrofagach. Interakcja immunoglobulin z receptorem Fc na komórkach prezentujących antygen blokuje aktywację limfocytów T. Fragment Fc IgG wykazuje wysokie powinowactwo do aktywowanych składowych dopełniacza C3b i C4b hamując ich aktywność. Zapobiega to tworzeniu się kompleksu atakującego błonę i uszkodzeniu przeszczepu. Immunoglobulin hamują aktywację limfocytów T i B. Hamują aktywność cytokin i stymulują działanie antagonistów receptora cytokin. Redukują ekspresję bardzo wielu cząsteczek na powierzchni komórek w tym receptora na limfocytach T (TCR), cząsteczki kostymulujące (CD40, ICAM-1, CD86), antygeny HLA klasy II. Kolejnym istotnym mechanizmem działania immunoglobulin jest zwiększenie zdolności limfocytów B do apoptozy przez mechanizmy zależne od receptora Fc oraz zahamowanie proliferacji komórek.

Dożylnie wlewy immunoglobulin nie są wolne od powikłań, wśród których najcięższe jest uszkodzenie nerek z ostrą niewydolnością włącznie.

ZJAWISKO AKOMODACJI

Gloor i wsp. zwrócili uwagę na utrzymywanie się niskiego poziomu przeciwciał przeciw dawcy zarówno w czasie

transplantacji, jak i 4 miesiące później, mimo stosowania procedur odczulających. Autorzy sugerują możliwość rozwoju akomodacji, czyli oporności śródbłonna na aktywację i uszkodzenie zależne od dopełniacza, podobnie jak po transplantacji niezgodnej w zakresie grup krwi ABO [14]. Salama i wsp. stwierdzili zwiększenie ekspresji genów chroniących naczynia przy niskim poziomie alloprzeciwciał. W mechanizmie akomodacji biorą udział geny blokujące aktywację NF- κ B: Bcl-2, Bcl-xL, A20 oraz geny przeciwzapalne i przeciwapoptotyczne geny oksygenazy hemowej [43].

ROZPUSZCZALNE ANTYPENY HLA – TERAPIA GENOWA

Z obserwacji pacjentów po przeszczepieniu wątroby wynika, że rozpuszczalne cząsteczki HLA wytwarzane w wątrobie, wiążą przeciwciała zapobiegając uszkodzeniu przeszczepu. Ten mechanizm może być wykorzystany w obniżaniu alloprzeciwciał. W transplantacji serca u szczerów użyto liposomów do transfekcji hepatocytów plazmidami DNA kodującymi rozpuszczalne antygeny MHC klasy I [13]. Terapia genowa może w przyszłości być wykorzystana u chorych wysoko uczulonych.

PROGRAMY IMMUNOSUPRESYJNE U CHORYCH WYSOKO UCZULONYCH

Dotąd nie przeprowadzono randomizowanych badań ustalających optymalne leczenie immunosupresyjne u chorych wysoko uczulonych. Rozpoczęte przed kilku laty, randomizowane, prospektywne badania porównujące Thymoglobulinę z przeciwciałami anti-IL-2 R przerwano z powodu znacznie korzystniejszych efektów leczenia Thymoglobuliną.

Przedstawione w piśmiennictwie schematy immunosupresji były stosowane w niewielkich grupach chorych z różnym stopniem uczulenia od 5–100% PRA lub retransplantowanych lub też z dodatnią próbą krzyżową z surowicą wcześniej pobraną lub bieżącą, wykonywaną testami o różnej czułości [6,20,22,48,52,56]. Największa przedstawiona w piśmiennictwie grupa z wysokim immunologicznym ryzykiem obejmująca 59 chorych przeszczepionych w latach 1988–2000 pochodzi z wielośrodkowych badań kanadyjskich [56]. W indukcji immunosupresji chorzy otrzymywali poliklonalne przeciwciała antylimfocytarne, takrolimus, mykofenolan mofetylu i kortykosteroidy. U 83% chorych przeszczep funkcjonował przez 1 rok. Czterech chorych straciło przeszczep z powodu humoralnego odrzucania.

Jirasiritham i wsp. u 13 chorych z PRA >50% stosowali indukcję monoklonalnymi przeciwciałami anti-IL-2R, a w przewlekłej immunosupresji CsA i kortykosteroidy z dobrym skutkiem, porównywalnym z leczeniem innych chorych nieobciążonych uczuleniem [22]. Chorzy odczulani przed zabiegiem transplantacji, otrzymywali poliklonalne przeciwciała antylimfocytarne, rzadziej monoklonalne przeciwciała anti-IL-2R (Daclizumab), a w leczeniu podtrzymującym takrolimus, rzadziej CsA oraz mykofenolan mofetylu i kortykosteroidy. Czas podawania Thymoglobulin wahał się 5–14 dni, a dawkowanie 1,25–1,5 mg/kg m.c. Daclizumab podawano dwu- lub pięciokrotnie w dawce 1 mg/kg m.c.

Przewaga stosowania poliklonalnych przeciwciał antylimfocytarnych nad monoklonalnymi anti-IL-2R wyni-

ka z ich siły działania [25,52]. Poliklonalne przeciwciała blokują ekspresję wielu powierzchniowych molekuł istotnych w odpowiedzi immunologicznej (m.in. receptor IL-2, cząsteczki HLA klasy I i II, CD3, CD4, CD8, CD11a, CD20, CD28, CD54, CD80, CD2, CD154). Powodują długotrwałą eliminację komórek CD4 oraz komórek pamięci immunologicznej.

Mykofenolan mofetylu ma istotnie silniejszy wpływ na odporność humoralną, aniżeli do tej pory stosowana azatiopryna, co przyczyniło się do poprawy przeżycia przeszczepu w tej grupie chorych. Depresję tworzenia przeciwciał u leczonych mykofenolanem mofetylu wykazano u pacjentów po przeszczepieniu serca i nerek [57]. Mykofenolan mofetylu obniżał miano izoaglutynin anty-A lub anty-B u biorców, którym przeszczepiono niezgodne ABO narządy.

Po przeszczepieniu chorzy wymagają monitorowania przeciwciał w surowicy, albo z limfocytami pochodzącymi od dawcy narządu lub też z syntetycznymi cząsteczkami HLA opłaszczonymi na podłożu stałym. Wskazane jest też wykonywanie protokołarnych biopsji w celu sprawdzania aktywacji dopełniacza na śródbłonkach naczyń (złogi fragmentu C4d).

ODRZUCANIE ZALEŻNE OD PRZECIWCIAŁ

Nazwę odrzucania zależnego od przeciwciał (antibody mediated rejection) wprowadziła grupa transplantologów amerykańskich (Antibody Working Group) w celu ujednoczenia nazewnictwa i łatwiejszej interpretacji danych w piśmiennictwie [34]. To określenie obejmuje zarówno odrzucanie związane z przeciwciałami przeciw dawcy, anty-HLA, izoaglutyninami i przeciwciałami przeciw komórkom śródbłonka. W zależności od czasu występowania po transplantacji i obrazu klinicznego został utrzymany podział na nadostre, ostre i przewlekłe odrzucanie. Wymieniona grupa wprowadziła standardy kryteriów diagnostycznych i badania profilu przeciwciał. Diagnoza odrzucania zależnego od przeciwciał jest stawiana na podstawie dysfunkcji przeszczepu, charakterystycznych cech histologicznych, immunohistochemicznych (złogi C4d na śródbłonku kapilarów okołokanalikowych) i obecności przeciwciał przeciw dawcy w surowicy krwi.

LECZENIE OSTREGO ODRZUCANIA ZALEŻNEGO OD PRZECIWCIAŁ

Wystąpienie ostrego odrzucania zależnego od przeciwciał, wiąże się z wysokim ryzykiem utraty przeszczepu sięgającym nawet 79%. Występuje ono powyżej 24 godzin po przeszczepieniu. Wcześniejsze nazewnictwo określało je jako naczyniowe lub przyspieszone ostre odrzucanie. Klinicznie przebiega jako wczesne, ciężkie odrzucanie, odporne na leczenie metyloprednizolonem i przeciwciałami antylimfocytarnymi. Histopatologiczne cechy odrzucania obejmują naciek granulocytarny kapilarów okołokanalikowych z depozycją fragmentu dopełniacza C4d, glomerulitis, zakrzepy włóknikowe, martwicę włóknikową ściany naczyń i zapalenie naczyń [41,28]. Wprowadzenie do

terapii plazmaferezy, immunoglobulin oraz nowych leków immunosupresyjnych zdecydowanie poprawiło rokowanie ostrego odrzucania zależnego od przeciwciał [35,40]. Liczba chorych, u których zastosowano tego typu postępowanie jest stosunkowo niewielka, dodatkowo chorzy otrzymywali różne leki przeciwoodrzucaeniowe.

Montgomery i wsp. użyli kombinacji plazmaferezy i immunoglobulin u 3 biorców przeszczepu od żywego dawcy z obecnością alloprzeciwciał przeciwko niezgodnym antygenom klasy I HLA dawcy i z charakterystycznym histologicznym i immunofluorescencyjnym obrazem odrzucania z udziałem przeciwciał [35]. Plazmaferezę stosowano co drugi dzień i po każdej plazmaferezie podawano immunoglobuliny w dawce 100 mg/kg m.c. Zabiegi stosowano aż do uzyskania poprawy klinicznej i zaniku przeciwciał. U wszystkich leczonych uzyskano normalizację stężenia kreatyniny.

Podobny protokół zastosowali White i wsp. u 9 chorych. Łącznie chorym wykonano 4–6 plazmaferezy, po których otrzymali immunoglobuliny w dawce 500 mg/kg m.c. przez pierwsze 3 dni, a następnie dwukrotnie po 250 mg/kg m.c. Żaden chory nie stracił przeszczepu [54].

Pascual i wsp. leczyli z sukcesem 5 chorych, stosując jedną plazmaferezę dziennie (łącznie 4–7 zabiegów) z immunoglobulinami w dawce 0,4 g/kg m.c. Przed tymi zabiegami, w leczeniu odrzucania, chorzy otrzymali metyloprednizolon, przeciwciała poliklonalne i monoklonalne (OKT3) [40].

Bohmig i wsp. zastosowali immunoadsorbpcję (3–17 zabiegów) oraz konwersję do takrolimusu i mykofenolanu mofetylu u 10 chorych. W czasie jednego zabiegu wymieniano 2–3 objętości osocza. U 9 nastąpiła poprawa, u 8 chorych nerka funkcjonowała przez 14 miesięcy [4].

W pojedynczych przypadkach oprócz plazmaferezy i immunoglobulin stosowano przeciwciała anty-CD20.

Jordan i wsp. u 7 chorych z odrzucaniem nerki i u 3 z odrzucaniem serca zastosowali immunoglobuliny w dawce 2 g/kg m.c. podawane przez kilka dni uzyskując stabilizację funkcji przeszczepów [23].

Intensyfikacja badań nad rolą alloprzeciwciał w odrzucaniu przeszczepu pozwoliła na ustalenie, przedstawionych w tym opracowaniu, algorytmów dotyczących przygotowania chorych do zabiegu przeszczepienia i diagnozy odrzucania zależnego od przeciwciał. Wiele problemów pozostaje do rozwiązania, m.in. jak zidentyfikować chorych, u których rozwinię się akomodacja, jaka jest rola przeciwciał, które utrzymują się po transplantacji lub powstają *de novo*, który schemat odczulania (jakie dawki immunoglobulin, liczba plazmaferez) i jakie leczenie immunosupresyjne będzie optymalne w prewencji i leczeniu odrzucania przeszczepu, jaki wpływ na odległe losy pacjenta będzie miała intensyfikacja leczenia immunosupresyjnego.

PIŚMIENICTWO

- [1] Akalin E., Ames S., Sehgal V., Fotino M., Daly L., Murphy B., Bromberg J.S.: Intravenous immunoglobulin and thymoglobulin facilitate kidney transplantation in complement-dependent cytotoxicity B-cell and flow cytometry T- or B-cell crossmatch-positive patients. *Transplantation*, 2003; 76: 1444–1447
- [2] Baldy-Chudzik K., Nowakowska B., Kuśnierczyk P., Matej H.: Absorption with K562 erythroblastoma cells as a means for discrimination between auto- and alloantibodies in sera of hypersensitized renal patients. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 1994; 42: 223–226
- [3] Baldy-Chudzik K., Nowakowska B., Matej H., Kuśnierczyk P.: Determination of immunoglobulin class of alloantibodies in sera from hypersensitized renal patients. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 1994; 42: 227–230
- [4] Bohmig G.A., Regele H., Exner M., Derhartunian V., Kletzmayer J., Saemann M.D., Horl W.H., Druml W., Watschinger B.: C4d-positive acute humoral renal allograft rejection: effective treatment by immunoadsorption. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2001; 12: 2482–2489
- [5] Boratynska M., Klinger M., Kopec W., Nowakowska B., Szyber P.: Comparison of pretransplant serum alloreactivity estimated by immunoenzymatic assay (PRA-STAT) and lymphocytotoxic test in renal transplant recipients. *Transplant. Proc.*, 2002; 34: 546–548
- [6] Boratynska M., Magott M., Klinger M., Smolska D., Rychlewska B., Myszkka K., Szepletowski T., Szyber P., Patrzalek D.: Mycophenolate mofetil in renal graft recipients with increased immune risk of graft loss. *Transplant. Proc.*, 2002; 34: 553–555
- [7] Bryan C.F., Shield C.F., Pierce G.E., Warady B.A., Aeder M.I., Martinez J., Luger A.M., Nelson P.W., Ross G., Muruve N., Mitchell S.I.: Successful cadaveric renal transplantation of patients highly sensitized to HLA Class I antigens. *Clin. Transplant.*, 2000; 14: 79–84
- [8] Cecka J.M.: The UNOS Scientific Renal Transplant Registry. *Clin. Transpl.*, 1998, 1–16
- [9] Claas F.H., Witvliet M.D., Duquesnoy R.J., Persijn G.G., Doxiadis I.I.: The acceptable mismatch program as a fast tool for highly sensitized patients awaiting a cadaveric kidney transplantation: short waiting time and excellent graft outcome. *Transplantation*, 2004; 78: 190–193
- [10] Duquesnoy R.J.: HLA-Matchmaker: a molecularly based algorithm for histocompatibility determination. I. Description of the algorithm. *Hum. Immunol.*, 2002; 63: 339–352
- [11] Fuggle S.V., Martin S.: Toward performing transplantation in highly sensitized patients. *Transplantation*, 2004; 78: 186–189
- [12] Gallon L.G., Leventhal J.R., Kaufman D.B.: Pretransplant evaluation of renal transplant candidates. *Semin. Nephrol.*, 2002; 22: 515–525
- [13] Geissler E.K., Graeb C., Tange S., Guba M., Jauch K.W., Scherer M.N.: Effective use of donor MHC class I gene therapy in organ transplantation: prevention of antibody-mediated hyperacute heart allograft rejection in highly sensitized rat recipients. *Hum. Gene Ther.*, 2000; 11: 459–469
- [14] Gloor J.M., DeGoey S., Ploeger N., Gebel H., Bray R., Moore S.B., Dean P.G., Stegall M.D.: Persistence of low levels of alloantibody after desensitization in crossmatch-positive living-donor kidney transplantation. *Transplantation*, 2004; 78: 221–227
- [15] Haas M., Bohmig G.A., Leko-Mohr Z., Exner M., Regele H., Derfler K., Horl W.H., Druml W.: Peri-operative immunoadsorption in sensitized renal transplant recipients. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2002; 17: 1503–1508
- [16] Hancock W.W., Gao W., Shemmeri N., Shen X.D., Gao F., Busuttill R.W., Zhai Y., Kupiec-Weglinski J.W.: Immunopathogenesis of accelerated allograft rejection in sensitized recipients: humoral and non-humoral mechanisms. *Transplantation*, 2002; 73: 1392–1397
- [17] Hardy S., Lee S.H., Terasaki P.I.: Sensitization 2001. *Clin. Transpl.*, 2001: 271–278
- [18] Hickey D.P., Vivas C.A., Jordan M.L., Lopatin W.B., Hrebinko R., O'Donovan R., Hakala T.R.: Highly sensitized patients with delayed graft function: a management protocol. *J. Urol.*, 1991; 145: 131–134
- [19] Hiesse C., Kriaa F., Rousseau P., Farahmand H., Bismuth A., Fries D., Charpentier B.: Immunoadsorption of anti-HLA antibodies for highly sensitized patients awaiting renal transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1992; 7: 944–951
- [20] Hurault de Ligny B., Lebranchu Y.: The use of thymoglobuline induction in renal transplantation: a pharmacovigilance study. *Transplant. Proc.*, 2000; 32: 351–352
- [21] Indudhara R., Khauli R.B.: Kidney transplantation in highly sensitized patients: reappraisal of etiology, evaluation, and management protocols. *World J. Urol.*, 1996; 14: 206–217
- [22] Jirasiritham S., Sumethkul V., Mavichak V., Lertsithichai P., Jirasiritham S.: The role of anti-IL-2 receptor in high-risk kidney transplant patients. *Transplant. Proc.*, 2004; 36: 2110–2112
- [23] Jordan S., Cunningham-Rundles C., McEwan R.: Utility of intravenous immune globulin in kidney transplantation: efficacy, safety, and cost implications. *Am. J. Transplant.*, 2003; 3: 653–664
- [24] Jordan S.C., Vo A., Bunnapradist S., Toyoda M., Peng A., Puliyaanda D., Kamil E., Tyan D.: Intravenous immune globulin treatment inhibits crossmatch positivity and allows for successful transplantation of incompatible organs in living-donor and cadaver recipients. *Transplantation*, 2003; 76: 631–636
- [25] Kaden J.: Eleven years intraoperative ATG bolus. A list of successes. *Ann. Transplant.*, 2002; 7: 4–10
- [26] Karpinski M., Rush D., Jeffery J., Exner M., Regele H., Dancea S., Pochinco D., Birk P., Nickerson P.: Flow cytometric crossmatching in primary renal transplant recipients with a negative anti-human globulin enhanced cytotoxicity crossmatch. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2001; 12: 2807–2814
- [27] Klouda P.T., Corbin S.A., Ray T.C., Rogers C.A., Bradley B.A.: Renal transplantation in highly sensitized patients: five years of the SOS Scheme. *Clin. Transpl.*, 1990: 69–73
- [28] Koo D.D., Roberts I.S., Quiroga I., Procter J., Barnardo M.C., Sutton M., Cerundolo L., Davies D.R., Friend P.J., Morris P.J., Fuggle S.V.: C4d deposition in early renal allograft protocol biopsies. *Transplantation*, 2004; 78: 398–403
- [29] Kupiec-Weglinski J.W.: Graft rejection in sensitized recipients. *Ann. Transplant.*, 1996; 1: 34–40
- [30] Lepin E.J., Reed E.F.: Complement independent mechanisms of anti-graft antibodies in transplant arteriosclerosis and accommodation. *Curr. Opin. Transpl.*, 2004; 9: 10–15
- [31] McCune T.R., Thacker L.R. II, Blanton J.W., Adams P.L.: Sensitized patients require sharing of highly matched kidneys. *Transplantation*, 2002; 73: 1891–1896
- [32] Min L., Shuming J., Zheng T., Daxi J., Huiping C., Zhihong L., Leishi L.: Novel rescue therapy for C4d-positive acute humoral renal allograft rejection. *Clin. Transplant.*, 2005; 19: 51–55
- [33] Mjornstedt L., Konar J., Nyberg G., Olausson M., Sandberg L., Karlberg I.: Renal retransplantation in patients with HLA-antibodies. *Transpl. Int.*, 1992; 5(Suppl.1): S32–S34
- [34] Montgomery R.A., Hardy M.A., Jordan S.C., Racusen L.C., Ratner L.E., Tyan D.B., Zachary A.A., Antibody Working Group on the diagnosis, reporting, and risk assessment for antibody-mediated rejection and desensitization protocols: Consensus opinion from the antibody working group on the diagnosis, reporting, and risk assessment for antibody-mediated rejection and desensitization protocols. *Transplantation*, 2004; 78: 181–185
- [35] Montgomery R.A., Zachary A.A., Racusen L.C., Leffell M.S., King K.E., Burdick J., Maley W.R., Ratner L.E.: Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients. *Transplantation*, 2000; 70: 887–895
- [36] Opelz G.: Collaborative Transplant Study Kidney Exchange Trial for highly sensitized recipients. *Clin. Transpl.*, 1991: 61–64
- [37] Opelz G.: Five-year results of renal transplantation in highly sensitized recipients. Collaborative Transplant Study. *Transpl. Int.*, 1996; 9(Suppl.1): S16–S19
- [38] O'Rourke R.W., Osorio R.W., Freise C.E., Lou C.D., Garovoy M.R., Bacchetti P., Ascher N.L., Melzer J.S., Roberts J.P., Stock P.G.: Flow cytometry crossmatching as a predictor of acute rejection in sensitized recipients of cadaveric renal transplants. *Clin. Transplant.*, 2000; 14: 167–173
- [39] Papassavas A.C., Stavropoulos-Giokas C., Boletis J., Ioannou S., Iniotaki-Theodoraki A., Kostakis A.: Definition of permissible and immunogenic HLA antigens based on epitope analysis of the HLA specific antibodies produced in sensitized patients. *Eur. J. Immunogenet.*, 2002; 29: 401–407
- [40] Pascual M., Saidman S., Tolkoff-Rubin N., Williams W.W., Mauyiyedi S., Duan J.M., Farrell M.L., Colvin R.B., Cosimi A.B., Delmonico F.L.: Plasma exchange and tacrolimus-mycophenolate rescue for acute humoral rejection in kidney transplantation. *Transplantation*, 1998; 66: 1460–1464

- [41] Racusen L.C., Colvin R.B., Solez K., Mihatsch M.J., Halloran P.F., Campbell P.M., Cecka M.J., Cosyns J.P., Demetris A.J., Fishbein M.C., Fogo A., Furness P., Gibson I.W., Glotz D., Hayry P., Hunsickern L., Kashgarian M., Kerman R., Magil A.J., Montgomery R., Morozumi K., Nickenleit V., Randhawa P., Regele H., Seron D., Seshan S., Sund S., Trpkov K.: Antibody-mediated rejection criteria – an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am. J. Transplant.*, 2003; 3: 708–714
- [42] Ross C.N., Gaskin G., Gregor-Macgregor S., Patel A.A., Davey N.J., Lechler R.I., Williams G., Rees A.J., Pusey C.D.: Renal transplantation following immunoadsorption in highly sensitized recipients. *Transplantation*, 1993; 55: 785–789
- [43] Salama A.D., Delikouras A., Pusey C.D., Cook H.T., Bhargal G., Lechler R.I., Dorling A.: Transplant accommodation in highly sensitized patients: a potential role for Bcl-xL and alloantibody. *Am. J. Transplant.*, 2001; 1: 260–269
- [44] Sivasai K.S., Mohanakumar T., Phelan D., Martin S., Anstey M.E., Brennan D.C.: Cytomegalovirus immune globulin intravenous (human) administration modulates immune response to alloantigens in sensitized renal transplant candidates. *Clin. Exp. Immunol.*, 2000; 119: 559–565
- [45] Süsal C., Opelz G.: Kidney graft failure and presensitization against HLA class I and class II antigens. *Transplantation*, 2002; 73: 1269–1273
- [46] Tambur A.R., Bray R.A., Takemoto S.K., Mancini M., Costanzo M.R., Kobashigawa J.A., D'Amico C.L., Kanter K.R., Berg A., Vega J.D., Smith A.L., Roggero A.L., Ortel J.W., Wilmoth-Hosey L., Cecka J.M., Gebel H.M.: Flow cytometric detection of HLA-specific antibodies as a predictor of heart allograft rejection. *Transplantation*, 2000; 70: 1055–1059
- [47] Terasaki P.I.: Humoral theory of transplantation. *Am. J. Transplant.*, 2003; 3: 665–673
- [48] Thibaudin D., Alamartine E., de Filippis J.P., Diab N., Laurent B., Berthoux F.: Advantage of antithymocyte globulin induction in sensitized kidney recipients: a randomized prospective study comparing induction with and without antithymocyte globulin. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1998; 13: 711–715
- [49] Thompson J.S., Thacker L., Byrne J.: Prospective trial of a predictive algorithm to transplant cadaver kidneys into highly sensitized patients. *Transplantation*, 2002; 73: 1274–1280
- [50] Thompson J.S., Thacker L.R. 2nd, Krishnan G.: Human leukocyte antigens DR and AB and kidney retransplantation. *Transplantation*, 2003; 75: 718–723
- [51] van Kampen C.A., Roelen D.L., Versteeg-van der Voort Maarschalk M.F., Hoitsma A.J., Allebes W.A., Claas F.H.: Activated HLA class I-reactive cytotoxic T lymphocytes associated with a positive historical crossmatch predict early graft failure. *Transplantation*, 2002; 74: 1114–1119
- [52] Vela C., Cristol J.P., Chong G., Okamba A., Lorho R., Mion C., Mourad G.: Antilymphocyte globulins versus OKT3 as prophylactic treatment in highly sensitized renal transplant recipients. *Transpl. Int.*, 1994; 7(Suppl.1): S259–S262
- [53] Wahrman M., Exner M., Regele H., Derfler K., Kormoczi G.F., Lhotta K., Zlabinger G.J., Bohmig G.A.: Flow cytometry based detection of HLA alloantibody mediated classical complement activation. *J. Immunol. Methods*, 2003; 275: 149–60
- [54] White N.B., Greenstein S.M., Cantafio A.W., Schechner R., Glicklich D., McDonough P., Pullman J., Mohandas K., Boctor F., Uehlinger J., Tellis V.: Successful rescue therapy with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin for acute humoral renal transplant rejection. *Transplantation*, 2004; 78: 772–774
- [55] Zachary A.A., Montgomery R.A., Ratner L.E., Samaniego-Picota M., Haas M., Kopchaliiska D., Leffell M.S.: Specific and durable elimination of antibody to donor HLA antigens in renal-transplant patients. *Transplantation*, 2003; 76: 1519–1525
- [56] Zaltzman J., McAlister V., Russell D., Halloran P., Landsberg D., Busque S., Shoker A., Boucher A., Shapiro J., Tchervenkov J., Peets J.: Tacrolimus, MMF, steroid, and ALG immunotherapy for high immunological risk renal transplant recipients. *Transplant. Proc.*, 2001; 33: 1044–1045
- [57] Zmonarski S.C., Boratynska M., Madziarska K., Klinger M., Kusztel M., Patrzalek D., Szyber P.: Mycophenolate mofetil severely depresses antibody response to CMV infection in early posttransplant period. *Transplant. Proc.*, 2003; 35: 2205–2206