

A modern antitestdiagnosztika kihívásai vesetranszplantáció során

Wettstein Dániel dr.¹ ■ Szentiványi Dorottya dr.²

¹Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, ¹Transzplantációs és Sebészeti Klinika, ²III. Belgyógyászati Klinika, Budapest

A transzplantációs immunológia kiemelt fontosságú területe az antitestmediált rejectio elleni küzdelem, amelynek háttérében a graft által prezentált humán leukocytantigének ellen képződő antitestek állnak. A szilárd fázisú immunológiai tesztek bevezetésével jelentősen megváltozott az antitestek monitorozásának gyakorlata, aminek jelentősége van a transzplantációt megelőzően és azt követően is. Ennek ellenére hiányosak az ismeretek a teszt során detektált antitestek klinikai relevanciáját tekintve, ezenfelül technikai kihívások és a betegellátás során alkalmazott különböző stratégiák színesítik a képet. A szerzők a transzplantációs antitestmonitorozás laboratóriumi módszereinek egységesítésére vonatkozó ajánlásokat és a vesetranszplantált betegek ellátásában javasolt algoritmusokat mutatják be összefoglaló közleményükben. A szilárd fázisú technikák kombinálása a komplementaktiváció kimutatásával ígéretes eszköznek mutatkozik. A komplementkötő antitestek kimutatásán alapuló módszerek fontos kérdésekre adhatnak választ a detektált antitestek klinikai relevanciáját illetően. Az új módszerek alkalmazása során felmerülő kérdések megválaszolása és az ajánlások ismerete szükséges ahhoz, hogy ezen a dinamikus fejlődő területen naprakészek maradjunk. *Orv. Hetil.*, 2014, *155*(46), 1820–1830.

Kulcsszavak: antitestmediált rejectio, HLA-antitestek, vesetranszplantáció

Challenges of the modern antibody diagnostics in kidney transplantation

Overcoming antibody mediated rejection is of increasing interest in the field of transplantation immunology. The recipient's antibodies against the graft human leukocyte antigens are responsible for antibody mediated graft injury. Introduction of the solid phase immunoassay technology radically changed the monitoring practice of antibodies against human leukocyte antigens, and this has consequences both for pretransplant and posttransplant phases, though our knowledge about the clinical interpretation of the detected antibodies is limited. This integrating review reports recommendations and algorithms regarding the management of kidney transplant patients. The detection of complement activation combined with the solid phase techniques is a promising new approach in antibody testing. The C4d and especially the more sensitive CIq methods have the potential to answer pivotal questions about the clinical relevance of antibodies. Answering the questions that the applied new methods raised and reviewing the recommendations are needed to remain up to date with this dynamically developing field.

Keywords: antibody mediated rejection, HLA antibodies, kidney transplantation

Wettstein, D., Szentiványi, D. [Challenges of the modern antibody diagnostics in kidney transplantation]. *Orv. Hetil.*, 2014, *155*(46), 1820–1830.

(Beérkezett: 2014. szeptember 3.; elfogadva: 2014. szeptember 25.)

Rövidítések

AMP = (acceptable mismatch program) elfogadható eltérés program; AMR = antitestmediált rejectio; CDC = komplementdependens citotoxicitás; CNI = kalcineurininhibitor; DSA = donorspecifikus antitestek; ELISA = enzyme linked immuno-

sorbent assay; ETKAS = (Eurotransplant Kidney Allocation System) Európai Vese Allokációs Rendszer; HLA = humán leukocytantigén; IvIg = intravénás immunglobulin; KPD = (kidney paired donation) vese keresztadonáció; MFI = (mean fluorescence intensity) átlagos fluoreszcenciaintenzitás; OD =

A Prof. Dr. Regöly-Mérei János Alapítvány által kiírt pályázaton orvostanhallgató kategóriában díjazott pályamunka.
Témavezető: Prof. Dr. Caner Süsal

optikai denzitás; PRA = panelreaktív antitestek; SAB = (single antigen bead) egyetlen antigén gyöngy; SPI = (solid phase immunoassay) szilárd fázisú immunológiai teszt; TTS = (The Transplantation Society) Nemzetközi Transzplantációs Társaság; UAM = (unacceptable antigene mismatch) nem elfogadható antigén eltérés

A transzplantációs immunológia diagnosztikai eszköztárának folyamatos bővülése, valamint a világ transzplantációs immunológiai laboratóriumainak eltérő gyakorlata olyan egyértelmű, szakmai konszenzuson alapuló irányelvek kidolgozását tette szükségessé, amely útmutatást nyújthat mind a transzplantációs antitestdiagnosztika, mind pedig a klinikai gyakorlat számára [1]. Ennek megvalósítására 2011 novemberében a nemzetközi Transzplantációs Társaság (The Transplantation Society – TTS) laboratóriumi és klinikai szakértők bevonásával kezdeményezett átfogó projektet. Rómában, 2012 májusában az Antitest Konszenzus Csoport konferenciáján jött létre a Technikai Munkacsoport, a Pretranszplant Munkacsoport és a Poszttranszplant Munkacsoport a főbb témáknak megfelelően. Az ajánlások végleges kézírata 2012 októberében készült el 27 szerző munkájának eredményeként, 276 referencia felhasználásával. A munka részletesen tárgyalja a szakma aktuális tudományos eredményeit, javaslatait és a jövő lehetséges irányvonalait a transzplantációt megelőző és az azt követő antitestmonitorozás algoritmusa terén [2]. Ezt a közleményt alapul véve összefoglaltuk az antitestek transzplantáció előtti és azt követő monitorozásával kapcsolatos szakmai ajánlásokat, és vesetranszplantáció esetén követendő algoritmusokat dolgoztunk ki. Az új kihívásokat rejtő technikai fejlődéssel kapcsolatban szintén közöljük a szakértői ajánlásokat. Az antitestek detektálása forradalmi változáson ment keresztül a komplementdependens citotoxicitás (CDC) és az enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) alapú antitestkimutatási módszernél lényegesen érzékenyebb Luminex bevezetése óta. A Luminex-tesztnak számos változata ismert, amelyek közül a 2011 óta tudományos célokra elérhető C1q komplementkomponens kimutatásán alapuló módszer ismertetésére fektettünk különös hangsúlyt, mivel az eljárás a közeljövőben várhatóan beépülhet a rutindiagnosztika eszköztárába.

Az antitestmediált rejectio jelentősége

A transzplantációs immunológiai diagnosztika fejlődésének motorja a kezdetektől fogva napjainkig az antitestmediált rejectio elleni küzdelem. Az 1990-es évek elején vált ismertté az akut vesallograft-rejectio atipikus vagy akcelerált formája immunizált betegekben, akiket pozitív T-sejt-keresztpróba ellenére transzplantáltak, vagy akiknél donorspecifikus antitestek (DSA) képződtek a transzplantációt követően [3, 4]. Jóllehet, az antitestmediált rejectiót (AMR) elsősorban a korai graftvesztésért teszik felelőssé, AMR bekövetkezhet a transzplantációt

követően bármikor [5]. Ennek a graftkárosodásnak a középpontjában a hiperakut rejectióhoz hasonlóan az antitestek és a kapillaris endothel károsodása állnak, ami alapvetően megkülönbözteti az AMR-t az akut T-sejtmediált kilökődéstől. Az AMR szövettani diagnózisa meglehetősen aspecifikus volt addig, amíg meg nem jelent a C4d-festésen alapuló immunhisztológiai módszer. A megfelelő antitestek kötődése aktiválja a komplementkaskádót, és ennek során a funkcionálisan inaktív C4d az aktiválódás helyén lerakódik, és kovalens kötést létesít a szövetekkel. *Feucht és munkatársai* mutatták ki először a peritubularis kapillarisokban található C4d-lerakódást az AMR jeleként vesallograft-biopsziákban [6, 7]. Az AMR okozói a donorelles preformált vagy újonnan képződő (de novo) antitestek, amelyek jelenléte meghatározza a kezelés módját is. Az AMR pontos diagnosztikai kritériumainak meghatározása (Banff-kritériumok) szükséges volt ahhoz, hogy a kilökődésre adekvát terápia választ tudjunk adni [8]. A T-sejtmediált rejectio ellen használatos immunszuppresszánsok ugyanis csak kevesebb mint 50%-ban vezetnek eredményre AMR esetében [9]. Az AMR kezelésében a deszenzitizációs terápiaknál leírt módszerek használhatók, és akár 90%-ban reverzibilissé tehető az AMR ezáltal.

Az antitestmediált rejectio okai

A heidelbergi központú Collaborative Transplant Study nem publikált adatai alapján a transzplantáció utáni első évet követően az agyhalott donorból származó vesegrftoknak évente körülbelül 3,6%-át veszítjük el. *Az Enecke és munkatársai* által végzett indikációs biopsziák eredményeit feldolgozó tanulmány szerint leggyakrabban az AMR tehető felelőssé a késői graftkárosodásért (>60%), második helyen pedig az eredeti betegség visszatérése áll. A tanulmány szerint a kalcineurininhibitor- (CNI-) toxicitás kevesebb mint 5%-ban volt felelős a graftkárosodásért [10]. Az 1990-es évek immunszuppresszió-minimalizálási törekvéseinek hatására valóban kevesebb CNI-toxicitással kellett számolni, azonban később fény derült arra, hogy az AMR kialakulásának egyik legfontosabb rizikófaktora a túl alacsony szintű immunszuppresszió. A de novo DSA-képződés transzplantációt követően AMR-t és graftkárosodást eredményez [11, 12, 13]. A de novo DSA-képződés legfőbb rizikófaktora a túl alacsony szintű immunszuppresszív terápia, amelyet a beteg együttműködésének hiánya, vagy iatrogén módon a terápia dózis túlzott csökkentése okozhat [14, 15]. Ezt az elméletet támasztja alá *Hansen és munkatársainak* tanulmánya, amely szerint a vesetranszplantált betegeknek 22%-a nem együttműködő a gyógyszereszedésben, és ez tehető felelőssé az összes graftvesztés mintegy 36%-áért [16]. *Opelz és munkatársai* megfigyelték, hogy a ciklosporin-A, takrolimusz és mikofenolat-mofetil dózisának csökkentése a kontrollcsoporthoz képest szignifikánsan rosszabb grafttúlélési eredményekkel párosul [17]. A celluláris immunitásra ható immunszuppresszív

terápiás szerek túl alacsony dozírozása részben felelőssé tehető az AMR kialakulásáért is, mivel az aktív Th-sejtek segítségével a B-sejtek antitesttermelő plazmasejteké válhatnak. A de novo DSA képződésének további rizikófaktorai a fenti tanulmányok szerint a HLA-DRB1 és -DQ mismatchek jelenléte, a cadaver donorból történő transzplantáció, a recipiens 18 és 35 év közötti életkora, a korábbi klinikai kilökődési epizódok, valamint a transzplantáció előtt non-DSA jelenléte.

Az immunizáció jelentősége vesetranszplantációra várók körében

A panelreaktív antitestek (PRA) aránya a beteg szérumában található antitesteknek egy random donor-panel lymphocytái ellen mutatott pozitív reakcióinak hányadát fejezi ki. Ez a szám a beteg immunizáltsági státusának fokmérője. Immunizálnak azokat a betegeket tekintjük, akiknél a PRA aránya 5% felett van. Ezen belül a 85% fölötti PRA-val rendelkező betegeket a magasan immunizáltak csoportjába soroljuk. Napjainkban a szolid szervek transzplantációja során egyre jelentősebb probléma az immunizált betegek növekvő aránya a várólistákon. Az immunizált betegek aránya az Egyesült Államokban mintegy 40%-ot tesz ki [18], Nagy-Britanniában 23% [19], míg az Eurotransplant területén 14% az immunizált páciensek aránya a vesetranszplantációra várók körében [20]. Magas PRA esetén hosszabb a dialízisen eltöltött várakozási idő, ami gyakori várólistán történő halálzással, és a transzplantációt követően is rosszabb túlélési eredményekkel párosul [21, 22]. Citotoxikus HLA-antitestek jelenléte a beteg szérumában rosszabb grafttúléléssel társul, még ha az antitestek nem is a donor ellen irányulnak [23]. A citotoxikus HLA-antitestek jelenléte a recipiens szérumában az immunrendszer általános upregulációjának indikátora, és HLA-tól független mechanizmussal válhat ki rejectiót [24]. Magas PRA esetén negatív keresztpróba utáni transzplantációt követően is jóval nagyobb az antitestek által okozott graftkárosodás valószínűsége az alacsony PRA-val rendelkező betegekhez képest [25, 26]. A transzplantációt megelőző immunizációs események hosszú távú HLA-antitest-produkciót válthatnak ki a recipiens szervezetben. A leggyakrabban immunizációhoz vezető események a megelőző vértranszfúzió, terhesség és korábbi transzplantáció. A magas immunizáltsági arányokat figyelembe véve jelentőséget kell tulajdonítani az AMR megelőzésének, ami több szinten valósulhat meg. A transzfúziók elkerülése, az optimális matching a donor és a recipiens teljes HLA-tipizálását követően, az alloantitestek precíz definiálása, speciális programok alkalmazása az immunizált betegek számára, deszenzitizációs eljárások, transzplantációt követő DSA-monitorozás, protokollbiopsziák alkalmazása és a noncompliance felismerése mind fontos eleme ennek a prevenciónak.

Immunizált betegek transzplantációja során alkalmazott stratégiák

Mivel a magas PRA-val rendelkező betegek az allokáció során kisebb eséllyel juthatnak megfelelő szervhez, ennek következményeként a várólistán akkumulálódnak, és ezzel párhuzamosan növekszik a várólistán elhunyt betegek száma. Egy 2005-ben készült nagy-britanniai tanulmány szerint a nem immunizált betegek várólistán eltöltött ideje 788 ± 26 nap, míg a 61–84%-os PRA-val rendelkező betegeké 1696 ± 213 nap, és a magasan immunizált betegeké (PRA $\geq 85\%$) 2232 ± 773 nap volt. A transzplantációs centrumok fontos feladata olyan stratégiák kidolgozása, aminek eredményeként ezek a betegek is minél korábban transzplantációra kerülhetnek [27]. Ha az élő donoros vesetranszplantáció recipiense inkompatibilis a donorral, akkor a keresztadonáció (kidney paired donation – KPD) lehetővé teszi, hogy a donor-szervet egy másik, szintén egymással inkompatibilis donor-recipient páros graftjával cserélhessék el. A várólista magasan immunizált betegei részére jött létre az „elfogadható eltérések” elvén alapuló program (acceptable mismatch program – AMP). Legfontosabb eleme az olyan HLA-antigének meghatározása, ami ellen a páciens nem rendelkezik antitestekkel. Ezeket az „elfogadható eltéréseket” az Eurotransplantnál jelentik, és ha egy donor elérhetővé válik, amelynek az antigénprofilja kompatibilis a páciens antitestprofiljával, akkor ez a beteg kapja a legmagasabb prioritást a szerv allokációja során. Ennek köszönhetően csökkent az immunizált betegek várólistán eltöltött ideje, és a túlélési eredmények is hasonlóak a normálprogramban transzplantáltakéhoz [28, 29]. A Heidelberg Algoritmus az immunizált betegek transzplantációjának problémakörét multidiszciplináris megközelítéssel dolgozza fel 7 különálló lépésben. Magában foglalja az AMP alkalmazását, szoros antitest-monitorozást és a deszenzitizációs terápiát is. Ezzel a megközelítéssel az AMR aránya ebben a magas rizikójú csoportban 10% alá csökkenthető, és a túlélési arányok nem különböznek a normálprogramban részt vevő betegektől [30].

Deszenzitizáció

Annak ellenére, hogy számos előrelépés történt az AMR etiológiájának megértésében és diagnosztikájában, az továbbra is tisztázatlan, hogy milyen terápia alkalmazása javasolt az AMR diagnózisa esetén. Az AMR lefolyását kevésbé befolyásolják a T-lymphocytákat célzó terapeutikumok, úgymint a szteroidok, ciklosporin, takrolimusz és szirolimusz. A kezelési stratégiák központként jelentős eltéréseket mutatnak, de az alkalmazott eljárások azonos elemekből épülnek fel, amelyek a következők: 1. A T-sejt-mediált antitestválasz szuppressziója (szteroidok, ciklosporin, takrolimusz és szirolimusz). 2. A donorspecifikus antitestek eltávolítása eszközös terápia segítségével (plazmaferézis és immunadszorpció). 3. A

residualis alloantitestek blokkolása (IvIg, intravénás immunoglobulin). 4. A naív és memória-B-sejtek depletálása (rituximab, anti-CD20-antitest). 5. Plazmasejtek inaktiválása (bortezomib, proteasome inhibitor). 6. A C5 komplementkomponens blokkolása monoklonális antitestek segítségével (eculizumab). A legelterjedtebb stratégia IvIg, plazmaferézis és rituximab kombinált alkalmazásából áll [31]. A hamarabb bekövetkező transzplantáció kimutatható túlélési haszonnal társul *Montgomery és munkatársai* tanulmánya szerint, akik plazmaferézist és IVIg-t tartalmazó deszenzitivizációs protokoll alkalmazása után végeztek pozitív keresztpróba ellenére élő donoros vesetranszplantációkat. A deszenzitivizációt követően transzplantált betegek túlélése megduplázódott a várólistán 8 évet várakozó, és ezt követően transzplantált betegek túléléséhez képest [32].

Antitestdetektálási módszerek

A CDC és az áramlási citometria során lymphocyták által expresszált HLA-antigének és a recipiens szérumban jelen levő HLA-antitestek közt létrejövő reakciót detektáljuk. Ezeket nevezzük sejtalapú teszteknek. A CDC-teszt során komplementfaktorok jelenlétében sejtlyízis következik be a reakció létrejöttkor, amit fluoreszcens festéssel teszünk láthatóvá. Az áramlási citometria során fluoreszcens festékekkel jelölt szekunder anti-humán IgG-antitestek segítségével detektálható a reakció. Szilárd fázisú teszteknek nevezzük az ELISA- és a Luminex-technikákat, mert ezek esetében szilárd hordozóhoz kötött antigének reagálnak a jelen levő antitestekkel. Az antitestek jelenléte megfelelő konjugátum alkalmazásával szemikvantitatív módon optikai denzitás (OD), illetve átlagos fluoreszcenciaintenzitás (mean fluorescence intensity – MFI) formájában fejezhető ki.

CDC-teszt

Az 1970-es évektől rutinszerűen használt CDC-tesztnél több alkalmazási területe ismert, úgymint antitestszűrés, keresztpróba és tipizálás. A hagyományos CDC-teszt során pozitív eredményt azon antitestek adnak, amelyek képesek a komplementkaszád beindítására és ennek eredményeként a célsejt lizálására. A CDC-teszt vitathatatlan előnyei közé tartozik, hogy relatíve olcsó, és a pozitív reakció a klinikailag releváns antitestek jelenlétét tükrözi, amelyek a hiperakut rejectio kialakulásában bizonyítottan szerepet játszanak [33]. A sejtlyízis komplementfüggő, így a komplementet nem aktiváló, vitatott klinikai jelentőségű antitestek nem okoznak álpozitív eredményeket. A módszer hátrányai, hogy IgG-antitestekre nem specifikus, a kiértékelés szubjektív, szenzitivitása és specifitása alulmarad a modern tesztekhez képest. A nyúlból származó komplementfaktorok alkalmazása a teszt biológiai relevanciája szempontjából problémás. A non-HLA-antitestek is okozhatnak pozitív

reakciót, aminek szerepe lehet a kilökődésben, de a rutindiagnosztikában ezek a kiértékelést csak nehezítik.

Luminex-technológia

Napjainkban a szilárd fázisú immunológiai tesztek (solid phase immunoassay – SPI) legújabb formája, a Luminex-teszt vált világszerte elterjedté az antitestek detektálására. 2007-ben alkalmazták először a rutindiagnosztikában, és egyre nagyobb teret hódít annak ellenére, hogy máig sok kérdés megválaszolatlan az alkalmazását illetően. A teszt mindegyik módozata az áramlási citometria elvén alapul. Sejtek helyett azonban polisztrén mikrogyöngyöket alkalmazunk, amelyek a kimutatni kívánt antitestet kötő antigénekké válnak bevonva. A mikropartikulumok festése 100 különböző mikrogyöngy-populáció megkülönböztetését teszi lehetővé a HLA I-es és II-es osztályában egyaránt, ennek köszönhetően 100 különböző reakciót vizsgálhatunk egyszerre. A teszt single antigen bead (SAB) változata teszi lehetővé a legpontosabban a HLA vagy non-HLA-antitestek vizsgálatát, mivel minden mikropartikulumhoz csak egy rekombináns antigén vagy az antigének egyedi kombinációja van hozzákötve. A Luminex-tesztnél számos változata ismert. Használható HLA és non-HLA (például: MICA, MHC Class I-related protein A) antitestek detektálására a mikrogyöngyök antigénborításától függően. A reporter antitestnek (konjugátum) megfelelően elkülöníthető az IgG- és IgM-antitestek. Anti-humán komplement reporter-antitestek (α -C1q, α -C4d), valamint komplementkomponensek hozzáadásával (vagy a saját komplement használatával) külön detektálhatók a komplementet kötő antitestek. Az antitestdiagnosztikában Luminex Mixed, Luminex-PRA és Luminex Single Antigen Bead (SAB) módszerek állnak rendelkezésre.

A transzplantációs immunológia legfontosabb, aktuális kihívásai

A HLA-antitestek monitorozása során felmerülő nehézségek

A különböző módszerekkel detektált antitestek klinikai interpretációjára laboratóriumtól függően különböző stratégiák léteznek, és az alkalmazott módszerekben, algoritmusokban sincsen összhang. Ennek okai a dinamikus fejlődésben, az eltérő anyagi lehetőségekben és a nemzetközi konszenzus hiányában keresendők. Az antitestdiagnosztika célja azonban egységes: az inkompatibilis antigénmismatchek (unacceptable antigene mismatch – UAM) meghatározása transzplantáció előtt, valamint az antitestek transzplantációt követő monitorozása. Fontos feladat a várólistán levő betegek antitestprofiljának feltérképezése időről időre (az Eurotransplantban például 3 havonta), és a koordinációs központban az esetleges változások jelentése. Az Eurotransplant esetén az Euro-

transzplant Kidney Allocation System (ETKAS) ez alapján végzi a virtuális keresztpróba-vizsgálatot a felmerülő donorok HLA-antigénjeit a recipiens antitestprofiljával összevetve, ami fontos része az allokációs folyamatnak. Ezt követően elvárható, hogy a CDC-keresztpróba negatív legyen, és a donorszervet a választott recipiens megkapja. Ha a CDC-keresztpróba pozitív lesz, akkor a szervet a várólista következő betege kaphatja.

Különbségek láthatók a laboratóriumi tesztek értékelésében: valahol CDC-, ELISA- és Luminex-teszt párhuzamosan zajlik, máshol csak Luminex segítségével történik az antitestmeghatározás. Egyes laboratóriumok a CDC-keresztpróbával párhuzamosan ELISA-alapú keresztpróbát használnak, mások áramlási citometriás keresztpróbát. Különbözik a Luminex-teszt kiértékelése során használatos cut-off értéke is, valahol 3000 MFI felett, máshol pedig 1000 MFI felett értékelik pozitívként az antigén-antitest reakciót transzplantáció előtt. A transzplantációt követően alacsonyabb cut-off értékek alkalmazása elfogadott, az AMR korai felismerése érdekében. A transzplantációs immunológia egyik legfontosabb kérdése jelenleg a Luminex-teszt szerepének tisztázása, mivel a teszt eredményeinek megfelelő interpretálása és az UAM-ek ez alapján történő meghatározása nagy körültekintést igényel.

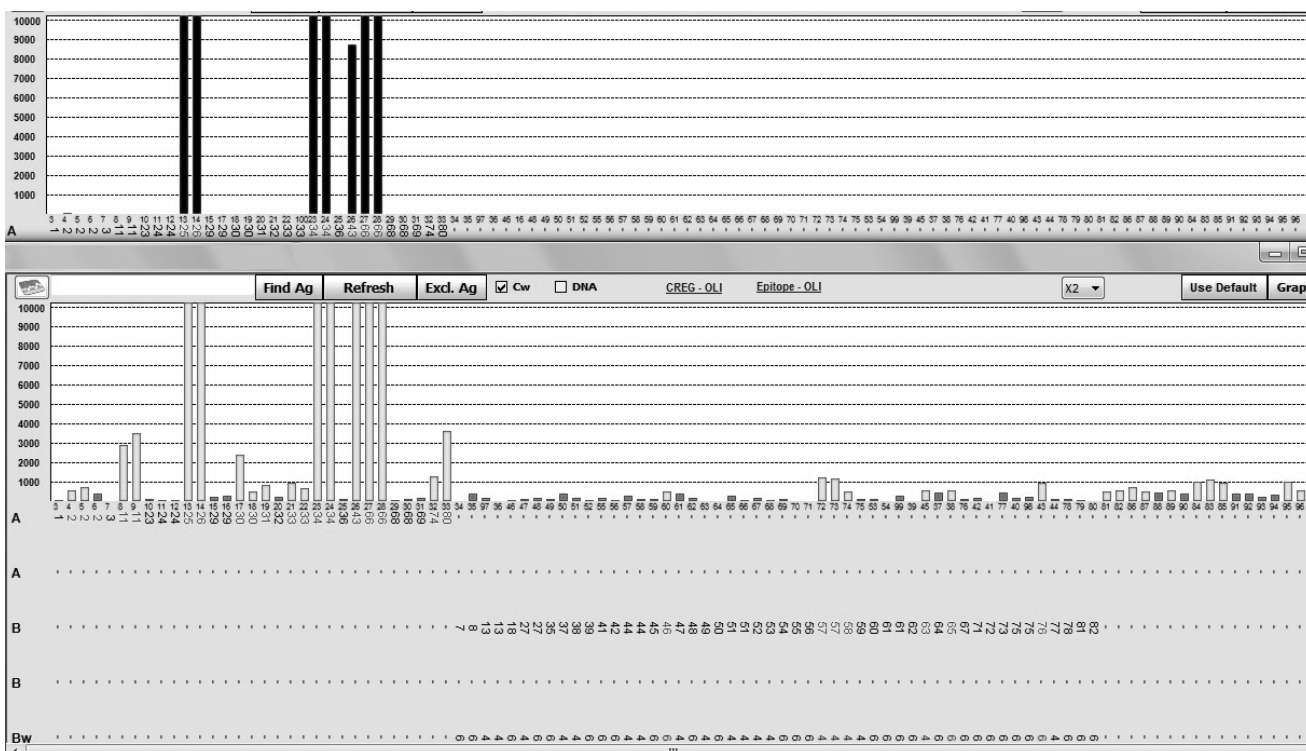
A Luminex SAB-teszt során detektált antitestek jelentősége

A heidelbergi várólistán 534, vesetranszplantációra váró beteg körében végzett tanulmányban *Gombos és munkatársai* azt regisztrálták, hogy az igen érzékeny Luminex SAB IgG-teszt segítségével jelentős gyakorisággal, 77%-ban mutathatók ki immunizációs esemény hiányában is HLA-antitestek a vesetranszplantációra váró recipiensek szérumában. Ezen betegek 98%-a azonban negatív volt mind a CDC-, mind az ELISA-tesztekben [34]. Ebből következik, hogy az SAB-teszt alapján számított virtuális PRA-érték is magasabb, mind a hagyományos komplementfüggő CDC-vel, mind pedig az ELISA-val mért PRA-nál. Az SAB-tesztben detektált antitestek klinikai relevanciája kérdéses, és az sem egyértelmű, hogy az SAB-eredmények alapján számított virtuális PRA-értékek összefüggenek-e a rosszabb grafttúléléssel. Nem mutattak szignifikáns eltérést *Gupta és munkatársai* 2008-ban publikált eredményei 16 „DSA”, 22 „non-DSA” és 83 „no-antibodies” beteget vizsgálva, az 1 és 5 éves túlélési adatokat és kreatininértékeket figyelembe véve. Az antitestek meghatározása Luminex SAB IgG-teszttel történt a transzplantáció napján, és a betegek mindegyike negatív volt a CDC-tesztben [35]. A heidelbergi adatok is ezt a megfigyelést támasztják alá. *Süssal és munkatársai* 2011-ben közölt kutatásukban 118 graftvesztő és 118 működő grafttal rendelkező kontrollbeteg vizsgálatára alapozva megállapították, hogy a kizárólag SAB-teszt során detektált DSA jelenléte nem függ össze a graft elvesztésével. A mérés transzplantáció előtti szé-

rumból, Luminex SAB IgG-teszttel történt, a páciensek mindegyike negatív eredményt mutatott a CDC és ELISA screening tesztekben [36]. A fenti tanulmányok mellett más szerzők megfigyelései is kétségbe vonják a kizárólag SAB-technikával detektálható HLA-alloantitestek klinikai jelentőségét, ezért feltételezhetően az ELISA és CDC screening tesztben negatív páciensek esetén az SAB-technológiával a transzplantációt megelőzően meghatározott antitestek klinikai jelentősége korlátozott, még ha ezek speciálisan a donor ellen irányulnak is [37]. Ezért nem ajánlott azon antigének UAM-ként történő megjelölése, amelyeket csak az SAB-teszttel lehet kimutatni. Ez az immunizált betegeket az allokációs folyamatban megalapozatlanul hátrányban részesítheti. Ez a hátrány hosszabb várólistán és dialízisen eltöltött időt jelent, ami pedig a graft és a páciens túlélése szempontjából is hátrányos [38]. Egyéb szervek (például szív, tüdő) transzplantációja esetén ennek a kizárásnak még hamarabb fatális következményei lehetnek. *Zachary és munkatársai* 2008-as közleménye alapján azok az antitestek, amelyek csak az SAB-teszt során mutatnak pozitív reakciót és a CDC-tesztben negatívak, nem definiálhatók UAM-ként, kivéve, ha egy előző transzplantáció ismétlődő mismatch antigénje ellen irányulnak [39]. A teszt szakszerű, individuális kiértékelése tehát nagy jelentőséggel bír, főleg az UAM-ek megállapítása során. A kérdéses esetekben pedig indokolt az eredmények alátámasztása ELISA-PRA vagy CDC-teszt segítségével.

A komplementkötő antitestek hatása a grafttúléléésre

A komplementrendszer szerepe a graftkárosodásban egyre inkább felértékelődik napjainkban. A komplementmediált endothelkárosodás és a komplementregulációs faktorok jelentőségének felismerése igen fontos előrelépést jelentett a transzplantációs antitestdiagnosztikában [40]. A HLA-antitestek vasculáris C4d komplementkomponens jelenlétében magas korrelációt mutatnak az antitestmediált graftkárosodással, ezt támasztja alá az is, hogy a C4d immunhisztológiai kimutatása az allograftbiopsziából az AMR igazolásának egyik legfontosabb diagnosztikus eszköze napjainkban. A Luminex SAB IgG-teszt során detektált antitesteknek azonban csak egy része képes a komplementkaskád aktiválására. Az MFI-értékek csak az erősen reaktív antitestek (magas MFI) esetében korrelálnak a komplementkötő kapacitással, és ezért nem lehet megállapítani, hogy a detektált antitestek közül melyek felelősek a graftkárosodásért [41, 42] (*1. ábra*). A teszt során detektált antitestek vitatott klinikai relevanciáját figyelembe véve felmerült a szükségessége egy olyan teszt kifejlesztésének, amelynek segítségével, a Luminex-technológia előnyeit kihasználva, detektálható a komplementrendszer aktiváló antitestek [43]. A C4d-kimutatáson alapuló áramlási citometria, majd Luminex-módszer ígéretes kezdeti eredményeit követően a Luminex SAB C1q-eljárás vál-



1. ábra A Luminex SAB IgG- és Luminex SAB C1q-tesztek során látott jellegzetes kép immunizált beteg esetén. Az IgG-teszt során detektált 35, különböző HLA-allélre specifikus antitest közül (ábra alsó része) csak 7 rendelkezett C1q-kötő kapacitással (ábra felső része). A példában az erősen reaktív antitestek mutattak C1q-pozitivitást, de megfigyeléseink szerint ez nem szükségszerű. Mindkét teszt során az alkalmazott cut-off érték 500 MFI volt

totta be leginkább a hozzá fűzött reményeket [44]. Mindkét eljárással érzékenyebben detektálhatók az antitestek, mint a CDC- és ELISA-tesztek segítségével, de a C1q-teszt szenzitivitása felülmúlja a C4d-teszt érzékenységét [45]. Az új módszernek jelentősége lehet az antitestek transzplantáció előtti monitorozása során, mivel így jelentősen csökkenthető a nem elfogadható antigénmismatchek száma a Luminex SAB IgG-teszt során mért UAM-értékekhez képest. Ezzel egyidejűleg növelhető a valószínűsége annak, hogy immunológiai szempontból kompatibilis szervhez jusson a beteg [46]. A transzplantációt megelőzően a módszer hasznos lehet a rizikóbecslésben is. A transzplantációt követő antitestmonitorozás során a Luminex SAB C1q-teszt az AMR diagnózisában és a deszenzilizációs terápia indikációjának felállításában hódít várhatóan egyre nagyobb teret. *Loupy és mtsai* 1016, vesetranszplantáción átesett beteg graftjainak 5 éves túlélését vizsgálták, ennek során jutottak arra a következtetésre, hogy a komplementet kötő DSA-val rendelkező betegek graftjainak túlélése a legrosszabb (54%), ennél szignifikánsan jobb a nem komplementkötő DSA-val rendelkező betegek (93%) és a DSA-val nem rendelkező betegek graftjainak túlélése (94%). Igazolták, hogy a C1q-kötő kapacitás a graft elvesztésének kockázatát több mint négyszeresére növeli, és összefüggésben áll az AMR kialakulásával [47]. Heidelbergi munkacsoportunk közlés alatt álló eredményei a Luminex SAB C1q-

monitorozás transzplantációt követő jelentősége terén megerősítik *Loupy és mtsai* eredményeit, és összhangban állnak *Yabu és mtsai* eredményeivel, amely szerint a teszt magas negatív prediktív értékkel bír [48].

Ezek alapján kijelenthető, hogy a keringésben jelen levő C1q-kötő antitestek a graft károsodásának fontos indikátorai. Az antitesteliminációs terápia indikációjának felállításához nem elég a keringésben Luminex SAB IgG-teszt segítségével igazolt DSA jelenléte. Ilyen esetben a helyes lépés a graft biopsziája. A C1q-kötő antitestek kimutatásának a meglévő tesztekkel párhuzamosan kell történnie, mivel azokat nem helyettesíti, de további hasznos információkkal szolgálhat. A Luminex SAB C1q-teszt során a negatív eredmény klinikai relevanciája viszonylag alacsony, míg a C1q-kötő antitestek jelenléte a szérumban magas kockázatot jelent az AMR szempontjából, ezért a deszenzilizációs terápia megkezdésének mérlegelése indokolt. A nemzetközi ajánlások szerint az antitestmediált rejectio diagnózisa a biopszia alapján állítható fel a Banff-kritériumok szerint. Csak ezt követően lehet indokolt a terápia megkezdése. A Luminex SAB C1q-teszttel folytatott kutatások biztató eredményei alapján azonban várható a nemzetközi ajánlások olyan módosítása, amely külön elbírálás alá helyezi a C1q-kötő antitestekkel rendelkező betegeket, és önmagában a C1q-kötő kapacitás a terápia megkezdését indokolhatja.

Algoritmusok a transzplantáció előtti és utáni antitestmonitorozásra

Az aktuális irányelvek figyelembevételével áttekinthető algoritmusokat készítettünk és ajánlásokat fogalmaztunk meg a vesetranszplantációban tevékenykedő szakemberek részére a transzplantáció előtti és az azt követő antitestmonitorozásra.

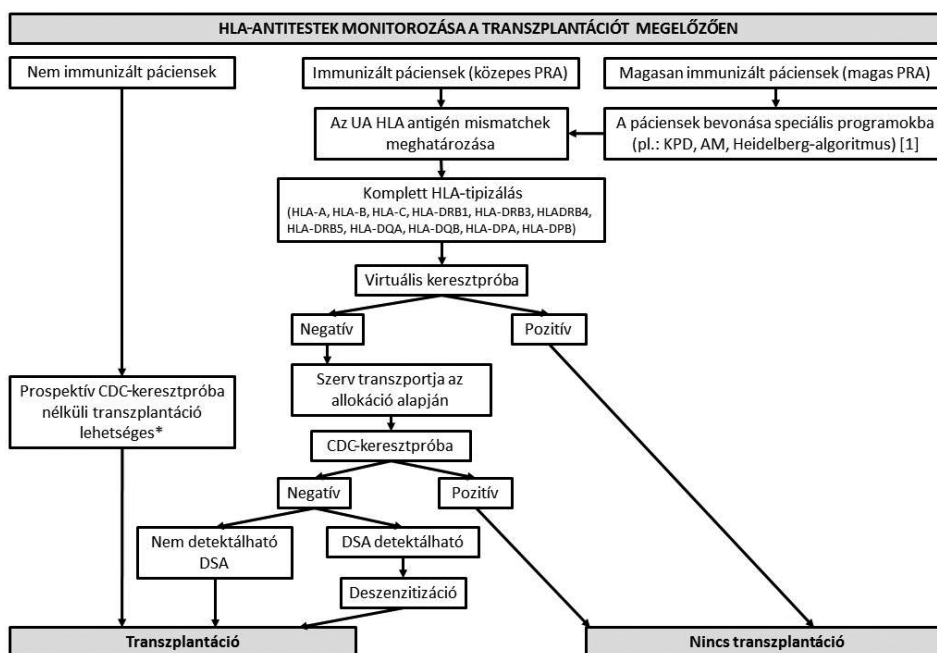
Az ajánlásokat az evidenciaszintnek megfelelően három kategóriába soroltuk a TTS közleménye alapján. Az 1-es szint a vizsgálatok által egyértelműen alátámasztott javaslatokat jelenti, 2-es szintűek a hasznosnak ítélt olyan javaslatok, amelyeket nem támaszt alá az 1-es szintet elérő bizonyító erejű vizsgálat és 3-as evidenciaszintűek azok a javaslatok, amelyek nem publikált eredményeken, hanem a transzplantációs szakemberek véleményén alapulnak. Az evidenciaszintek zárójelben vannak feltüntetve az állításokat követően.

Technikai ajánlások

Rendkívül fontos annak tisztázása, hogy melyik teszt milyen érzékenységgel alkalmas a nem megengedett antigénpárosítások meghatározására. Helytelenül pozitívként interpretált eredmények immunológiai szempontból transzplantációra alkalmas betegek kizárásához vezethetnek, illetve a transzplantációra kerülés lehetőségét csökkentik, mivel kevesebb esélye lesz a betegnek megfelelő szervhez jutni. A tesztek téves negatív értékelése ugyan-

akkor pozitív keresztpróba-eredményhez, emiatt felesleges szervtranszporthoz vezet, ezáltal idővesztés és felesleges anyagi kiadások jelentkeznek.

A Luminex SAB-teszt széles körűen elfogadott a DSA-k kimutatására, holott még mindig nem tisztázott azon antitestek klinikai jelentősége, amelyek csak a hiperszenzitív Luminex SAB-módszerrel mutathatók ki [37]. A tesztet ért kritikák annak technikai hiányosságaira hívják fel a figyelmet. A nemzetközi Transzplantációs Társaság Technikai Munkacsoportjának 2012-ben megfogalmazott legfontosabb megállapításai a következők: Az SPI-technológia, ezen belül is leginkább a SAB-teszt használata erősen ajánlott a transzplantáció előtt a recipiens HLA-antitest-profiljának tisztázására. (1). Az SPI-tesztet kiegészítve szükség van a sejtalapú tesztek használatára is az antitestdiagnosztikában, a pozitív keresztpróba biztos elkerülése érdekében. (1). Az SAB-teszt értékelése során figyelembe kell venni a technikai faktorokat, amelyek befolyásolhatják az eredményeket (denaturált antigének, kioltási effektus, különböző antigénkoncentrációk). (1). Az immunizációs anamnézis nagy jelentőséggel bír az antitestvizsgálat eredményeinek értékelésekor. Javasolt az előző transzplantációk, vérátömlesztések, valamint nők esetében a megelőző terhességek figyelembevétele. (1). A donor és a recipiens magas felbontású HLA-típezése nélkülözhetetlen az antitestdiagnosztika szempontjából. (1). Minőség-ellenőrzés és a laboratóriumi eljárások standardizálása elengedhetetlen a tesztek variabilitásának minimalizálásában. (1).



2. ábra

Három kategóriába sorolhatjuk a pácienseket az immunizációs állapot szerint. Ajánlott a magasan immunizált betegek bevonása speciális programokba, mint a KPD, AM és Heidelberg-algoritmus (3). Az effektív allokáció érdekében a donor komplett HLA-típezése, valamint a recipiens HLA-antitest-profiljának feltérképezése szükséges. Az ismert antitestek alapján az inkompatibilis antigénmismatchek elkerülhetők, amelyek pozitív keresztpróbát és a graftfunkció károsodását okoznak. *Keresztpróba elvégzése nélkül is elvégezhető a transzplantáció a nem immunizált betegcsoportban, ha nem detektálható HLA-antitest a SAB-teszt során. Deszenzilizációs terápiát követően negatív keresztpróba esetén transzplantálhatók a DSA-val rendelkező betegek. Az ábrán feltüntetett ajánlások 2-es evidenciaszintűek, az ettől való eltérések az ábrán láthatók

Ajánlások a transzplantációt megelőző időszakra

A világ több mérvadó laboratóriumának algoritmusait összehasonlítva jelentős különbségekre derült fény az SPI-tesztek interpretációjával és az inkompatibilis antigénmismatchek (UAM) meghatározásával kapcsolatosan, a CDC-tesztben detektált antitestek klinikai jelentőségét azonban minden laboratórium elismeri. Ezek a különbségek, valamint az irodalomban található ellentmondó megfigyelések hangsúlyozzák a nemzetközi konszenzuson alapuló javaslatok fontosságát. A vesetranszplantáció során releváns kérdésekben a Pretranszplant Munkacsoport a következő ajánlásokat fogalmazta meg (2. ábra): Az antiteststátus és a keresztpróba-eredmények alapján rizikócsoportok létrehozása ajánlott (3). A legutóbbi szérumban CDC-teszt segítségével detektált DSA elkerülendő. (1) A vesetranszplantáció végrehajtható prospektív keresztpróba elvégzése nélkül, ha az igen érzékeny SAB-teszt HLA-I és -II esetében is negatív eredményt mutat (3). A transzplantáció előtti UAM-meghatározásnak az allokációs folyamat részét kell képeznie (2). Komplet HLA-tipizálás szükséges a keresztpróba-eredmények pontos előrejelzéséhez. Javasolt a donor tipizálása HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3, -DRB4, -DRB5, -DQA1, -DQB1, -DPA1 és -DPB1 locusokon (2). DSA jelenléte nem feltétlenül kontraindikációja a transzplantációnak, ha a donorral végzett CDC-keresztpróba negatív. Deszenzitivizációs terápia segítségével végzett DSA-elimináció csökkentheti az immunológiai rizikót (2). Speciális programok, úgymint KPD, AM-program és a Heidelberg-algoritmus alkalmazása javasolt magasan immunizált recipiensek transzplantációs esélyének növelésére (1). Ajánlott a HLA-matching alkalmazása az allokációs algoritmus során, mivel az csökkenti az immunizációt és a rejectiót, továbbá növeli a graft túlélését (2).

Ajánlások a transzplantációt követő időszakra

A transzplantáció humorális elmélete alapján, amit *Paul I. Terasaki* dolgozott ki, minden késői graftvesztés felismerhető és megelőzhető lenne, ha az összes vesetranszplantált beteget rendszeresen monitorozni tudnánk perzisztens és de novo DSA jelenlétére [49]. Ez viszont extrém magas költségeket jelentene az egészségügyi ellátórendszer számára, ezért a költség-haszon arány figyelembevétele elengedhetetlen, és annak megállapítása különösen fontos, hogy melyek azok a magas rizikójú betegek, akiknél mindenképpen javasolt a monitorozás. A diagnózis terápiás konzekvenciája további kérdéseket vet fel: egyfelől az antitesteliminációs kezelés annak káros mellékhatásaival együtt indokolt lehet-e a klinikailag stabil állapotú beteg esetében, másfelől mi az a DSA-titer, ami alapján már kezelni kell a beteget? Továbbá milyen terápiás protokoll mentén érdemes elindulni, ha döntés születik a kezelés megindításáról? Vita tárgyát

képezi az is, hogy DSA jelenléte esetén stabil graftfunkció mellett mérsékelni lehet-e az immunszuppresszív terápiát? Az AMR diagnózisához a Banff-kritériumok szerint nem feltétlenül szükséges a graft diszfunkciója, viszont egyidejűleg szükséges morfológiai, immunszerológiai és hisztológiai feltételek teljesülése. Mivel azonban egyre több jel utal arra, hogy ezek mindegyike önmagában is társulhat AMR-hez, így kimutatható DSA nélkül, valamint C4d-pozitivitás nélkül is járhat az AMR, ezért minden esetben individuális mérlegelésre van szükség, hogy milyen terápiában kell részesülnie a betegnek. Akár kimutatható DSA jelenléte nélkül is, romló graftfunkció esetén mérlegelni lehet az antitesteliminációs terápia megindítását. A terápia célja a graft funkciójának normalizálása és a DSA titerének csökkentése [50].

A Poszttranszplant Munkacsoport e szempontok figyelembevételével négy rizikócsoportot különített el, és különböző ajánlásokat dolgozott ki a kockázatoknak megfelelően (3. ábra). A rizikócsoportok mindegyikére érvényes, hogy a transzplantáció előtt donor-DNS és recipiensszérumban tárolása ajánlott a későbbi diagnosztika céljából (1). A transzplantációt követő első év után meg-egyeznek az ajánlások mind a négy rizikócsoport részére (4. ábra).

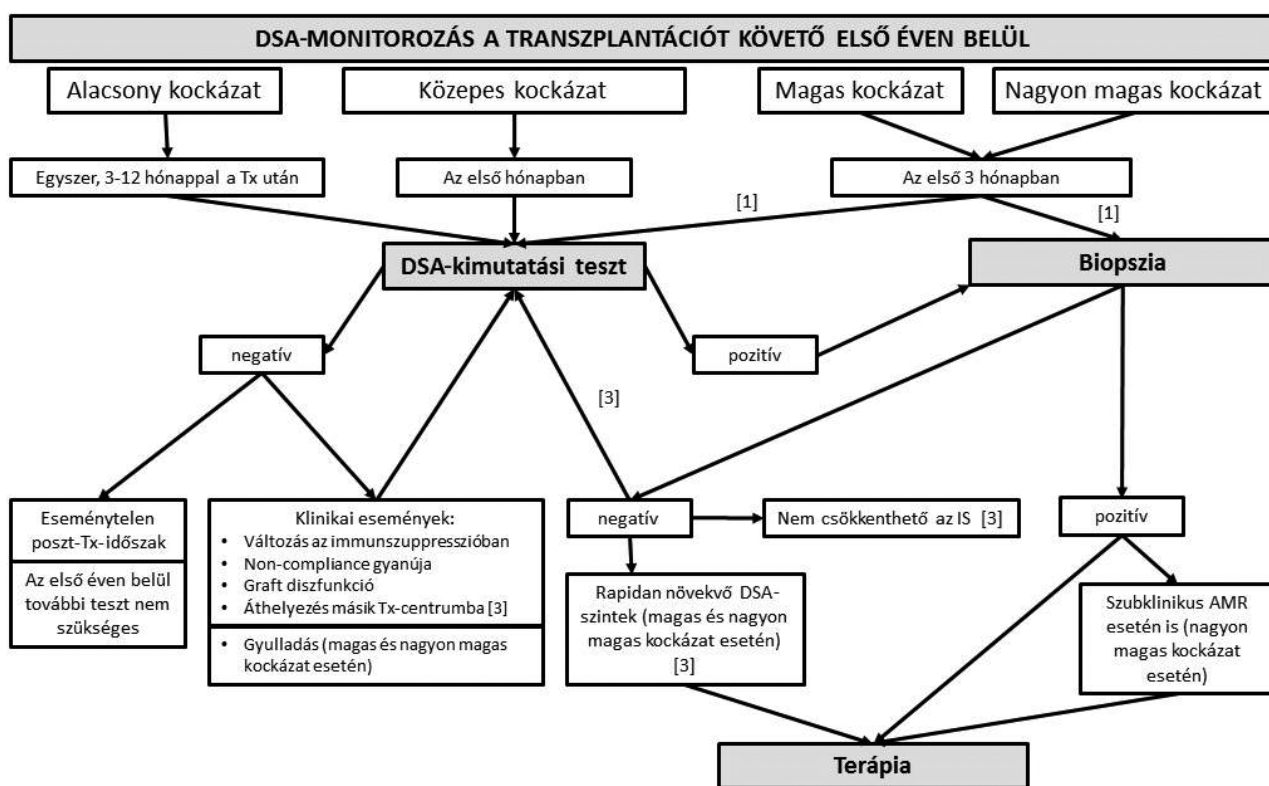
Ajánlások a transzplantációt követő első éven belül

Alacsony kockázatú betegek

Azok a betegek tartoznak ebbe a csoportba, akik nem immunizáltak (PRA = 0%), és első alkalommal kerülnek transzplantációra. A transzplantációt követő 3. és 12. hónap között legalább egy alkalommal ajánlott a DSA-monitorozás (2), továbbá azokban az esetekben, ha egy vagy több kritérium teljesül a következők közül: 1. Az immunszuppresszív terápiában bekövetkező jelentős változás (például: csökkentés, elhagyás, konvertálás) (2). 2. Feltételezhető noncompliance (2). 3. Graftdiszfunkció (2). 4. Áthelyezés egy másik transzplantációs centrumra (3). Nincs szükség további tesztre az első éven abban az esetben, ha nem detektálható DSA (2). Ha detektálható DSA, akkor biopszia elvégzése javasolt (2), és ha ez AMR-t igazol, akkor a terápia megkezdése indokolt (2). Ha a biopszia negatív, akkor további DSA-monitorozásra van szükség az első éven belül (3). Az immunszuppresszív terápia csökkentése nem ajánlott (3).

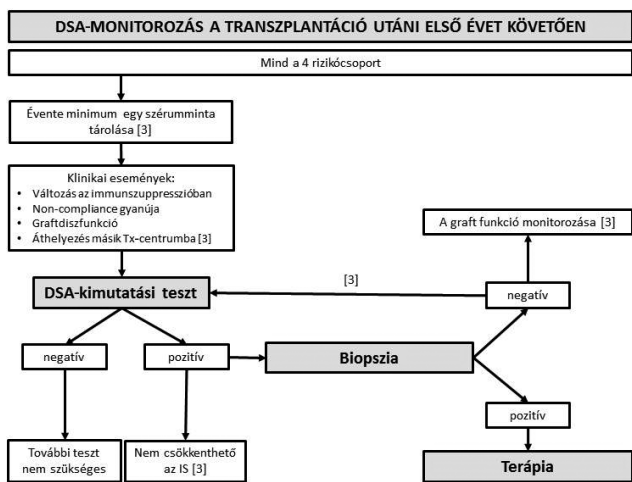
Közepes kockázatú betegek

Azok a betegek tartoznak ide, akiknél CDC és/vagy SPI segítségével anamnestikusan igazolható volt antitestek jelenléte a donor antigénjeivel szemben vagy más antigének ellen, de a transzplantációt megelőzően nem kimutatható HLA-antitest. A transzplantációt követő első hónapon belül javasolt az antitestmonitorozás (2), ezt követően ugyanaz az algoritmus javasolt, mint az alacsony kockázatú betegek esetében.



3. ábra

A transzplantáció előtti rizikóstatusnak megfelelően 4 kategóriába sorolandók a páciensek. Alacsony kockázatúak azok a betegek, akik nem immunitáltak (PRA = 0%) és első alkalommal kerülnek transzplantációra. Azok a betegek tartoznak a közepes rizikójú csoportba, akiknél CDC és/vagy SPI segítségével anamnestikusan igazolható volt antitest a donor antigénjeivel szemben vagy más antigének ellen, de a transzplantációt megelőzően nem kimutatható HLA-antitest. A magas rizikójú kategóriába DSA-positív, de keresztpróba-negatív betegek tartoznak. A nagyon magas rizikójú (very high risk) kategóriába a CDC-keresztpróba-positív, deszenzitizációs terápián átesett betegek tartoznak. További, itt nem említett ajánlások vonatkoznak az összes rizikócsoportra: a donor-DNS és a recipiensszérum hosszú távú tárolása ajánlott a későbbi pontos DSA-megállapítás érdekében (1). Az algoritmus részletes leírása a szövegben olvasható. Az ábrán feltüntetett ajánlások 2-es evidenciaszintűek, az ettől való eltérések az ábrán láthatók



4. ábra

A HLA-antitestek monitorozására vonatkozó ajánlások meg egyeznek az összes csoport számára a transzplantációt követő 12 hónap elteltével. Az ábrán feltüntetett ajánlások 2-es evidenciaszintűek, az ettől való eltérések az ábrán láthatók. PRA = panelreaktív antitest; SAB = single antigen beads; CDC = complement dependent cytotoxicity; DSA = donorspecifikus antitest; KPD = kidney paired donation; AM = acceptable mismatch program; HLA = humán leukocyaantigén; Tx = transzplantáció; AMR = antitestmediált rejectio; IS = immunuszpresszió

Magas kockázatú betegek

DSA-positív de keresztpróba-negatív betegek tartoznak ebbe a csoportba. A transzplantációt követő első 3 hónapban javasolt a DSA-monitorozás és protokollbiopszia elvégzése (1). A terápiás indikációk azonosak, mint az alacsony kockázatú betegek esetében azzal a kitételrel, hogy a DSA titerének rapid emelkedése önmagában a terápia megkezdését indikálja (3), valamint gyulladásos események további DSA-monitorozást tesznek szükségessé (2).

Nagyon magas kockázatú betegek

A CDC-keresztpróba során pozitív, deszenzitizációs terápián átesett betegek tartoznak ide. Azonosak a javaslatok, mint magas kockázatú betegek esetén. Azonban ebben a rizikócsoportban szubklinikus AMR esetén is ajánlott a terápia megkezdése (2).

Ajánlások a transzplantációt követő első év után

Azonos ajánlások érvényesek a fenti rizikócsoportok mindegyikében. Évente minimum egy szérumminta konzerválása szükséges (3), és a legutóbbi mintából

DSA-teszt elvégzése indikált egy vagy több releváns klinikai esemény bekövetkezése esetén (ld. alacsony kockázatú betegek címszó alatt). Nincs szükség további tesztre abban az esetben, ha nem detektálható DSA (2). Ha detektálható DSA, akkor biopszia elvégzése javasolt (2), és ha ez AMR-t igazol, akkor a terápia megkezdése indokolt (2). Ha a biopszia negatív, akkor további DSA-monitorozásra és graftfunkció-követésre van szükség (3). Az immunszuppresszív terápia csökkentése nem ajánlott (3).

Következtetések

Munkánk során a transzplantációs immunológia legfontosabb, aktuális kihívásaira kerestünk választ az irodalmi adatok elemzésével és saját kutatásaink eredményei alapján. Bemutattuk az immunizált betegek transzplantációjára alkalmazott stratégiákat, és a transzplantációs immunológiai diagnosztika egyik kiemelt fontosságú területének, az AMR elleni küzdelemnek a jelentőségével is foglalkoztunk. Az irányelvek és a fenti kérdések figyelembevételével áttekinthető algoritmusokat készítettünk a vesetranszplantációban tevékenykedő szakemberek részére az antitestek transzplantáció előtti és azt követő monitorozására. Az ajánlások megjelenése és a szakemberek közös erőfeszítése fényt derített arra, hogy a transzplantációs immunológiai diagnosztika számos területén nincsen általánosan elfogadott tudományos álláspont. Ilyen a klinikailag releváns és az irreleváns antitestek elkülönítésének kérdése a transzplantáció előtti és utáni fázisban. A non-HLA-alloimmunitás lehetséges szerepe növekvő jelentőséggel bír a transzplantációt követően, amit a HLA-identikus élő donoros transzplantáció ellenére megfigyelhető kilökődés is alátámaszt. Átfogó, nagy betegpopuláción végzett multicentrikus tanulmányok elemzése szükséges ahhoz, hogy az aktuális kérdésekre választ kaphassunk. A klinikailag releváns antitestek meghatározása a donorpool expanzióját jelenthetné az immunizált betegek számára. A komplement-kötő antitestek detektálása a Luminex SAB-teszt CIq modifikálásával hasznos eszköznek ígérkezik, de további kutatási eredményekre van szükség, mielőtt a rutindiagnosztikában ajánlottan tekinthetnénk. Az AMR különböző terápiás protokolljainak eredményeit, hatásosságát és biztonságosságát összehasonlító tanulmányokra is szükség van ahhoz, hogy további ajánlásokat lehessen megfogalmazni.

Anyagi támogatás: A közlemény megírása anyagi támogatásban nem részesült.

Szerzői munkamegosztás: W. D.: Az irodalom kutatása, kézirat megszövegezése, saját kutatások összegzése, ajánlások kidolgozása. Sz. D.: A kézirat megszövegezése.

A cikk végleges változatát mindkét szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

Köszönetnyilvánítás

A dolgozat a Heidelbergi Ruprecht-Karls Egyetem Immunológiai Intézetének Transzplantációs Immunológiai Laboratóriumában a Jellinek Harry-ösztöndíj támogatásával végzett 10 hónapos kutatómunka alapján készült. Köszönettel tartozom a heidelbergi Transzplantációs Laboratórium minden munkatársának, különösen dr. Gombos Petrának.

Irodalom

- [1] Süsal, C., Roelen, D. L., Fischer, G., et al.: Algorithms for the determination of unacceptable HLA antigen mismatches in kidney transplant recipients. *Tissue Antigens*, 2013, 82(2), 83–92.
- [2] Tait, B. D., Süsal, C., Gebel, H. M., et al.: Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation*, 2013, 95(1), 19–47.
- [3] Halloran, P. F., Wadgymar, A., Ritchie, S., et al.: The significance of the anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I-mediated rejection. *Transplantation*, 1990, 49(1), 85–91.
- [4] Halloran, P. F., Schlaut, J., Solez, K., et al.: The significance of the anti-class I antibody response. II. Clinical and pathologic features of renal transplants with anti-class I-like antibody. *Transplantation*, 1992, 53(3), 550–555.
- [5] Regele, H., Exner, M., Watschinger, B., et al.: Endothelial C4d deposition is associated with inferior kidney allograft outcome independently of cellular rejection. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2001, 16(10), 2058–2066.
- [6] Feucht, H. E., Schneeberger, H., Hillebrand, G., et al.: Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int.*, 1993, 43(6), 1333–1338.
- [7] Feucht, H. E., Felber, E., Gokel, M. J., et al.: Vascular deposition of complement-split products in kidney allografts with cell-mediated rejection. *Clin. Exp. Immunol.*, 1991, 86(3), 464–470.
- [8] Racusen, L. C., Haas, M.: Antibody-mediated rejection in renal allografts: lessons from pathology. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2006, 1(3), 415–420.
- [9] Crespo, M., Pascual, M., Tolkoff-Rubin, N., et al.: I. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: Incidence, serology, and clinical characteristics. *Transplantation*, 2001, 71(5), 652–658.
- [10] Einecke, G., Sis, B., Reeve, J., et al.: Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am. J. Transplant.*, 2009, 9(11), 2520–2531.
- [11] Wiebe, C., Gibson, I. W., Blydt-Hansen, T. D., et al.: Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am. J. Transplant.*, 2012, 12(5), 1157–1167.
- [12] Cai, J., Terasaki, P. I.: Human leukocyte antigen antibodies for monitoring transplant patients. *Surg. Today*, 2005, 35(8), 605–612.
- [13] Cai, J., Terasaki, P. I.: Humoral theory of transplantation: mechanism, prevention, and treatment. *Hum. Immunol.*, 2005, 66(4), 334–342.
- [14] Everly, M. J., Rebellato, L. M., Haisch, C. E., et al.: Incidence and impact of de novo donor-specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation*, 2013, 95(3), 410–417.

- [15] *Lachmann, N., Terasaki, P. I., Budde, K., et al.*: Anti-human leukocyte antigen and donor-specific antibodies detected by luminex posttransplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal allografts. *Transplantation*, 2009, 87(10), 1505–1513.
- [16] *Hansen, R., Seifeldin, R., Noe, L.*: Medication adherence in chronic disease: issues in posttransplant immunosuppression. *Transplant. Proc.*, 2007, 39(5), 1287–1300.
- [17] *Opelz, G., Döhler, B.*: Effect on kidney graft survival of reducing or discontinuing maintenance immunosuppression after the first year posttransplant. *Transplantation*, 2008, 86(3), 371–376.
- [18] *2009 Annual Report of the U.S. Organ Procurement and Transplantation Network and the Scientific Registry of Transplant Recipients*: Transplant Data 1999–2008. http://www.ustransplant.org/annual_reports/current/
- [19] *Fuggle, S. V., Martin, S.*: Tools for human leukocyte antigen antibody detection and their application to transplanting sensitized patients. *Transplantation*, 2008, 86(3), 384–390.
- [20] *Eurotransplant International Foundation Annual Report 2010. Arie Oosterlee and Axel Rahmel. Central Office. Leiden*, http://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=annual_reports.
- [21] *Cosio, F. G., Alamir, A., Yim, S., et al.*: Patient survival after renal transplantation: I. The impact of dialysis pre-transplant. *Kidney Int.*, 1998, 53(3), 767–772.
- [22] *Remport, A., Keszei, A., Vamos, E. P., et al.*: Association of pre-transplant dialysis duration with outcome in kidney transplant recipients: a prevalent cohort study. *Int. Urol. Nephrol.*, 2011, 43(1), 215–224.
- [23] *Opelz, G.*, Collaborative Transplant Study: Non-HLA transplantation immunity revealed by lymphocytotoxic antibodies. *Lancet*, 2005, 365(9470), 1570–1576.
- [24] *Morath, C., Opelz, G., Zeier, M., et al.*: Prevention of antibody-mediated kidney transplant rejection. *Transpl. Int.*, 2012, 25(6), 633–645.
- [25] *Collaborative Transplant Study* <http://www.ctstransplant.org>.
- [26] *Süsal, C., Döhler, B., Opelz, G.*: Presensitized kidney graft recipients with HLA class I and II antibodies are at increased risk for graft failure: a Collaborative Transplant Study report. *Hum. Immunol.*, 2009, 70(8), 569–573.
- [27] *Doxiadis, I. I., Smits, J. M., Persijn, G. G., et al.*: It takes six to boogie: allocating cadaver kidneys in Eurotransplant. *Transplantation*, 2004, 77(4), 615–617.
- [28] *De Meester, J., Doxiadis, I. I., Persijn, G. G., et al.*: Renal transplantation of highly sensitized patients via prioritised renal allocation programs. Shorter waiting time and above-average graft survival. *Nephron*, 2002, 92(1), 111–119.
- [29] *Claas, F. H., Witvliet, M. D., Duquesnoy, R. J., et al.*: 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(2), 190–193.
- [30] *Morath, C., Opelz, G., Zeier, M., et al.*: Kidney transplantation for high-risk sensitized patients – the „Heidelberg algorithm”. *Transplant. Proc.*, 2011, 43(3), 801–804.
- [31] *Wahrmann, M., Haidinger, M., Körmöczi, G. F., et al.*: Effect of the proteasome inhibitor bortezomib on humoral immunity in two presensitized renal transplant candidates. *Transplantation*, 2010, 89(11), 1385–1390.
- [32] *Montgomery, R. A., Lonze, B. E., King, K. E., et al.*: Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N. Engl. J. Med.*, 2011, 365(4), 318–326.
- [33] *Patel, R., Terasaki, P. I.*: Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N. Engl. J. Med.*, 1969, 280(14), 735–739.
- [34] *Gombos, P., Opelz, G., Scherer, S., et al.*: Influence of test technique on sensitization status of patients on the kidney transplant waiting list. *Am. J. Transplant.*, 2013, 13(8), 2075–2082.
- [35] *Gupta, A., Iveson, V., Varaganam, M., et al.*: Pretransplant donor-specific antibodies in cytotoxic negative crossmatch kidney transplants: are they relevant? *Transplantation*, 2008, 85(8), 1200–1204.
- [36] *Süsal, C., Ovens, J., Mahmoud, K., et al.*: No association of kidney graft loss with human leukocyte antigen antibodies detected exclusively by sensitive Luminex single-antigen testing: a Collaborative Transplant Study report. *Transplantation*, 2011, 91(8), 883–887.
- [37] *Van den Berg-Loonen, E. M., Billen, E. V., Voorter, C. E., et al.*: Clinical relevance of pretransplant donor-directed antibodies detected by single antigen beads in highly sensitized renal transplant patients. *Transplantation*, 2008, 85(8), 1086–1090.
- [38] *Wolfé, R. A., Asby, V. B., Milford, E. L., et al.*: Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N. Engl. J. Med.*, 1999, 341(23), 1725–1730.
- [39] *Zachary, A. A., Montgomery, R. A., Leffell, M. S.*: Defining unacceptable HLA antigens. *Curr. Opin. Organ. Transplant.*, 2008, 13(4), 405–410.
- [40] *Tilou, X., Poirier, N., Le Bas-Bernardet, S., et al.*: Recombinant human C1-inhibitor prevents acute antibody-mediated rejection in alloimmunized baboons. *Kidney Int.*, 2010, 78(2), 152–159.
- [41] *Chen, G., Sequeira, F., Tyan, D. B.*: Novel C1q assay reveals a clinically relevant subset of human leukocyte antigen antibodies independent of immunoglobulin G strength on single antigen beads. *Hum. Immunol.*, 2011, 72(10), 849–858.
- [42] *Lachmann, N., Todorova, K., Schulze, H., et al.*: Systematic comparison of four cell- and Luminex-based methods for assessment of complement-activating HLA antibodies. *Transplantation*, 2013, 95(5), 694–700.
- [43] *Wahrmann, M., Exner, M., Regele, H., et al.*: Flow cytometry based detection of HLA alloantibody mediated classical complement activation. *J. Immunol. Methods*, 2003, 275(1–2), 149–160.
- [44] *Wahrmann, M., Exner, M., Schillinger, M., et al.*: Pivotal role of complement-fixing HLA alloantibodies in presensitized kidney allograft recipients. *Am. J. Transplant.*, 2006, 6(5 Pt 1), 1033–1041.
- [45] *Tyan, D. B.*: New approaches for detecting complement-fixing antibodies. *Curr. Opin. Organ. Transplant.*, 2012, 17(4), 409–415.
- [46] *Chin, C., Chen, G., Sequeira, F., et al.*: Clinical usefulness of a novel C1q assay to detect immunoglobulin G antibodies capable of fixing complement in sensitized pediatric heart transplant patients. *J. Heart Lung Transplant.*, 2011, 30(2), 158–163.
- [47] *Loupy, A., Lefaucheur, C., Vernerey, D., et al.*: Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N. Engl. J. Med.*, 2013, 369(13), 1215–1226.
- [48] *Tabu, J. M., Higgins, J. P., Chen, G., et al.*: C1q-fixing human leukocyte antigen antibodies are specific for predicting transplant glomerulopathy and late graft failure after kidney transplantation. *Transplantation*, 2011, 91(3), 342–347.
- [49] *Terasaki, P. I.*: Humoral theory of transplantation. *Am. J. Transplant.*, 2003, 3(6), 665–673.
- [50] *Lefaucheur, C., Nochy, D., Andrade, J., et al.*: Comparison of combination plasmapheresis/IVIg/anti-CD20 versus high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am. J. Transplant.*, 2009, 9(5), 1099–1107.

(Wettstein Dániel dr.,
Budapest, Zsigmond tér 1/B, 1023
e-mail: wettsteindaniel@gmail.com)