

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: doktorský

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Janka Slatinská

Protilátkami zprostředkované rejekce po transplantaci ledviny

Antibody-mediated rejection after kidney transplantation

Disertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 17. 5. 2021

Janka Slatinská

Podpis

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc., MBA

Školící pracoviště: Klinika nefrologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Autor: MUDr. Janka Slatinská

Školitel: Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Identifikační záznam:

SLATINSKÁ, Janka. *Protilátkami zprostředkovaná rejekce po transplantaci ledviny [Antibody-mediated rejection after kidney transplantation]*. Praha, 2021. Počet stran 148.

Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Klinika nefrologie IKEM 2021. Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Poděkování

Nejprve bych ráda poděkovala za cenné rady, pomoc a podporu, vytvoření pracovních podmínek pro studium a umožnění progresivního vzdělávání svému školiteli, profesoru Ondřeji Viklickému.

Dále bych chtěla poděkovat svým spolupracovníkům, kteří se podíleli na jednotlivých projektech. A to zejména Mgr. Petře Hrubé, Ph.D. z Transplantační laboratoře, která mi byla velmi nápomocná při zvládnutí metodické stránky projektů a při analýze a interpretaci molekulárních dat. Ráda bych poděkovala MUDr. Janě Maluškové za pomoc při interpretaci renálních biopsií.

Poděkování patří všem kolegům z Kliniky nefrologie TC IKEM za spolupráci, zejména pak MUDr. Vladimírovi Hanzalovi a MUDr. Soně Fraňkové, Ph.D. za trpělivost a podporu při vědecké práci.

V neposlední řadě bych ráda poděkovala všem pacientům, bez nichž by tato práce nevznikla.

Největší poděkování patří celé mé rodině za nezměrnou trpělivost, podporu a povzbuzování.

Obsah

Použité zkratky.....	9
Abstract.....	12
1. Úvod.....	13
2. Přehled problematiky.....	15
Patofyziologie vzniku protilátkami zprostředkované rejekce.....	15
Fenotypy AMR.....	16
Akomodace.....	17
Vznik HLA protilátek.....	18
Protilátky uplatňující se v rejekci.....	19
Histopatologický obraz protilátkami zprostředkované rejekce.....	20
Obraz akutní rejekce.....	20
Klasifikace akutní AMR (Sis B. et al., 2010).....	20
Obraz chronické rejekce.....	21
Molekulární fenotypy humorální rejekce.....	22
Prevence AMR.....	23
Léčba protilátkami zprostředkované rejekce.....	24
Plazmaferézy.....	25
Imunoadsorpce.....	25
Intravenózní imunoglobuliny.....	26
Monoklonální protilátka anti-CD20 (rituximab).....	26
Glukokortikoidy.....	27
Bortezomib.....	27
Eculizumab.....	29
Splenektomie.....	30
C1 inhibitor komplementu.....	30
Chronická AMR.....	31
Závěr.....	33
3. Hypotéza.....	34
4. Cíle práce.....	35
5. Metodika.....	36
Populace.....	36
Biopsie štěpu ledviny.....	36
RNA extrakce a komplementární syntéza DNA.....	36
Real-Time RT-PCR analýza s použitím TaqMan low-density array (TLDA).....	36

Analýza dat genových expresí	37
6. Publikace spjaté s Ph.D. prací.....	39
6.1. Plazmaferézy a intravenózní imunoglobuliny u akutní protilátkami zprostředkované rejekce po transplantaci ledviny: zkušenosti jednoho centra.....	39
Úvod.....	39
Metodika.....	39
Léčba AMR	40
Výsledky	40
Diskuse.....	41
Závěr	42
6.2 Účinnost a bezpečnost léčby bortezomibem v léčbě refrakterní akutní protilátkami-zprostředkované rejekce – pilotní studie	49
Úvod.....	49
Metodika.....	49
Výsledky	50
Diskuse.....	52
Závěr	53
6.3 Solubilní CD30 a hepatocytární růstový faktor jako prediktivní marker protilátkami zprostředkované rejekce transplantované ledviny	58
Úvod.....	58
Metodika.....	59
Výsledky	59
Diskuse.....	60
Závěr	61
6.4 Solubilní BAFF cytokin a protilátkami zprostředkovaná rejekce po transplantaci ledviny... 67	67
Úvod.....	67
Metodika.....	67
Výsledky	68
Diskuse.....	69
Závěr	71
6.5 Transkriptom u akomodace a subklinické protilátkami zprostředkované rejekce po transplantaci ledviny	80
Úvod.....	80
Metodika.....	80
Výsledky	82
Diskuse.....	84
7. Diskuze.....	96

Imunopatogeneze	96
Diagnóza.....	97
DSA.....	98
Interakce s vaskulárním endotelem.....	98
Poškození tkáně.....	98
Nové techniky.....	99
Léčba	101
Prevence.....	103
8. Závěr.....	105
9. Literatura	107
10. Seznam publikací.....	122
Publikace in extenso, které jsou podkladem disertace.....	122
Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace	123
Kapitoly v monografiích	126
Abstrakta.....	127

Použité zkratky

ABOi, ABO inkompatibilní transplantace

ACR, akutní celulární rejekce

AMR, protilátkami zprostředkovaná rejekce (antibody-mediated rejection)

ATG-F, ATG-Fresenius

ATN, akutní tubulní nekróza

BAFF, B-cell activating factor

CAN, chronická nefropatie štěpu (chronic allograft nephropathy)

CDC, komplement dependentní cross-match

cf-DNA, volné fragmenty cirkulující DNA

CIT, doba studené ischémie (cold ischemia time)

Cr, clearance kreatininu

CL I, protilátky proti I. třídě HLA

CL II, protilátky proti II. třídě HLA

CMV, cytomegalovirus

CNI, kalcineurinový inhibitor

Cr, kreatinin

DGF, opožděný rozvoj funkce štěpu (delayed graft function)

DSA, dárcovsky specifické protiátky

ECD, dárce s rozšířenými kritérii (expanded criteria donor)

EDTA, kyselina ethylendiaminotetraoctová

ENDAT, endothelem-asociovaný transkriptom

FXCM, flow-cytometry cross-match

eGFR, odhadnutá glomerulární filtrace (estimated glomerular filtration rate)

GO, gene ontology

HD, hemodialýza

HGF, hypatocyte growth factor

HLA, lidský leukocytární antigen

IA, imunoadsorpce

IFN, interferon

IVIG, intravenózní imunoglobulin

KDIGO, Kidney Disease: Improving Global Outcomes

MAC, membránový atakující komplex

MFI, mean fluorescence intensity

MHC, hlavní histokompatibilní komplex

MICA, protilátky proti non-HLA antigenům

MMF, mykofenolát mofetil

mRNA, messenger RNA

NF- κ B, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

PF, plazmaferéza

PTC, peritubulární kapiláry

PRA, panel reaktivních protilátek (panel-reactive antibodies)

RTq PCR, real-time kvantitativní polymerázová řetězová reakce

TG, transplantační glomerulopatie

TLDA, Taqman low-density array

TMA, trombotická mikroangiopatie

Abstrakt

Protilátkami zprostředkovaná rejekce (AMR) je v současnosti považována za hlavní příčinu dysfunkce a selhání funkce štěpu ledviny po transplantaci. Protilátky způsobují cévní poškození, které je buď akutní nebo chronické, a může se manifestovat jako náhlá nebo progresivní dysfunkce štěpu. Rizikovými faktory pro vznik rejekce zprostředkované protilátkami jsou doba strávená na dialýze, opakovaná transplantace, předchozí senzitivace HLA antigeny, přítomnost panel-reaktivních protilátek. Diagnostika AMR je možná na základě průkazu depozice C4d složky komplementu v peritubulárních kapilárách (PTC) a přítomnosti dárcovsky specifických protilátek (DSA). Existuje také poškození způsobené protilátkami proti non-HLA antigenům, kdy nejsou DSA detekovatelné. Přínosem k upřesnění diagnostiky a stratifikace rizika je využití „molekulárního mikroskopu.“ Vysoká exprese ENDAT (endothelial activation and injury transcript) lépe predikuje riziko ztráty štěpu než stanovení C4d. Skórovací systém AMR na základě genové exprese koreluje s diagnózou AMR a predikuje ztrátu štěpu v budoucnosti.

Cílem práce bylo ověřit účinnost léčebných postupů a rozpoznat nemocné v riziku AMR. V naší práci jsme prokázali efekt léčby akutní AMR pomocí kombinace plazmaferéz a IVIG. U rezistentních forem akutní AMR s použitím inovativně protokolu zahrnujícím aplikaci bortezomibu, rituximabu a plazmaferéz jsme dosáhli zlepšení střednědobých výsledků přežívání transplantovaných ledvin.

Dále jsme prokázali, že nemocní s nízkými hodnotami HGF a vyššími hodnotami sCD30 před transplantací mají vysoké riziko rozvoje AMR. Solubilního BAFF (B cell activating factor) při současně probíhající protilátkové a buněčné rejekci, kde by mohl být BAFF pomocným markerem probíhající AMR.

Klíčová slova

Protilátkami zprostředkovaná rejekce (AMR), predikce, transkriptom, transplantovaná ledvina, markery, léčba

Abstract

Antibody-mediated rejection (AMR) is the main cause of the kidney graft dysfunction and its failure after transplantation. Antibodies lead to vascular damage that is either acute or chronic and manifests as sudden or progressive graft dysfunction. Risk factors for development of AMR are time spent on haemodialysis, retransplantation, previous sensitisation against HLA antigens, and persistence of panel-reactive antibodies. Diagnosis is based on detection of deposits of C4d component of complement in peritubular capillaries and presence of donor-specific antibodies (DSA). We can also observe injury caused by antibodies against non-HLA antigens without detection of anti-HLA DSA. Use of „molecular microscope“ can be beneficial in diagnosis and stratification of the risk of graft failure. High expression of ENDAT (endothelial activation and injury transcript) improves prediction of kidney graft failure more than C4d staining. Based on gene expression, the AMR scoring system correlates with the diagnosis of AMR and predicts graft loss in the future.

The main goal of our work was to recognize patients at risk of AMR. In our study, we confirmed the efficacy and safety of acute AMR therapy with plasmaphereses and administration of intravenous immunoglobulins for improving outcomes of kidney transplantation. In case of acute resistant AMR, we used a protocol with administration of bortezomib and rituximab, whereby we improved mid-term outcomes of kidney graft survival.

In our study, we have shown that patients with low levels of HGF and higher levels of sCD30 before transplantation have high risk of developing AMR. We further evaluated the significance of soluble BAFF in concurrent antibody and cell-mediated rejection, where BAFF could be a beneficial marker of ongoing AMR.

Key words: antibody-mediated rejection (AMR), prediction, transcript, kidney transplantation, markers, treatment

1. Úvod

Transplantace ledviny je metoda volby léčby nezvratného selhání ledvin. Dlouhodobé výsledky jsou ovlivněny rejekcí, rekurencí základního onemocnění a úmrtím nemocných. V současnosti v České republice trpí onemocněním ledvin přibližně 6 300 nemocných (www.nefrol.cz), kteří jsou léčeni dialýzou (dle Nefrologické ročenky z roku 2019). V Transplantačním centru IKEM je ročně prováděno více než 250 transplantací ledvin a přibližně 2 900 nemocných, o které nefrologové IKEM pečují, žije s transplantovanou ledvinou.

Rejekce transplantovaného orgánu může být způsobena imunitní odpovědí zprostředkovanou buňkami a/nebo protilátkami. Akutní protilátkami zprostředkovaná rejekce nastupuje krátce po transplantaci, nejčastěji kolem sedmého pooperačního dne, a má různé podoby. O závažnosti negativního efektu aloprotilátek pojednávají práce Patela a Terasakiho již v roce 1969 (Patel R. et al., 1969). Důležitým diagnostickým kritériem bylo zavedení detekce C4d, která vzniká v průběhu aktivace komplementu klasickou cestou, ve tkáni štěpu ledviny. Během aktivace C4 dojde ke štěpení této složky a postupně se vytvoří terminální produkt (C4d), který se rychle váže na cílové struktury kovalentním typem vazby. Protože kovalentní vazba je relativně dlouhodobá, představuje C4d vhodný marker pro detekci, a navíc představuje otisk (důkaz) proběhlé nebo probíhající aktivace klasické komplementové kaskády přímo ve tkáni štěpu. H. Feucht v r. 1991 jako první popsal průkaz štěpného produktu komplementu C4d v peritubulárních kapilárách po navázání protilátek příjemce na endotel peritubulárních kapilár štěpu. A v roce 1993 byla postulována asociace mezi C4d a ztrátou funkce transplantovaného štěpu (Feucht HE. et al., 1991, 1993). V roce 1999 Collins a kol. prokázali korelaci mezi C4d depozicí v peritubulárních kapilárách a přítomností cirkulujících DSA protilátek u příjemců transplantovaných orgánů (Collins AB. et al., 1999). Depozita C4d mohou být prokazována imunofluorescenční technikou (na nativní zmražené tkáni s použitím monoklonální protilátky) nebo imunoperoxidázovou technikou z tkání zpracovaných v parafínu (polyklonální protilátka). Imunofluorescenční technika je citlivější a spolehlivější. V současnosti detekce C4d představuje standard histopatologického vyšetření u transplantovaných ledvin (Colvin RB. et al., 2007).

Druhým klíčovým momentem v detekci protilátek bylo zavedení jejich přímé detekce. Do té doby jsme prováděli cytotoxický test, který vázal komplement (klasický crossmatch) a rozlišení HLA protilátek I. a II. třídy umožňovaly metody průtoková cytometrie. Detekce dárcovsky specifických protilátek (donor-specific antibody, DSA), tedy anti-HLA protilátek příjemce proti konkrétním antigenům dárce, byla zpřesněna použitím technologie Luminex, která detekuje protilátky na základě synteticky vyrobených antigenů a umožňuje jejich kvantifikaci.

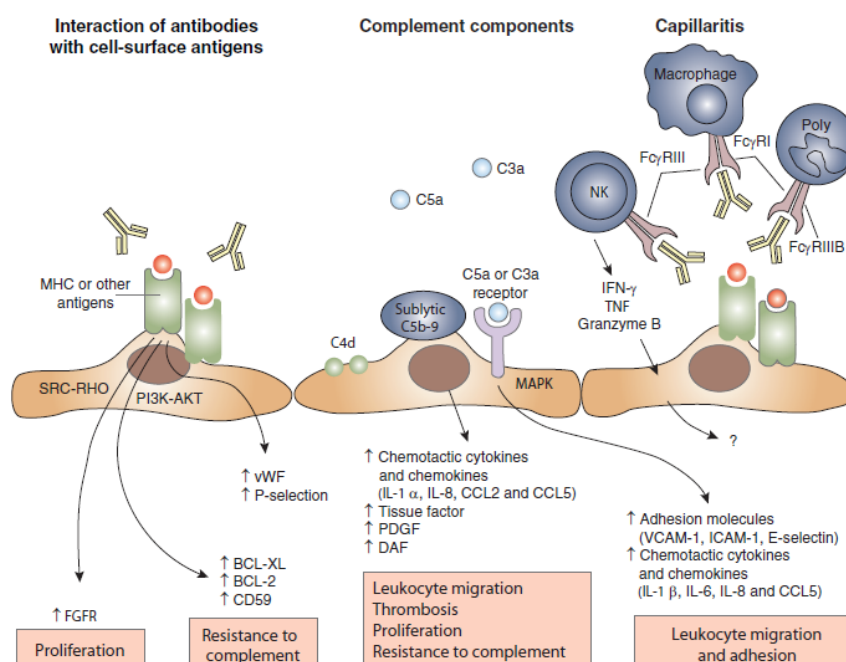
V Banffské klasifikaci (Solez K. et al., 2007) je termín „akutní protilátkami zprostředkované rejekce“ poprvé uveden v roce 2003 a v roce 2005 byla představena nosologická jednotka „chronická aktivní protilátkami zprostředkovaná rejekce“ na základě znalostí humorálních mechanismů poškození transplantovaných orgánů. Současně platná Banffská klasifikace přijatá v roce 2009 (update 2013) zahrnuje akutní i chronickou protilátkami zprostředkovanou rejekci (Sis B. et al., 2010).

2. Přehled problematiky

Patofyziologie vzniku protilátkami zprostředkované rejekce

Buněčné a molekulární procesy, které se uplatňují v protilátkami zprostředkované rejekci (antibody-mediated rejection, AMR), jsou předmětem současného výzkumu. Většina anti-HLA protilátek po vazbě na endotel způsobí aktivaci komplementové kaskády. Při klasické cestě stimulace komplementu dochází ke vzniku štěpného produktu komplementu C4d. Na komplementu nezávislé cestě dochází k aktivaci NK buněk, makrofágů a polymorfonukleárů. Akumulací těchto zánětlivých buněk se váží protilátky na Fc receptor a dochází ke vzniku zánětu kapilár a poškození tkáně. Poškození endotelu při akutní AMR se manifestuje agregací trombocytů, trombotickou mikroangiopatií s akumulací neutrofilů, které vyústí až v nekrózu buněk. Při chronické AMR dochází k repetitivním trombotickým událostem, které jsou provázané zánětlivými změnami. Opakované poškození a reparace endotelu se manifestuje jako pozdní transplantační glomerulopatie (Farkash EA., Colvin RB., 2012, Obrázek 1).

Obrázek 1: Mechanismus vzniku AMR (podle Farkash E.A., 2012 a Colvin R.B., 2005)



Fenotypy AMR

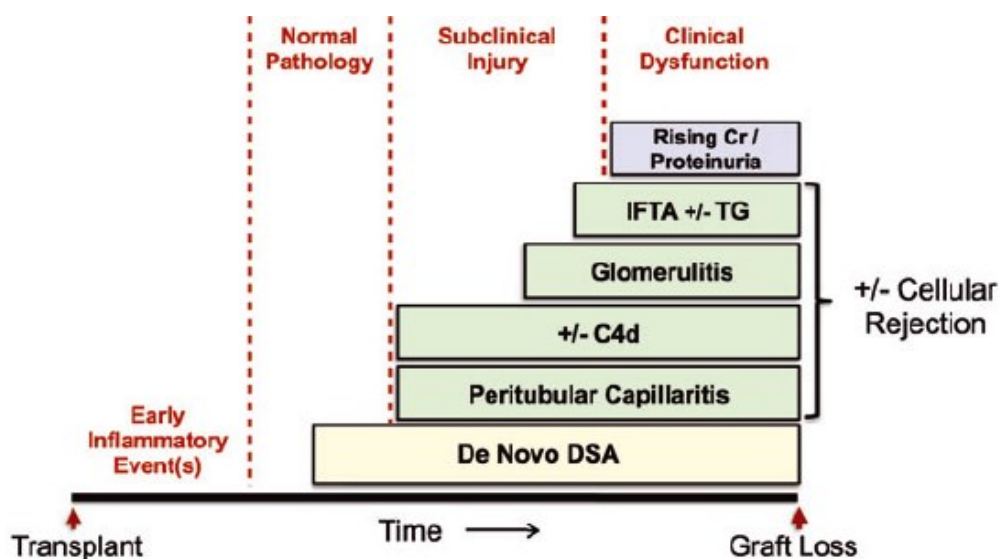
Banffská klasifikace z roku 2011 popisuje akutní a chronickou AMR na základě popisu jednotlivých fenotypů AMR.

Fenotyp 1 se vyskytuje u senzitivovaných nemocných, tj. protilátky jsou přítomné před a v době transplantace, a AMR vzniká časně po transplantaci. Přítomnost DSA před transplantací je asociována s dvojnásobně vyšším rizikem vznikem akutní rejekce a 75% rizikem ztráty štěpu (Mohan S. et al., 2012). Z in vitro studií víme, že anti-HLA protilátky I. třídy způsobují endoteliální dysfunkci prostřednictvím aktivace komplementu, zároveň poškozují endoteliální buňky cestou nezávislou na komplementu. Ne všechny DSA fixují komplement a vyúsťují v akutní AMR, rovněž ne každá epizoda akutního poškození štěpu je spojena s kapilaritidou, C4d pozitivitou a tvorbou DSA.

Víme, že u senzitivovaných pacientů s preexistujícími anti-HLA protilátkami proti antigenům dárce, je osmileté přežívání štěpů horší než u senzitivovaných nemocných bez HLA-DSA nebo pacientů s nízkým rizikem (Wiebe C. et al., 2012).

Fenotyp 2 je spojen s tvorbou protilátek de novo po transplantaci, většinou v pozdějším období, často se jedná o protilátky proti HLA antigenům II. třídy. Často se tomu tak děje u nemocných, kteří neužívali správně imunosupresi nebo jim imunosupresivní léčba byla minimalizována. Samotná přítomnost protilátek představuje rizikový faktor poškození štěpu. Rozhodnutí o specifické léčbě bývá v této situaci svízelné. Při subklinické rejekci jsou již prokázány strukturální změny, které mohou být léčbou ovlivnitelné, i když renální funkce je normální. Poslední stadium je většinou ireverzibilní, protože kromě detekce protilátek v krvi prokazujeme v biopsii rejekční a strukturální změny, které zhoršují renální funkci a jsou nastartovány procesy, které jsou součástí chronické AMR a mohou vést i ke ztrátě štěpu (Obrázek 2).

Obrázek 2: Fenotyp 2 AMR (podle Wiebe et al., 2012)



Akomodace

Akomodace je získaná rezistence orgánu na imunitně zprostředkované poškození. Jedná se o stav, kdy v biopsii štěpu můžeme prokázat C4d pozitivitu bez známek akutní rejekce. Akomodace byla původně identifikována u ABO inkompatibilních transplantací ledvin. Transplantované štěpy přežívají s normální funkcí s vysokými titry hemaglutininů, které jsou namířené proti antigenům ve štěpech. Stegall se spolupracovníky (Stegall MD. a kol., 2007) zjistili variabilitu obnovení isohemaglutininů po ABO inkompatibilních transplantacích (ABOi) při desenzitizaci. Podobná data jsou i z japonských zkušeností s ABOi transplantací, kde byl pozorován nárůst IgM a IgG2 podtříd titru protilátek proti krevním skupinám bez ohledu na rejekci štěpu. Montgomery v roce 2020 publikoval výsledky sérií protokolárních biopsií a detekci protilátek u kohorty nemocných po transplantaci ledvin s DSA. U 20–30 % příjemců byla detekována C4d pozitivita se současnou pozitivitou DSA. Přítomnost C4d positivity v histologických nálezech a detekce DSA nepredikovala subklinickou rejekci, renální funkce zůstala stejná (Montgomery R.A. et al., 2000). Uvedená data dokazují akomodaci u příjemců po transplantaci ledvin s pozitivním cross-matchem (Lynch R.J. et al., 2010, Platt J.L. et al., 2010).

Původně byly popsány 3 možnosti vzniku akomodace. Jako první změna antigenu, čímž se oslabí vazba protilátky, jako druhá změna protilátek, které přestávají být cytotoxické, a naposledy změny ve štěpu, které brání humorálnímu poškození. Dnes je známo, že změny v profilu antigenu nehrají signifikantní roli. Akomodace není stabilní stav, může se vyvíjet a přejít do chronické dysfunkce štěpu (King K.E. et al., 2009). Velká pozornost se věnuje procesům, které v době akomodace působí protektivně, a tytéž procesy mohou zapříčinit poškození štěpu v horizontu měsíců až let (Dehoux J.P. et al., 2009).

Vznik HLA protilátek

K senzitivaci před transplantací může dojít těhotenstvím, opakovanou transplantací či krevní transfuzí. Podání krevní transfuze indukuje humorální imunitu pomocí formace HLA aloprotilátek, přesný mechanismus není zcela jasný. Bylo zjištěno (Eikmans M. et al., 2010), že 2 týdny po podání krevní transfuze u nízkorizikových i senzitivovaných nemocných příjemců se zvyšuje počet interferon γ (IFN- γ) produkujících buněk, stimulací CD4+ a NK buněk. Dochází tak k tvorbě de novo HLA protilátek a vzniku AMR za několik týdnů. Na povrchu endotelu dárce jsou MHC molekuly, které jsou cílem produkce protilátek. Endotel je poškozován protilátkou, von Willebrandovým faktorem a P-selektinem, které se podílejí na zánětlivé odpovědi. Adherence leukocytů v oblasti glomerulů nebo dilatovaných peritubulárních kapilár (PTC) je zprostředkována pomocí cytokinů (IL-1 α , IL-8, chemokin ligand 2) a zároveň dochází k aktivaci komplementu. V humorální rejekci je C4d užitečným markerem komplementové aktivace, jak již bylo zmíněno. Chemoatraktanty C3a a C5a jsou části komplementové kaskády, které aktivují C5b, které se akumuluje v membráně atakujícího komplexu (MAC), který je tvořen C5b-C9. Aktivovaný MAC způsobuje lokální nekrózy, které mohou zapříčinit odloučení endoteliálních buněk od bazální membrány. Jde o typický obraz AMR v biopsiích. Pokud se časně nezahájí léčba, tak stav progreduje až k tvorbě trombotické mikroangiopatie (TMA), hemoragickým nekrotickým arteriální stěny, a následně až ke ztrátě štěpu. Kromě anti-HLA protilátek a protilátek navázaných na endotelu se mohou na patogenezi účastnit i přítomné non-HLA protilátky. Příkladem jsou MICA protilátky. MICA antigeny jsou strukturou podobné MHC I. třídy, jsou úzce spjaté s HLA-B a C lokusem (Duquesnoy R.J. et

al., 2008). MICA antigeny mohou být detekovány na fibroblastech, endoteliálních a dendritických buňkách a na četných tumorech, kde jejich detekce je velice obtížná standardními technikami k detekci protilátek. Narayan a kol. vyšetřili 52 pacientů, kteří podstoupili transplantaci a měli negativní cytotoxický cross-match (Narayan S. et al., 2011). Retrospektivní analýzou protilátek metodou Luminex bylo 1 rok po transplantaci zjištěno, že nemocní s pozitivními anti-HLA protilátkami a non-HLA protilátkami mají horší renální funkci než příjemci bez přítomnosti protilátek. Taktéž bylo zjištěno, že u příjemců, u kterých byla detekována současná pozitivita anti-HLA a non-HLA protilátek, došlo k rychlejší progresi dysfunkce štěpu ledviny než u pacientů s izolovanou pozitivitou DSA.

Protilátky uplatňující se v rejekci

Anti-HLA protilátky byly identifikovány v 1–60 % u příjemců orgánů v závislosti na testované populaci, době po transplantaci a senzitivě a specifitě metod detekce. DSA vzniklé de novo po transplantaci se považují za klíčový faktor v patogenezi poškození štěpu. De novo protilátky se objevují časně po transplantaci ledviny (v prvních 3 měsících) a jsou spojeny s rizikem vzniku akutní a chronické AMR (Terasaki P.I. et al., 2007). Rozvoj aloprotilátek předchází morfologické a funkční změny štěpu.

DSA jsou produkovány plazmatickými buňkami, které mohou být přítomny v předtransplantačním období, anebo naopak v období potransplantačním. DSA se mohou tvořit i de novo v potransplantačním období, a to B-lymfocyty (paměťovými a naivními). T-lymfocyty jsou nezbytné k iniciaci primární B-buňkami zprostředkované odpovědi vedoucí k tvorbě plazmatických buněk (Singh N. et al., 2009).

Akutní AMR může vzniknout i při absenci detekci protilátek, pokud jsou protilátky navázány přímo v transplantovaném orgánu. Incidence výskytu akutní AMR po transplantaci ledviny je 5–7 % u nesenzitizovaných a 40–90 % u senzitizedovaných nemocných. Akutní AMR se častěji vyskytuje současně s celulární rejekcí (ve 25 %). Chronická rejekce se manifestuje pomalou progresí renální dysfunkce, kterou můžeme pozorovat několik měsíců až let po transplantaci ledviny. Klinicky se manifestuje nově vzniklou proteinurií, dekompenzací arteriální hypertenze a pomalým snižováním glomerulární filtrace.

Histopatologický obraz protilátkami zprostředkované rejekce

Obraz akutní rejekce

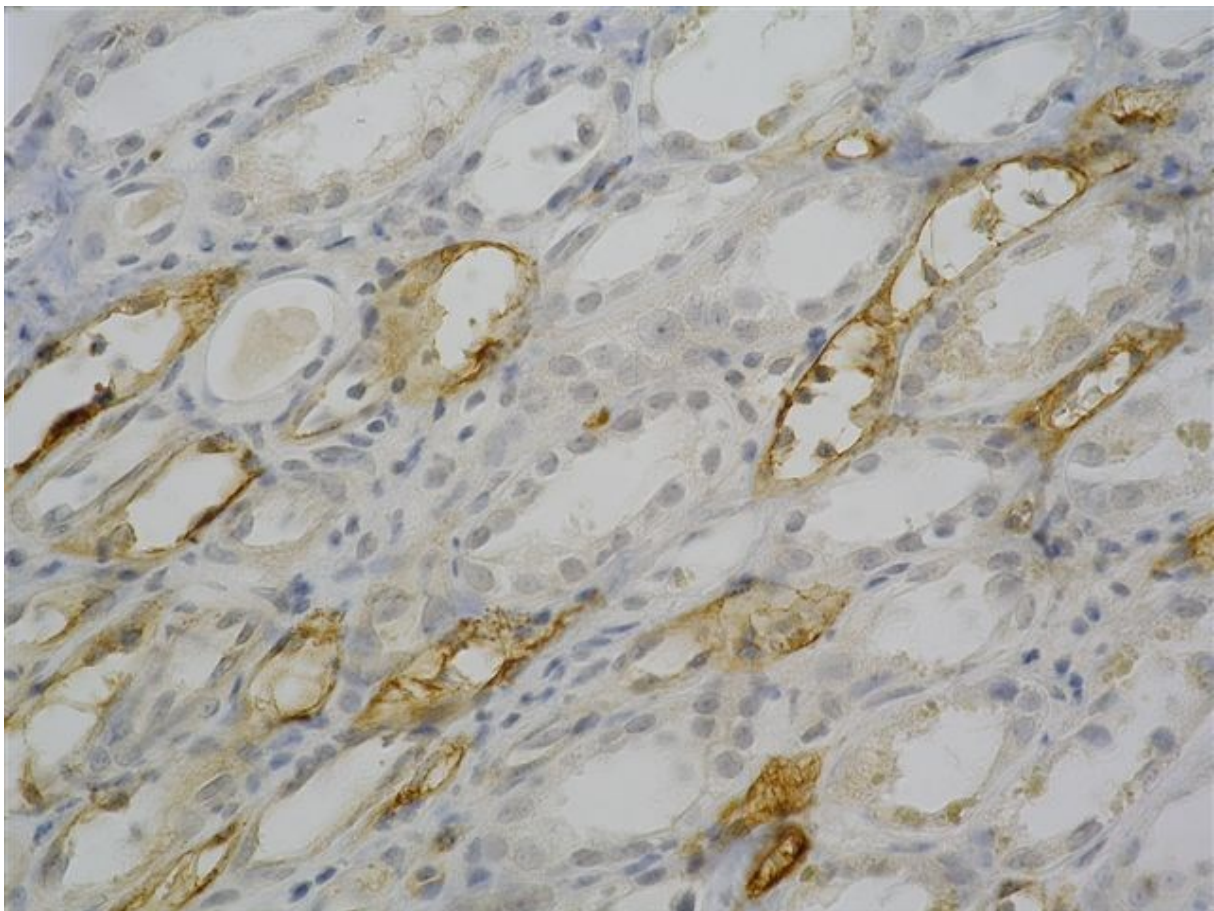
Diagnostickým kritériem je difúzní průkaz C4d v PTC. Jako pozitivní je nález hodnocen, pokud více než 50 % PTC vykazuje intenzivní nepřerušovanou pozitivitu v imunofluorescenci, pro imunohistochemii nemusí být pozitivita intenzivní a nepřerušovaná. Většina pacientů má současně i anti-HLA protilátky. Tuto kategorii často doprovází přítomnost zánětlivých elementů v lumen PTC a skóre se znakem ptc 0–3 bylo včleněno do klasifikace (Sis B. et al., 2010).

Klasifikace akutní AMR (Sis B. et al., 2010)

I. typ: ATN like (minimální zánět) (Obrázek 3)

Obrázek 3: AMR I. typu, ATN, C4d +,

zdroj: L. Voska, Pracoviště klinické a transplantační patologie, IKEM Praha



II. typ: perikapilární zánět nebo trombóza

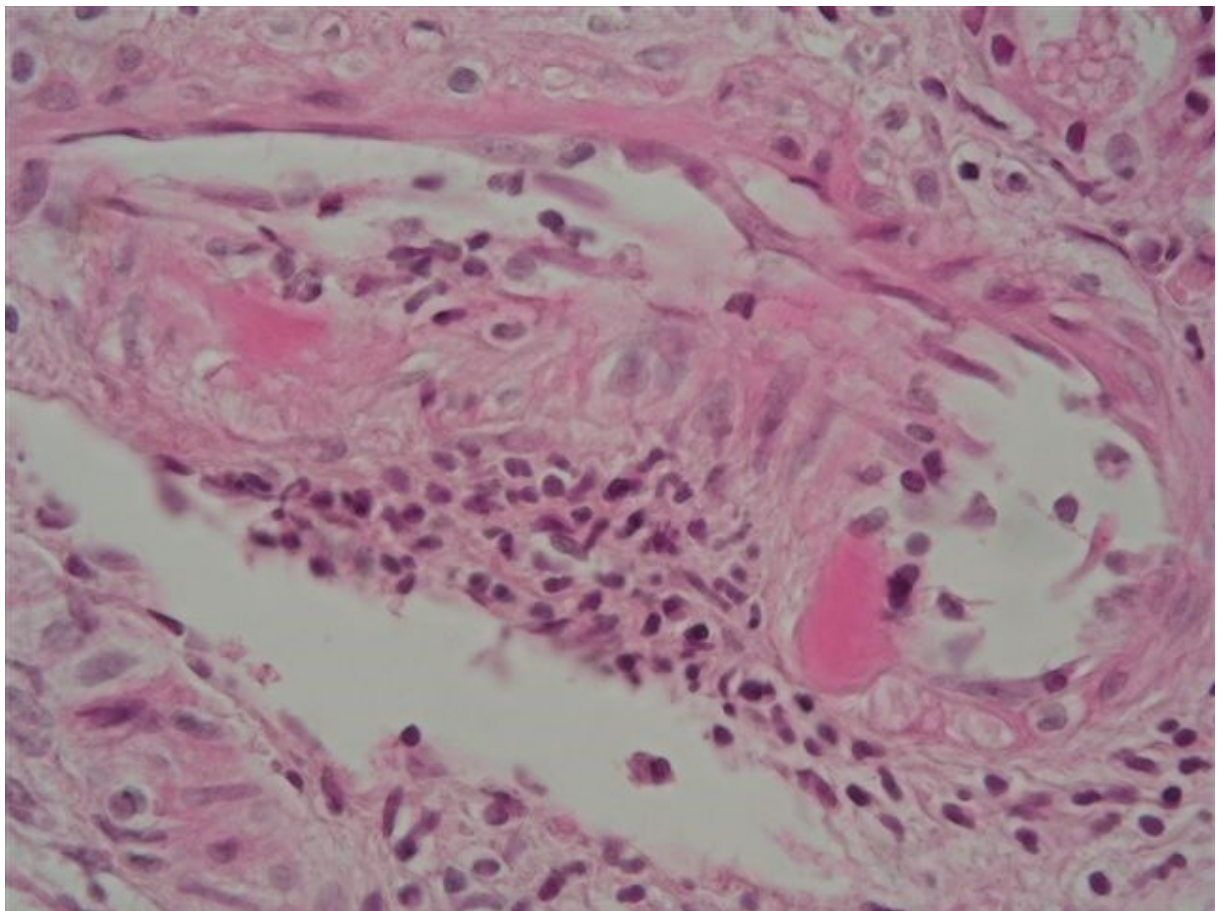
zdroj: L. Voska, Pracoviště klinické a transplantační patologie, IKEM Praha

III. typ: fibrinoidní vaskulitis (Obrázek 4)

zdroj: L. Voska, Pracoviště klinické a transplantační patologie, IKEM Praha

Obrázek 4: AMR III. typ, ATN, C4d+.

zdroj: L. Voska, Pracoviště klinické a transplantační patologie, IKEM Praha



Obraz chronické rejekce

Diagnostickým znakem je opět difuzní průkaz C4d. Dále dvojkontury bazálních membrán (znak cg) a několi dalších znaků, o kterých se vede diskuse, jsou-li pro tuto kategorii příznačné nebo spíše představují obecnou reakci tkáně na poškození endotelu jakékoli

etiologie (reduplikace bazálních membrán PTC, fibrózní intimální ztluštění arterií doprovázané fibrózou v intersticiu a tubulární atrofií).

Klíčovým nálezem v histologickém obrazu humorální rejekce je kapilarita (Gibson B. et al., 2008), která je spojena s glomerulitidou a přítomností protilátek proti HLA dárce. Je pravděpodobné, že kapilarita je spojená s rozdělením bazální membrány PTC, což je obraz pozdní humorální rejekce (Aita K., 2007). Typickým histopatologickým obrazem je chronická transplantační glomerulopatie (TG), která se rozpozná pomocí dvojitého konturu bazální membrány glomerulů a klinicky se projeví proteinurií (Cosio FG., 2008). Chronická humorální rejekce se vyskytuje v 5–15 % protokolárních biopsií a typický je její subklinický počátek. TG byla přítomna u 40 % pacientů, kteří prodělali akutní AMR. Chronická transplantační glomerulopatie je asociována s horším přežíváním štěpu, zvláště při výskytu intersticiální fibrózy/ tubulární atrofie (IF/ TA) (Gloor J.M. et al., 2007, Moreso F. et al., 2012).

Chronická rejekce štěpu je tedy výsledkem neadekvátní imunosupresivní léčby. Role chronické humorální odpovědi v patogenezi pozdní ztráty funkce štěpu byla potvrzena v americké multicentrické studii (DeKAF – Long-term Deterioration of Kidney Allograft Function) (Gloor J., Matas AJ., 2010)²⁴. U 173 pacientů po transplantaci ledviny (průměrně 7 let po transplantaci) byla provedena biopsie štěpu pro pozdní dysfunkci štěpu – v 57 % případů histologický nález koreloval s diagnózou AMR, přítomností depozit C4d v renálních biopsiích a průkazu DSA ze séra pacientů. Nejhorší dvouleté přežívání měli nemocní se současnou pozitivitou C4d a přítomností DSA. Nejlepší přežívání štěpu měli pacienti s negativními znaky humorální reakce. Nefrotoxicita kalcineurinových inhibitorů se signifikantně nepodílela na zhoršení dlouhodobého přežívání štěpů (Gaston RS., 2009).

Molekulární fenotypy humorální rejekce

Humorální rejekce vykazuje odlišný profil transkriptomu od T-buňkami zprostředkované rejekce. Současně má ale i některé společné rysy. Jedním z nich je silná exprese IFN- γ uvolněného pravděpodobně z NK-buněk (Mueller T.F. et al., 2007, Reeve J. et al., 2009). Homs a kol. (Homs S. et al., 2009) také prokázali zvýšenou expresi IFN- γ v biopsiích s TG, kde jsou často nalézány přepisy genů se vztahem k endotelu, a to i v případech, kdy je C4d negativní (Sis B., 2009). Viklický O. a spol. v roce 2010 prokázali, že nemocní s časnou

humorální rejekcí, kteří mají zvýšenou expresi genu pro CD20 (znak B-lymfocytů), růstový faktor TGF β nebo chemokin RANTES, mají horší přežití štěpů a že u těchto nemocných častěji selhává léčba. Potvrdily se také rozdíly v expresních profilech mezi akutními AMR a T-buňkami.

V roce 2007 byla publikována práce o možných fenotypech cAMR. Značení fenotypů je složeno ze zkratk: A – frequency of circulating anti-HLA alloantibody, B – PTC basement membrane multilayering, C – PTC C4d deposition, D – double contours of glomerular basement membranes. Nejčastějšími fenotypy TG jsou ABCD, AB a BD. Pozitivita C4d významně koreluje s detekcí anti-HLA protilátek. TG s pozitivitou C4d a průkazem aloprotilátek má nejhorší prognózu přežívání transplantovaných štěpů (Sis B. et al., 2007). Ve fenotypech AB a BD je diagnóza chronické AMR bez průkazu C4d positivity. Jde o aktivaci akumulaci prozánětlivých elementů, které se váží na Fc receptor leukocytů bez aktivace klasické či lektinové cesty komplementové kaskády.

Prevence AMR

Základem prevence AMR je definovat nemocné v riziku, tj. rozpoznat senzitizedované nemocné. Rizikovými faktory pro vznik rejekce zprostředkované protilátkami jsou doba strávená na dialýze, opakované transplantace, předchozí senzitivace (gravidita, transfuze, HLA antigeny), přítomnost panel-reaktivních protilátek (PRA). U těchto rizikových skupin je doporučováno provést před transplantací přesnou charakteristiku aloprotilátek s nutností přesné typizace HLA antigenů dárce včetně typizace HLA A, B, DR, C, DQ a DP. U nemocných, kteří podstupují opakovanou transplantaci, je s výhodou najít dárce s co největší shodou v HLA antigenech a dále definovat zakázané antigeny. Pokud má příjemce žijícího dárce, tak vybrat dárce nejméně rizikového, případně zajistit účast v párové výměně. Další možností je transplantace na tzv. akceptovatelný mismatch, tj. participace v programu Eurotransplantu.

V literatuře jsou publikovány práce s desenzitizací příjemců na čekací listině jako další alternativa prevence AMR. Jedná se o pacienty s přítomností HLA protilátek. Jordan a kol. (Jordan S.C. et al., 2004) použil desenzitizační protokol s podáváním vysokých dávek intravenózních imunoglobulinů (IVIG), čímž došlo k signifikantnímu snížení PRA a zkrácení doby čekání na dialýze. V jiné práci (Vo A.A. et al., 2013) desenzitizovali nemocné

s frekvencí PRA více než 80 % s pomocí vysokých dávek IVIG a jednou dávkou rituximabu; 71 % nemocných, kteří byli desenzitizováni, se dočkali transplantace, a 3leté přežívání bylo 96,6 %, tedy o 17 % lepší než přežívání nemocných chronicky dialyzovaných. Další možností prevence AMR je desenzitizace před elektivní transplantací ledviny od žijícího dárce pomocí plazmaferézy, IVIG, event. rituximabu.

Po úspěšné transplantaci je nutné pravidelné sledování pacienta s časně provedenou biopsií při zhoršení renální funkce a detekci HLA protilátek. Pravidelná monitorace DSA umožňuje při normální renální funkci kvantitativně detekovat jednak již přítomné DSA, nebo diagnostikovat de novo DSA, které jsou součástí chronické aktivní humorální rejekce. Noncompliance a neužívání či minimalizace imunosupresivní léčby mohou také participovat na vzniku AMR.

Léčba protilátkami zprostředkované rejekce

Léčba akutní AMR zahrnuje eliminaci cirkulujících protilátek a depleci B-lymfocytů nebo plazmatických buněk. Management léčby AMR v současné době zaznamenal velký rozvoj.

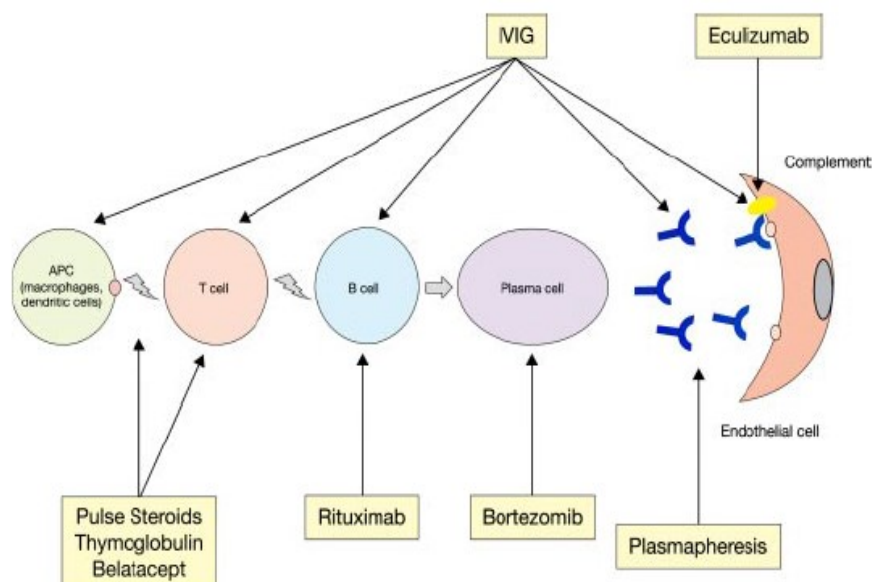
Možnosti léčby AMR jsou uvedeny v Tabulce 1:

Tabulka 1: Možnosti léčby AMR

Mechanismy	Léčebné postupy
Eliminace cirkulujících protilátek	Plazmaferézy Imunoadsorpce
Suprese zbývajících protilátek	Intravenózní imunoglobuliny Mykofenolát mofetil, mykofenolát sodný
Blokáda produkce protilátek, deplece B-lymfocytů	Glukokortikoidy Anti-CD20 (rituximab) Antithymocytární globulin Splenektomie IdeS
Suprese T-buněčné odpovědi	Antithymocytární globulin Mykofenolát mofetil, mykofenolát sodný Kalcineurinové inhibitory
Deplece plazmatických buněk a navození apoptózy	Inhibitor proteasomu (bortezomib) Anti-IL-6R (tocilizumab)
Inhibice komplementu	Anti-C5 (eculizumab) Rekombinantní C1 inhibitor

Kombinované terapeutické režimy ovlivňující současně plazmatické buňky i komplement se jeví slibně pro úspěšné zvládnutí AMR (Obrázek 5).

Obrázek 5: Terapeutické modality AMR (Djamali A. et al., 2014)



Plazmaferéza (PF) patří mezi nejrychlejší a nejúčinnější způsob eliminace DSA. Nejčastěji se vyměňuje 1–1,5násobek objemu plazmy. Samotné plazmaferézy neinhibují tvorbu protilátek, proto se využívá kombinovaná léčba pomocí plazmaferéz a IVIG (Slatinská J. et al., 2009). Frekvence procedur je různá, liší se dle jednotlivých autorů. Nejčastěji se využívá protokol, kde se IVIG v dávce 0,1 g/kg tělesné hmotnosti aplikují po každé provedené plazmaferéze tak, aby celková dávka nebyla větší než 1 g/kg tělesné hmotnosti. Obvykle se doporučuje 5–7 procedur (Montgomery RA. Et al., 2000). Pro inhibiční efekt na produkci DSA se dále doporučuje udržovací imunosupresivní léčba v kombinaci takrolimus a mykofenolát mofetil/ kyselina mykofenolová.

Imunoadsorpce

Imunoadsorpce (IA) je eliminační metodou, která má oproti PF výhodu v možnosti výměny 3 a více plazmatického objemu během jedné procedury. Další výhodou je, že se jedná o šetrnější techniku, při které nedochází ke ztrátě důležitých plazmatických bílkovin, zejména koagulačních faktorů. U nemocných léčených IA byl prokázán nižší výskyt

krvácivých komplikací než u pacientů léčených PF (Bartel G. et al., 2011). Využití IA je při léčbě rezistentních AMR, při ABO inkompatibilních transplantacích, či profylakticky při desenzitizaci u vysoce rizikových nemocných. Nevýhodou je ekonomická náročnost (Steurer W. et al., 2004).

Intravenózní imunoglobuliny

IVIG rychle, účinně a dlouhodobě snižují hladinu anti-HLA protilátek. Mechanismus účinku je komplexní a není dosud přesně znám. Zahrnuje blokádu Fc receptoru interferencí s aktivací komplementu a cytokinové aktivity a účinek antiidiotypových protilátek. Pro léčbu rejekce je významná i schopnost IVIG vychytávat komplement. (Viklický O. et al., 2008). Je známo, že IVIG inhibují proliferaci a aktivaci epiteliálních buněk, T i B-lymfocytů a urychlují apoptózu B-lymfocytů.

Zpočátku v léčbě akutní AMR bylo preferováno vysoké dávkování IVIG, až 1–2 g/kg tělesné hmotnosti (Jordan S.C., 1998) (využití efektu redukce anti-HLA protilátek). Od tohoto přístupu je v současnosti upuštěno pro výskyt trombotických komplikací (Gelfand EW., 2012). Aplikace IVIG v kombinovaném imunosupresivním režimu spolu s PF a rituximabem výrazně zlepšují přežívání štěpu oproti samotné léčbě PF (Kaposztas Z. et al., 2009).

Monoklonální protilátka anti-CD20 (rituximab)

Rituximab je chimérická myší/lidská monoklonální protilátka. Jde o glykosylovaný imunoglobulin s lidskou IgG1 konstantní částí, zatímco variabilní části lehkých a těžkých řetězců jsou myšího původu. Protilátka je produkována suspenzí uměle kultivovaných savčích buněk (ovariální buňky čínských křečků) a je purifikována afinitní chromatografií a iontoměničem.

Rituximab je depleční monoklonální protilátka proti znaku CD20 na B-lymfocytech, která je v současnosti používána mimo své obvyklé indikace v prevenci a léčbě AMR. Rituximab inhibuje proliferaci B-lymfocytů mechanismy zahrnujícími cytotoxicitu vázanou na komplement. Po intravenózním podání dochází rychle k depleci B-lymfocytů v periferní krvi i v tkáních. Ke zpětné úpravě počtu B-lymfocytů dochází až za 6 měsíců po ukončení terapie.

Kaposztas Z. a kol., 2009 v retrospektivní studii analyzoval terapii rituximabem spolu s PF a IVIG oproti samotné léčbě PF, u 54 pacientů po transplantaci ledviny, s dg akutní AMR.

Dvouleté přežívání štěpů bylo ve rituximabové skupině signifikantně vyšší (90 % vs. 60 %). Lefaucher a kol. (Lefaucher C. et al., 2013) publikovali práci, kde byla srovnána léčba AMR pomocí PF, IVIG a rituximabem s historickou skupinou léčenou monoterapií IVIG. Závěrem bylo signifikantně lepší 3leté přežívání transplantovaných štěpů léčených pomocí kombinované terapie s rituximabem (92 % vs 50 %). U nemocných s anamnézou virové hepatitidy B je nutná znalost aktuální replikace viru, neboť při pozitivě je zvýšené riziko reaktivace HBV při léčbě rituximabem (Mitka M. et al., 2013).

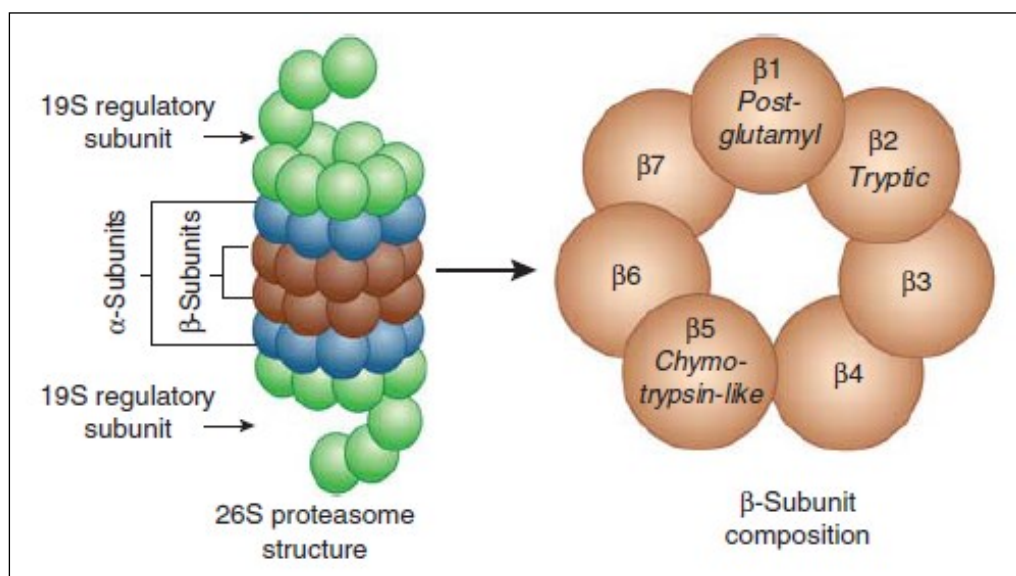
Glukokortikoidy

Glukokortikoidy se používají v 1. linii v léčbě jakékoliv rejekce. Jsou vysoce efektivní při léčbě T-buňkami zprostředkované rejekce a rejekce smíšené s podílem humorální komponenty, kde se účastní na supresi B-buněčné odpovědi interakcí s Th lymfocyty. V současnosti jsou doporučovány i pro léčbu protilátkami zprostředkované rejekce, a to i při absenci buněčné složky rejekce (Lucas J.G. et al., 2011).

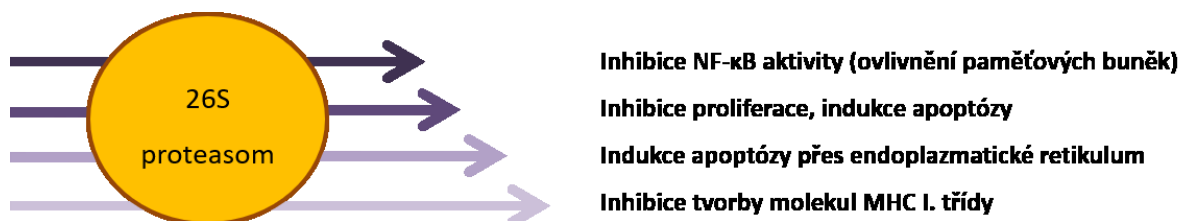
Bortezomib

Bortezomib je přímý inhibitor proteasomů. Proteasom 26S je velká multimerní enzymatická struktura přítomná v cytosolu všech eukaryotických buněk. Funkcí proteasomu je udržování buněčné homeostázy cestou selektivní degradace nesprávně uložených bílkovin, regulací buněčného cyklu, transkripce a inhibicí molekul. Bortezomib narušuje tuto rovnováhu prostřednictvím reverzibilní vazby na $\beta 5$ podjednotku na místě chymotrysin-like proteolytické aktivity. Tím dochází ke změně jádra 20S na molekulu proteasomu 26S (Walsh CR. et al., 2012)⁴⁴. Inhibice proteasomu ovlivňuje dysregulaci mnohých buněčných procesů, zpracování antigenů a regulace mitózy. Bortezomib je malá molekula, ve které je inkorporován atom boru, který je peptidovými vazbami spojen s proteasomem 26S (Obrázky 6 a 7).

Obrázek 6: Struktura proteasomu (Walsh R.C. et al., 2012)



Obrázek 7: Mechanismus účinků inhibitoru proteasomu (Walsh R.C. et al., 2012)



Léčba inhibitory proteasomu má 4 fyziologické efekty:

1. Inhibice NF- κ B aktivity (ovlivnění paměťových buněk)
2. Inhibice proliferace a indukce apoptózy zablokováním buněčného cyklu
3. Indukce apoptózy přes endoplazmatické retikulum
4. Inhibice tvorby molekul MHC I. Třídy

Bortezomib působí přímo na zralé plazmatické buňky. Z dosud provedených studií je zřejmé, že bortezomib rychle a trvale snižuje dárcovsky specifické protilátky a je účinnější než IVIG, králičí antithymocytární globulin a rituximab. Proto se používá jako alternativa v léčbě humorální rejeckce.

Bortezomib byl po prvé vyroben v roce 1995 a je registrován k léčbě mnohočetného myelomu (schválen FDA v roce 2003). Je tvořen z 80 % z proteinů a metabolizuje se v játrech s poločasem 9–15 hodin. Dávkování je 1,3 mg/m²/ dávku, 1 cyklus tvoří 4 dávky, které se aplikují 1., 4., 7. a 11. den. Pauza mezi jednotlivými cykly by měla být nejméně 10 dnů. Jeho první použití v transplantační oblasti bylo uveřejněno v roce 2009. Trivedi HL. a kol., 2008⁴⁵ (Trivedi H.L. et al., 2008) použili bortezomib u indických pacientů, kteří neměli prostředky na pořízení imunosuprese. Transplantované ledviny byly funkční i bez imunosupresiv, nicméně absence biopsií a abnormální renální funkce vylučuje generalizaci tohoto pilotního pozorování. Druhá zkušenost s bortezomibem byla publikována v roce 2008 (Everly MJ. et al., 2008). Bortezomib byl s úspěchem použit pro léčbu refrakterních rejekcí. Pozitivní zkušenosti vyústily ve změnu schématu s tím, že Everly a kol. se rozhodli použít modifikovaný protokol bortezomib – plazmaferézy – rituximab jako léčbu první line i pro případy akutní AMR s cílem zamezit chronickým změnám (Everly MJ. et al., 2008). Flechner s kolektivem použili bortezomib (spolu s PF a IVIG) v léčbě AMR 20 příjemců, dosáhli 10měsíčního přežívání štěpů 85 % a redukci DSA v 50 % (Flechner S.M. et al., 2010). Walsh prokázal vyšší efektivitu aplikace bortezomibu (významnější redukci DSA) do 6 měsíců po transplantaci ledviny než v pozdějším období (Walsh RC. et al., 2011). Waiser porovnával léčbu AMR samotným bortezomibem s historickou skupinou léčenou 1 dávkou rituximabu a 30 g IVIG. Výsledkem studie bylo signifikantně vyšší přežívání štěpů v bortezomibové skupině (4/10 vs. 8/9) (Waiser J. et al., 2012). Uvedené předběžné výsledky nás povzbuzují k uplatnění kombinovaných režimů s bortezomibem, avšak stále chybějí kontrolované randomizované studie.

Léčba bortezomibem je ekonomicky náročná a je spojena s celou řadou nežádoucích účinků, z nichž nejčastější se zdají být neurotoxicita a po transplantaci ledviny pak hyperhydratace, trombocytopenie a neutropenie. V IKEM jsme zahájili léčbu rezistentní AMR bortezomibem v r. 2012.

Eculizumab

Eculizumab je rekombinantní humanizovaná monoklonální protilátka proti složce C5 komplementu. Kromě své indikace k podání při paroxysmální noční hemoglobinurii a atypickém hemolyticko-uremickém syndromu se zdá, že eculizumab by mohl být s úspěchem využit v několika transplantačních indikacích, mezi které patří refrakterní

AMR. Stegall a kol. popsali účinnost léčby eculizumabem u 26 vysoce imunizovaných pacientů s akutní AMR, kteří podstoupili transplantaci ledviny od žijícího dárce na pozitivní cross-match. Incidence AMR byla signifikantně nižší u skupiny pacientů léčených eculizumabem (7,7 %) oproti historické skupině léčené PF. Někteří pacienti podstoupili i splenektomii (41,2 %). V protokolárních biopsiích 1 rok po transplantaci ledviny byl nižší výskyt TG u skupiny pacientů léčených eculizumabem (6,7 %) oproti kontrolní skupině (35,7 %). Inhibicí terminální části komplementu eculizumabem je možné snížit incidenci časně AMR u senzitivovaných příjemců transplantovaných ledvin (Stegall M.D. et al., 2011).

Glantz D. a kol. v roce 2019 (Glantz D. et al., 2019) publikovali otevřenou jednoramennou studii fáze 2 senzitivovaných nemocných po transplantaci od kadaverózních dárců, kde v indukci byli léčeni nemocní thymoglobulinem a eculizumabem spolu se standardní udržovací imunosupresivní léčbou v prevenci akutní AMR. Účinnost a efektivita byla prokázána do 9. týdne po transplantaci ledviny u nemocných s preformovanými dárcovsky-specifickými protilátkami v porovnání se skupinou léčenou standardní léčbou (8,8 % vs 40 %, $p < 0,001$). Tříleté přežívání štěpů a pacientů v téhle studii bylo 83,4, resp. 91,5 %.

Splenektomie

Slezina je největší lymfatickou tkání v lidském těle, která má důležitou roli v tvorbě aoprotilátek. Splenektomie je jednou z možností, jak eliminovat prekurzory i finální DSA produkované plazmatickými buňkami. Při refrakterních AMR se splenektomie provádí jako záchranná léčba. Vzhledem k náročnosti chirurgického výkonu a potenciálním infekčním komplikacím nepatří splenektomie mezi rutinní postupy v léčbě AMR (Locke J.E. et al., 2007).

C1 inhibitor komplementu

Příslibem v léčbě AMR je rekombinantní lidský C1 inhibitor komplementu (klinické studie fáze I/II) (Tillou X. et al., 2010).

Chronická AMR

Chronická protilátkami zprostředkovaná rejekce (cAMR) transplantované ledviny představuje hlavní příčinu ztráty štěpu v dlouhodobém sledování. Zatímco akutní AMR vzniká časně po transplantaci u senzitivovaných nemocných s přítomnými dárcovsky specifickými anti-HLA protilátkami, chronická AMR je zapříčiněna buď de novo DSA vznikajícími později po transplantaci v důsledku nedostatečné expozice imunosupresivům, nebo jako důsledek předchozí akutní AMR. Její diagnostika je založena na detekci dárcovsky-specifických anti-HLA protilátek a definovaných morfologických změn, především zánětu v mikrocirkulaci a nálezu depozit C4d. Chronická AMR je navíc spojena s unikátním genovou expresí, která ji odlišuje od ostatních typů poškození. Ačkoliv víme hodně o diagnostice a patologii cAMR, její léčba není dosud dostupná. Současné možnosti léčby se opírají o malá retrospektivní pozorování s využitím intravenózního imunoglobulinu (IVIg), rituximabu, eculizumabu a blokády interleukinu 6 (IL-6). Robustní data ale chybějí (Viklický O. et al., 2018).

Bortezomib je inhibitor proteazomu a je indikován k léčbě mnohočetného myelomu. Bortezomib cílí na plazmatické buňky sekretující protilátky a v některých centrech bývá využíván v léčbě akutní humorální rejekce. Dosud nebyla provedena randomizovaná studie, která by prokázala bezpečnost a účinnost bortezomibu v léčbě humorální rejekce. V této placebem kontrolované prospektivní randomizované studii s názvem BORTEJECT (Bortezomib in Late Antibody-Mediated Kidney Transplant Rejection Trial, Eskandary F. et al., 2018) byl zkoumán účinek bortezomibu na průběh pozdní, chronické AMR u nemocných s DSA. Cílem bylo prokázat rozdíly v poklesu odhadované glomerulární filtrace (eGFR). Sekundárními cíli byl vývoj DSA, fenotyp rejekce a eGFR za dva roky po léčbě bortezomibem. V první fázi studie bylo průřezově vyšetřeno 1 165 nemocných po transplantaci ledviny a u 741 nemocných byla zkoumána přítomnost anti-HLA protilátek. V 53 % případů byla prokázána přítomnost anti-HLA protilátek. Sto jedenáct (15 %) testovaných nemocných pak mělo potvrzenou přítomnost dárcovsky specifických protilátek a 86 nemocných podstoupilo protokolární biopsii. Pro vstup do druhé fáze studie bylo nutné prokázat DSA I. nebo II. třídy a rovněž histologické známky chronické AMR (glomerulitida, kapilaritida, transplantační glomerulopatie, C4d pozitivita a změny typické pro ABMR v elektronové mikroskopii). Pouze 45 nemocných splnilo vstupní

kritéria pro druhou fázi studie a byli randomizováni v poměru 1 : 1 k léčbě dvěma cykly bortezomibu, každý cyklus sestával z podání 1,3 mg/m² 1., 4., 8. a 11. den. Jako antivirovou profylaxi nemocní užívali valacyklovir 500 mg denně po dobu tří týdnů od začátku léčebného cyklu. Nemocní v kontrolní skupině dostali placebo v infuzi a placebo v tabletách. Všem nemocným byla upravena udržovací imunosuprese tak, aby se zvýšilo dávkování inhibitorů kalcineurinu, a všichni nemocní byli léčeni mykofenolát mofetilem (MMF) a steroidy. Nemocní byli sledováni po dobu dvou let.

Sedmnáct nemocných podstoupilo v minulosti peritransplantační imunoabsorpce kvůli přítomným DSA před transplantací, u 34 nemocných byly prokázány anti-HLA protilátky II. třídy, většinou to byly anti-DQ protilátky. Čtrnáct nemocných mělo histologické známky akutní/aktivní AMR a 28 nemocných chronickou/aktivní AMR. Pokles eGFR v obou skupinách byl podobný, a nebylo tak dosaženo statistického rozdílu (-4,7 vs. -5,2 ml/min/1,73 m²). Rozdíly nebyly pozorovány ani v dalších ukazatelích funkce štěpu. Během 24 měsíců selhala funkce štěpu u tří nemocných ve skupině s bortezomibem a u jednoho s placebem. V druhém roce studie zemřeli dva nemocní v intervenované skupině, jeden kvůli sepsi již na dialýze a druhý z neznámé příčiny. Statistické rozdíly v přežití štěpů a nemocných nebyly jinak pozorovány. Mezi skupinami rovněž nebyl pozorován rozdíl v procentuální změně dárcovsky specifických protilátek. U osmi nemocných byl pozorován pokles hodnot DSA pod průměrnou fluorescenční intenzitu (MFI) 1 000, u pěti nemocných v léčené skupině a u tří nemocných v kontrolní skupině. U dvou nemocných v léčené skupině dokonce došlo k vytvoření *de novo* DSA. Třicet osm nemocných podstoupilo protokolární biopsie ve 24. měsíci. Rovněž nebyly pozorovány rozdíly mezi skupinami v jednotlivých histologických nálezech.

Nežádoucí účinky byly častější ve skupině léčené bortezomibem, ale rozdíly nebyly statisticky významné. Kvůli nežádoucím účinkům nedostali tři nemocní plánovanou dávku bortezomibu. Nejčastějším nežádoucím účinkem byly nauzea a průjem. U čtyř nemocných ve skupině s bortezomibem se vyvinula periferní neuropatie a stejnou komplikaci měli dva nemocní v kontrolní skupině. Malignity se během dvou let objevily po dvou případech v obou skupinách. Stupeň anémie, trombocytopenie a leukopenie byly signifikantně výraznější v léčené skupině (Eskandary F. et al., 2018). Studie prokázala, že léčba pozdní AMR bortezomibem není účinná ve smyslu zpomalení progresu dysfunkce štěpu, a naopak, že léčba s bortezomibem je spojena s nežádoucími účinky.

Závěr

AMR představuje komplikaci po transplantaci ledviny, která může způsobit ztrátu štěpu. Akutní forma je relativně vzácná a neléčená vede k rychlému zhroucení funkce štěpu. Důležitá je prevence AMR, která spočívá v rozpoznání rizikových nemocných. Pro vysoce senzitivované pacienty je nejvýhodnějším řešením najít co nejvhodnějšího dárce, tj. dárce s co největším počtem shod v HLA a bez přítomnosti DSA. U opakovaných transplantací se imunologické riziko zvyšuje, proto je s výhodou přesná definice tzv. zakázaných antigenů a provedení transplantace s co nejnižším imunologickým rizikem. Nejvhodnější metodou je transplantace od žijícího dárce, která nám v případě průkazu anti-HLA antigenů či DSA umožní zahájit desenzitizační léčbu, aby pacient mohl podstoupit transplantaci na negativní cytotoxický cross-match, který je stále podmínkou provedení úspěšné transplantace. Alternativou řešení imunologické bariéry před transplantací je účast v párové výměně, nebo v mezinárodních programech (Eurotransplant).

Bližší poznání histologických a molekulárních fenotypů této rejekce v budoucnu umožní lépe definovat účinnou terapii. Centra, která chtějí úspěšně léčit tento typ rejekce, musejí mít k dispozici celou paletu nových diagnostických testů (především klasifikace protilátek), protože z běžného histologického vyšetření nelze diagnózu stanovit.

3. Hypotéza

Protilátkami zprostředkovaná rejekce je nejvýznamnějším faktorem limitujícím dlouhodobé přežití transplantované ledviny. Na její patogenezi se podílejí již přítomné nebo de novo anti-HLA protilátky, zaměřené proti antigenům dárce. V procesu rejekce jsou zapojeny efektorové a regulační imunitní mechanismy. Využitím depleční terapie lze dosáhnout zvýšení podílu regulačních B i T lymfocytů. V diagnostice druhu a závažnosti rejekce se nověji uplatňuje vyšetření genové exprese umožňující přesnější stanovení prognózy štěpu.

4. Cíle práce

Cíle práce jsou zaměřeny na zkoumání patofyziologie diagnostických a terapeutických aspektů AMR.

1. Ověřit efektivitu léčebných postupů protilátkami zprostředkované rejekce.
2. Ověřit roli transkriptomu v transplantované ledvině.
3. Ověřit roli B-buněčných fenotypů v periferní krvi ve vztahu k rejekci.
4. Ověřit roli markerů: solubilní CD30 molekuly a HGF (Hepatocyte Growth Faktor) v predikci protilátkami zprostředkované rejekce.

5. Metodika

Použité metody a soubory pacientů jsou podrobně popsány v příložených publikacích.

Populace

K analýzám jsme použili renální tkáň a periferní krev pacientů, kteří podstoupili transplantaci ledviny v Transplantačním centru IKEM Praha.

Biopsie štěpu ledviny

Protokolární biopsie byla provedena ve 3. měsíci po transplantaci ledviny, indikační biopsie při vzestupu kreatininu o víc než 10 %, progresi proteinurie či přetrvávající afunkci štěpu ledviny. Histologické vyšetření bylo provedeno v souladu s Banffskou klasifikací 2005 a jejími aktualizacemi, poslední z roku 2018 (Schéma 1). Malá část (2 mm) z kortikální oblastí bioptického vzorku byla okamžitě uskladněna ve stabilizačním roztoku (RNA later) a skladována při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ do extrakce RNA.

RNA extrakce a komplementární syntéza DNA

Po homogenizaci renální tkáně jsme izolaci RNA provedli s použitím RNA blue agent. Izolovanou RNA jsme zředili v 30 μL vody očištěné od RNázy. Čistotu a koncentraci jsme ověřili spektrofotometricky (NanoDrop 2000, Thermo Scientific). K další analýze jsme použili jen vysoce kvalitní RNA s číslem RNA integrity 8–10. Dva μg RNA jsme použili k přepisu do komplementární DNA s použitím Superscript reversní transkriptázy (Nitrogen, CA, USA). RNA byla ošetřena DNázou. Jen komplementární vzorky DNA bez kontaminace genomickou DNA byly použity k analýze metodou real-time RT-PCR pomocí TaqMan low-density array (TLDA).

Real-Time RT-PCR analýza s použitím TaqMan low-density array (TLDA)

Vyšetření genového expresního profilu bylo provedeno použitím kvantitativní eseje real-time RT-PCR založené na technologii TLDA. TLDA je mikrofluidní karta přizpůsobená potřebám konkrétního projektu, která obsahuje sondy pro kandidátní geny vybrané z katalogu firmy Applied Biosystems. Data jsme kvantifikovali pomocí SDS 2.4 softwaru (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Analýza dat genových expresí

Hodnoty relativní genové exprese jsme získali z TLDA analýzy použitím $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metody pro relativní kvantifikaci (RQ, z angl. relative quantity), která je implementována v Applied Biosystems RQ Manager Software v1.2.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). K výpočtu relativní kvantity jsme porovnali genovou expresi zkoumaného vzorku s kontrolním vzorkem. Data jsou prezentována jako násobek genové exprese zkoumaného vzorku vztážené k endogennímu referenčnímu genu a vztážená k relativní kvantitě kontrolního vzorku porovnané s expresí endogenního referenčního genu.

Ke statistické analýze dat jsme použili statistický program SPSS verze 16 (Chicago, IL, USA). Použité statistické metody jsou podrobně popsány v jednotlivých publikacích.

Tabulka 1: **Banffská klasifikace 2017** (upraveno dle Roufosse C. et al., Transplantation, 2018)

Kategorie 1: normální nález nebo nespecifické změny

Kategorie 2: Protilátkami zprostředkované změny

Diagnóza

- C4d + bez evidence rejekce
- Aktivní AMR
- Chronická aktivní AMR
- Chronická AMR

Kategorie 3: suspektní (borderline) akutní TCMR

Kategorie 4: TCMR

- Akutní TCMR IA
- Akutní TCMR IB
- Akutní TCMR IIA
- Akutní TCMR IIB
- Akutní TCMR III
- Chronická aktivní TCMR IA
- Chronická aktivní TCMR IB
- Chronická aktivní TCMR II

Kategorie 5: IFTA

- Mild (mírná) I
- Moderate (střední) II
- Severe (těžká) III

Kategorie 6: Jiné změny, které se nepovažují za důsledek akutní nebo chronické rejekce

- BK virová nefropatie
- Potransplantační lymfoproliferativní nemoc
- Toxicita kalcineurinových inhibitorů
- Akutní tubulární poškození
- Rekurence nemoci
- De novo glomerulopatie (jiná než TG)
- Pyelonefritida
- Léky indukovaná intersticiální nefritida

6. Publikace spjaté s Ph.D. prací

6.1. Plazmaferézy a intravenózní imunoglobuliny u akutní protilátkami zprostředkované rejekce po transplantaci ledviny: zkušenosti jednoho centra

Úvod

Časná AMR představuje 5–10 % všech akutních rejekcí (Feucht HE, 2003). Riziko ztráty funkce transplantované ledviny je vysoké, jednoroční přežívání štěpu je nízké (15–50 %) i přes intenzivní imunosupresivní léčbu (Halloran P.F. et al.1990; Sellares J., et al., 1992). Diagnostika AMR je založena na histologické verifikaci barvení C4d složky komplementu v PTC a stanovením dárcovsky-specifických protilátek. Časná a pozdní AMR představují dvě rozdílné patologické jednotky, které vyžadují rozličné léčebné postupy (Mauiyyedi S. et al., 2002; Colvin R.B. et al., 2002). Cílem naší práce bylo porovnat dva rozdílné přístupy léčby akutní AMR od doby zavedení barvení C4d.

Metodika

V Transplantcentru IKEM od 1. 1. 2002 do 31. 12. 2006 bylo provedeno celkem 936 transplantací ledvin. Diagnóza AMR byla potvrzena u 26 nemocných (2,8 %). Dvacet pět nemocných podstoupilo transplantaci ledviny od kadaverózního dárce, 1 nemocná podstoupila transplantaci ledviny od manžela. Cílem naší studie byla analýza 24 pacientů s dg akutní AMR, kteří byli léčeni buď samotnou plazmaferézou (PF) nebo v kombinaci s IVIG. Dva nemocní byli ze studie vyloučeni z důvodu aplikace rituximabu.

Třináct nemocných bylo léčeno pouze PF, 11 pacientů bylo léčeno kombinací PF a IVIG. Udržovací imunosupresivní léčba se skládala z kombinace kalcineurinových inhibitorů, kterým byl takrolimus (0,2 mg/kg) nebo cyklosporin A (8 mg/kg) s mykofenolát mofetilem a kortikoidy.

U pacientů s PRA více než 50 % byla podána indukční léčba OKT3 (antiCD3 monoklonální protilátka muromonab,) anebo ATG (od roku 2005 muromonab není k dispozici v ČR). Při obou indukcích byla účinnost imunosuprese monitorována průtokovou cytometrií, pokud bylo přítomno méně než 50 CD3+ buněk v periferní krvi, byla indukce ukončena. Současně probíhající akutní T-buňkami zprostředkovaná rejekce byla léčena metylprednisolonem nebo ATG.

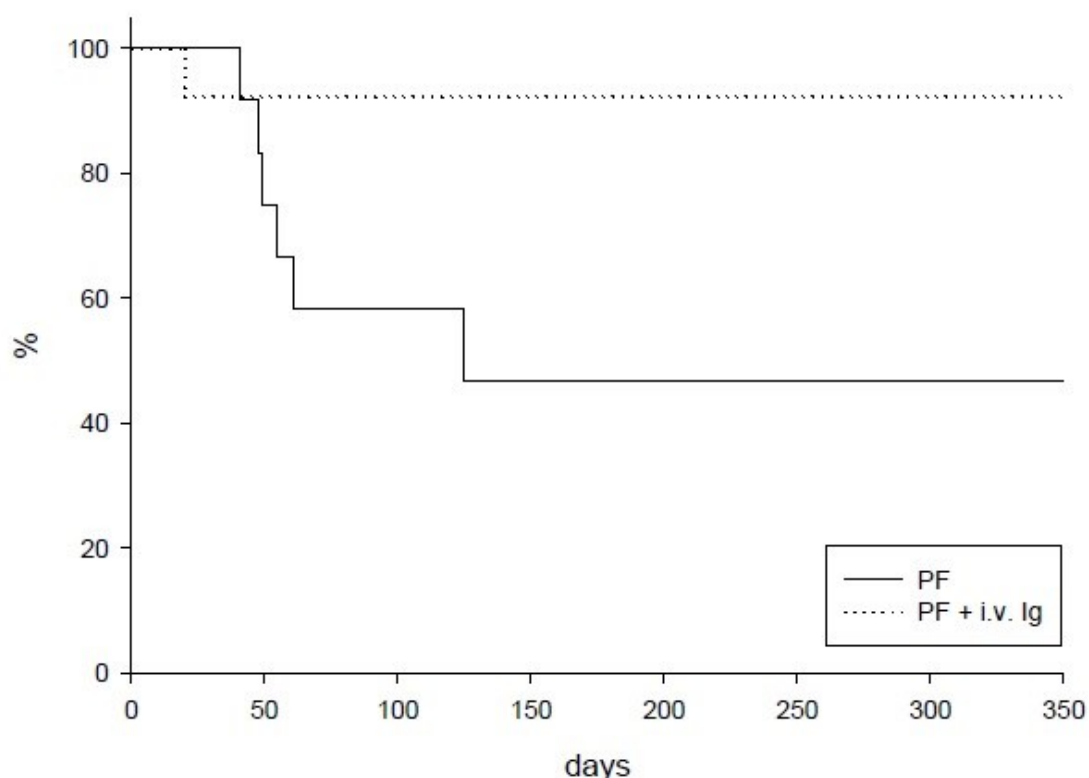
Léčba AMR

Cílem studie bylo zhodnocení účinnosti terapie ve dvou obdobích s použitím různých postupů. V letech 2002–2003 byli nemocní léčeni 5 cykly PF, v letech 2004–2006 byli léčeni kombinací 5 cyklů PF s aplikací 5 dávek IVIG v dávce 0,5 g/kg.

Výsledky

AMR jsme pozorovali u 26 nemocných z 936 provedených transplantací ledvin v letech 2002–2006. V letech 2002–2003 jsme léčili akutní AMR pomocí PF 13 pacientů z 350 nemocných, kteří podstoupili transplantaci ledviny. V letech 2004–2006 bylo provedených 586 transplantací, u 11 nemocných byla dignostikována akutní AMR, kterou jsme léčili kombinací PF a IVIG, 2 pacienti dostali k této kombinaci ještě rituximab. Nemocní ze skupiny PF/IVIG měli lepší výsledky přežívání štěpu rok po transplantaci v porovnání s historickou skupinou ($p = 0,044$ (Obrázek 8)).

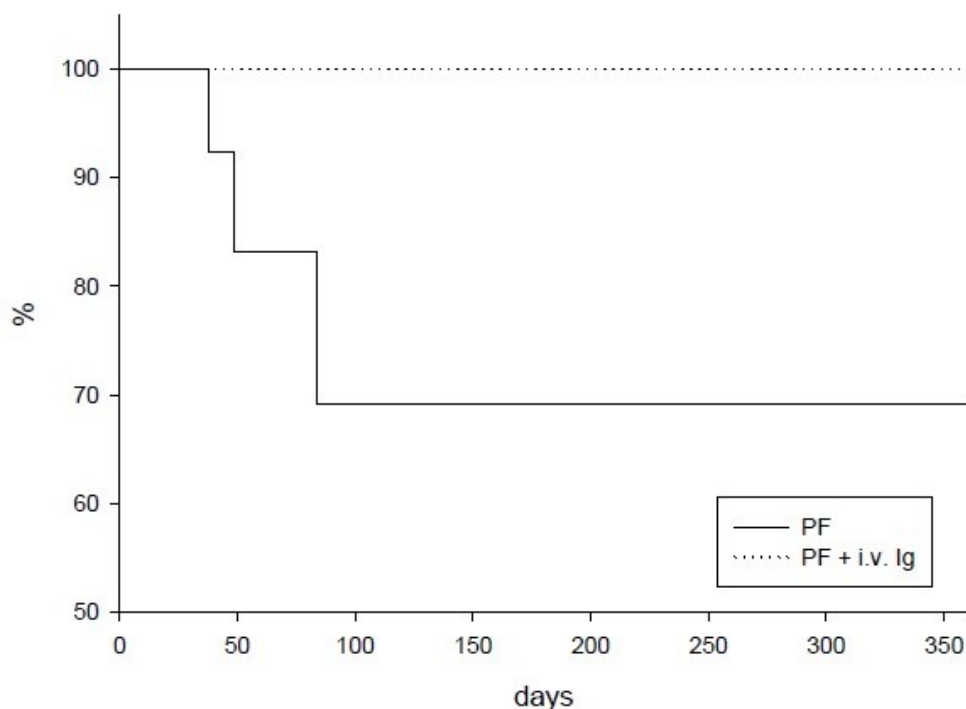
Obrázek 8: Přežívání štěpů podle druhu podávané léčby (PF vs. PF + IVIG)



Deset nemocných ze skupiny PF/IVIG mělo funkční štěp 1 rok po transplantaci a pouze 4 štěpy v skupině s PF byli funkční do 1 roku po transplantaci. Šest transplantovaných ledvin

ze skupiny PF bylo selhaných v prvním roce a 3 nemocní zemřeli. Pacienti léčení PF/IVIG měli trend k lepšímu přežívání pacientů ($p= 0,056$, Obrázek 9).

Obrázek 9: Přežívání pacientů podle druhu podávané léčby (PF vs. PF + IVIG)



Dva nemocní zemřeli na bronchopneumonii a 1 nemocný zemřel doma s funkčním štěpem na kardiovaskulární komplikaci. V obou skupinách jsme pozorovali stejný výskyt infekčních komplikací.

Co se týče pozitivivity C4d složky komplementu, tak obě skupiny měly v rebiopsiích podobný výskyt. Avšak nutno připomenout, že rebiopsie ve skupině PF/IVIG byly realizovány později vzhledem k lepšímu klinickému efektu.

Diskuse

Cílem naší retrospektivní monocentrické studie bylo porovnat dva terapeutické přístupy k léčbě AMR v období 2002–2006. Na základě neuspokojivých výsledků v letech 2002–2003 byl v roce 2004 změněn přístup k terapii kombinací PF a IVIG.

Kombinace léčby PF/IVIG byla jednoznačně účinnější, což se projevilo významně lepším přežíváním štěpů transplantovaných ledvin a snížením incidence akutní rejeckce v rebiopsiích. Výsledky jsou ovlivněny malým počtem našich nemocných, avšak z doposud publikovaných dat se jedná o práci s nejvyšším počtem léčených pacientů s diagnózou

AMR. AMR se vyskytla u nemocných ve vysokém imunologickém riziku. Patnáct pacientů ze 24 mělo PRA více než 50 % a 11 nemocných podstoupilo opakovanou transplantaci. Incidence AMR v naší studii byla nízká (2,8 %). Lehrich a kol. udávají 4,5 %, Rocha a kol, 5,6 %, Ibernón a kol. publikovali, že v letech 1999–2004 u 7 nemocných s diagnózou AMR prováděli denně PF a 3 nemocní byli léčeni kombinací PF/IVIG, 1 nemocný ke kombinaci PF/IVIG dostal ještě rituximab. Jednoleté přežívání pacientů bylo 100 %, přežívání štěpů 70 % a hodnota sérového kreatininu po léčbě byla 201 $\mu\text{mol/l}$. Uvedená data jsou podobná datům našim (Lehrich R.W. et al., 2005; Rocha A. et al., 2013; Ibernón M. et al., 2005) White a kol. popsali léčbu AMR v kombinaci PF/IVIG, takrolimus, mykofenolát mofetil, steroidy a indukce basiliximabem (White N.B. et al., 2004).

Na základě výše uvedených dat se za možnost léčby přijala kombinace PF a IVIG. Dlouhodobé studie prokázaly rychlou a účinnou léčbu nízkých hodnot anti-HLA protilátek pomocí IVIG (Jordan S.C. et al., 2004). Mechanismus účinku IVIG je komplexní: blokáce Fc receptoru, interferencí se aktivuje komplementová kaskáda, také ovlivňuje anti-idiotopové protilátky. Skutečnost, že IVIG detekují komplement (Feucht H.E. et al., 1993), je důležitá v léčbě rejekce. Ve vysokém dávkování IVIG (1–2 g/kg) potencují imunosupresivní léčbu, nízké dávky IVIG (0,1 g/kg) zlepšují nespecifickou imunitu po intenzivní imunosupresi. Další indikace IVIG v transplantační medicíně jsou desenzitizace (Jordan S.C., 2004; Jordan S.C. et al., 2006) nebo indukce u nemocných ve vysokém imunologickém riziku (Akalin E., Pascual M., 2006). Některá centra podávají hyperimunní gamaglobulin proti CMV místo IVIG a CMV profylaxi s ganciclovirem.

Závěr

Léčba kombinací PF a IVIG představuje bezpečnou a účinnou terapii akutní AMR. V současné době kombinace plazmaferéz a aplikace intravenózních imunoglobulinů v léčbě akutní AMR představuje standard léčby, což bylo potvrzeno i v KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) guidelines z roku 2010 pracovní skupinou odborníků v transplantační medicíně (Kasiske B.L. et al., 2010).

Článek byl publikován v časopise Therapeutic Apheresis and Dialysis. IF: 1,623

Plasmapheresis and Intravenous Immunoglobulin in Early Antibody-Mediated Rejection of the Renal Allograft: A Single-Center Experience. *Ther Apher Dialy*. 2009 Apr;13(2):108-112.

Kompletní znění článku je přiloženo v anglickém jazyce.

Plasmapheresis and Intravenous Immunoglobulin in Early Antibody-Mediated Rejection of the Renal Allograft: A Single-Center Experience

Janka Slatinska,¹ Eva Honsova,² Marcela Burgelova,¹ Antonij Slavcev,³
and Ondrej Viklicky¹

Departments of ¹Nephrology, ²Pathology and ³Immunology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

Abstract: Antibody-mediated rejection (AMR) is a rare complication which often results in the loss of the kidney graft. The objective of this retrospective single center study was to evaluate two different approaches to AMR. We retrospectively evaluated data files from 936 patients who had undergone renal transplantation in 2002–2006. In 2002–2003, patients with AMR were treated with five plasmapheresis sessions (PP group, $N = 13$), and in 2004–2006 they received five plasmapheresis session along with intravenous immunoglobulin 0.5 g/kg (PP+IVIg group, $N = 11$). Twelve months of follow-up data was analyzed. First year graft survival was significantly higher in the PP+IVIg group

than in the PP group (90.9% vs. 46.2%; $P = 0.044$); similarly, patient survival was higher in the PP+IVIg group (100% vs. 76.9%; $P = 0.056$). The incidence of infectious complications was similar in both groups. In re-biopsies, patients in the PP group often suffered from cellular rejection. The deposition of C4d complement was similar in re-biopsies in both groups. In this large single center study we proved the superiority of plasmapheresis with intravenous immunoglobulin administration in the treatment of early AMR of renal allografts. **Key Words:** Antibody-mediated rejection, Graft survival, Intravenous immunoglobulin, Patient survival, Plasmapheresis.

Previously described primary non-function of the renal allograft with biopsy-proven acute tubular necrosis without rejection may have involved cases with unrecognized antibody-mediated rejection (AMR), which has recently been shown to be a significant cause of renal graft loss. Deposition of C4d complement in peritubular capillaries, first described by Feucht et al. in 1993 (1), has been shown to have 95% sensitivity and specificity for the presence of circulating antibodies against HLA antigens of the recipient. Therefore, C4d staining has been considered to be a significant tool for the diagnosis of AMR.

Early AMR accounts for 5–10% of all acute rejections (2,3). The risk of renal graft loss is high and the one-year graft survival is low (15–50%) despite inten-

sive immunosuppression (4,5). The diagnosis of AMR is supported by histological verification staining, including peritubular capillary deposition of the C4d complement fragment (6) and confirmation of positive donor-specific antibodies. Early AMR (up to 14 days) and late humoral rejection represent two different pathological entities, and require different therapeutic approaches (7). As the outcome of treatment of AMR has not been satisfactory in the past, the aim of this study is to compare two approaches to the treatment of AMR since the C4d staining technique became available.

PATIENTS AND METHODS

From 1 January 2002 to 31 December 2006 there were 936 kidney transplant performed in our center, with AMR diagnosed in 26 patients (2.8%). Twenty-five patients received kidneys from deceased donors and one patient received a kidney from a living donor (her husband). For the purposes of this study we

Received March 2008; revised June 2008.

Address correspondence and reprint requests to Professor Ondrej Viklicky, Department of Nephrology, Transplant Center, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958/9, 140 21 Prague 4, Czech Republic. Email: ondrej.viklicky@medicon.cz

TABLE 1. Basic demographic data

	PP group	PP+IVIg group	P
AMR (N)	13	11	NS
Age (years)	50 ± 10.4 /28–62/	44 ± 10.9/26–59/	NS
Donor gender: male	11 (84.6%)	5 (45.45%)	0.082
HLA–A mismatch	1.2 ± 0.7	1.3 ± 0.7	NS
HLA–B mismatch	1.5 ± 0.8	1.4 ± 0.8	NS
HLA–DR mismatch	1.2 ± 0.7	1.1 ± 0.5	NS
Panel reactive antibodies (%)	48 ± 34 /12 ± 16	36 ± 41/22 ± 30	NS
Induction OKT 3	7/13	1/11	0.033
Induction ATG	0/13	5/11	0.011
Donor/recipient CMV (%)	15	36.4	NS
Living donor	1/13	0/11	NS
Deceased donor	12/13	11/11	NS
First Tx	8	5	NS
Second Tx	3	4	NS
Third Tx	2	2	NS
Dialysis therapy (years)	3.7 ± 2.7	2.8 ± 4.1	NS
Onset of AMR (POD)	9.2 ± 3.9	8.3 ± 2.2	NS
Cr at the time of biopsy (mg/dL)	5.58 ± 2.23	4.26 ± 2.38	NS
CrCl at the time of biopsy (mL/min)	15.6 ± 12	22.8 ± 14.4	NS
Cr after treatment (mg/dL)	3.08 ± 1.13	1.91 ± 0.52	0.005
CrCl after treatment (mL/min)	31.8 ± 13.2	45.6 ± 15	0.025
Complement C4d+ (%)	100	100	NS
CDCXM+ (%)	91.7	100	NS
FXCM+ (%)	84.6	100	NS
Tacrolimus	11	11	NS
Cyclosporine A	2	0	NS
Mycophenolate mofetil	12	11	NS
Rapamycin	1	0	NS

AMR, antibody-mediated rejection; ATG, antithymocyte globulin; CDCXM, cytotoxic crossmatch; CMV, cytomegalovirus; Cr, creatinine; CrCl, creatinine clearance; FXCM, flow cytometry crossmatch; HLA, human leukocyte antigen; IVIg, intravenous immunoglobulin; NS, non-significant; OKT3, anti-CD3 monoclonal antibody; POD, post-operative day; PP, plasmapheresis; Tx, transplant.

analyzed the follow-up of 24 patients treated either with plasmapheresis (PP) or PP plus intravenous immunoglobulin (IVIg). Two patients who received rituximab, an anti CD-20 monoclonal antibody, were excluded from the analysis.

The patients' demographic parameters in the two periods with different treatment approaches are shown in Table 1. Patients were treated with maintenance immunosuppression based on a combination of calcineurin inhibitor (CNI), either tacrolimus (0.2 mg/kg) or cyclosporine A (8 mg/kg), with mycophenolate mofetil (2000 mg/day) and corticosteroids. In the case of a higher panel reactive antibody (PRA) frequency (>50%), patients received induction therapy with antithymocyte globulin (ATG) or OKT3 (an anti-CD3 monoclonal antibody). Since 2005 the muromonab OKT3 has not been available in the Czech Republic and patients received ATG. In both cases of induction therapy the efficacy was evaluated by flow cytometry determined CD3-positive cell counts in the peripheral blood that were <50 CD3+ cells/μL at the end of prophylaxis. Concomitant acute T-cell mediated rejections were treated with methylprednisolone or ATG.

Histology

Biopsy was indicated when either the graft function had not developed by postoperative days 5–7, the serum creatinine stagnated, or graft function had deteriorated. Patients signed their informed consent for the procedure one day before the biopsy, which was performed under ultrasound control, using a 14G biopsy guide needle. The diagnosis was based on histological verification according to the Banff classification (8,9).

The diagnosis of early AMR was based on verification of the C4d complement fragment in graft biopsies, along with detection of donor-specific antibodies. C4d was stained by anti-C4d monoclonal antibodies (Quidel, San Diego, CA, USA) on the frozen section by an indirect two-layer immunofluorescence method or by the immunoperoxidase technique on paraffin sections (Biomedika Gruppe Austria, Vienna, Austria).

Verification of donor-specific antibodies

DSA were detected either by cytotoxic crossmatch (CDCXM) or by flow cytometry crossmatch (FCXM). These tests were carried out at the same time as the

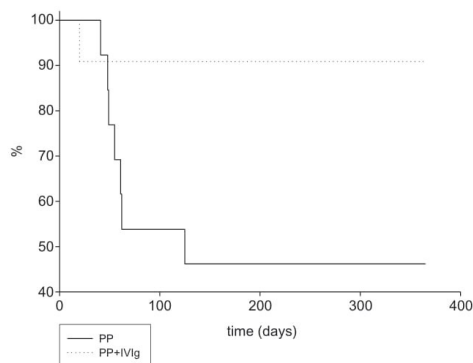


FIG. 1. Graft survival. Patients receiving the plasmapheresis (PP) and intravenous immunoglobulin (IVIg) combination had better one-year graft survival than those treated using only PP. $P = 0.044$.

histology. The advantage of CDCXM is its quick availability, while FCXM is an accurate analytical method. Non-HLA antibodies were not analyzed.

Treatment of AMR

The aim of this study was to evaluate the efficacy of treatment of AMR in two periods using different approaches. In 2002–2003 the patients were treated with five cycles of PP, while in 2004–2006 they received a combination of five PP cycles followed by IVIg 0.5 g/kg.

Plasmapheresis was performed on a Prisma system (Gambro Dasco, Medolla Italy) with a high-permeability capillary filter. Separated plasma was substituted by human 20% albumin Ringer-lactate solution. Polyvalent human lyophilized immunoglobulin produced from plasma (Endobulin; Baxter-Immuno, Vienna, Austria) was used as the IVIg. Patients with AMR and acute cellular rejection received methylprednisolone along with PP or PP AND IVIg, and in cases of type IIb and III acute vascular rejection (according to the Banff 97 classification system) they received antithymocyte globulin.

Statistical analysis

Basic statistic parameters such as the absolute and relative frequencies, mean, and tendency excursion were calculated for the purpose of descriptive data analysis. Survival curves were estimated using the Kaplan–Meier method. Agreement between the groups was tested using the log-rank test. The difference between groups was analyzed by the χ^2 -test for discrete values and by the Student's t -test for continuous values. All statistical tests were two-sided and

the data were evaluated according to the level of significance $\alpha = 5\%$; therefore a value of $P < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Antibody-mediated rejection was observed in 26 of the 936 patients who had undergone kidney transplantation during the period 2002–2006. In 2002–2003 AMR was treated using PP in 13 out of 350 renal transplant recipients, while in 2004–2006 it was treated using a combination of PP and IVIg in 11 out of 586 recipients, and in two patients PP, IVIg and rituximab were used. Patients receiving the PP/IVIg combination had better one-year graft survival than those treated using the earlier regimen. Ten (90.9%) grafts treated for AMR with PP and IVIg were functioning, while only four (30.8%) grafts were functioning in the group treated with PP at the end of the first year post-transplant ($P = 0.044$, Fig. 1). Six grafts in the PP-treated group failed and three patients died. In the PP+IVIg group there was a higher tendency toward patient survival than in the PP group (Fig. 2). All patients treated with PP and IVIg survived the first year, while three patients in the PP group died within the first year ($P = 0.056$; Fig. 2), two from fulminant bronchopneumonia and one patient with a functioning graft died at home, most likely of cardiovascular complications. AMR treatment was associated with similar rates of infectious complications (Table 2).

We analyzed the histological findings of the re-biopsies after AMR treatment. Patients in the PP group suffered from cellular rejection in

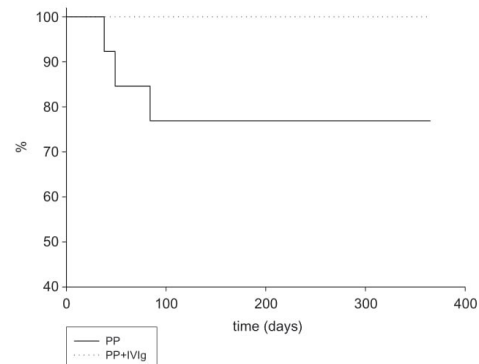


FIG. 2. Patient survival. Patients treated with combination plasmapheresis (PP) and intravenous immunoglobulin (IVIg) had better survival than patients treated only with PP. $P = 0.056$.

TABLE 2. Infectious complications after treatment of antibody-mediated rejection

	PP		PP+IVIg		P
	N	%	N	%	
CMV infection	1	7.7	1	9.1	NS
Pneumonia	3	23.1	1	9.1	NS
PN/UTI	3	23.1	3	27.3	NS
Herpes zoster	2	15.4	0	0	NS
Others	0	0	1	9.1	NS

CMV, cytomegalovirus; IVIg, intravenous immunoglobulin; NS, not significant; PN, pyelonephritis; PP, plasmapheresis; UTI, urinary tract infection.

the re-biopsies more often than those in the PP+IVIg group (Table 3), and C4d deposition was similar in the re-biopsies in both groups. Because of the better clinical effect of PP and IVIG treatment, the re-biopsies were performed later in this group.

DISCUSSION

The aim of this large single-center retrospective study was to compare two approaches in AMR treatment used during the period 2002–2006. Due to the poor outcome in the treatment of AMR in 2002–2003, the therapeutic strategy was changed in 2004 to combine PP with the administration of IVIg.

The combination of PP and IVIg treatments was clearly more efficacious. This was reflected in better graft survival and a lower incidence of acute rejection in re-biopsies. It is obvious that the results may have been influenced by the small numbers of individuals in both groups; however, based on our knowledge, this study is the largest published to date. AMR occurs mostly in patients at high immunologic risk. In 15 out of the 24 patients, the PRA frequency was higher than 50% and 11 patients received second or third transplants.

The incidence of AMR in our study was low (2.8%, 26 patients). Lechrich et al. (9) reported an incidence of 4.5% (23 patients) while Rocha et al. (10) reported an incidence of 5.6% (16 patients). Ibernón et al. (11) came to a similar conclusion. In 1999–2004 seven patients with AMR were treated with daily PP and three patients with the combination of PP and IVIg. In one case, PP and IVIg therapy was supplemented with rituximab. The one-year patient survival was 100%, graft survival was 70% and serum creatinine after the treatment was 201 $\mu\text{mol/L}$. These data are similar to ours. White et al. (12) describes AMR treatment with patients who received PP, IVIg, tacrolimus, mycophenolate mofetil, steroids, and basiliximab induction therapy.

Based on these results, plasmapheresis and intravenous immunoglobulin (IVIg) has been adopted as a therapy of choice for AMR. The question remains as to how the improved outcomes after IVIg administration can be explained. Studies have shown that IVIg treatment lowers the level of anti-HLA antibodies quickly, effectively and in the long term (13). The mechanism of this effect is complex and involves blocking of Fc receptors and interference with complement activation, cytokine activity, and the effect of anti-idiotypic antibodies. The fact that IVIg may detect complement (1) is also important for the treatment of rejection. Besides the immunosuppressive effect of higher dosages (1–2 g/kg), some authors use small dosages of IVIg (0.1 g/kg) to improve non-specific body immunity during intensive immunosuppression. Other indications for IVIg treatment in renal transplantation have been shown to be desensitization (14,15) and induction therapy after renal transplantation in highly sensitized patients (16). Some centers administer hyper-immune gamma-globulin against CMV instead of IVIg and CMV prophylaxis with ganciclovir (3).

TABLE 3. Histological findings within the first diagnostic biopsies and second biopsies after completing the treatment

Histological findings	PP	PP+IVIg	P	PP	PP+IVIg	P
	1st biopsy	1st biopsy	1st biopsy	2nd biopsy	2nd biopsy	2nd biopsy
Biopsy (POD)	9.2 \pm 3.9	8.3 \pm 2.2	NS	17.2 \pm 17.7	63.2 \pm 54.0	0.011
N	13	11	NS	12	10	NS
C4d positive (%)	100	100	NS	83.3	36.4	NS
AMR/ATN-like	9/69.2%	4/36.4%	NS	4/33.3%	1/10%	NS
AMR/AR IA	0/0%	1/9.1%	NS	3/25%	0/0%	NS
AMR/AR IIA	2/15.4%	3/27.3%	NS	2/16.7%	2/20%	NS
AMR/AR IIB	1/7.7%	2/18.2%	NS	0/0%	0/0	NS
AMR/AR III	1/7.7%	1/9.1%	NS	0/0%	1/10%	NS
AR positive (%)	30.8	63.7	NS	41.7	30	NS
AR II + III (%)	30.8	54.6	NS	16.7	30	NS

AMR, antibody-mediated rejection; AR, acute cellular rejection; ATN, acute tubular necrosis; IVIg, intravenous immunoglobulin; NS, non-significant; POD, postoperative day; PP, plasmapheresis.

CONCLUSION

The combination of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin administration is considered to be a safe and effective treatment of early AMR. Because of the rare incidence of AMR, single-center case reports are more likely to be made available than prospective controlled trials.

Acknowledgments: The authors would like to thank Vera Lanska and Irena Brabcova for their help with the manuscript preparation. Supported by grant NR/9388-3 awarded by the Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health.

REFERENCES

1. Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G et al. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int* 1993;43:1333-48.
2. Feucht HE. Complement C4d in graft capillaries-the missing link in the recognition of humoral alloreactivity. *Am J Transplant* 2003;3:646-52.
3. Connie L, Davis MD. Core curriculum in nephrology, transplant: immunology and treatment of rejection. *Am J Kidney Dis* 2004;6:1116-34.
4. Halloran PF, 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;49:85-91.
5. Halloran PF, Schlaut J, Solez K, Srinivasa NS. The significance of the anti-class I antibody response. II. Clinical and pathologic features of renal transplants with antibody. *Transplantation* 1992;53:550-5.
6. Mauyyedi S, Colvin RB. Humoral rejection in kidney transplantation: new concept in diagnosis and treatment. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;602-18.
7. Mauyyedi S, Crespo M, Collins AB et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:779-87.
8. Sun Q, Liu ZH, Ji S et al. Late and early C4d-positive acute rejection: different clinico-histopathological subentities in renal transplantation. *Kidney Int* 2006;70:377-83.
9. Lehrich RW, Rocha PN, Reinsmoen N et al. Intravenous immunoglobulin and plasmapheresis in acute humoral rejection: experience in renal allograft transplantation. *Hum Immunol* 2005;66:350-8.
10. Rocha PN, Butterfly DW, Greenberg A et al. Beneficial effect of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin on renal allograft survival of patients with acute humoral rejection. *Transplantation* 2003;75:1490-5.
11. Ibernon M, Gil-Vernet S, Carrera M et al. Therapy with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin for acute humoral rejection in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2005;37:3743-5.
12. White NB, Greenstein SM, Cantafio AW et al. Successful rescue therapy with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin for acute humoral renal transplant rejection. *Transplantation* 2004;78:772-4.
13. Jordan S, Cunningham-Rundles C, McEwan R. Utility of intravenous immune globulin in kidney transplantation: efficacy, safety, and cost implication. *Am J Transpl* 2003;3: 653-64.
14. Jordan S, Pescovitz MD. Presensitization: the problem and its management. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:421-32.
15. Jordan S, Tyan D, Stablein D et al. Evaluation of intravenous immunoglobulin as an agent to lower allosensitization and improve transplantation in highly sensitized adult patients with end-stage renal disease: report of the NIH IGO2 trial. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:3256-62.
16. Akalin E, Pascual M. Sensitization after kidney transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:433-40.

6.2 Účinnost a bezpečnost léčby bortezumibem v léčbě refrakterní akutní protilátkami-zprostředkované rejekce – pilotní studie

Úvod

Cílem naší studie bylo analyzovat účinnost a bezpečnost podání bortezumibu a rituximabu v léčbě refrakterní (rezistentní) AMR. Rezistentní AMR je definována perzistující zhoršenou funkcí renálního štěpu i přes léčbu PF s aplikací IVIG a intravenózního podání kortikosteroidů.

Imunosupresivní protokol léčby rezistentní AMR zahrnuje podání bortezumibu (1 cyklus představuje 4x podání bortezumibu v dávce 1,3 mg/kg) před každou PF, 1 dávky rituximabu (375 mg/m²) a intravenózní podání malé dávky kortikosteroidů, jak bylo dříve publikováno (Walsh C.R. et al., 2012). V období od 1/2012 do 6/2015 bylo v našem TC provedeno 772 transplantací ledviny a akutní refrakterní AMR jsme diagnostikovali u 23 pacientů (3 %).

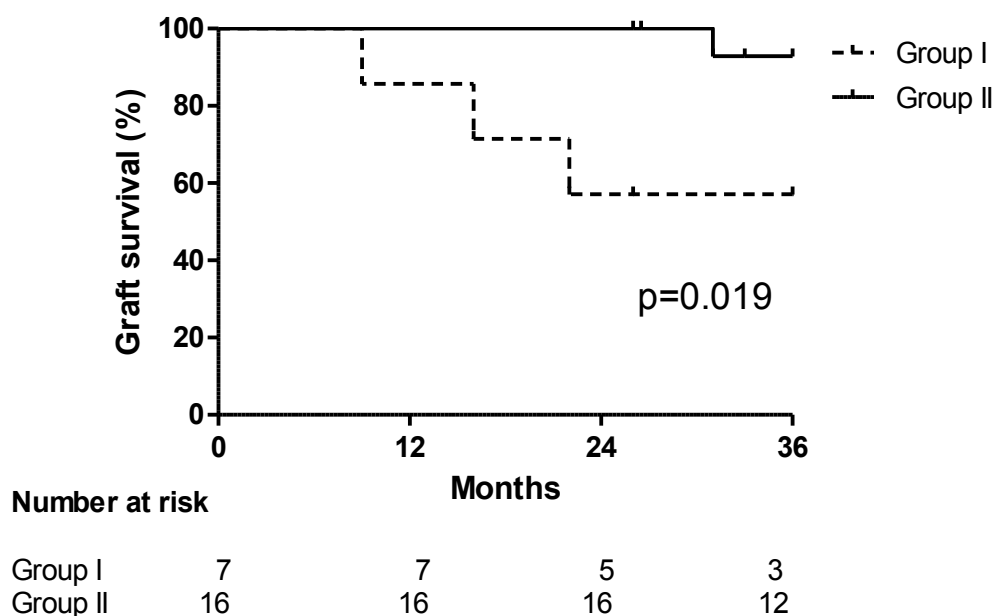
Metodika

U dárců i nemocných byla HLA typizace provedena metodou PCR na lokusech A, B, DR a DQ. Dvacet nemocných podstoupilo opakovanou transplantaci (druhou transplantaci 10 nemocných, třetí 6 pacientů, a čtvrtou transplantaci 4 nemocní). Udržovací imunosupresi měli všichni nemocní v kombinaci takrolimus, mykofenolát mofetil nebo mykofenolát sodný a kortikosteroidy. Všichni nemocní měli negativní komplement-dependentní crossmatch (CDC) před transplantací. V době diagnózy rezistentní akutní AMR mělo 52 % pozitivní CDC test. Průtokovou cytometrii jsme potvrdili pozitivitu na T-buňkách u 56,5 % a na B-buňkách u 91,3 % nemocných. DSA detekce byla provedena metodikou single bead assay protilátkam proti HLA-A, B, DR a DQ antigenů. Všechna séra byla ošetřena metodou EDTA kvůli eliminaci pro-zone efektu. Byly stanovené hodnoty positivity: HLA I. třídy 1 000 MFI a II. třídy 2 000 MFI.

Podle renální funkce byli nemocní rozděleni do 2 skupin: první skupinu tvořili nemocní, u kterých jsme po 6 měsících léčby bortezumibem v době zaznamenali vzestup sérového kreatininu o víc než 25 % oproti hodnotě v době diagnózy akutní rezistentní AMR, druhou skupiny tvořili nemocní se stabilní renální funkcí. Skupinu 1 tvořilo 7 pacientů, u kterých bylo v porovnání se skupinou 2 (16 nemocných) významně horší 3leté přežívání štěpu ($p = 0,019$), Obr. 1.

Výsledky

Obr. 1: Přežívání štěpů: progresoři vs non-progresoři



V rizikové kohortě progresorů byla většina pacientů mužského pohlaví, statistickou analýzou jsme nepotvrdili rozdíly v HLA neshodách, HLA mismatchích, době dialýzy či době nástupu rozvoje funkce transplantované ledviny.

Diagnóza byla založena dle Banffské klasifikace z roku 2011 (Mengel M. et al., 2012). Časná akutní AMR byla diagnostikována nejdéle 3 měsíce po transplantaci ledviny. Pacienti s diagnózou refrakterní AMR byli nejprve léčeni konvenční léčbou AMR: 5 cyklů PF + 5 dávek IVIG (0,5 g/kg). V případě selhání konvenční léčby byl použit protokol s borteomibem a rituxiambem. Z nežádoucích účinků léčby nejčastěji dominovaly hematologické komplikace: trombocytopenie (78,3 %), leukopenie (56,5 %), dále to byly častější močové infekce (34,8 %) a septické stavy (30,4 %). Závažnou komplikací byla polyneuropatie dolních končetin, která byla prokázána u 6 pacientů, pouze u 2 nemocných došlo k vyléčení nemoci. Léčebný protokol s borteomibem byl pacienty dobře tolerován, bez průkazu závažných oportunních infekcí či maligních onemocnění.

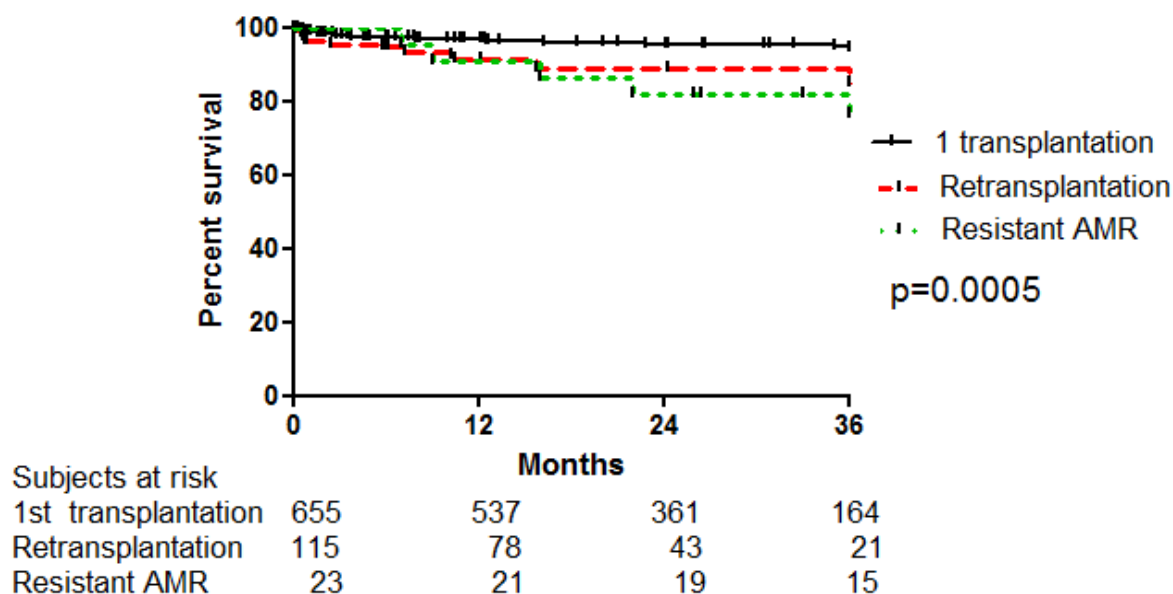
Po léčbě bortezomibem jsme pozorovali signifikantní pokles DSA ve HLA třídě B ($p = 0,004$) a HLA třídě DR ($p = 0,0005$), léčba neovlivnila HLA třídu A ($p = 0,106$) a HLA ve třídě DQ ($p = 0,18$) (Wilcoxon-matched pairs-signed rank test).

Všechna séra byla předpřipravená s EDTA k vyloučení pro-zone efektu (rozlišení poklesu DSA v I. třídě, DR a DQ). Analogické výsledky s deplecí (de novo) DSA byly publikovány Touzot a kol., kteří pozoroval snížení DSA-DR, ale nedošlo k poklesu DS-DQ protilátek (Touzot M. et al., 2015).

Přežívání štěpů ledvin s diagnózou akutní rezistentní AMR (skupina I vs. skupina II) je zobrazeno ve obr. 10. Nemocní s dobrou klinickou odpovědí (skupina II) měli signifikantně lepší přežívání štěpu ($p = 0,019$). Pacienti s přetrvávající zhoršenou funkcí (elevace sérového kreatininu) (skupina I) měli závažnou nefrotickou proteinurii.

Křivka přežívání štěpů po léčbě akutní rezistentní AMR vs. přežívání nemocných, kteří podstoupili retransplantaci je srovnatelná ($p = 0,159$). Statisticky byl potvrzen rozdíl ve 3letém přežívání transplantovaných štěpů po první transplantaci a přežívání štěpů po léčbě rezistentní AMR ($p = 0,006$), taktéž jsme potvrdili významný rozdíl ve 3letém přežívání štěpů po 1. transplantaci a retransplantacích ($p = 0,0132$) (Obr. 2).

Obr. 2: Tříleté přežívání štěpů: 1. transplantace, retransplantace a pacienti léčení pro rezistentní AMR



Diskuse

Bortezomib je inhibitor proteasomů, který je registrován k léčbě mnohočetného myelomu. Inhibuje produkci protilátek plazmatickými buňkami, apoptózu buněčného cyklu a snižuje počet plazmatických buněk v kostní dřeni. Jeho první použití v transplantační medicíně bylo uveřejněno v roce 2009 (Trivedi H.L. et al., 2009). Trivedi s Terasakim použili bortezomib u indických pacientů, kteří neměli prostředky na pořízení imunosuprese. Transplantované ledviny byly funkční i bez imunosupresiv, nicméně absence biopsií a abnormální renální funkce vylučuje generalizaci tohoto pilotního pozorování. Druhou zkušenost s bortezomibem publikovali autoři této komentované práce v roce 2008. Nejdříve bortezomib s úspěchem použili pro léčbu refrakterních rejekcí (Everly M.J. et al., 2008). Jejich pozitivní výsledky pak vyústily ve změnu schématu s tím, že se rozhodli použít modifikovaný protokol bortezomib-plazmaferézy-rituximab jako léčbu první linie i pro případy akutní, protilátkami zprostředkované rejekce s cílem zamezit chronickým změnám.

Sbero-Soussan a kol. v roce 2010 použili pouze 1 dávku bortezomibu v léčbě AMR (bez dalších terapeutických intervencí), avšak 5 měsíční sledování nezaznamenalo signifikantní pokles MFI DSA. Inhibice proteasomu samostatně nezabezpečuje dostatečnou modulaci anti-HLA protilátek, pokud necílíme na snížení tvorby prekurzorů B buněk nebo cytokinů (Sbero-Soussan R. et al., 2010).

Gonzales a kol. podávali 32 dávek bortezomibu u 10 sensitizovaných nemocných před zvažovanou transplantací od žijících dárců. Osmdesát procent pacientů po desensitizaci, která trvala téměř 3 roky, podstoupilo transplantaci, není však jasné zda-li možnost provedení transplantace (pokles DSA, BFXM <300 kanálového posunu) souviselo s léčbou bortezomibem. Třicet dva dávek bortezomibu v monoterapii bylo asociováno s poklesem anti-HLA protilátek, avšak vzhledem k závažné toxicitě a intoleranci uvedená léčba se nedoporučuje k rutinní desensitizaci. Na základě publikovaných prací se bortezomib jeví jako potenciálně vhodný k desensitizační léčbě v kombinaci s jinými terapeutickým prostředky (PF + IVIG + rituximab), avšak pro závažné vedlejší účinky (polyneuropatie, trombocytopenie, neutropenie) v současné době neexistují data z klinických studií, které by podporovali jeho využití (Gonzales M.A. et al., 2017).

Závěr

Terapeutický protokol založený na podávání bortezomibu při léčbě rezistentní AMR byl bezpečný a dobře tolerován. Nepozorovali jsme život ohrožující komplikace jako oportunní infekce nebo maligní onemocnění.

Střední doba přežívání štěpů nemocných s akutní rezistentní AMR byla srovnatelná s přežíváním štěpů po opakovaných transplantacích.

Podávání bortezomibu v kombinaci s rituximabem a plazmaferézami bylo účinné ke snížení hodnot DSA-B a DSA-DR, ale nebylo dostatečně účinné ke snížení dárcovskyspecifických protilátek DSA-A a DSA-DQ.


Vzhledem k možné toxicitě bortezomibu je použití v léčbě značně limitováno.

Článek byl publikován v časopise HLA. IF: 1,0

Efficacy and safety of BORTEZOMIB treatment for refractory acute antibody-mediated rejection – a pilot study. HLA 2018 Dec;92 Suppl (2):47-50.

Kompletní znění článku je přiloženo v anglickém jazyce.

BRIEF COMMUNICATION

Efficacy and safety of BORTEZOMIB treatment for refractory acute antibody-mediated rejection—a pilot studyJanka Slatinska¹ | Antonij Slavcev²  | Eva Honsova³ | Petra Hruby⁴ | Iva Kratochvilova² | Tomas Rohal¹ | Ondrej Viklicky^{1,4}¹Department of Nephrology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic²Department of Immunogenetics, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic³Department of Clinical and Transplantation Pathology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic⁴Transplant Laboratory, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic**Correspondence**Janka Slatinska, MD, FEBTM, Department of Nephrology, Transplant Centre, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videnska 1958/9, Prague 140 21, Czech Republic.
Email: janka.slatinska@ikem.cz**Funding information**

Ministerstvo Zdravotnictví České Republiky, Grant/Award Number: 00023001

A novel therapeutic approach to refractory acute antibody-mediated rejection (AMR) in kidney transplant recipients was applied in 23 patients based on administration of Bortezomib, intravenous corticosteroids, plasmapheresis and Rituximab. Application of Bortezomib regimen led to diminishing of donor-specific antibodies (DSA) to HLA-B ($P = 0.004$) and HLA-DR ($P = 0.0005$), but not to HLA-A ($P = 0.106$) and HLA-DQ antigens ($P = 0.18$). Patients with good clinical response to treatment had significantly better allograft survival than recipients with continuing deterioration of graft function ($P = 0.019$). Graft survival after therapy of refractory AMR was significantly worse than survival after first transplantation and was comparable with outcomes after retransplantation. In conclusion, therapy with Bortezomib was well tolerated and effective in decreasing the levels of HLA-B and -DR antibodies, however, was not successful in depleting HLA-A and -DQ DSA.

KEYWORDS

antibody-mediated rejection, Bortezomib, donor-specific antibodies, intravenous immunoglobulins, plasmapheresis

Antibody-mediated rejection (AMR) remains one of the major barriers to successful long-term kidney graft survival.¹ Diagnosis of AMR is defined by specific histopathologic characteristics (glomerulitis, arterial-transmural lesions, etc.), C4d complement deposits in peritubular capillaries and presence of circulating donor-specific antibodies (DSA).^{2,3} Due to the fact that C4d deposits may be absent in approximately half of confirmed cases of AMR, DSA are now considered a reliable biomarker of AMR.^{4–6} In addition, the ability of DSA to bind the C1q complement component may provide clinically relevant information about graft prognosis.⁷ The Banff meeting report from 2011 suggested that AMR can be differentiated into two separate phenotypes³: early AMR develops shortly after transplantation (1–2 weeks) in presensitized patients, whereas late AMR occurs after longer period and is associated with production of de

novo DSA. Late AMR is a frequent complication in non-compliant patients or in recipients with suboptimal immunosuppression. These cases are often related to poor graft outcome and uncertain antirejection responses.⁸

The aim of our study was to analyze the efficacy and safety of administration of Bortezomib and Rituximab in treatment of refractory (resistant) AMR. Resistant AMR was defined by persisting clinical deterioration of graft function in spite of application of plasmapheresis, intravenous immunoglobulins (IVIg) and corticosteroids. The immunosuppressive protocol for resistant AMR consisted of Bortezomib (one cycle of four doses of Bortezomib [1.3 mg/m^2]), small doses of intravenous corticosteroids, plasmapheresis before each Bortezomib dose and one dose of Rituximab (375 mg/m^2) as described by Walsh.⁹ Out of 772 kidney transplants performed between January 2012 and June 2015,

23 recipients (3%) were diagnosed with resistant acute AMR. The demographic characteristics of our cohort are shown in Table 1. Kidney transplant patients were HLA typed by the polymerase chain reaction-sequence-specific oligonucleotide probes (PCR-SSOP) technique (intermediate resolution) for A, B and DR loci. Organ donors were HLA typed by PCR-sequence-specific primers (SSP) (low resolution) for A, B, DR and DQ loci. Twenty (87%) patients underwent retransplantation (10—second, 6—third and 4—fourth transplantation). Maintenance immunosuppression included tacrolimus, mycophenolate mofetil/or mycophenolate sodium and corticosteroids. All patients had negative complement-dependent cytotoxic (CDC) crossmatch before transplantation. At the time of diagnosis of resistant acute AMR, the CDC crossmatch was positive in 52% of patients. Flow-cytometry crossmatch (FCXM) was positive on T-cells in 56.5% of patients and in 91.3% on B-cells. DSA were identified using the single antigen bead assay (One Lambda, Canoga Park, California). The presence and specificity of antibodies to HLA-A, -B, -DR and -DQ antigens were determined (Table 1). For elimination of the pro-zone effect, all

patient sera were pretreated with EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid). The cut-offs for positivity of the single antigen assay were for class I—1000 mean fluorescence intensity (MFI) and for class II—2000 MFI, which were previously validated in the laboratory.

Kidney recipients were divided into two groups according to renal function. Patients with increasing serum creatinine levels more than 25% in comparison with baseline concentrations during the first 6 months after therapy with Bortezomib, were included in group I (n = 7), while the remaining comprised group II (n = 16). Interestingly, 85.7% of patients in group I were males. No significant differences in demographic characteristics such as HLA mismatches, panel-reactive antibodies (PRA), duration of dialysis, delayed graft function, etc. between the two cohorts were found (Table 2). Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics (1200) version 19.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). The Mann-Whitney *U* test, Fisher's exact test and log-rank tests were applied.

The diagnosis of AMR was based on histological verification according to the Banff 2011 report.³ Early-onset (acute) AMR was diagnosed at ≤ 3 months after kidney transplantation. Patients with refractory AMR first received conventional plasmapheresis treatment (PP) and IVIG. Protocol based on Bortezomib and Rituximab was administered

TABLE 1 Patients with resistant acute AMR—demographic data

Resistant acute AMR	n = 23
Donor age	47.7 \pm 10.2 (27-60)
Recipient age	47.4 \pm 8.7 (34-64)
Recipient gender male (%)	74
HLA-A mm	1.4 \pm 0.6
HLA-B mm	1.5 \pm 0.6
HLA-DR mm	1.2 \pm 0.6
PRA (%) highest (median)	52 (0-100)
PRA (%) last (median)	36 (0-98)
Donor-specific class I antibodies before transplantation (>1000 MFI) (n%)	14/60.9
Donor-specific class II antibodies before transplantation (>2000 MFI) (n%)	17/74
Induction Basiliximab	1/23
Induction thymoglobulin	22/23
CMV mismatch (%)	8.7
First transplantation	3/23 (13%)
Re-transplantation	20/23 (87%)
Living donors	2/23 (8.7%)
Deceased donors	21/23 (91.3%)
CIT (hours) median	16.9 (0.6-27.9)
Dialysis therapy (years) median	6 (0-17)
DGF (%)	26.1
AMR onset (day) median	14 (7-60)
CDC crossmatch	12/23 (52.2%)
FCXM T +	13/23 (56.5%)
FCXM B +	21/23 (91.3%)

Abbreviations: AMR, antibody-mediated rejection; CDC, complement-dependent cytotoxicity; CIT, cold ischemia time; CMV, cytomegalovirus; DGF, delayed graft function; FCXM, flow cytometry crossmatch performed on T / or B lymphocytes; MFI, mean fluorescence intensity; mm, mismatch; PRA, panel-reactive antibodies as defined by the complement-dependent cytotoxicity test.

TABLE 2 Comparison of demographic data of patient group I vs patient group II

	Group I n = 7	Group II n = 16	P
Donor age	50 \pm 10.4 (32-60)	46.8 \pm 10.3 (27-60)	n.s.
Recipient age	42.3 \pm 6.6 (34-54)	49.6 \pm 8.8 (32-64)	0.0225
Male gender (%)	85.7	68.7	n.s.
HLA-A mm	1.4 \pm 0.8	1.4 \pm 0.5	n.s.
HLA-B mm	1.4 \pm 0.8	1.6 \pm 0.5	n.s.
HLA-DR mm	1.4 \pm 0.5	1.1 \pm 0.6	n.s.
PRA highest (%) median	36	65	n.s.
PRA last (%) median	24	37	n.s.
Induction Basiliximab	0/7 (0%)	1/16 (6.2%)	n.s.
Induction thymoglobulin	7/7 (100%)	15/16 (92.8%)	n.s.
CMV mismatch (%)	28.6	0	n.s.
First transplantation	0/7 (0%)	2/16 (12.5%)	n.s.
Re-transplantation	7/7 (100%)	14/16 (87.5%)	n.s.
CIT (hours) median	17.6 (16.1-27.9)	16.4 (0.6-21)	n.s.
Dialysis therapy (years) median	7.6 (1.4-13)	3 (0-12)	n.s.
DGF (%)	28.6	25	n.s.
AMR onset median (days)	13 (8-60)	14 (7-36)	n.s.
CDC crossmatch	5/7 (71.4%)	7/16 (43.8%)	n.s.
FCXM T	5/7 (71.4%)	8/16 (50%)	n.s.
FCXM B	6/7 (85.7%)	15/16 (93.8%)	n.s.

Abbreviation: AMR, antibody-mediated rejection; CDC, complement-dependent cytotoxicity; CIT, cold ischemia time; CMV, cytomegalovirus; DGF, delayed graft function; FCXM, flow cytometry crossmatch performed on T/or B lymphocytes; mm, mismatch; n.s., non significant; PRA, panel-reactive antibodies as defined by the complement-dependent cytotoxicity test.

TABLE 3 Adverse effects of Bortezomib treatment

AMR	n = 23 (%)
Thrombocytopenia	18/23 (78.3)
Leucopenia	13/23 (56.5)
UTI	8/23 (34.8)
Sepsis	7/23 (30.4)
Polyneuropathy	6/23 (26.1)
Fluid retention	5/23 (21.7)
CMV replication	4/23 (17.4)
BKV replication	3/23 (13)
Diarrhea	3/23 (13)
Hepathopathy	3/23 (13)
Pneumonia	3/23 (13)

Abbreviation: AMR, antibody-mediated rejection; BKV, BK virus; CMV, cytomegalovirus; UTI, urinary tract infection.

after failure of conventional treatment. The adverse effects of Bortezomib treatment are shown in Table 3. Dose modifications/discontinuation for adverse events was infrequent. Thrombocytopenia was the most common hematologic toxicity. New onset peripheral neuropathy was mild and completely resolved in all but two patients. Bortezomib-based protocols were generally well tolerated, while opportunistic infections and malignancies were not observed.

After Bortezomib treatment, we observed a significant decrease of DSA to HLA-B ($P = 0.004$) and HLA-DR ($P = 0.0005$), but not to HLA-A ($P = 0.106$) and HLA-DQ

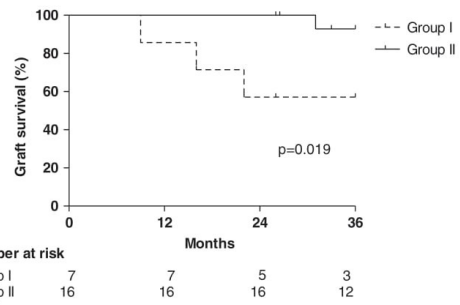


FIGURE 2 Allograft survival of patients with acute refractory antibody-mediated rejection (AMR): group I vs group II

antigens ($P = 0.18$) (Wilcoxon-matched pairs-signed rank test) (Figure 1A-D). Due to the fact that all sera were pre-treated with EDTA, it can be ruled out that the differential decrease of class I, DR and DQ-DSA might have been caused by the pro-zone effect. Interestingly, analogous results of depletion of (de novo) produced DSA after antirejection treatment were also reported by Touzot et al, who observed elimination of DSA-DR, but not DSA-DQ antibodies.¹⁰ The allograft survival of patients with acute resistant AMR (group I vs group II) is shown in Figure 2. Patients with good clinical response (group II) had significantly better allograft survival ($P = 0.019$). Recipients with

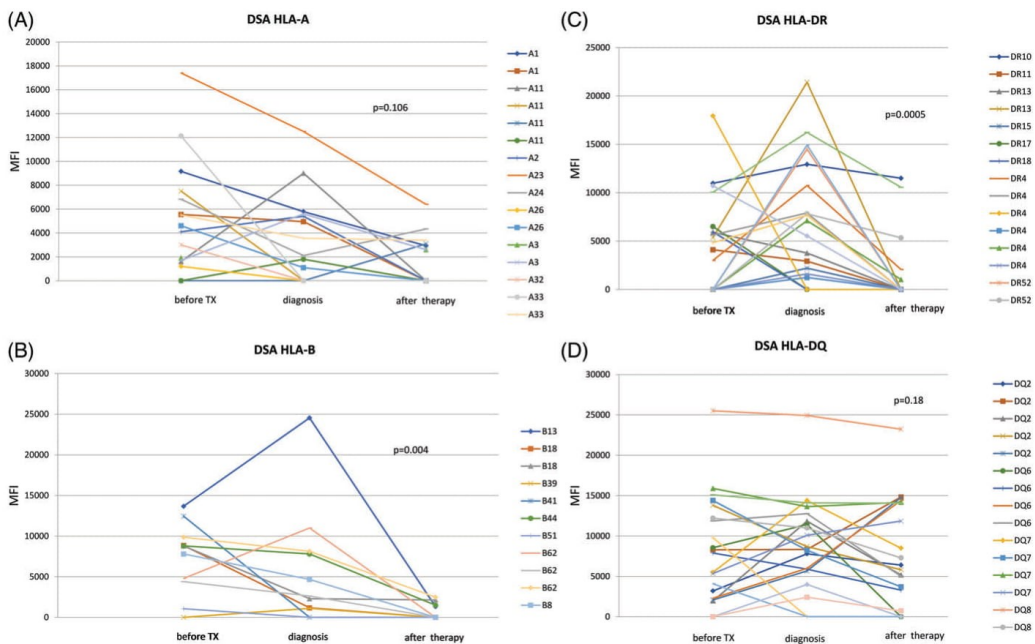


FIGURE 1 Mean fluorescent intensities (MFI) of donor-specific antibodies to HLA-A (A), HLA-B (B), HLA-DR (C) and HLA-DQ (D) antigens before transplantation, at diagnosis of antibody-mediated rejection and after treatment with Bortezomib

TABLE 3 Adverse effects of Bortezomib treatment

AMR	n = 23 (%)
Thrombocytopenia	18/23 (78.3)
Leucopenia	13/23 (56.5)
UTI	8/23 (34.8)
Sepsis	7/23 (30.4)
Polyneuropathy	6/23 (26.1)
Fluid retention	5/23 (21.7)
CMV replication	4/23 (17.4)
BKV replication	3/23 (13)
Diarrhea	3/23 (13)
Hepathopathy	3/23 (13)
Pneumonia	3/23 (13)

Abbreviation: AMR, antibody-mediated rejection; BKV, BK virus; CMV, cytomegalovirus; UTI, urinary tract infection.

after failure of conventional treatment. The adverse effects of Bortezomib treatment are shown in Table 3. Dose modifications/discontinuation for adverse events was infrequent. Thrombocytopenia was the most common hematologic toxicity. New onset peripheral neuropathy was mild and completely resolved in all but two patients. Bortezomib-based protocols were generally well tolerated, while opportunistic infections and malignancies were not observed.

After Bortezomib treatment, we observed a significant decrease of DSA to HLA-B ($P = 0.004$) and HLA-DR ($P = 0.0005$), but not to HLA-A ($P = 0.106$) and HLA-DQ

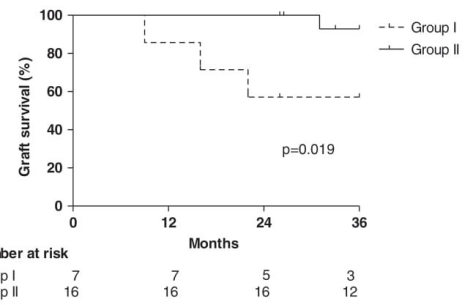


FIGURE 2 Allograft survival of patients with acute refractory antibody-mediated rejection (AMR): group I vs group II

antigens ($P = 0.18$) (Wilcoxon-matched pairs-signed rank test) (Figure 1A-D). Due to the fact that all sera were pre-treated with EDTA, it can be ruled out that the differential decrease of class I, DR and DQ-DSA might have been caused by the pro-zone effect. Interestingly, analogous results of depletion of (de novo) produced DSA after anti-rejection treatment were also reported by Touzot et al, who observed elimination of DSA-DR, but not DSA-DQ antibodies.¹⁰ The allograft survival of patients with acute resistant AMR (group I vs group II) is shown in Figure 2. Patients with good clinical response (group II) had significantly better allograft survival ($P = 0.019$). Recipients with

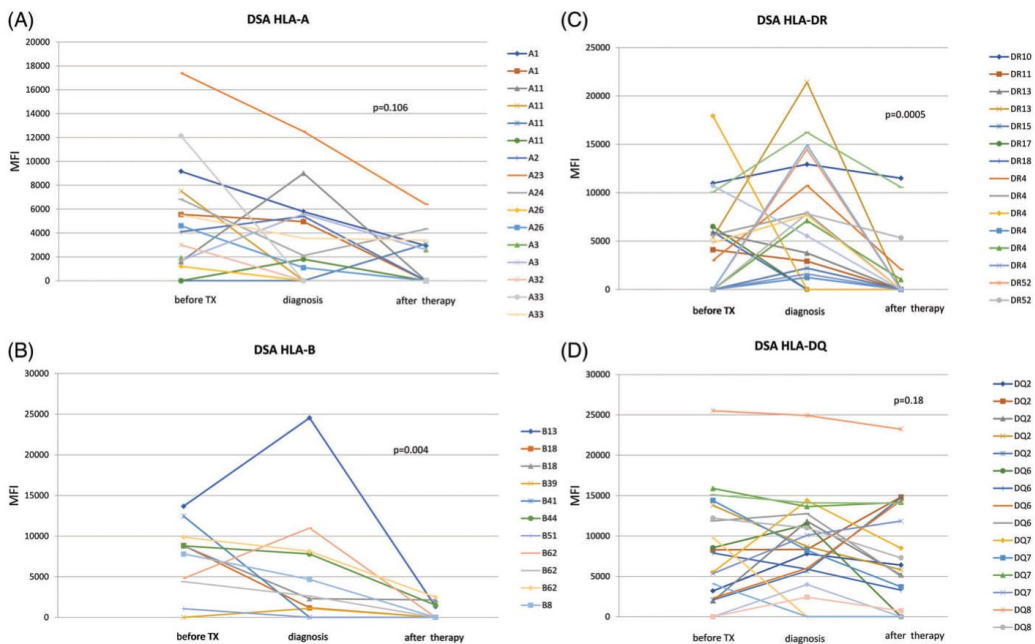


FIGURE 1 Mean fluorescent intensities (MFI) of donor-specific antibodies to HLA-A (A), HLA-B (B), HLA-DR (C) and HLA-DQ (D) antigens before transplantation, at diagnosis of antibody-mediated rejection and after treatment with Bortezomib

6.3 Solubilní CD30 a hepatocytární růstový faktor jako prediktivní marker protilátkami zprostředkované rejekce transplantované ledviny

Úvod

Akutní protilátkami zprostředkovaná rejekce (AMR) i přes úspěšnou léčbu často vede k rozvoji chronické nefropatii štěpu. Monitorace pre- a posttransplantačních sérových koncentrací solubilní CD30 (sCD30) molekuly, slouží k predikci rizika vzniku rejekce štěpu a následně k jeho selhání.

CD30 molekula je aktivační marker exprimovaný na CD8+ a CD4+ lymfocytech, který stimuluje B buňky a inhibuje Th1 imunitní odpověď. Jeho solubilní forma je proteolyticky uvolněna z povrchu lymfocytu aktivací zinkové metalloproteinázy. Vazbou CD30 molekuly pomocí ligandu na B-lymfocyty dochází k proliferaci a sekreci imunoglobulinu. Některé studie hovoří o předtransplantačních hodnotách sCD30, které mohou predikovat tvorbu DSA po transplantaci, avšak přímá korelace mezi sCD30 koncentrací a tvorbou protilátek (včetně AMR) není známá.

Novým příslibem se jeví hepatocytární růstový faktor (Hepatocyte growth factor – (HGF)). HGF je multifunkční cytokin, jehož koncentrace vzrůstá při rejekci u orgánových transplantací. Dvě nezávislé studie poukazují na význam predikce pomocí HGF u vzniku rejekce u příjemců po transplantaci srdce a ledviny. U 63 příjemců po transplantaci srdce nebyla nalezena korelace mezi hladinou HGF a incidencí akutní celulární a akutní protilátkami zprostředkované rejekce, ale byl zaznamenán vztah mezi hodnotami HGF a tvorbou anti-HLA protilátek. Vysvětlením téhle korelace může být potenciálně škodlivý efekt HLA-specifických protilátek na endoteliální buňky štěpu a následně na aktivaci HGF. Jedinou prací, která se zabývá predikcí rozvoje akutní rejekce pomocí sledování sCD30 a koncentrace HGF je práce Mahmouda u příjemců transplantovaných ledvin (Mahmoud K. et al., 2007).

Cílem naší retrospektivní práce bylo klinické zhodnocení naměřených hodnot sCD30 a HGF k predikci tvorby DSA a zároveň posoudit riziko rozvoje AMR u příjemců po transplantaci ledviny. Hodnocení sCD30, HGF koncentrací a anti-HLA protilátek bylo před transplantací a v pravidelných intervalech po transplantaci.

Metodika

V naší studii bylo analyzováno 205 pacientů, kteří podstoupili transplantaci ledviny v období od ledna 2006 do prosince 2007. Krevní sérum bylo odebráno krátce před transplantací, 2 týdny a 6 měsíců po transplantaci ledviny. Medián sledování pacientů po transplantaci byl 730 ± 20 dní. Z 205 nemocných bylo 171 (83 %) po první transplantaci, 30 (15 %) po druhé a 4 (2 %) po třetí transplantaci ledviny. U všech nemocných jsme vyšetřili sCD30 před transplantací pomocí ELISA testu. Hraniční hodnota pro pozitivitu byla 100 U/ml na základě dostupných údajů z literatury. HGF koncentrace byla měřena pomocí Fluorokin xMAP cytokininového multiplexového testu.

Výsledky

V našem souboru byla vyšší incidence preformovaných protilátek HLA v I. třídě u nemocných, kteří ztratili ledvinu z imunologických příčin v porovnání s funkčními štěpy ledvin (45 % vs. 28 %, $p = 0,082$). Ve dvouletém období 5 % nemocných selhalo z důvodu závažné rejekce a u 6,8 % nemocných došlo k úmrtí nebo ztrátě transplantovaných ledvin z jiných příčin než akutní rejekce. Vyšší incidence vzniku akutní AMR byla pozorována u nemocných po opakovaných transplantacích. Hodnota solubilního CD30 před a po transplantaci ledviny nekoreluje s přežíváním štěpu do konce sledovaného období. Pozorovali jsme tendenci k vyšší incidenci AMR u nemocných před retransplantací s elevací sCD30 (≥ 100 U/ml) ($p = 0,051$). Nebyla prokázána korelace mezi sCD30 a výskytem AMR u prvních transplantací, avšak v případě pozitivních hodnot sCD30 a při přítomnosti antiHLA protilátek je přítomna vyšší incidenci AMR ($p < 0,001$).

Samotná HGF koncentrace není asociována s incidencí AMR v jakékoliv době před a po transplantaci, také nebyla nalezena korelace mezi HGF a přežíváním štěpů. Naproti tomu u nemocných, u kterých krátce po transplantaci dochází k poklesu sCD30, hodnota HGF vzrůstá, 480 ± 249 pg/ml před a 1108 ± 714 pg/ml 2 týdny po transplantaci. Nižší předtransplantační hodnoty HGF korelují s přítomností HLA protilátek ve II. třídě před a 6 měsíců po transplantaci, ale ne s hodnotami HLA protilátek I. třídy ($p < 0,001$ vs. $p = 0,05$). Nemocní s nízkými hodnotami HGF a vyššími hodnotami sCD30 před transplantací mají vysoké riziko rozvoje AMR.

Simultánní přítomnost anti-HLA protilátek I. a II. třídy (CLI +/- CLII +/-), které byly detekovány ELISA metodou před transplantací, je signifikantní faktor rozvoje AMR. Validace byla provedena na celé kohortě (OR 12,87; CI 4,24–39,26) a nemocných po první transplantaci ($p < 0,0001$). Nemocní po retransplantacích měli nejkratší dobu do rozvoje AMR u skupiny CLI +/- CLII +/-, i když nebyla dosažena statistická významnost (62,5 %; $n = 16$).

Diskuse

Molekula sCD30 byla dobře prostudována jako prediktor akutní celulární rejekce, který zároveň ukazuje horší přežívání štěpů (Pelzl S. et al., 2002; Rodriguez L.M. et al., 2007; Pelzl S. et al., 2003; Langan L.L. et al., 2007; Heinemann F.M. et al., 2007). Existují publikace, které pojednávají o korelaci mezi sCD30 a AMR transplantovaných ledvin. Námi prezentovaná data ukazují, že elevace sCD30 samotné se nejeví jako prediktor DSA a rozvoje AMR, jak je to u nemocných ve vysokém imunologickém riziku (Slavčev A. et al., 2007). Naše pozorování je ve shodě s prací Weimera a kol. (Weimerem R. et al., 2006)⁷⁹, kteří nepotvrdili přímou korelaci mezi sCD30 a produkcí HLA specifických protilátek. Naopak vysoké hodnoty sCD30 před transplantací s HLA preformovanými protilátkami jsou asociovány se zkrácením doby do vzniku AMR. Simultánní přítomnost obou diagnostických testů, sCD30 a detekce HLA specifických protilátek před transplantací, se jeví býti významným markerem, který je schopný identifikovat nemocné s vyšším rizikem AMR. Je nutné ověření dat na vyšším počtu nemocných, neboť v naší práci mělo elevovanou hodnotou sCD30 pouze 34 nemocných, kteří podstoupili opakovanou transplantaci.

Jak již bylo prezentováno ve studiích zahrnující nemocných po transplantaci srdce (Pavlova Y.A. et al., 2010), HGF hodnota před a po transplantaci nekoreluje s incidence akutní rejekce, avšak koreluje s přítomností HLA-specifických protilátek. Naopak Mahmoud a kol. zjistili, že elevace HGF predikuje rozvoje rejekce (Mahmoud K. et al., 2007). Naše studie ukazuje, že predtransplantační nižší hodnota HGF s kombinací zvýšeného sCD30 jsou prediktorem zvýšeného rizika vzniku rejekce. Vysoká hodnota HGF před transplantací je protektivní stran rejekce. Prokázali jsme rovněž, že vysoká hodnota sCD30 v kombinaci se zvýšenou hodnotou HGF před transplantací vedou ke zvýšenému počtu rejekčních epizod ve srovnání s kohortou nemocných s nízkou koncentrací HGF. Protektivní efekt HGF po transplantaci ledviny byl potvrzen na myších modelech, na lidech zatím tenhle efekt prokázán nebyl.

Asociace mezi HLA-specifickými protilátkami a elevací PRA před transplantací je významná pro rozvoj AMR. Susal C. a kol., 2007 publikoval významně zhoršenou renální funkcí štěpu u nemocných se současnou přítomností protilátek I. a II. třídy, kde byl potvrzen vyšší výskyt AMR u nemocných, kteří měli pozitivní CLI+/CLII+. V naší studii jsme potvrdili, že koprodukce HLA protilátek I. a II. třídy je významným rizikovým faktorem při selhání funkce štěpu. Naše studie byla limitována pouze stanovením HLA protilátek I. a II. třídy bez charakterizace single anti-HLA specifity v době rejekce pomocí testů CDC a FXCM.

Závěr

Naše studie ukazuje, že hodnota sCD30 spolu se současnou přítomností anti-HLA protilátek před transplantací signifikantně predikuje rozvoj AMR. Kombinovaná analýza předtransplantačně přítomných anti-HLA protilátek s koncentrací sCD30 by umožňovala lepší evaluaci rizika rozvoje akutní AMR u nemocných po transplantaci ledviny. Taktéž v budoucnosti ve studiích by mohla být zodpověděna otázka významu HGF, jednak jako markeru akutní rejekce nebo jeho vysoké koncentrace před transplantací jako protektivního faktoru vzniku rejekce.

Článek byl publikován v časopise *Transplant Immunology*. IF: 1,697

Soluble CD30 and Hepatocyte growth factor as predictive markers of antibody-mediated rejection of the kidney allograft. *Transplant Immunology*. 2011 Jul;25(1):72-76.

Kompletní znění článku je přiloženo v anglickém jazyce.



Brief communication

Soluble CD30 and Hepatocyte growth factor as predictive markers of antibody-mediated rejection of the kidney allograft

Yelena Pavlova^a, Ondrej Viklicky^b, Janka Slatinska^b, Marcela Bürgelova^b, Caner Süsal^c, Jelena Skibova^d, Eva Honsová^e, Ilja Striz^f, Libor Kolesar^a, Antonij Slavcev^{a,*}^a Department of Immunogenetics, Institute for Clinical and Experimental Medicine (IKEM), Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic^b Department of Nephrology, Institute for Clinical and Experimental Medicine (IKEM), Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic^c Department of Transplantation Immunology, Institute of Immunology, University of Heidelberg, Germany^d Department of Medical Statistics, Institute for Clinical and Experimental Medicine (IKEM), Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic^e Department of Pathology, Institute for Clinical and Experimental Medicine (IKEM), Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic^f Department of Clinical and Transplantation Immunology, Institute for Clinical and Experimental Medicine (IKEM), Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 January 2011

Received in revised form 25 February 2011

Accepted 28 February 2011

Keywords:

Antibody-mediated rejection

Soluble CD30

Hepatocyte growth factor

ABSTRACT

Our retrospective study was aimed to assess the relevance of pre- and post-transplant measurements of serum concentrations of the soluble CD30 molecule (soluble CD30, sCD30) and the cytokine Hepatocyte growth factor (HGF) for prediction of the risk for development of antibody-mediated rejection (AMR) in kidney transplant patients. Evaluation of sCD30, HGF levels and the presence of HLA-specific antibodies in a cohort of 205 patients was performed before, 2 weeks and 6 months after transplantation. Patients were followed up for kidney graft function and survival for two years. We found a tendency of higher incidence of AMR in retransplanted patients with elevated pre-transplant sCD30 (≥ 100 U/ml) ($p = 0.051$), however no such correlation was observed in first-transplant patients. Kidney recipients with simultaneously high sCD30 and HLA-specific antibodies (sCD30+/Ab+) before transplantation had significantly lower AMR-free survival compared to the other patient groups ($p < 0.001$). HGF concentrations were not associated with the incidence of AMR at any time point of measurement, nevertheless, the combined analysis HGF and sCD30 showed increased incidence of AMR in recipients with elevated pretransplant sCD30 and low HGF levels. Conclusion: the predictive value of pretransplant sCD30 for the development of antibody-mediated rejection after transplantation is significantly potentiated by the co-presence of HLA specific antibodies. The role of HGF as a rejection-protective factor in patients with high pretransplant HGF levels would need further investigation.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Even if treated successfully, acute antibody-mediated rejection (AMR) often leads to the development of chronic allograft nephropathy and subsequent graft loss [1–3]. In the last decade, significant evidence has been published regarding the relevance of pre- and post-transplant measurements of serum concentrations of the soluble CD30 molecule (soluble CD30, sCD30) for prediction of increased risk of kidney graft rejection and failure [4–7]. The CD30 molecule is an activation marker expressed on CD8+ and CD4+ lymphocytes which stimulate B cells and inhibit Th1-type immune responses. Its soluble form is proteolytically released from the lymphocyte surface by the action of a zinc-metalloprotease [8,9]. In view of the effect of the binding of CD30 to its ligand on B lymphocytes which results in

proliferation and immunoglobulin secretion, several studies have implied that pre-transplant levels of sCD30 may predict the post-transplant production of donor-specific antibodies [10–12]. However, contradictory reports could not find sufficient evidence about a direct correlation between sCD30 concentrations and antibody production, including the incidence of AMR [13,14].

A relatively newly proposed marker of increased risk of organ transplant rejection is the multifunctional cytokine Hepatocyte growth factor (HGF). Two independently published studies suggested that measurements of HGF may be used for prediction of acute rejection in heart and kidney transplant patients [15,16]. However, in a cohort of 63 heart transplant recipients we could not find a correlation between HGF levels and the incidence of acute cellular or antibody-mediated rejection, though a relationship was observed between HGF and anti-HLA antibody production [17]. An explanation of this correlation might be the potentially harmful effect of HLA-specific antibodies on graft endothelial cells and the subsequent activation of HGF [18,19]. To our best knowledge, the only published report that has investigated the combined predictive effect of sCD30 and HGF concentrations for the development of acute rejection in

Abbreviations: AMR, Antibody-mediated rejection; ATN, Acute tubular necrosis; DGF, Delayed graft function; HGF, Hepatocyte growth factor; sCD30, Soluble CD30.

* Corresponding author: Tel.: +420 26136 2347; fax: +420 26136 2393.

E-mail address: antonij.slavcev@ikem.cz (A. Slavcev).

Table 1

Patients' demographic parameters in relation with cellular and humoral rejection, ATN episodes, delayed graft function and graft loss due to rejection. Significant p-values (<0.05) are in bold.

		Total N = 205	CR ^a N = 59	AMR ^b N = 16	ATN ^c N = 144	DGF ^d N = 44	Graft loss due to rejection N = 11
Male		142	42	9	103	29	7
Female		63	17	7	31	15	4
p ^e			NS ^f	NS ^f	0.001	NS	NS
First transplanted	PRA > 10%	31	9	5	21	7	2
	PRA ≤ 10%	140	39	1	94	29	6
p			NS	< 0.0001	NS	NS	NS
Retransplanted	PRA > 10%	18	9	8	10	5	1
	PRA ≤ 10%	16	2	2	9	3	2
p			0.01	0.04	NS	NS	NS
After first transplantation	< 3 A + B + DR MM	51	14	4	34	9	3
	≥ 3 A + B + DR MM	120	34	2	81	27	5
p			NS	NS	NS	NS	NS
Retransplanted	< 3 A + B + DR MM	12	6	6	7	4	2
	≥ 3 A + B + DR MM	22	5	5	12	4	1
p			NS	NS	NS	NS	NS
Patients' mean age		55 ± 10	52 ± 11	56 ± 9	54 ± 10	57 ± 9	57 ± 10
p			0.02	NS	NS	NS	NS
Time on dialysis (month)		25 ± 20	22 ± 16	27 ± 13	24 ± 15	34 ± 17	25 ± 15
p			NS	NS	NS	0.04	NS

^a Cellular rejection.^b Antibody-mediated rejection.^c Acute tubular necrosis.^d Delayed graft function (dialysis being required during the first week after transplantation).^e P value for Yates-corrected chi-square test or t-test.^f NS stands for non-significant p value (>0.05).

kidney transplant recipients is up till now the above mentioned study of Mahmoud et al. [16].

Given the limited and often conflicting data in the literature, the goal of our retrospective study was to assess the clinical value of sCD30 and HGF measurements for the prediction of production of donor-specific antibodies and the risk for development of AMR in kidney transplant patients. Evaluation of sCD30, HGF concentrations and HLA-specific antibodies was performed before and in regular intervals after transplantation.

2. Subjects, materials and methods

The study was performed with the approval of the Ethical Committee and informed consent was obtained from all patients. Serial serum samples from 205 patients who received kidney transplants from deceased donors in our center between January 2006 and December 2007 were tested. Sera were obtained immediately before, 2 weeks and 6 months after transplantation and stored at -20 °C until testing. The median post-transplant follow-up time of patients was 730 ± 20 days.

2.1. Patients, immunosuppressive protocols, graft rejection and survival

Among the 205 patients included into the study, 171 (83%) underwent first kidney transplantation, 30 (15%) were transplanted for second and 4 (2%) for the third time.

The mean recipient age was 55 ± 10 and the median time on the waiting list (hemodialysis, peritoneal dialysis or both) until transplantation was 25 ± 20 months (range 2–108 months) (Table 1).

The immunosuppressive therapy included steroids in 201 recipients, mycophenolate mofetil in 184, cyclosporine in 44, tacrolimus in 148, and everolimus in 14 cases. Twenty-two patients received thymoglobuline as an induction therapy due to elevated risk of rejection (retransplantation and/or PRA ≥ 50%). Three patients received alemtuzumab and seven belatacept. We analyzed the incidence of delayed graft function (DGF), antibody-mediated rejection and graft failure due to irreversible rejection. Antibody-mediated rejection was diagnosed in indication biopsies according to the Banff grading of histological changes in the graft tissue including the presence of C4d deposits in peritubular capillaries [20–22]. CDC cross-match and flow

cytometry cross-match (FCXM) were performed to confirm the presence of donor-specific IgG antibodies in patients' sera. Both tests were performed at the time points of presumed AMR episodes.

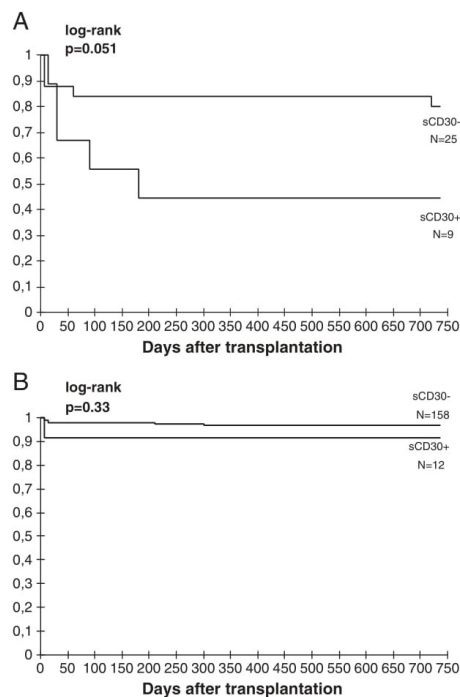


Fig. 1. Pretransplant sCD30 and two year AMR-free survival in retransplanted (A) and first transplanted patients (B).

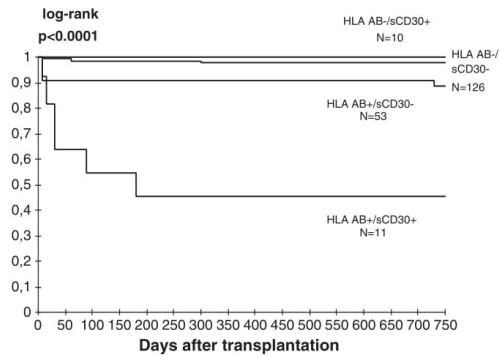


Fig. 2. Pretransplant sCD30, HLA antibodies and two year AMR-free survival (total cohort).

The pre-transplant CDC cross-match test was negative in all 205 patients. In 13 out of the 16 patients who developed AMR, a retrospective FCXM test was performed with pre-transplant sera and revealed pre-formed DSA in 7 patients.

2.2. HLA alloantibody, sCD30 and HGF detection

Detection of panel reactive antibodies (PRA) before transplantation was performed by the complement-dependent cytotoxicity (CDC) test as a routine screening of all patients on the waiting list. HLA antibodies before and after transplantation were also defined using the AbScreen I and II ELISA kits (Biotest, Dreieich, Germany) which detect IgG-anti-HLA class I and IgG-anti-HLA class II antibodies but do not define the single antigen antibody specificity. Tests were carried out according to the manufacturer's instructions.

All sera were tested for sCD30 concentrations using a commercially available ELISA kit (Bender MedSystems, Vienna, Austria). For correlation with clinical data, we used a concentration of 100 U/ml as a pre-transplant sCD30 cut-off level based on previous reports [4,5]. HGF concentrations in patient sera were measured using Fluorokine xMAP cytokine multiplex kits from R&D Systems (Minneapolis, USA) according to the instruction manual.

2.3. Statistical analysis

Kaplan–Meier survival curves were used to estimate AMR-free survival in relation to various factors. ROC (Receiver Operating Characteristic) curves were used for determination of relevant HGF concentrations and post-transplant sCD30 in relation with AMR. Cut-off points determined in this analysis were further used in Kaplan–Meier and Yates-corrected chi-square tests as well as in logistic

regression analysis. Yates-corrected chi-square was used to estimate the relationship between possible markers and events of interest (DGF, rejection, and graft survival) in small groups of patients. The Mann–Whitney test was applied to compare serum HGF concentrations in patients with and without antibody production in patients with AMR and DGF. Logistic regression was performed for evaluation of predictor variables (HLA antibodies, HGF, and sCD30) in relation with the occurrence of AMR after transplantation. P-values < 0.05 were considered statistically significant.

3. Results

Logistic regression analysis revealed that the risk of AMR was not significantly influenced by the application of different immunosuppressive regimens after transplantation (results not shown).

3.1. Graft and patient survival

A trend of higher incidence of preformed HLA class I-specific antibodies was detected in patients who lost their grafts due to immunological reasons in comparison with patients with functioning grafts (45% vs. 28% and $p = 0.082$). During the two-year follow up, 11 (5%) patients lost their grafts due to irreversible rejection and 14 (6.8%) died/lost their graft due to reasons other than rejection. A higher incidence of AMR was associated with re-transplantation (Table 1). Soluble CD30 levels before and after transplantation did not correlate with graft survival by the end of the follow up period (results not shown).

3.2. Soluble CD30, Hepatocyte growth factor and antibody-mediated rejection

We found a tendency of higher incidence of AMR in re-transplanted patients with elevated pre-transplant sCD30 (≥ 100 U/ml) ($p = 0.051$) (Fig. 1 A). No correlation was found between sCD30 and the occurrence of AMR in patients before first transplantation, (Fig. 1 B) however, when sCD30 and the presence of HLA-specific antibodies were evaluated simultaneously, sCD30+ and antibody positive (CD30+/Ab+) patients had significantly lower AMR-free survival compared with the other patient groups ($p < 0.001$, total cohort, Fig. 2). This finding was valid only for measurements of sCD30 and HLA antibodies before transplantation.

HGF concentrations were not associated with the incidence of AMR at any time point of measurement – before or after transplantation (Table 2); in addition, no correlation was found between HGF levels and allograft survival (results not shown). In comparison with sCD30 levels which went down shortly after transplant, HGF concentrations after transplantation increased (480 ± 249 pg/ml before, 1108 ± 714 pg/ml 2 weeks after transplantation, $p < 0.0001$). Lower pretransplant HGF concentrations correlated with the presence of HLA Class II antibodies before and 6 months after transplantation but not with anti-HLA class I antibodies (Table 2, $p < 0.001$ and $p = 0.05$ respectively). The combined analysis of HGF and sCD30 showed decreased AMR free survival in recipients with elevated pretransplant sCD30 and low HGF (total cohort, Fig. 3).

3.3. HLA-specific antibodies and AMR

When alloantibodies were analyzed separately from other risk factors, the simultaneous presence of anti-HLA class I and class II antibodies (CLI+/CLII+) as detected by ELISA before transplantation was a significant risk factor for the development of AMR. This was valid for the total cohort (OR = 12.87; CI 4.24–39.26) and first transplant recipients ($p < 0.0001$ Fig. 4 A and B respectively). In retransplanted patients, the lowest AMR-free survival was also in the CLI+/CLII+ group, although this effect did not reach statistical significance (62.5%; $n = 16$) (Fig. 4 C).

Table 2

HGF levels in relation to the incidence of antibody-mediated rejection (AMR) and the presence of HLA-specific antibodies (Ab).

	AMR		HLA class I Ab		HLA class II Ab	
	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
Before transplantation	434 ± 217^a	486 ± 251	474 ± 272	485 ± 236	299 ± 124	473 ± 219
P	NS ^b		NS		0.001	
2 weeks after transplantation	1021 ± 433	1116 ± 578	1162 ± 541	1103 ± 573	1011 ± 422	1134 ± 589
P	NS		NS		NS	
6 months after transplantation	822 ± 269	868 ± 396	463 ± 217	472 ± 247	706 ± 276	908 ± 417
P	NS		NS		0.05	

^a Concentrations are shown in pg/ml.

^b NS – stands for non-significant p-value.

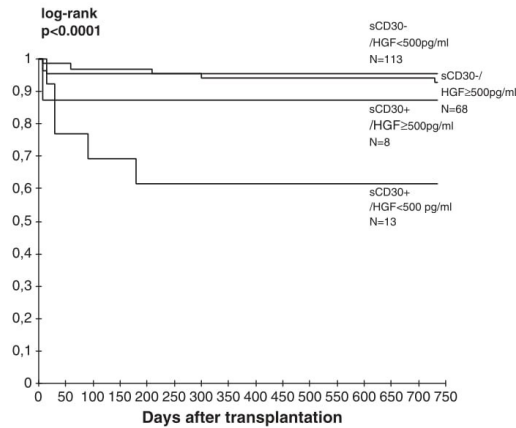


Fig. 3. Pretransplant sCD30, HGF and two year AMR-free survival (first and retransplanted patients).

4. Discussion

Even though sCD30 has been relatively well studied as a predictor of cellular rejection and inferior graft survival [4,7,23–25], there are still just a few publications which are dealing with the correlation between sCD30 and antibody mediated rejection of the kidney allograft. In line with our previous report including a cohort of high-risk patients [14], our data presented here suggest that elevated sCD30 alone may not be predictive for the development of donor-specific antibodies and AMR. This observation is also in agreement with the data of Weimer et al. [13] who could not find a direct correlation between sCD30 and the production of HLA-specific antibodies. On the other hand, high pretransplant sCD30 levels in patients with preformed HLA antibodies were associated with significantly decreased AMR-free survival. This implies that the simultaneous performance of both diagnostic tests – measurement of sCD30 and detection of HLA-specific antibodies before transplantation may be useful for the identification of patients with increased risk for development of AMR. Since the number of retransplanted patients in our study was relatively small (n = 34), the probability for higher incidence of AMR after the retransplantation in individuals with elevated sCD30 would still need further verification in a larger patient cohort.

As was shown in our recent report including heart transplant patients [17], HGF levels before and after transplantation did not show any correlation with the incidence of rejection, however correlated with the presence of HLA-specific antibodies. In contradiction with the results of Mahmoud et al. [16] who found elevated HGF to be rejection-predictive, our study suggests that rather lower pretransplant levels of HGF in combination with elevated sCD30 are predictive of increased risk for rejection. High pretransplant levels of HGF seemed to be rejection protective, since patients with high sCD30 in combination with elevated HGF before transplantation tended to experience fewer rejection episodes than those with low HGF concentrations. An HGF protective effect against kidney allograft rejection was demonstrated in murine models [26,27], though, additional studies would be needed to confirm this effect in humans.

Concerning the role of HLA-specific antibodies, a significant association was found between increased PRA before transplantation and the incidence of antibody mediated rejection. As was observed by Susal et al. [28] who reported impaired graft survival in patients with simultaneous presence of HLA class I and II antibodies, AMR was also

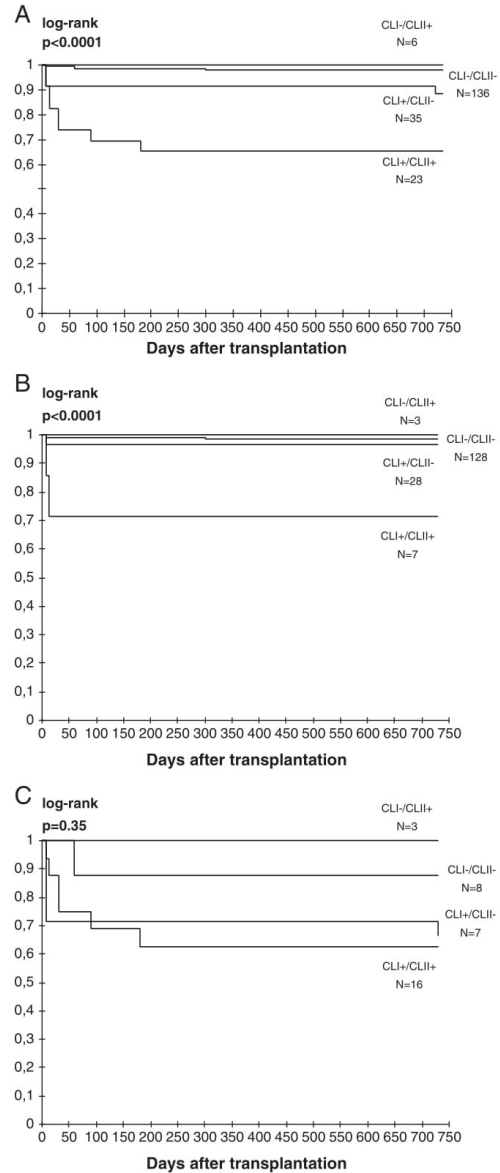


Fig. 4. HLA class I and class II-specific antibodies and two year AMR-free survival in the total cohort (A), first (B) and retransplanted patients (C).

more frequent in the double positive recipients (CLI+/CLII+) in our study, suggesting that the co-production of HLA class I and class II antibodies maybe a significant risk factor for graft failure. Our analysis was limited only to the detection of HLA-class I/or class II antibodies without characterization of the single anti-HLA specificity, though the CDC and FCXM tests were always applied to confirm the presence of anti-donor antibodies at the time of presumed rejection episodes.

In conclusion, our study suggests that the value of pretransplant sCD30 measurement for the prediction of antibody-mediated rejection is significantly potentiated by the co-presence of HLA-specific antibodies. Thus the combined analysis of pretransplant HLA antibodies and sCD30 concentrations would enable a better evaluation of the risk for development of acute antibody-mediated rejection in kidney allograft recipients. We also suggest that the role of HGF should be further investigated in two directions – as a possible rejection marker at the time of rejection episodes and as a rejection-protective factor in patients with high pretransplant HGF production.

Acknowledgements

This study was supported by IKEM institutional grant MZO 00023001. The technical assistance of G. Vondraskova and H. Stehlikova is gratefully appreciated.

References

- [1] Regele H, Bohmig GA, Habicht A, Gollowitzer D, Schillinger M, Rockenschaub S, et al. Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: a contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2371–80.
- [2] Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol* 2005;5:807–17.
- [3] Colvin RB. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:1046–56.
- [4] Pelzl S, Opelz G, Wiesel M, Schnülle P, Schönemann C, Döhler B, et al. Soluble CD30 as a predictor of kidney graft outcome. *Transplantation* 2002;73:3–6.
- [5] Susal C, Pelzl S, Döhler B, Opelz G. Identification of highly responsive kidney transplant recipients using pretransplant soluble CD30. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1650–6.
- [6] Slavcev A, Lacha J, Honsova E, Sajdlova H, Lodererova A, Vitko S, et al. Soluble CD30 and HLA antibodies as potential risk factors for kidney transplant rejection. *Transpl Immunol* 2005;14:117–21.
- [7] Rodriguez LM, Paris SC, Arbelaez M, Cotes JM, Susa C, Torres Y, et al. Kidney graft recipients with pretransplantation HLA class I antibodies and high soluble CD30 are at high risk for graft loss. *Hum Immunol* 2007;68:652–60.
- [8] Horie R, Watanabe T. CD30: expression and function in health and disease. *Semin Immunol* 1998;10:457–70.
- [9] Schlaf G, Altermann WW, Rothhoff A, Seliger B. Soluble CD30 serum level—an adequate marker for allograft rejection of solid organs? *Histol Histopathol* 2007;22:1269–79.
- [10] Rajakariar R, Jivanji N, Varaganam M, Rafiq M, Gupta A, Sheaff M, et al. High pretransplant soluble CD30 levels are predictive of the grade of rejection. *Am J Transplant* 2005;5:1922–5.
- [11] Vaidya S, Partlow D, Barnes T, Thomas P, Gugliuzza K. Soluble CD30 concentrations in ESRD patients with and without panel reactive HLA antibodies. *Clin Transplant* 2006;20:461–4.
- [12] Vaidya S, Partlow D, Barnes T, Gugliuzza K. Pretransplant soluble CD30 is a better predictor of posttransplant development of donor-specific antibodies and acute vascular rejection than panel reactive antibodies. *Transplantation* 2006;82:1606–9.
- [13] Weimer R, Süsal C, Yildiz S, Staak A, Pelzl S, Renner F, et al. Post-transplant sCD30 and neopterin as predictors of chronic allograft nephropathy: impact of different immunosuppressive regimens. *Am J Transplant* 2006;6:1865–74.
- [14] Slavcev A, Honsova E, Lodererova A, Pavlova Y, Sajdlova H, Vitko S, et al. Soluble CD30 in patients with antibody-mediated rejection of the kidney allograft. *Transpl Immunol* 2007;18:22–7.
- [15] Zwirska-Korczala K, Zakliczynski M, Berdowska A, Zembala M, Jochem J, Gajewska K. Diagnostic validity of hepatocyte growth factor as marker for rejection in the follow-up of patients after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:411–5.
- [16] Mahmoud K, Opelz G, Pelzl S, Daniel V, Sommerer C, Zeier M, et al. Evaluation of hepatocyte growth factor as a sensitive marker for early detection of acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2007;83:1035–40.
- [17] Pavlova YA, Malek I, Honsova E, Netuka I, Sochman J, Lodererova A, et al. Hepatocyte growth factor and antibodies to HLA and MICA antigens in heart transplant recipients. *Tissue Antigens* 2010;76:380–6.
- [18] Jin YP, Jindra PT, Gong KW, Lepin EJ, Reed EF. Anti-HLA class I antibodies activate endothelial cells and promote chronic rejection. *Transplantation* 2005;79:S19–21.
- [19] Miyazawa K. Hepatocyte growth factor activator (HGFA): a serine protease that links tissue injury to activation of hepatocyte growth factor. *FEBS* 2010;277:2208–14.
- [20] Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloran PF, Campbell PM, et al. Antibody-mediated rejection criteria – an addition to the Banff '97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003;3:708–14.
- [21] Racusen LC, Halloran PF, Solez K. Banff 2003 meeting report: new diagnostic insights and standards. *Am J Transplant* 2004;4:1562–6.
- [22] Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008;8:753–60.
- [23] Pelzl S, Opelz G, Daniel V, Wiesel M, Susal C. Evaluation of posttransplantation soluble CD30 for diagnosis of acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2003;75:421–3.
- [24] Langan LL, Park LP, Hughes TL, Irish A, Luxton G, Witt CS, et al. Post-transplant HLA class II antibodies and high soluble CD30 levels are independently associated with poor kidney graft survival. *Am J Transplant* 2007;7:847–56.
- [25] Heinemann FM, Rebmann V, Witzke O, Philipp T, Broelsch CE, Grosse-Wilde H. Association of elevated pretransplant sCD30 levels with graft loss in 206 patients treated with modern immunosuppressive therapies after renal transplantation. *Transplantation* 2007;83:706–11.
- [26] Yoshimura R, Chargui J, Watanabe Y, Kasai S, Hase T, Ohyama A, et al. Can recombinant hepatocyte growth factor suppress acute renal rejection? *Transplant Proc* 2001;33:2322–3.
- [27] Yoshimura R, Watanabe Y, Kasai S, et al. Hepatocyte growth factor (HGF) as a rapid diagnostic marker and its potential in the prevention of acute renal rejection. *Transpl Int* 2002;15:156–62.
- [28] Susal 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;70:569–73.

6.4 Solubilní BAFF cytokin a protilátkami zprostředkovaná rejekce po transplantaci ledviny

Úvod

Protilátkami-zprostředkovaná rejekce představuje závažnou imunologickou komplikací, která je asociována s tvorbou dárcovsky-specifických protilátek, která může vyústit v selhání štěpu transplantované ledviny, čímž se zhoršují dlouhodobé výsledky transplantovaných ledvin.

Je známý podíl cytokinů při tvorbě a vyžívání B lymfocytů. B-buňkami aktivující faktor (BAFF) je cytokin, kteří patří do rodiny TNF a podporuje přežívání, vyžívání a aktivaci B lymfocytů. BAFF existuje ve 2 formách: jako transmembránový protein a jako solubilní trimer. Exprese BAFF je zesílena pomocí IFN- α , IFN- γ a IL-10. Excesivní tvorba BAFF může spouštět autoimunní onemocnění, jako např. systémový lupus erythematosus, revmatoidní artritidu a jiné. BAFF přispívá k produkci DSA a koreluje s poruchou funkce štěpu transplantované ledviny. Pacienti s vysokým imunologickým rizikem, kteří podstupují DSA-inkompatibilní transplantaci ledviny, mají zvýšené koncentrace BAFF a jsou ve zvýšeném riziku vzniku AMR, avšak tahle korelace nebyla pozorována mezi DSA-kompatibilními příjemci. Naproti tomu Snanoudj a kol. ve své práci ukazují pozitivní korelaci mezi anti-HLA protilátkami a BAFF koncentrací v séru, ale bez asociace s rozvojem AMR (Snanoudj R. et al., 2014).

Cílem naší studie bylo porovnat BAFF hodnoty mezi pacienty ve vysokém imunologickém riziku s diagnostikovanou AMR a kontrolní skupinou bez rejekce, a zjistit, zda stanovení koncentrací BAFF koncentrací může být diagnostickým markerem k predikci AMR.

Metodika

Do studie bylo zařazeno 36 nemocných, 19 pacientů s AMR v období 2009–2013. AMR byla diagnostikována do 2. měsíce po transplantaci ledviny, pacienti byli sledováni do 1 roku po transplantaci. Pacienti z kontrolní skupiny byli transplantováni v letech 2004–2005, po transplantaci měli okamžitý rozvoj funkce štěpu a neměli žádnou rejekci v období 10 let po transplantaci. Šest nemocných podstoupilo transplantaci ledviny od žijícího dárce, 30 pacientů mělo kadaverózního dárce. Materiál byl získán 0–21 dnů před transplantací. U nemocných bez průkazu rejekce jsme stanovili BAFF 3 měsíce po

transplantaci, zatímco nemocní s AMR měli stanovení BAFF v rozpětí od 0–2 měsíce po transplantaci. V naší studii byl analyzován pouze solubilní BAFF.

Hodnoty BAFF byly měřeny pomocí Xmap (Luminex), minimální koncentrace byla stanovena na hodnotách 0,56 pg/ml. Hranice pro stanovení anti-HLA protilátek byly 1000 MFI pro I. třídu a 2000 MFI pro II. třídu.

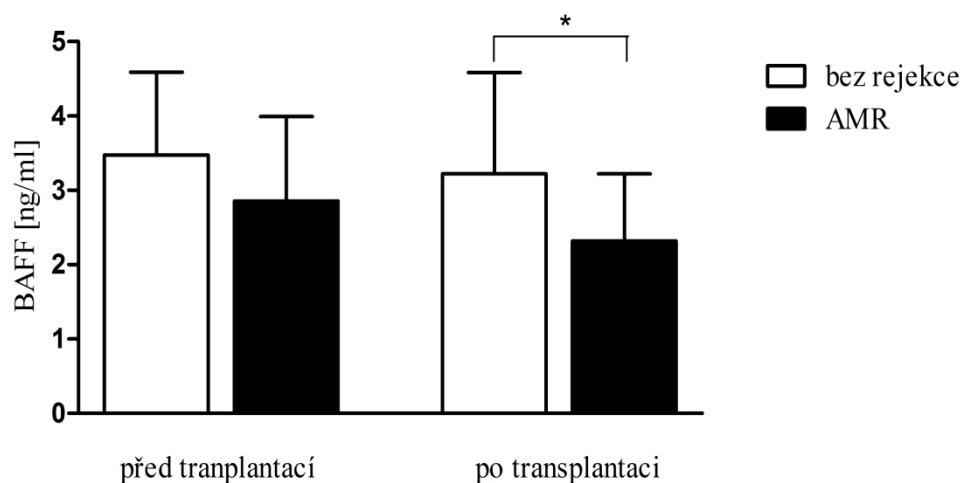
Výsledky

Nemocní s AMR měli signifikantně vyšší hodnoty sérového kreatininu po transplantaci v 1., 3., 6. a 12. měsíci. Příjemci ledvin od žijících dárců měli po celou dobu signifikantně nižší hodnotu sérového kreatininu než příjemci ledvin od kadaverózních dárců.

Rizikové faktory pro vznik AMR

Počet HLA neshod a frekvence PRA byl v obou skupinách stejný. Hodnoty BAFF v séru byly vyšší u nemocných bez výskytu AMR před transplantací než u nemocných, kteří vyvinuli AMR, avšak bez statistické signifikance. Po transplantaci byly potvrzeny statisticky vyšší hodnoty BAFF u příjemců bez rejekce (Obrázek 1).

Obrázek 1: Koncentrace BAFF před a po transplantaci ($p < 0,05$)

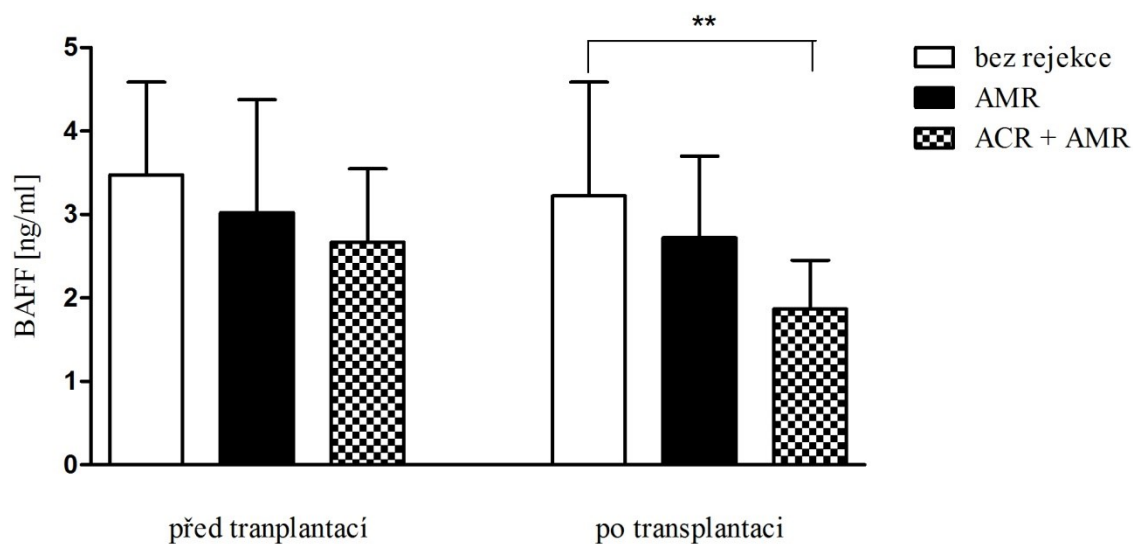


Rizikové faktory pro vznik kombinované AMR a ACR rejekce

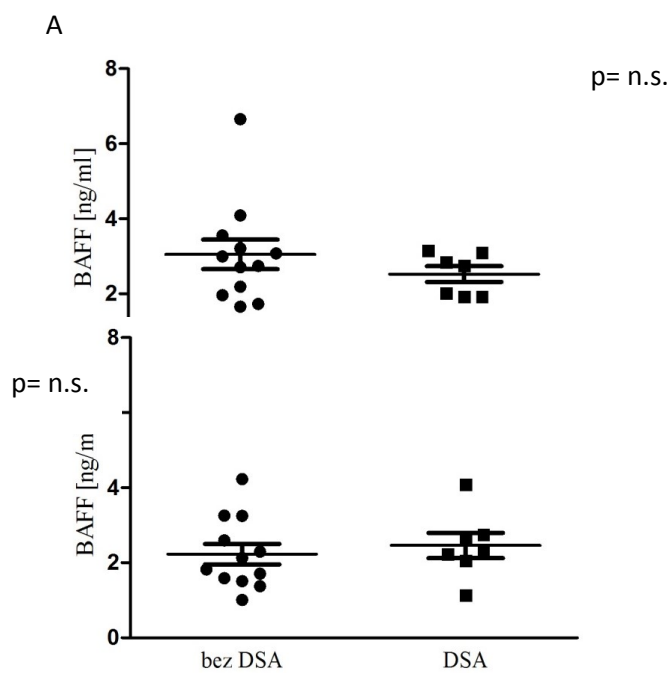
Hodnoty sérového kreatininu byly statisticky vyšší u nemocných s kombinovanou AMR a ACR v porovnání s pacienty bez rejekce. Hodnoty BAFF před transplantací byly nižší u příjemců s rejekcí, avšak bez statistické signifikance. Naproti tomu hodnoty BAFF po transplantaci byly statisticky nižší u nemocných s kombinovanou AMR a ACR (Obrázek 2).

Při analýze nemocných s AMR a hodnotou BAFF před a po transplantaci nebyla nalezena korelace vzhledem k tvorbě DSA (Obrázek 3).

Obrázek 2: BAFF před a po transplantaci u nemocných bez rejekce, s AMR a ACR+ AMR ($p < 0,01$).



Obrázek 3: Koncentrace BAFF před a po transplantaci s korelací DSA



Diskuse

Cytokin BAFF je klíčovým regulátorem B-buněk představující signál pro maturaci naivních a paměťových B-lymfocytů. BAFF podporuje přežívání plazmablastů a plazmatických buněk. Zvýšená koncentrace BAFF v periferní krvi byla pozorována u nemocných s abnormální funkcí štěpu a zvýšenými hodnotami PRA (Zhou Z. et al., 2009). Avšak nemocní s vysokými koncentracemi BAFF měli vyšší pravděpodobnost tvorby DSA (Thibault-Espitia A. et al., 2012). Vysoká koncentrace BAFF byla také naměřena u nemocných před a po imunoterapii s použitím anti-CD52 a anti-CD20 protilátek (Banham G. et al., 2013; Bloom D. et al., 2009). V naší studii jsme porovnávali koncentraci solubilního BAFF u nemocných s a bez AMR před a po transplantaci s cílem ověřit hypotézu, že BAFF může být přínosným markerem v diagnostice AMR. V naší kohortě bylo 19 nemocných ve vysokém imunologickém riziku, kteří vyvinuli AMR; v 9 případech měli současně i ACR. Kontrolní skupinu tvořilo 17 nemocných bez akutní rejekce. Demografická analýza nepotvrdila statisticky významné rozdíly v parametrech jako pohlaví, věk nebo druh udržovací imunosupresivní léčby před diagnózou AMR. Jedenáct z 12 nemocných vyvinulo AMR, přestože měli indukční imunosupresi. Z toho vyplývá, že tito nemocní byli ve vysokém imunologickém riziku bez ohledu na podání extenzivní imunosupresivní léčby. Efekt basiliximabu na BAFF je stále nejasný. Nemocní s AMR měli signifikantně vyšší hodnoty sérového kreatininu v různou dobu po transplantaci v porovnání s pacienty bez rejekce. Uvedené data jsou v souladu s publikovanými skutečnostmi, že AMR trvale poškozuje transplantovaný orgán (Colvin R.B. et al., 2005; Smith R.N. et al., 2005).

Evaluace některých rizikových faktorů rejekce neprokázala signifikantní vliv počtu HLA neshod, vysoké PRA na incidence AMR a ACR. Je obecně známo, že vysoká frekvence PRA je rizikový faktor k rozvoji AMR, avšak v naší kohortě tento parameter nebyl potvrzen vzhledem k nízkému počtu nemocných.

Námi naměřené hodnoty BAFF před transplantací u nemocných, kteří vyvinuli rejekci a kteří byli bez známek rejekce, byly bez statisticky potvrzených rozdílů. Zaznamenali jsme trend k poklesu BAFF u skupiny nemocných bez rejekce, kde hodnoty BAFF dosahovaly nejvyšší průměrné hodnoty v porovnání s pacienty, kteří vyvinuli simultánně AMR a ACR (a hodnoty BAFF (jejich střední hodnoty byly porovnatelné). Překvapivě pacienti, kteří po transplantaci vyvinuli AMR, v době rejekce měli signifikantně sníženou hodnotu BAFF (n = 19). Při separátní analýze (nemocní s AMR, n = 10 a pacienti se současnou AMR a ACR, n = 9), pacienti s čistou AMR měli trend k nižším koncentracím BAFF v porovnání s kontrolní

skupinou ($p= 0.065$). Naproti tomu nemocní s kombinovanou AMR a ACR rejekcí měli v porovnání s pacienty bez rejekce signifikantně nižší koncentraci BAFF. Naproti tomu Banham a kol. ukázali, že nemocní s akutní AMR měli vyšší hodnoty BAFF, pokud podstoupili HLA inkompatibilní transplantaci (Banham G. et al., 2013). Ve stejné studii nebyla potvrzena korelace mezi HLA kompatibilními transplantacemi ledvin. V dalších pracích nebyl nalezen signifikantní vztah mezi solubilním BAFF a incidence akutní AMR (Snanoudj R. et al., 2014; Thibault-Espitia A. et al., 2012; Xu H. et al., 2009). Dle našeho úsudku by nízké koncentrace BAFF u nemocných s AMR mohly být způsobeny vazbou B-buněk na plazmatické buňky. Signifikantně nízké hodnoty BAFF u nemocných se současnou AMR a ACR mohou být vysvětleny jako vazba cytokinů na B-lymfocyty stejně jako na T lymfocyty, které jsou na membránovém receptoru pro BAFF (BAFF-R, TACI). Ve skupině pacientů s AMR jsme potvrdili hypotézu, že produkce DSA koreluje s hodnotou BAFF před a po transplantaci. Sedm pacientů z 19 s AMR mělo DSA před a po transplantaci (zbylých 12 pacientů bylo DS negativních). Nepotvrdili jsme statistický rozdíl koncentrací BAFF mezi skupinami, které byly před a po transplantaci DSA negativní. Tato zjištění vyvracejí předcházející tvrzení (Xu H. et al., 2008), že pacienti s pozitivními HLA protilátkami v I. třídě měli vyšší koncentraci BAFF. Thibault-Espitia A. taktéž pozorovali, že nemocní po transplantaci ledviny s vyšší koncentrací BAFF měli signifikantně vyšší produkci DSA, avšak tato tvrzení následně nebyla potvrzena (Thibault-Espitia A. a kol., 2012; Snanoudj R. et al., 2014).

Závěr

Srovnáním koncentrace cytokinu BAFF před a po transplantaci ledviny jsme nezjistili statisticky významný rozdíl mezi pacienty, kteří vyvinuli akutní rejekci oproti nemocným, kteří akutní rejekci neměli. Hodnoty BAFF v době AMR byli signifikantně nižší u nemocných, kteří měli současně kombinovanou AMR a ACR, než u pacientů bez rejekce. Nemocní, kteří měli pouze akutní AMR, měli trend k nižším koncentracím BAFF. Nepozorovali jsme korelaci mezi hodnotami BAFF a produkcí DSA při AMR. Naše měření podporují myšlenku, že solubilní BAFF může být pomocným markerem probíhající AMR, zejména při současně přítomné protilátkami zprostředkované rejekci v kombinaci s akutní celulární rejekci po transplantaci ledviny.

**Článek byl publikován v časopise Archivum Immunologiae et Therapiae
Experimentalis.**

IF: 2,040

Soluble BAFF Cytokine Levels And Antibody-Mediated Rejection of the Kidney Allograft.

Arch. Immunol. Ther. Exp. 2016 Dec;64(1):47-53.

Kompletní znění článku je přiloženo v anglickém jazyce.

Soluble BAFF Cytokine Levels and Antibody-Mediated Rejection of the Kidney Allograft

Antonij Slavcev¹ · Jitka Brozova¹ · Janka Slatinska² · Zuzana Sekerkova¹ ·
Eva Honsova³ · Jelena Skibova⁴ · Iija Striz⁵ · Ondrej Viklicky²

Received: 9 June 2016 / Accepted: 2 November 2016 / Published online: 12 January 2017
© L. Hirschfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Wrocław, Poland 2016

Abstract The B-cell activating factor (BAFF) cytokine has important functions for the survival and maturation of B lymphocytes, which implies that this cytokine might play a role in the development of antibody-mediated rejection (AMR) after kidney transplantation. In our study, we compared the concentrations of the soluble BAFF cytokine in kidney graft recipients with AMR and patients without rejection with the goal of testing the hypothesis whether BAFF level measurement might be useful as a diagnostic marker of AMR. The study included a cohort of 19 high-risk patients with diagnosed AMR and 17 control patients free of rejection. BAFF was measured in all patients before transplantation, during the rejection episodes, and three months after transplantation in patients free of rejection using the Luminex technique. Before transplantation, the serum concentrations of BAFF in patients with AMR and

kidney recipients without rejection did not significantly differ. After transplantation, however, BAFF levels were significantly lower in patients with AMR and also in patients with concurrent humoral and cellular rejection compared with patients without rejection ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). No correlation was found between BAFF and the production of donor-specific antibodies (DSA) before and after transplantation. Patients experiencing AMR and simultaneous cellular and AMR had significantly lower concentrations of BAFF in comparison with patients free of rejection.

Keywords BAFF · Kidney transplantation · Antibody-mediated rejection · HLA

Introduction

Antibody-mediated rejection (AMR) is a severe immunological complication which is associated with the production of donor-specific antibodies (DSA) and, besides kidney graft failure, may impair long-term survival of transplanted organs (Colvin 2007). Recently, the role of cytokines regulating the development of B lymphocytes has been in the focus of intensive analysis. The B-cell activating factor (BAFF) is a cytokine belonging to the TNF superfamily and supports survival, maturation, and activation of B lymphocytes (Mackay and Ambrose 2003; Mukhopadhyay et al. 1999; Schneider et al. 1999). BAFF exists in two forms, as a transmembrane protein and as a soluble trimer, and its expression is enhanced by IFN- α , IFN- γ , and IL-10 (Nardelli et al. 2001; Scapini et al. 2003). In addition to the fact that BAFF is important for B-cell development, excessive production of BAFF may give rise to autoimmune diseases, such as systemic lupus

A. Slavcev and J. Brozova equally contributed to this publication.

✉ Antonij Slavcev
antonij.slavcev@ikem.cz

- ¹ Department of Immunogenetics, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic
- ² Clinic of Nephrology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic
- ³ Department of Clinical and Transplantation Pathology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic
- ⁴ Unit of Medical Statistics, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic
- ⁵ Department of Clinical and Transplantation Immunology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videnska 1958/9, 140 21 Prague, Czech Republic

erythematosus, B-cell hyperplasia, Sjögren's syndrome, rheumatoid arthritis, etc (Mariette et al. 2003; Ota et al. 2010; Zhang et al. 2001). As far as transplant reactions are concerned, it has been reported that BAFF might facilitate the production of DSA (Thibault-Espitia et al. 2012) and could correlate with impaired function of the kidney allograft (Mariette et al. 2003; Xu et al. 2009). High-risk patients who underwent DSA-incompatible kidney transplantation exhibited elevated concentrations of BAFF and were at increased risk of AMR; however, this correlation was not observed in antibody-compatible recipients (Banham et al. 2013). The report of Snanoudj et al. (2014) showed a positive correlation between anti-HLA antibodies and BAFF concentrations in serum, but no association with the development of AMR was found.

Given the contradictory data in the literature, the aim of this study was to compare BAFF levels between high-risk patients with diagnosed AMR and a control group of patients without rejection, i.e., to test the hypothesis whether BAFF concentrations might be useful as a diagnostic marker of AMR. In AMR patients, BAFF levels were defined before transplantation and during rejection. In the control patient group, BAFF was determined before transplantation and 3 months after transplantation.

Patients, Materials, and Methods

The research was approved by the Ethical Committee of our Institute, and, before inclusion into the study, written informed consent was obtained from all patients. Thirty-six patients who underwent kidney transplantation in our centre were included. Nineteen patients with AMR were transplanted during the period 2009–2013. Antibody-mediated rejection was diagnosed within 2 months after transplantation; patients were followed up for graft function over a period of 1 year after transplantation. Seventeen control patients were transplanted during the years 2004–2005 and had immediate development of graft function with no rejection episodes for up to 10 years after transplantation. Of the 36 recipients, 6 were transplanted with kidneys from living donors and 30 from deceased donors. Patient sera were collected 0–21 days before transplantation. In patients without rejection, measurements of BAFF were performed 3 months after transplantation, during regular check of kidney graft function, whereas in patients with AMR, BAFF levels were defined during the rejection episode (0–2 months after transplantation). No patient had primary autoimmune disease which would influence BAFF levels. In our study, only the soluble BAFF cytokine was analysed.

The levels of the BAFF cytokine were measured using the Xmap (Luminex) method (R&D Systems, Minneapolis,

USA) according to the manufacturer's instructions. The minimum detectable concentration of BAFF was 0.56 pg/ml. Panel reactive antibodies (PRA) were defined by the complement-dependent cytotoxicity (CDC) test on lymphocytes collected from 50 healthy individuals. Detection of HLA antibodies by solid-phase technique was performed by the LABScreen Mixed method; positive sera in the LABScreen test were further tested for specificity by Single Antigen (SA) beads (OneLambda Inc.) according to the manufacturer's instructions. A cutoff for positivity of 1000 MFI and 2000 MFI was applied for Class I and Class II SA beads, respectively. Acute cellular rejection (ACR) and AMR were diagnosed in graft biopsies according to the updated Banff classification (Solez et al. 2008). AMR was defined by morphological evidence of acute tissue injury, immunofluorescent detection of diffuse C4d deposits in peritubular capillaries (>10%), and the presence of DSA in patient sera.

Statistical Analysis

Statistical evaluation of results was performed using GraphPad InStat 5 and MedCalc software. Age, serum creatinine, BAFF cytokine levels, and the number of HLA mismatches were analysed using the Mann–Whitney test. Gender, PRA, compatibility between the recipient and donor in the ABO system, the number of transplantations, induction, and maintenance immunosuppression were analysed using the χ^2 test with Yates correction. Results are shown as mean \pm standard deviation or percentage. Differences between the data were statistically significant when the *p* value was <0.05.

Results

As indicated above, the patient cohorts included 19 risk patients with diagnosed AMR (11 males and 8 females) and 17 control patients without rejection (10 males and 7 females). The mean age of the AMR group was 55 ± 6 years, while the age of the control group was 51 ± 17 years. Out of the 36 patients, six were transplanted with kidneys from living donors (five of those patients developed acute AMR), while the remaining 30 recipients received kidneys from deceased donors. All patients were transplanted for the first time. Eleven patients who were treated with induction therapy (anti-thymocyte globulin or basiliximab) were diagnosed with AMR. Applied maintenance immunosuppression was a combination of tacrolimus, sirolimus, and prednisone. Demographic and other clinical data are shown in Table 1. No significant differences in gender, age, or type of donor (living/deceased) were found between the cohorts. Patients who

Table 1 Demographic and clinical data of kidney recipients and incidence of acute antibody-mediated rejection

	No rejection		AMR ^a		<i>p</i> value
	<i>n</i> = 17	Range/(%)	<i>n</i> = 19	Range/(%)	
Recipient age (<i>n</i> = 36)	55 ± 6	(44–66)	51 ± 16	(34–82)	NS ^d
Gender					
Male (<i>n</i> = 21)	10	48%	11	52%	NS
Female (<i>n</i> = 15)	7	47%	8	53%	
Type of donor					
Living (<i>n</i> = 6)	1	17%	5	83%	NS
Deceased (<i>n</i> = 30)	16	53%	14	47%	
Serum creatinine (μmol/l)					
1-month (<i>n</i> = 36)	117 ± 32	(81–208)	260 ± 156	(109–426)	<0.0001
3-month (<i>n</i> = 34)	124 ± 30	(82–204)	185 ± 65	(99–312)	<0.01
6-month (<i>n</i> = 33)	113 ± 20	(79–159)	184 ± 106	(78–518)	<0.05
12-month (<i>n</i> = 35)	104 ± 14	(73–134)	207 ± 135	(93–614)	<0.001
Induction immunosuppression					
No (<i>n</i> = 24)	16	67%	8	33%	<0.01
Yes (<i>n</i> = 12)	1	8%	11	92%	
Maintenance immunosuppression					
FK506 ^b , MMF ^c , Prednisone (<i>n</i> = 30)	14	82%	16	84%	NS
FK506, Rapamycin, Prednisone (<i>n</i> = 2)	0	0%	2	11%	
Cyclosporine, MMF, Prednisone (<i>n</i> = 2)	2	12%	0	0%	
Other (<i>n</i> = 2)	1	6%	1	5%	

^a Antibody-mediated rejection^b Tacrolimus^c Mycophenolate mofetil^d Not significant

developed AMR had significantly higher concentrations of serum creatinine after the first ($p < 0.0001$), third ($p < 0.01$), sixth month ($p < 0.05$), and 1 year ($p < 0.001$) after transplantation (Mann–Whitney test). Furthermore, serum creatinine levels in rejecting patients were compared with the type of donor. Patients who received kidneys from living donors ($n = 5$) had significantly lower creatinine concentrations than patients with grafts from deceased donors ($n = 14$; $p < 0.05$). Among patients with AMR ($n = 19$), nine patients developed simultaneously ACR (5 males, 4 females, age 53 ± 14 years). There were no significant differences in gender, age, or application of induction immunosuppression between these patients and patients without rejection.

Selected Risk Factors in Relation to the Incidence of AMR

The number of HLA mismatches in patients free of rejection ($n = 17$, 4.3 ± 1.6) and patients with AMR (3.9 ± 1.6) were approximately the same. In addition, no major variations were found in the level of PRA before transplantation in both patient cohorts (11 patients without

rejection had PRA $< 10\%$ and six had PRA $\geq 10\%$; in AMR patients, seven had PRA $< 10\%$ and eight had PRA $\geq 10\%$; Table 2).

Concerning BAFF levels, before transplantation, the serum concentrations in patients without rejection (3.5 ± 0.9 ng/ml) were higher than in patients with AMR (2.9 ± 0.7 ng/ml), however, this trend did not reach statistical significance. Conversely, after transplantation, BAFF levels in patients free of rejection were significantly higher than in patients with AMR (3.2 ± 1.0 and 2.3 ± 0.7 ng/ml, respectively, $p < 0.05$; Fig. 1). The mean decrease (Δ) of soluble BAFF was 0.54 ± 1.18 ng/ml and 0.32 ± 2.12 ng/ml in patients with AMR and without rejection, respectively ($p = 0.739$).

Selected Risk Factors in Relation to the Incidence of Combined AMR and ACR

There were no major variations in gender, type of donor, immunosuppression, the number of HLA mismatches, or PRA levels between patients with AMR, simultaneous AMR and ACR, and patients free of rejection (Tables 3, 4). Serum creatinine concentrations were, however, significantly higher

Table 2 Selected risk factors in relation to the incidence of acute antibody-mediated rejection (AMR)

	No rejection		AMR		<i>p</i> value
	<i>n</i> = 17	Range/(%)	<i>n</i> = 19	Range/(%)	
PRA^a					
<10% (<i>n</i> = 23)	11	48%	12	52%	NS ^c
≥10% (<i>n</i> = 13)	6	46%	7	54%	
PRA					
<50% (<i>n</i> = 32)	15	47%	17	53%	NS
≥50% (<i>n</i> = 4)	2	50%	2	50%	
Number of HLA mismatches					
(<i>n</i> = 29)	4.3 ± 1.6	(0–6)	3.9 ± 1.6	(0–6)	NS
Serum creatinine (μmol/l)^b					
(<i>n</i> = 36)	122 ± 22	(82–204)	436 ± 168	(153–980)	<0.0001
BAFF (ng/ml)					
Before transplantation (<i>n</i> = 36)	3.5 ± 0.9	(1.8–5.6)	2.9 ± 0.7	(1.9–6.7)	NS
After transplantation (<i>n</i> = 36)	3.2 ± 1.0	(1.6–6.6)	2.3 ± 0.7	(1.4–4.2)	<0.05

^a Panel-reactive antibodies

^b Time points for serum creatinine measurements were the same as those for performing BAFF measurements

^c Not significant

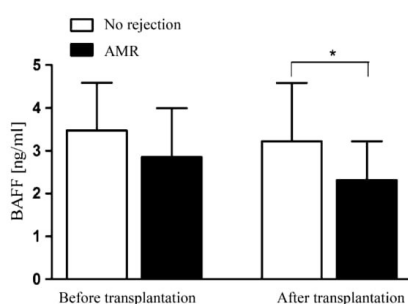


Fig. 1 Concentrations of BAFF before and after transplantation in patients without rejection and patients with AMR (Mann–Whitney test, **p* < 0.05)

in patients with combined AMR and ACR in comparison with patients without rejection (<0.0001) (Table 4). Before transplantation, BAFF concentrations did not significantly differ between the patient cohorts, although a trend of lower BAFF levels in patients with rejection was observed. In patients with simultaneous ACR and AMR (*n* = 9), however, BAFF levels after transplantation were significantly lower than in patients without rejection (*p* < 0.01) (Table 4; Fig. 2). In patients with AMR only, a trend of lower BAFF was observed compared with patients free of rejection (*p* = 0.0653) (Fig. 2). When comparing the concentrations of BAFF in patients with AMR with the presence of DSA before and after transplantation, seven patients with AMR had DSA before transplantation,

while the remaining 12 recipients did not. No correlation was found between BAFF levels and the production of DSA (Fig. 3).

Discussion

As indicated above, the BAFF cytokine is a key regulator of B-cell development, provides signals for maturation to naïve and memory B lymphocytes, and supports the survival of plasmablasts and plasma cells. Concerning its role in organ transplantation, elevated expression of BAFF in peripheral blood cells was observed in patients with abnormal graft function and elevated PRA (Xu et al. 2009). Moreover, patients with high BAFF levels had a higher probability of producing DSA (Thibault-Espitia et al. 2012). High concentrations of BAFF have been also measured in patients before and after immunotherapy using anti-CD52 and anti-CD20 antibodies (Banham et al. 2013; Bloom et al. 2009; Zarkhin et al. 2008). In our study, we compared the concentrations of the soluble BAFF cytokine in patients with and without AMR before and after transplantation with the goal of testing the hypothesis whether the BAFF cytokine can be used as a diagnostic marker of AMR. Our cohorts included a high-risk group of 19 patients who developed AMR; nine of whom also had concurrent ACR. The control group comprised 17 patients without rejection. Analysis of demographic data of the two cohorts did not show a statistically significant influence of gender, age, or

Table 3 Demographic and clinical data of kidney recipients and incidence of concurrent antibody-mediated rejection and acute cellular rejection

	No rejection		AMR ^a + ACR ^b		<i>p</i> value
	<i>n</i> = 17	Range/(%)	<i>n</i> = 9	Range/(%)	
Recipient age					
<i>n</i> = 26	55 ± 6	(44–66)	53 ± 14	(34–72)	NS ^c
Gender					
Male (<i>n</i> = 15)	10	69%	5	31%	NS
Female (<i>n</i> = 11)	7	56%	4	44%	
Type of donor					
Living (<i>n</i> = 5)	1	20%	4	80%	0.034
Deceased (<i>n</i> = 21)	16	79%	5	21%	
Serum creatinine (μmol/l)					
1-month (<i>n</i> = 26)	117 ± 32	(81–208)	249 ± 114	(121–426)	<0.01
3-month (<i>n</i> = 24)	124 ± 30	(82–204)	209 ± 72	(118–313)	<0.01
6-month (<i>n</i> = 23)	113 ± 20	(79–159)	186 ± 76	(101–300)	0.057
12-month (<i>n</i> = 25)	104 ± 14	(73–133)	225 ± 104	(107–381)	<0.001
Induction immunosuppression					
No (<i>n</i> = 22)	16	80%	6	20%	0.10
Yes (<i>n</i> = 4)	1	40%	3	60%	
Maintenance immunosuppression					
FK506 ^c , MMF ^d , Prednisone (<i>n</i> = 21)	14	82%	7	78%	NS
FK506, Rapamycin, Prednisone (<i>n</i> = 2)	0	0%	2	22%	
Cyclosporine, MMF, Prednisone (<i>n</i> = 2)	2	12%	0	0%	
Other (<i>n</i> = 1)	1	6%	0	0%	

^a Antibody-mediated rejection^b Acute cellular rejection^c Tacrolimus^d Mycophenolate mofetil^e Not significant

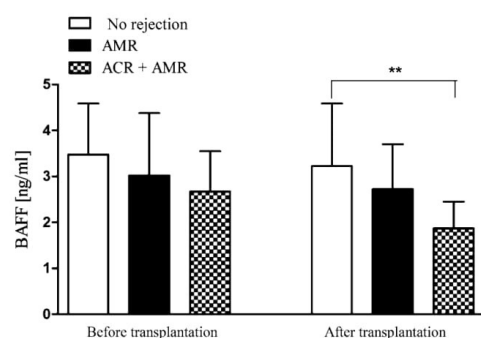
the type of maintenance immunosuppression on the development of AMR. Interestingly, 11 out of the 12 patients, who underwent induction immunosuppressive regimen before transplantation, developed AMR. This finding suggests that these patients were already high risk before transplantation and, in spite of the application of intensive immunosuppressive treatment, they developed acute rejection. Intriguingly, data in the literature concerning the changes in B-cell phenotypes and B-cell subsets after induction immunosuppression with basiliximab are contradictory (Cherukuri et al. 2012; Longshan et al. 2014). The potential effects of basiliximab on BAFF levels/or activity, however, to our best knowledge, have still not been investigated. As far as graft function was concerned, patients with AMR had significantly higher concentrations of serum creatinine at various time points after transplantation in comparison with patients free of rejection. This observation is in line with previously published data, showing that AMR may permanently damage the transplanted organ (Colvin and Smith 2005).

The evaluation of several risk factors of rejection did not show significant effect of the number of HLA mismatches and elevated PRA on the incidence of AMR and ACR. It is well known that high PRA are a risk factor for the development of AMR; however, because of the relatively small number of patients included into our study and probably due to the low sensitivity of the CDC test used for the evaluation of PRA, this relationship could not be demonstrated.

The measured values of the BAFF cytokine before transplantation did not show significant differences between the patient groups with and without rejection. However, a decreasing trend was observed among groups, where patients without rejection showed the highest average values of BAFF compared to the mean values in patients with AMR and simultaneous AMR and ACR. Surprisingly, when determining BAFF levels in the sera of patients obtained after transplantation (at the time of rejection), significantly lower values were found in recipients with AMR (*n* = 19). When analysed separately (patients with AMR only

Table 4 Selected factors in relation to the incidence of acute antibody-mediated rejection and combined antibody-mediated rejection (AMR) and acute cellular rejection (ACR)

	No rejection		AMR		AMR + ACR		<i>p</i> value
	<i>n</i> = 17	Range/(%)	<i>n</i> = 10	Range/(%)	<i>n</i> = 9	Range/(%)	
PRA^a							
<10% (<i>n</i> = 23)	11	48%	4	17%	8	35%	NS ^c
≥10% (<i>n</i> = 13)	6	46%	6	46%	1	8%	
PRA							
<50% (<i>n</i> = 32)	15	47%	8	25%	9	28%	NS
≥50% (<i>n</i> = 4)	2	50%	2	50%	0	0%	
HLA mismatches							
<i>n</i> = 29	4.3 ± 1.6	(0–6)	3.9 ± 1.6	(0–6)	4.3 ± 1.5	(0–6)	NS
Serum creatinine (μmol/l)^b							
<i>n</i> = 36	122 ± 22	(82–204)	448 ± 178 ^c	(153–980)	442 ± 183	(129–736)	<0.0001 ^d
BAFF (ng/ml)							
Before transplantation (<i>n</i> = 36)	3.5 ± 0.9	(1.8–5.6)	3.0 ± 0.8	(1.9–6.7)	2.7 ± 0.7	(1.7–4.1)	0.07
After transplantation (<i>n</i> = 36)	3.3 ± 1.1	(1.6–6.6)	2.7 ± 0.8	(1.4–4.2)	1.9 ± 0.5	(1.0–2.8)	<0.01 ^d

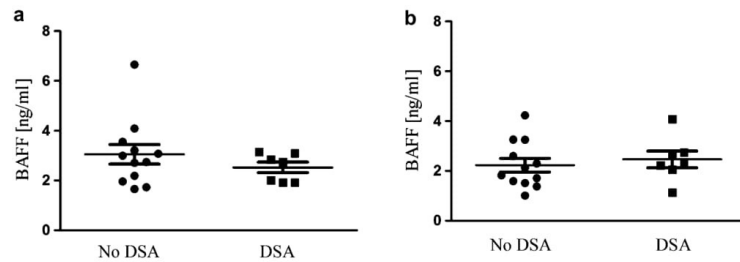
^a Panel-reactive antibodies^b Time points for serum creatinine measurements were the same as those for performing BAFF measurements^c Non-significant^d Compared with the non-rejection cohort**Fig. 2** BAFF levels before and after transplantation in patients free of rejection, with AMR and simultaneous AMR and ACR (Mann-Whitney test $**p < 0.01$)

(*n* = 10) and patients with simultaneous AMR and ACR (*n* = 9)), it became evident that the group of patients with AMR had a trend of lower concentrations of BAFF in comparison with the control group ($p = 0.065$). In contrast, patients with simultaneous AMR and ACR had significantly lower concentrations of BAFF vs patients without rejection. When confronted with literature data, as indicated above, Banham et al. (2013) reported increased levels of BAFF in patients with acute AMR who had undergone DSA-incompatible transplantation. In the same study, however, this

correlation was not found in HLA antibody-compatible kidney recipients. In other reports, no significant relationship was found between the concentrations of soluble BAFF and the incidence of acute AMR (Snanoudj et al. 2014; Thibault-Espitia et al. 2012; Xu et al. 2009). Interestingly, analysis by flow cytometry found significantly higher levels of membrane-bound BAFF in patients with abnormal renal function (Xu et al. 2009). In our judgement, the lower concentration of BAFF in patients with AMR could be caused by the binding of soluble BAFF by B or plasma cells. The significantly lower levels of BAFF in patients with concurrent AMR and ACR may also be explained by binding of the cytokine on B lymphocytes as well as T lymphocytes, which express membrane receptors for BAFF (BAFF-R, TACI).

In patients with AMR, we also checked the hypothesis whether the production of DSA might correlate with the levels of BAFF before and after transplantation. Of the 19 patients with AMR, seven had DSA before and after transplantation (the remaining 12 patients were DSA negative). We found no statistically significant differences in BAFF levels between the groups with and without DSA. This finding contradicts the data published by Zarkhin et al. (2008), who reported that patients with DSA against HLA class I antigens had higher levels of BAFF. Thibault-Espitia et al. (2012) also observed that renal transplant patients with higher concentrations of BAFF had a significantly greater risk of producing DSA; however, this

Fig. 3 BAFF concentrations before (a) and after transplantation (b) and correlation with DSA



finding was not confirmed by another recent study (Snanoudj et al. 2014).

In conclusion, when comparing the concentrations of the BAFF cytokine before transplantation, no significant differences were found between kidney recipients who developed acute AMR and patients free of rejection. The levels of BAFF during AMR were significantly lower in patients with concurrent acute humoral and cellular rejection versus patients free of rejection. Patients who had only acute AMR had a trend of lower concentrations of BAFF. No correlation was found between BAFF levels in patients with AMR and the production of DSA. Our results suggest that soluble BAFF measurements might be helpful as a marker of ongoing AMR and especially of simultaneous antibody-mediated and cellular rejection after kidney transplantation.

Acknowledgements This study was supported by IKEM Research Project No. 00.023.001 of the Ministry of Health, Czech Republic.

References

- Banham G, Prezzi D, Harford S et al (2013) Elevated pretransplantation soluble BAFF is associated with an increased risk of acute antibody-mediated rejection. *Transplantation* 96:413–420
- Bloom D, Chang Z, Pauly K et al (2009) BAFF is increased in renal transplant patients following treatment with alemtuzumab. *Am J Transplant* 9:1835–1845
- Cherukuri A, Salama AD, Carter C et al (2012) An analysis of lymphocyte phenotype after steroid avoidance with either alemtuzumab or basiliximab induction in renal transplantation. *Am J Transplant* 12:919–931
- Colvin RB (2007) Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 18:1046–1056
- Colvin RB, Smith RN (2005) Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol* 5:807–817
- Longshan L, Dongwei L, Qian F et al (2014) Dynamic analysis of B-cell subsets in de novo living related kidney transplantation with induction therapy of basiliximab. *Transplant Proc* 46:363–367
- Mackay F, Ambrose C (2003) The TNF family members BAFF and APRIL: the growing complexity. *Cytokine Growth Factor Rev* 14:311–324
- Mariette X, Roux S, Zhang J et al (2003) The level of BLyS (BAFF) correlates with the titre of autoantibodies in human Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 62:168–171
- Mukhopadhyay A, Ni J, Zhai Y et al (1999) Identification and characterization of a novel cytokine, THANK, a TNF homologue that activates apoptosis, nuclear factor-kappaB, and c-Jun NH2-terminal kinase. *J Biol Chem* 274:15978–15981
- Nardelli B, Belvedere O, Roschke V et al (2001) Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* 97:198–204
- Ota M, Duong BH, Torkamani A et al (2010) Regulation of the B cell receptor repertoire and self-reactivity by BAFF. *J Immunol* 185:4128–4136
- Scapini P, Nardelli B, Nadali G et al (2003) G-CSF-stimulated neutrophils are a prominent source of functional BLyS. *J Exp Med* 197:297–302
- Schneider P, MacKay F, Steiner V et al (1999) BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. *J Exp Med* 189:1747–1756
- Snanoudj R, Candon S, Roelen DL et al (2014) Peripheral B-cell phenotype and BAFF levels are associated with HLA immunization in patients awaiting kidney transplantation. *Transplantation* 97:917–924
- Solez K, Colvin RB, Racusen LC et al (2008) Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 8:753–760
- Thibault-Espitia A, Foucher Y, Danger R et al (2012) BAFF and BAFF-R levels are associated with risk of long-term kidney graft dysfunction and development of donor-specific antibodies. *Am J Transplant* 12:2754–2762
- Xu H, He X, Liu Q et al (2009) Abnormal high expression of B-cell activating factor belonging to the TNF superfamily (BAFF) associated with long-term outcome in kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 41:1552–1556
- Zarkhin V, Kambham N, Li L et al (2008) Characterization of intra-graft B cells during renal allograft rejection. *Kidney Int* 74:664–673
- Zhang J, Roschke V, Baker KP et al (2001) Cutting edge: a role for B lymphocyte stimulator in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 166:6–10

6.5 Transkriptom u akomodace a subklinické protilátkami zprostředkované rejekce po transplantaci ledviny

Úvod

Střední doba přežívání transplantovaných ledvin od dárců s inkompatibilní krevní skupinou je porovnatelná s dobou přežívání od kompatibilních dárců. Transplantace ledviny od AB0 inkompatibilních dárců představuje možnost navýšení počtu transplantací při nedostatku orgánů. Desensitizační protokoly u AB0i transplantací vedou ke snížení titru hemaglutininů, nicméně přítomnost nízkého titru hemaglutininu ukazuje na interakci mezi protilátkou a endotelem. Ta se pak projeví při histologickém vyšetření biopsie štěpu jako depozice C4d složky komplementu v PTC. V IKEM až 76 % kontrolních biopsií ve 3. měsíci po transplantaci vykazovalo pozitivní C4d nález při současné stabilní funkci ledvinného štěpu (Osickova K. et al., 2018; Hrubá P. et al., 2019). Tento stav je označován jako akomodace. Vlastní mechanismus akomodace nebyl dosud dostatečně objasněn. Výsledky vycházející z *in vitro* studií na kulturách endoteliálních buněk (Iwasaki O. et al., 2012; Noma K. et al., 2012) ukazují na možnou úlohu regulačních proteinů komplementu a protiapoptotických proteinů.

Podobná situace je u pacientů, kteří podstupují HLA inkompatibilní transplantaci, tj. transplantace provedená od dárců ledvin, proti kterým příjemce vytváří DSA. Také u těchto pacientů C4d depozice v PTC potvrzuje interakci mezi DSA a endotelem a je považována za diagnostický marker AMR. Přítomnost DSA současně s C4d pozitivitou vede ve většině případů k morfologickému poškození a zhoršení funkce štěpu. Nicméně u HLAi pacientů s nízkými hladinami DSA a C4d pozitivním nálezem v protokolárních biopsiích může být funkce štěpu stabilní. Současná Banffská klasifikace tento stav označuje jako aktivní subklinickou protilátkami zprostředkovanou rejekci (sAMR). Na rozdíl od AB0i inkompatibilních transplantací ledvin, výsledky HLAi inkompatibilních transplantací s preformovanými DSA mají horší přežívání než HLA kompatibilní transplantace. Hypotéza naší práce byla, že mechanismy, které vznikají následně po vazbě protilátky na cévní endotel u AB0i a HLAi transplantací, jsou rozlišné.

Metodika

Soubor pacientů

Provedli jsme retrospektivní, observační studii, které se účastnila dvě transplantační centra, IKEM a Hannover. Cílem studie bylo zjistit, jaký je rozdíl mezi biopsiemi, kde je C4d depozice vyvolána přítomností hemaglutininů, a biopsiemi, kde je depozice C4d vyvolána přítomností DSA. Pomocí microarray čipové analýzy jsme porovnali transkripční profil tříměsíčních protokolárních biopsií u tří skupin pacientů: 1. C4d-pozitivní biopsie pacientů po ABOi transplantaci se stabilní funkcí štěpu (n = 11) 2. C4d-pozitivní biopsie pacientů po HLAi transplantaci s DSA s diagnózou subklické AMR (n=7) a 3. C4d-negativní biopsie pacientů po HLA kompatibilní transplantaci s normálním nálezem a stabilní funkcí štěpu (n = 8).

ABOi pacienti podstoupili před transplantací desensitizační léčbu rituximabem 1 měsíc před transplantací a 14 dní před transplantací u nich byla zahájena imunosupresivní léčba (takrolimus, mykofenolát mofetil a kortikoidy). Deplece protilátek proti dárcovské krevní skupině byla provedena pomocí plazmaferézy s použitím kolony Glycosorb 1 týden před transplantací, s dosažením hemaglutininového titru 1 : 8 a méně. Den před transplantací všichni nemocní dostali IVIG (0,5 g/kg). V době transplantace byla použita indukce basiliximabem a metylprednisolonem a trojkombinace imunosupresivního režimu, stejně jako u HLAi skupiny.

V ABOi kohortě byl medián hemaglutininového titru před transplantací 1 : 16 (max. 1 : 128), v době transplantace už poklesl na 1 : 2 a kontrolní titr po transplantaci byl taktéž 1 : 2.

Nemocní v HLAi skupině podstoupili transplantaci od kadaverózních dárců, byli to nemocní s vysokým imunologickým rizikem s C4d pozitivním nálezem v biopsiích. Jejich indukce byla volena s thymoglobulinem, s/nebo provedením PF nebo s aplikací rituximabu či bortezomibu. V době provedení transplantace v HLAi skupině měli 3 nemocní pozitivní protilátky proti dárci v I. třídě, 2 nemocní pozitivní protilátky proti II. třídě a 2 pacienti měli současně pozitivní protilátky proti I. a II. třídě.

Nemocní s biopticky potvrzenou subklinickou AMR (sAMR) ve skupině HLAi transplantací splnili všechna 3 histologická kritéria dle Banff 2013, tj. serologická evidence DSA, pozitivní C4d barvení v PTC nebo současně mikrovaskulární zánět ($g > 0$ a/nebo $ptc > 0$) nebo intimální arteritida ($v > 0$).

Pacienti v kontrolní skupině byli transplantováni od kadaverózních dárců, neměli detekovány DSA a měli nízké PRA. Kromě positivity C4d měli všechny 3 skupiny přibližně stejné Banff skóre.

K validaci rozdílů mezi skupinami, zjištěných pomocí microarray analýzy, jsme použili soubor 27 nemocných, kteří byli transplantováni v období mezi roky 2005 a 2016 v IKEM a Hannover Medical School. Pro tuto validaci byla zvolena jiná technika, a to RT-qPCR. Klinické charakteristiky byli stejné jako u pacientů analyzovaných pomocí microarray.

Microarray analýza

Z biopsí (n = 26) byla izolována RNA a 200 ng RNA bylo použito jako templát pro amplifikaci a značení biotinem pomocí Illumina® TotalPrep™ RNA Amplification Kitu. Značená komplementární RNA (cRNA) byla hybridizována na Illumina HumanHT-12 v4.0 Expression BeadChips (Illumina, Inc., San Diego, CA). Fluorescenčně označená cRNA navázaná na proby čipu byla digitalizována po oskenování čipu pomocí iScan System instrument (Illumina).

Analýza expresních dat z čipů

Hrubá data, získaná po oskenování čipů, byla analyzována pomocí R software (lumi package), normalizována a vyhodnocena diferenciatní exprese. Jako rozdílně exprimované byly vyhodnoceny transkripty s FC (fold change) > 2 and a p hodnotou < 0,05. Funkční anotační analýza byla provedena pomocí database David (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>). Expresní data pro komplementovou dráhu byla vyhodnocena pomocí QIAGEN's Ingenuity Pathway Analysis (IPA, QIAGEN, Redwood City, www.qiagen.com/ingenuity).

Validační analýza

Expese 28 genů, vybraných na základě microarray analýzy jako rozdílně exprimované mezi ABOi a HLAi skupinou, byla validována pomocí RT-qPCR (real-time kvantitativní polymerázová řetězová reakce) na jiné kohortě 27 pacientů, 18 v ABOi skupině a 9 v HLAi skupině.

Výsledky

sAMR u HLAi a akomodace u ABOi transplantaci sdílí podobnou dráhu/cestu imunoaktivace jako C4 negativní kontroly

Pomocí microarray jsme porovnali transkriptomický profil C4d pozitivních biopsií pacientů po HLAi inkompatibilní či ABOi inkompatibilní transplantaci s C4d negativními biopsiemi pacientů po HLA kompatibilní transplantaci s normálním nálezem a stabilní funkcí.

Zajímalo nás, zda vazba DSA nebo hemaglutininů povede k aktivaci imunitní odpovědi. Genová anotační analýza se zvýšenou expresí u skupiny AB0i či HLAi v porovnání s C4d negativní kontrolou však aktivací imunitní odpovědi u C4d pozitivních nálezů neodhalila. U AB0i skupiny byla zvýšená exprese transkriptů asociovaných s GO termínem mitochondrion ($p = 0,016$) a u HLAi skupiny s GO termíny oxidation and reduction ($p = 6,9 \times 10^{-5}$), carboxylic and organic acid catabolic processes ($p = 3.7 \times 10^{-4}$) a několik GO termínů souvisejících se skupinou solute carrier family genes (ion transport, cation transport (např. *SLC36A2*, *SLC30A2*, *SLC5A2*, *SLC7A8*), anion transport (např. *SLC22A8*, *SLC12A3*, *SLC2A2*). Transkripty zvýšené u kontrolní skupiny byly zastoupeny méně, v 31 % (v porovnání s AB0i skupinou) a 40 % (v porovnání s HLAi skupinou) ze všech deregulovaných genů. Tyto transkripty se zvýšenou expresí u C4d negativních nálezů v porovnání s AB0i skupinou byly asociovány s GO termíny defense response ($p = 2,7 \times 10^{-6}$), response to wounding ($p = 5,3 \times 10^{-5}$), inflammatory response ($p = 1,00 \times 10^{-4}$) a complement activation ($p = 6 \times 10^{-3}$). Zatímco transkripty zvýšené u C4d negativních kontrol v porovnání se subklinickou AMR byly asociovány s GO termíny proteinaceous extracellular matrix ($p = 7,9 \times 10^{-14}$), extracellular matrix ($p = 1,2 \times 10^{-6}$) a collagen ($p = 1,2 \times 10^{-5}$).

Expese proteinů regulujících komplement CD46 a CD59 je asociována s C4d pozitivitou

Vzhledem k tomu, že předešlé práce naznačily možnou úlohu regulačních proteinů komplementu v mechanismu akomodace, analyzovali jsme podrobně expresní data z čipů pro komplementovou dráhu pomocí softwaru IPA. Zvýšená exprese CD59 transkriptu, který inhibuje tvorbu membrane attack komplexu, spolu se sníženou expresí C5 transkriptu pouze u AB0i skupiny naznačuje možnou regulační úlohu této molekuly v akomodaci. U obou inkompatibilních skupin pacientů (AB0i i HLAi) byla zvýšená exprese *CD46 (MCP)*. CD46 je kofaktor, který se účastní degradace složek komplementu C3b a C4b. Při porovnání pouze AB0i a HLAi skupiny s C4d negativní kontrolou byla zvýšená aktivace komplementové dráhy pozorována pouze u HLAi kohorty (Obr. 20).

Zvýšená exprese metalotioneinů a transkriptů z rodiny solute carrier family u HLAi v porovnání s AB0i štěpy

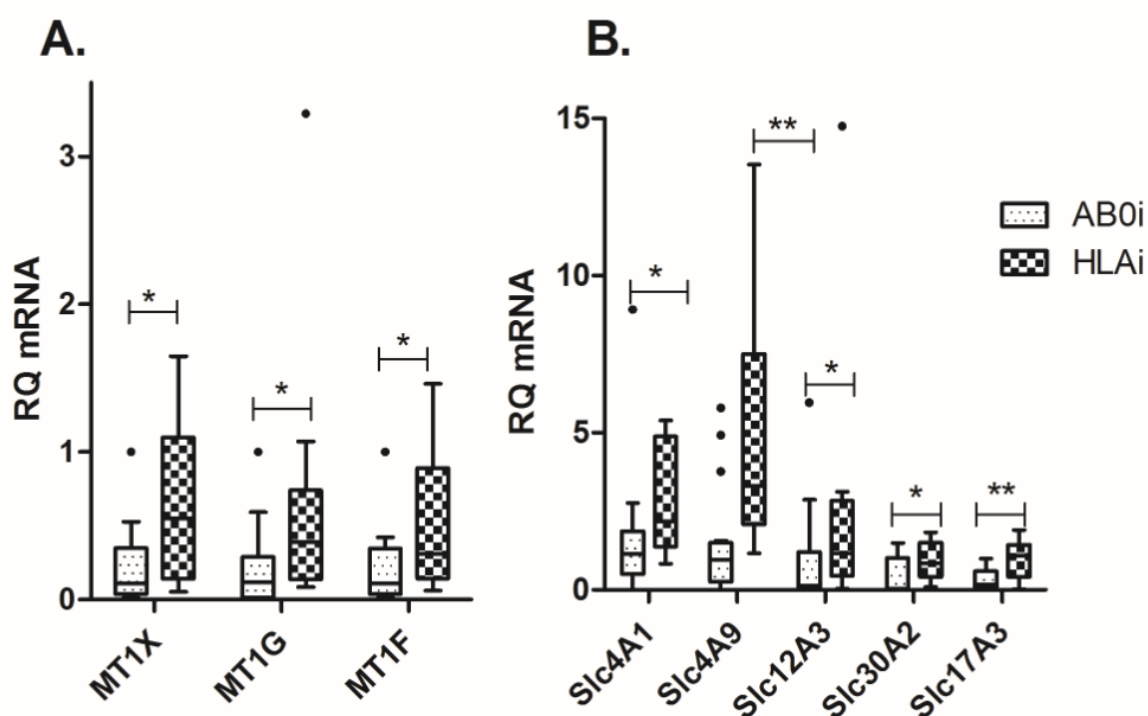
Ve snaze přispět k objasnění mechanismu akomodace jsme pomocí microarray porovnali transkripční profil mezi C4d pozitivními biopsiemi AB0i a HLAi pacientů. Genová anotační analýza genů, jejichž exprese byla snížena u AB0i skupiny odhalila asociace s GO termíny

cadmium ion binding a několik GO termínů s vysokou expresí transkriptů z rodiny solute carrier family (basolateral plasma membrane, plasma membrane a anion transmembrane transporter activity). Šest transkriptů spadajících do GO termínu cadmium ion binding patří mezi metalotioneiny první třídy (*MT1F*, *MT1G*, *MT1H*, *MT1E*, *MT1M* a *MT1X*).

Validací byla potvrzena snížená regulace metallothioninů a transkriptů genů z rodiny solubilních transportérů u ABOi kohorty

Validací pomocí RT-qPCR jsme potvrdili nižší expresi transkriptů z rodiny solute carrier family (*SLC4A1*: anion exchanger, $p = 0,018$; *SLC4A9*: sodium bicarbonate cotransporter, $p = 0,003$; *SLC17A3*: organic anion transporter, $p = 0,045$; *SLC12A3*: sodium/chloride transporter, $p = 0,035$; *SLC30A2*: zinc transporter, $p = 0,037$) a nižší expresi metalotioneninů *MT1F* ($p = 0,045$), *MT1G* ($p = 0,031$) a *MT1X* ($p = 0,021$) u ABOi pacientů v porovnání s HLAi pacienty (Obr. 1).

Obrázek 1: Expres transkriptomů u ABOi a HLAi transplantací



Diskuse

Krátkodobé i dlouhodobé výsledky transplantací ledvin od dárců s inkompatibilní krevní skupinou jsou díky desenzitizačním protokolům výborné a srovnatelné s HLA

kompatibilními transplantacemi (Becker LE. et al., 2015; Shishido S.N. et al., 2012; Okumi M. et al., 2016), přestože u těchto pacientů přetrvává i po transplanatci nízký titr hemaglutininů. Pokud se tyto hemaglutininy naváží na endotel štěpu, dojde k depozici C4d složky komplementu. Podobný histologický obraz je charakteristický pro protilátkami zprostředkovanou rejekci, která vede většinou ke zhoršení funkce štěpu. Nicméně u subklinické protilátkami zprostředkované rejekce, nemusí být při nižší hladině DSA C4d depozice spojena se zhoršenou funkcí. Hypotézou této studie bylo, že hemaglutininy u ABO inkompatibilních transplantací a DSA u HLA inkompatibilních transplantací po navázání na endotel štěpu, aktivují různé downstreamové mechanismy.

Hlavní rozdíly jsme pozorovali ve snížené aktivitě epiteliálních transportérů a metalotioneinů u ABOi v porovnání s HLAi. Vyšší exprese metalotioneinů třídy 1 u HLAi pacientů je v souladu s jejich anti-oxidačními účinky (Leirer D.J. et al., 2019; Kojima N. et al., 2009, Tanaka T. et al., 2009), které mohou potlačovat protizánětlivou odpověď indukovanou vazbou DSA na endotel. Vyšší exprese metalotioneinů byla zjištěna také u štěpů ledvin se steroid-rezistentní rejekcí (Rekers N.V. et al., 2013).

Na mechanismu akomodace se zřejmě podílejí i regulační proteiny komplementové dráhy, jak ukázala analýza našich microarray dat. U ABOi biopsií byla zvýšená exprese jak MCP/CD46, tak CD59, zatímco u HLAi biopsií byla zvýšená pouze exprese CD46. CD46/MCP je membránový protein, který se podílí na štěpení složek C3b a C4b, a tím reguluje proximální část komplementové dráhy. CD46 je kofaktorem faktoru I a nedokáže tedy zablokovat komplementovou dráhu sám, proto i nadále dochází k C4d depozici. CD59 protein inhibuje distální část komplementové dráhy tím, že brání vytvoření membrane attack komplexu. Domníváme se tedy, že potlačení aktivace distální části komplementové dráhy je pro akomodaci u ABOi transplantací klíčové. Naše zjištění je v souladu s *in vitro* experimenty na endoteliálních buňkách, v nichž hemaglutininy indukovaly expresi CD59 (Iwasaki O. et al., 2012; Noma K., 2012).

Fenomén akomodace vysvětlujeme rozdílnými downstreamovými mechanismy po vazbě hemaglutininu a anti-HLA protilátek na endotel renální mikrocirkulace. Jedním z možných vysvětlení je zvýšení exprese regulačního proteinu distální části komplementové dráhy CD59. Další rozdíly jsme pozorovali v aktivitě epiteliálních transportérů a metalotioneinů.

Článek byl publikován v časopise Transplantation. IF: 4.26

Molecular Patterns Discriminate Accommodation and Subclinical Antibody- mediated Rejection in Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2019 May;103(5):909-917.
Kompletní znění článku je přiloženo v anglickém jazyce.



Molecular Patterns Discriminate Accommodation and Subclinical Antibody-mediated Rejection in Kidney Transplantation

Petra Hrubá, PhD,¹ Zdeněk Krejčík, PhD,² Viktor Stranecký, PhD,³ Jana Malusková, MD,⁴ Janka Slatinská, MD,⁵ Faikah Gueler, MD, PhD,⁶ Wilfried Gwinner, MD, PhD,⁶ Jan Hinrich Bräsen, MD, PhD,⁷ Mariana Wohlfahrtová, MD, PhD,⁵ Alena Paríková, MD, PhD,⁵ Klara Osicková, MD,⁵ Jirí Fronek, MD, PhD,⁸ Ondřej Seda, MD, PhD,⁹ Lucie Prefertusová, MSc,⁴ Eva Honsová, MD, PhD,⁴ and Ondřej Víklícký, MD, PhD^{1,5}

Background. Accommodation in ABO-incompatible (ABOi) transplantation and subclinical antibody-mediated rejection in HLA-incompatible (HLAi) transplantation share several morphological similarities. Because the clinical long-term outcomes differ, we hypothesized different molecular processes involved in ABOi transplantation and subclinical antibody-mediated rejection. **Methods.** Using Illumina Human HT-12 v4 Expression BeadChips, the whole transcriptome was evaluated based on 3-month protocol C4d+ biopsies in otherwise stable ABOi and HLAi kidney grafts, as well as in C4d-negative HLA-compatible grafts exhibiting normal histological findings. Top differently regulated genes were further validated using real-time quantitative polymerase chain reaction in another patient cohort and complement regulatory proteins by immunohistochemistry. **Results.** In the case of genes involved in immune response-related biological processes, ABOi and HLAi cohorts had similar transcriptomic profiles to C4d-negative controls. The majority of deregulated genes in the ABOi and HLAi groups consisted of metallothioneins and epithelial transporter genes. Increased expression of epithelial transporters (*SLC4A1*, *SLC4A9*, *SLC17A3*, *SLC12A3*, and *SLC30A2*) and class 1 metallothioneins (*MT1F*, *MT1G*, and *MT1X*) in HLAi transplantation was validated by real-time quantitative polymerase chain reaction. In comparison to controls, both incompatible cohorts were characterized by the upregulation of intrarenal complement regulatory genes. *CD46* and *CD59* transcripts were increased in the ABOi cohort, whereas *CD46* solely in HLAi group, and *CD59* protein expression was similar in both incompatible groups. **Conclusions.** Several epithelial transporters and metallothioneins discriminate subclinical antibody-mediated rejection in HLAi transplantation from accommodation in ABOi transplantation, which suggest different involved downstream mechanisms and increased risk of injury in HLAi settings. Metallothioneins with their antioxidative properties may help to attenuate the inflammation response induced by donor-specific anti-HLA antibody binding.

(*Transplantation* 2019;103: 909–917)

INTRODUCTION

The medium-term kidney graft survival in ABO-incompatible (ABOi) kidney transplantation is similar to

ABO-compatible one that advocates current advent of desensitization protocols to increase the access to transplantation in incompatible pairs.^{1–3} However, in most

Received 29 June 2018. Revision received 6 December 2018.

Accepted 6 December 2018.

¹ Transplant Laboratory, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic.

² Department of Genomics, Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague, Czech Republic.

³ Research Unit for Rare Diseases, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic.

⁴ Department of Clinical and Transplant Pathology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic.

⁵ Department of Nephrology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic.

⁶ Department of Nephrology, Hannover Medical School, Hannover, Germany.

⁷ Department of Pathology, Hannover Medical School, Hannover, Germany.

⁸ Transplant Surgery Department, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic.

⁹ Institute of Biology and Medical Genetics, First Faculty of Medicine, Charles University and General Teaching Hospital, Prague, Czech Republic.

The authors declare no conflicts of interest.

This work was supported by the Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic (grant 15-26865A).

O.V. contributed to the design of the study. O.V., P.H., and M.W. participated in the writing of the manuscript. P.H., Z.K., F.G., W.G., J.H.B., J.S., K.O., J.F., A.P., J.M., L.P., and E.H. participated in the performance of the research. V.S., P.H., and O.S. participated in data analysis.

Supplemental digital content (SDC) is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text, and links to the digital files are provided in the HTML text of this article on the journal's Web site (www.transplantjournal.com).

Correspondence: Ondřej Víklícký, MD, PhD, Department of Nephrology, Transplant Center, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Videnska 1958/9, 14021 Prague, Czech Republic. (ondrej.viklicky@ikem.cz).

Copyright © 2019 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

ISSN: 0041-1337/19/10305-0909

DOI: 10.1097/TP.0000000000002604

patients, the persistence of low hemagglutinin titers after desensitization protocols leads to C4d-positive staining in the peritubular capillaries, indicating an antibody-endothelial interaction. Interestingly, the interaction that involves the binding of hemagglutinin to the endothelium is not associated with subsequent tissue injury. The phenomenon known as accommodation remains poorly understood,^{4,5} but the role of complement regulatory proteins and inactivation of the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway have been widely discussed.⁶⁻⁸ Similarly, in HLA-incompatible (HLAi) transplantation of donor kidneys to recipients with preexisting donor-specific anti-HLA antibodies (DSA), the C4d deposition in the peritubular capillaries points to an interaction between DSA and the endothelium, which serves as a diagnostic marker of antibody-mediated rejection. In most cases, it is associated with morphological injury and graft dysfunction; however, in protocol biopsies where kidney graft function is stable, the presence of low DSA levels may also be associated with C4d positivity. The current Banff classification describes this event as active subclinical antibody-mediated rejection (sAMR).^{9,10}

In contrast to ABOi kidney transplantation, outcomes of HLAi transplantation with preexisting DSA are generally inferior to outcomes of HLA-compatible transplantation. Therefore, we hypothesized that distinct downstream mechanisms could be regulated differently when hemagglutinins or HLA antibodies bind to the vascular endothelium in ABOi and HLAi transplantation.

MATERIALS AND METHODS

Study Design and Patients

We carried out an observational, retrospective, 2-center cohort study to compare the expression profiles of C4d-positive 3-month protocol renal allograft biopsies from patients with stable kidney graft function in an ABOi cohort with hemagglutinins and in an HLAi cohort with DSA. HLAi biopsies had the signs of graft injury corresponding to diagnosis of sAMR.¹⁰

For the training set, we selected 18 patients who had undergone kidney transplantation at the Institute for Clinical and Experimental Medicine between 2013 and 2015 with C4d-positive 3-month biopsies with available sample for transcriptomic analysis (11 in ABOi and 7 in HLAi cohorts, respectively). A control-compatible group (n = 8) comprising C4d-negative 3-month protocol biopsies with no signs of rejection was also selected.

In the case of the training set, the ABOi group consisted of patients who had received kidneys from living donors, with no DSA, low median peak panel-reactive antibodies (PRAs), and short cold ischemia time (Table 1).

Desensitization therapy for the ABOi group consisted of a dose of rituximab (375 mg/m²) administered 30 days before transplantation, followed by the initiation of a triple immunosuppression regimen (tacrolimus [0.2 mg/kg], mycophenolate mofetil [2 g], and prednisolone [30 mg]) 2 weeks before transplantation.¹¹ The depletion of antibodies against the donor blood group was carried out by plasmapheresis using Glycosorb (Glycorex Transplantation AB, Lund, Sweden) 1 week before transplantation, reaching an antibody titer decrease of 1:8. Patients were

administered IVIG (0.5 g/kg) 1 day before transplantation, while methylprednisolone (500 mg) and basiliximab were administered on the first and fourth days, respectively. Patients were then placed on a standard triple immunosuppression regimen similar to the HLAi group.

For ABOi patients, the median anti-A and anti-B antibody titers before rituximab depletion therapy was 1:16 (with max 1:128), dropping to 1:2 at the time of transplantation and remaining at 1:2 early after transplantation.

Since patients in the HLAi group with C4d-positive biopsies and positive DSA had received grafts from deceased donors, they were considered higher risk patients (previous transplantations, high PRAs) and were therefore given stronger induction treatment, usually consisting of thymoglobuline and/or plasmapheresis/plasma exchange or bortezomib and rituximab. At the time of transplantation, 3 of the 7 HLAi patients had positive class I DSA, 2 patients had positive class II DSA, and the remaining 2 patients had both positive class I and II DSA. All biopsies in the HLAi group fulfilled all 3 Banff 2013 criteria for sAMR: serological evidence of DSA, C4d3 staining in the peritubular capillaries, and either microvascular inflammation (g > 0 and/or ptc > 0) or intimal arteritis (v > 0).^{10,12}

Patients in the control group had received grafts from deceased donors and had low PRA and no DSA (Table 1). Besides C4d positivity in both the HLAi and ABOi groups compared with controls, Banff scores for the analyzed biopsies were similar across all 3 groups (Table 2).

For the validation set, we retrospectively examined 27 patients transplanted at the Institute for Clinical and Experimental Medicine and at Hannover Medical School between 2005 and 2016. The clinical characteristics of the validation cohort were similar to the training set (Tables S1 and S2, SDC, <http://links.lww.com/TP/B673>). The ethics committees of the Institute for Clinical and Experimental Medicine and Hannover Medical School approved the study protocol (approval numbers G-14-08-38, A13-02-01, and 2765), with all patients giving their informed consent to participate in the study.

Microarray Analysis

RNA Preparation, Hybridization, and Scanning

Total RNA was isolated from renal biopsies using the RNeasy Micro Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions. Samples with an RNA integrity number <6, measured using the Agilent RNA 6000 Nano Kit on the Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies), were excluded from the analysis. A total of 200 ng of purified RNA served as a template for the amplification and biotinylation of complementary RNA (cRNA) using the Illumina TotalPrep RNA Amplification Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) according to the manufacturer's instructions. Yields of labeled cRNA were determined using the Agilent RNA 6000 Nano Kit on the Agilent 2100 Bioanalyzer. Labeled cRNA (750 ng) was hybridized at 58°C for 17 hours using Illumina HumanHT-12 v4.0 Expression BeadChips (Illumina, Inc., San Diego, CA) before being washed and Cy3-stained according to the manufacturer's instructions.

TABLE 1.
Patient characteristics of the training set

Characteristic	ABOi (n = 11)	HLAi (n = 7)	Controls (n = 8)	P
Type of donor (deceased/living), n	0/11	7/0	8/0	<0.0001 ^{a,b}
Retransplantation, n (first/second/third)	11/0/0	1/4/2	8/0/0	<0.0001 ^{a,c}
Recipient age, y	48 (33–66)	46 (21–78)	57 (43–71)	0.338
Recipient sex, male, n	7	6	6	0.582
Donor age, y	54 (22–66)	54 (22–66)	54 (22–66)	0.637
Donor sex, male, n	5	3	6	0.174
Peak PRA	0 (0–92)	52 (6–96)	1 (0–32)	0.001 ^{a,c}
HLA mismatch	3 (2–4)	4 (2–5)	3 (0–6)	0.929
Dialysis vintage, mo	6 (0–62)	42 (12–127)	22 (10–95)	0.030 ^d
Cold ischemia, h	0.6 (0–2.2)	17.4 (14.2–21.6)	18.1 (0–20.2)	<0.001 ^{a,b}
Antibodies before transplantation				
Hemagglutinins, titers	1:16 (1:2–1:128)			
DSA class I, n	0	5	0	
DSA class I, MFI		1700 (0–15300)		
DSA class II, n	0	4	0	
DSA class II, MFI		2100 (0–12200)		
Antibodies after transplantation				
Hemagglutinins, titers	1:2 (1:1–1:8)			
DSA class I, n	0	4	0	
DSA class I, MFI		4200 (0–11800)		
DSA class II, n	0	4	0	
DSA class II, MFI		3357 (0–14887)		
Induction treatment				<0.0001
Basiliximab, n	11	0	0	
Thymoglobuline, n	0	7	0	
Serum creatinine at 3 mo (μmol/L)	117 (72–140)	138 (131–268)	115 (83–177)	0.046 ^d

Data are presented as n (%) or median (minimum-maximum). Differences were calculated using the Kruskal-Wallis test; significant results from post hoc Dunn's multiple comparison testing are shown.

^aHLAi vs ABOi.

^bABOi vs controls.

^cHLAi vs controls.

ABOi, ABO incompatible; DSA, donor-specific anti-HLA antibody; HLAI, HLA incompatible; PRA, panel-reactive antibody.

TABLE 2.
Histological scores of analyzed biopsies in the training set of patients

Banff score (0/1/2/3)	ABOi	HLAi	Controls	P
g	10/0/1/0	4/2/0/1	8/0/0/0	0.109
cg	11/0/0/0	5/1/1/0	8/0/0/0	0.208
mm	11/0/0/0	6/1/0/0	8/0/0/0	0.448
i	9/1/1/0	6/1/0/0	8/0/0/0	0.630
t	7/3/0/1	7/0/0/0	7/1/0/0	0.372
ti	7/4/0/0	4/3/0/0	8/0/0/0	0.114
ci	5/6/0/0	4/3/0/0	7/1/0/0	0.171
ct	4/7/0/0	1/6/0/0	3/5/0/0	0.542
v	11/0/0/0	5/2/0/0	8/0/0/0	0.053
cv	1/7/2/1	1/3/2/1	7/1/0/0	0.018 ^{b,c}
ah	3/5/2/1	1/2/2/0	6/2/0/0	0.243
ptc-s	8/0/1/0	4/2/0/0	8/0/0/0	0.105
ptc-q	8/1/0/0	4/1/1/0	8/0/0/0	0.346
ptc-e	8/1/0/0	5/1/0/0	8/0/0/0	0.520
C4d	0/2/2/7	0/0/0/7	8/0/0/0	<0.001 ^{d,e}

Pearson chi-squared test.

^aHLAi vs ABOi.

^bABOi vs controls.

^cHLAi vs controls.

ABOi, ABO incompatible; HLAI, HLA incompatible.

After hybridization, the chip was scanned using the iScan System instrument (Illumina) and raw data extracted using BeadStudio Data Analysis Software (Illumina).

RT-qPCR Analysis

For the validation patient set, a custom-made TaqMAN low-density array (Applied Biosystems) was used for real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) to analyze 28 genes revealed by microarray as differentially expressed between the ABOi and HLAI groups (SLC6A18-Hs00699608_m1, SLC7A13-Hs01095704_m1, SLC5A1-Hs01573793_m1, SLC12A1-Hs00165731_m1, SLC22A3-Hs00222691_m1, SLC30A8-Hs00545183_m1, SLC39A8-Hs00223357_m1, SLC7A5-Hs01001189_m1, SLC30A5-Hs00224708_m1, MT3-Hs01921768_s1, SLC22A8-Hs00188599_m1, SLC30A2-Hs00936934_m1, SLC36A2-Hs04186495_m1, SLC12A3-Hs01027568_m1, SLC7A8-Hs00794796_m1, SLC2A2-Hs01096908_m1, SLC22A6-Hs00537914_m1, SLC17A1-Hs00989468_g1, SLC4A9-Hs00324675_m1, SLC17A3-Hs00198361_m1, SLC4A1-Hs00978607_g1, SLC5A12-Hs01054640_m1, MT1H-Hs00823168_g1, MT1M-Hs00828387_g1, MT1X-Hs00745167_sH, MT1G-Hs04401199_s1, MT1F-Hs00744661_sH, MT1A-Hs00831826_s1) and 3 endogenous controls (GAPDH-Hs99999905_m1, PGK1-Hs99999906_m1,

HPRT1-Hs01003267_m1) for the validation set of patients ($n = 27$). RT-qPCR using TaqMAN low-density array technology was carried out as described elsewhere.¹³ RT-qPCR data were quantified using the SDS 2.4 software package (Applied Biosystems), while relative gene expression values were determined using a comparative $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method on Relative Quantification Manager Software v 1.2.1 (Applied Biosystems) with normalization to the endogenous control (HPRT1). The endogenous control was chosen from 3 candidate genes using NormFinder (www.mdL.dk) to determine the most stably expressed gene (HPRT1 with a stability value of 0.003). As a calibrator, one of the samples with a good expression profile on all of the target genes was used. All investigated mRNAs were measured in triplicate for each sample.

Validation Data Statistics

Data normality was tested using the Kolmogorov-Smirnov test. As most variables exhibited non-normal distribution, we compared 2 groups using the 2-tailed Mann-Whitney U test and 3 groups using the Kruskal-Wallis test, followed by a post hoc Dunn's multiple comparison test. Categorical data were compared using the chi-square or Fisher exact test. Two-sided P values were considered statistically significant in cases, where the P value was ≤ 0.05 .

The R software lumi package was used to process raw data obtained from microarray analysis, while the quantile method was used for normalization. Only probes with detectable signal intensity in at least 5 samples were included in the analysis. After normalization, probes with log of an average expression intensity < 3.5 were removed from further analysis. When comparing the ABOi and HLAi groups, only 1 gene (SCN2A) remained significant after multiple corrections. Therefore, differentially expressed genes were chosen as those with a fold change (FC) > 2 and unadjusted P value < 0.05 . Affected genes were functionally annotated, and deregulated pathways were identified using the David database (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>). To compare lists of deregulated genes, we availed of an interactive online tool for Venn diagrams (<http://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>). We analyzed the expression data for complement

pathways using QIAGEN's Ingenuity Pathway Analysis (QIAGEN, Redwood City, CA; www.qiagen.com/ingenuity) for genes with $FC \geq 1.5$ and $P < 0.05$. Complete raw and normalized data were deposited in the NCBI Gene Expression Omnibus database¹⁴ and can be accessed using the Gene Expression Omnibus Series accession number GSE109346 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE109346>).

Immunohistochemistry

Immunohistochemical detection of *CD59* (clone MEM 43; Exbio, Prague, Czech Republic) and *CD46* (clone 3F1; Novus Biological, Centennial, CO) was performed on 4- μ m-thick sections of paraffin-embedded tissues (in 5 biopsies from C4d-negative controls, 5 biopsies from C4d-positive HLAi grafts, and 5 biopsies from ABOi grafts) using the ultraView Universal DAB Detection Kit in Ventana BenchMark ULTRA system (Ventana, Tucson, AZ).

RESULTS

sAMR and Accommodation in ABOi Transplantation Share Similar Immune Activation Pathways as C4d-negative Controls

To determine whether DSA or hemagglutinin binding would result in an increase in immune response-related pathway activation, both HLAi and ABOi cohorts were compared using microarray, with controls defined as C4d-negative patients exhibiting normal histological findings and stable graft function.

In the discriminant gene analysis, 1110 probes were deregulated in the ABOi group and 1837 probes in the HLAi group and then compared with controls (Figure 1A and B). For overexpressed genes in the ABOi group ($n = 768$), gene ontology (GO) enrichment analysis showed only the GO term mitochondrion as statistically significant ($P = 0.016$). Genes involved in GO term mitochondrion with highest FC were *CYP17A1* (cytochrome P450); *ABAT* (4-aminobutyrate aminotransferase); *ACOT2* (acyl-CoA thioesterase 2); and *ALDH5A1*, *ALDH1B1*, and *ALDH6A1* (aldehyde dehydrogenases). The most significant GO terms associated with genes elevated in the HLAi

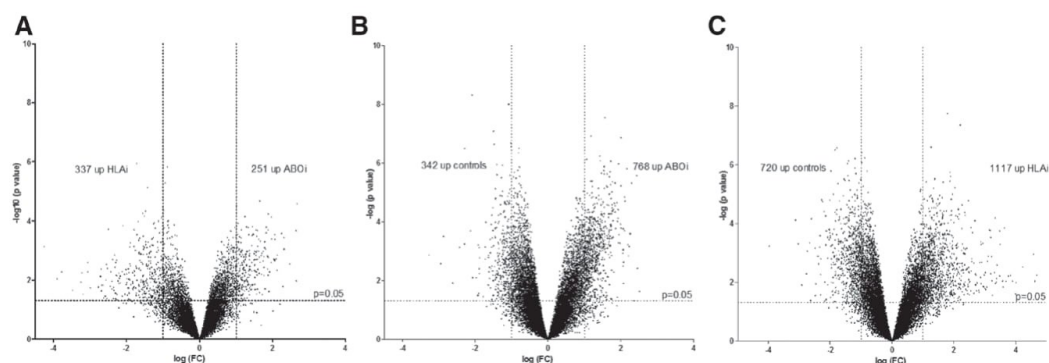


FIGURE 1. Volcano plot of limma-modeled microarray data. The data for all genes are plotted as the log₂ fold change vs $-\log_{10}$ of the P value. Thresholds are shown as dashed lines. Comparisons: A, ABOi vs controls; (B) HLAi vs controls; and (C) ABOi vs HLAi. ABOi, ABO incompatible; FC, fold change; HLAi, HLA incompatible.

group compared with controls (n = 1117) were those related to the following biological processes: oxidation reduction ($P = 6.90E-05$) (genes with the highest FC were *PAH* [phenylalanine hydroxylase], *CYP27B1* [cytochrome P450], or *GPX* [glutathione peroxidase]); carboxylic and organic acid catabolic processes ($P = 3.70E-04$) (*PAH*, *HPD* [4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase], *PRODH2* [proline dehydrogenase]); and several GO terms associated with solute carrier family genes (ion transport, cation transport [eg, *SLC36A2*, *SLC30A2*, *SLC5A2*, *SLC7A8*], anion transport [eg, *SLC22A8*, *SLC12A3*, *SLC2A2*]) (Table S3, SDC, <http://links.lww.com/TP/B673>).

In contrast, overexpressed genes in the control group accounted for 30.8% (versus the ABOi group) and 39.2% (versus the HLAi group) of the total deregulated genes.

These transcripts were represented by GO terms related to defense response ($P = 2.70E-06$), response to wounding ($P = 5.30E-05$), inflammatory response ($P = 1.00E-04$), and complement activation ($P = 6.10E-03$) when compared to the ABOi group (Table S3, SDC, <http://links.lww.com/TP/B673>), and proteinaceous extracellular matrix (ECM) ($P = 7.90E-14$), ECM ($P = 1.20E-13$), and collagen ($P = 1.20E-05$) when compared with the HLAi group. Additionally, there was higher expression of genes involved in KEGG pathways: ECM-receptor interaction ($P = 1.20E-06$) and focal adhesion ($P = 4.60E-04$) in controls compared with the HLAi group.

There was a 27.5% (n = 574) overlap in deregulated genes between the ABOi group versus controls and HLAi group versus controls (GO terms: oxidation reduction, fatty acid metabolic process, organic acid catabolic process, and carboxylic acid catabolic process) (Figure 2). Therefore, in the ABOi and HLAi groups, the activation of metabolism was present compared with controls.

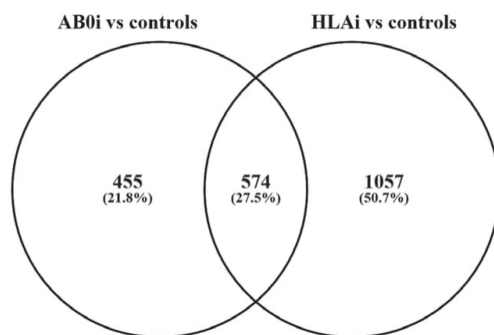


FIGURE 2. Venn diagram visualizing the overlapping number of deregulated genes between the ABOi group and the HLAi group versus controls (fold change > 2; $P < 0.05$). ABOi, ABO incompatible; HLAi, HLA incompatible.

Expression of Complement Regulatory Proteins CD46 and CD59 Is Associated With C4d Positivity

Low intragraft expression of complement receptor 2 (CR2) on B lymphocytes in the ABOi group compared with both the HLAi group and controls (Figure 3A and B, in green) suggests downregulation of the B-cell response to antigens, probably due to profound B-cell depletion by rituximab (Figure S1, SDC, <http://links.lww.com/TP/B673>). Increased expression of *CD59* (Figure 3A, in red), which inhibits the formation of the complement membrane attack complex (MAC), along with decreased expression of *C5* which were found in the ABOi group but not in the HLAi group, which points to the possible involvement of this complement-regulating molecule in ABOi accommodation only. In both incompatible cohorts, antibodies

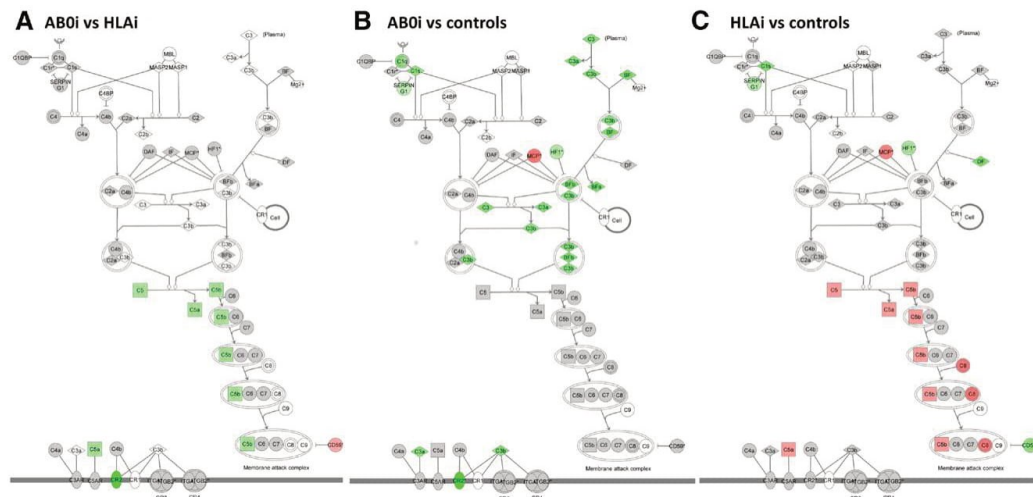


FIGURE 3. Intragraft differences in transcripts involved in the complement pathway for particular group comparisons. All transcripts with an FC > 1.5 and a $P < 0.05$ from microarray data comparisons—(A) ABOi vs HLAi; (B) ABOi vs controls; (C) HLAi vs controls—were overlaid on the complement pathway using Ingenuity Pathway Analysis software. Downregulated transcripts in ABOi (A, B) and HLAi (C) are displayed in green, whereas upregulated transcripts in ABOi (A, B) and HLAi (C) are shown in red. ABOi, ABO incompatible; FC, fold change; HLAi, HLA incompatible.

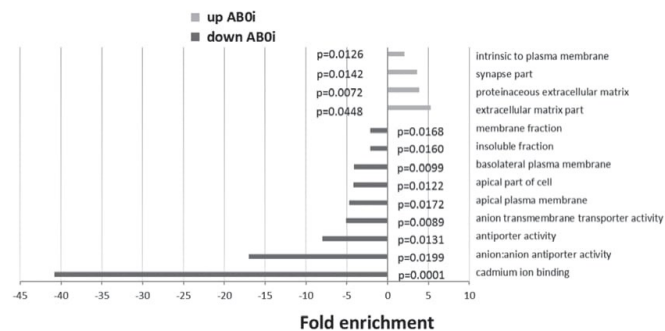


FIGURE 4. Bar plots display the fold enrichment and enrichment score values of significant enrichment terms for differentially expressed transcripts in the ABOi and HLAi groups. Differentially expressed genes involved in particular GO terms: cadmium ion binding (*MT1M*, *MT1A*, *MT1H*, *MT1G*, *MT1X*, *MT1F*), anion: anion antiporter activity (*SLC22A8*, *SLC22A6*, *SLC4A1*, *SLC4A9*, *SLC4A4*), antiporter activity (*SLC38A3*, *SLC22A8*, *SLC3A2*, *SLC22A6*, *SLC4A1*, *SLC4A9*, *SLC4A4*, *SLC47A2*), anion transmembrane transporter activity (*GABRB3*, *SLC17A3*, *SLC12A3*, *SLC17A1*, *CLIC5*, *SLC22A8*, *SLC22A6*, *SLC4A1*, *SLC4A9*, *ABCC2*, *SLC4A4*), apical plasma membrane (*RHCG*, *ANK2*, *SLC22A12*, *PDPN*, *SLC12A3*, *CA4*, *ENPEP*, *ABCC2*, *ATP6V1B1*), apical part of cell (*RHCG*, *ANK2*, *SLC22A12*, *PDPN*, *SLC12A3*, *ITGA8*, *CA4*, *ENPEP*, *SLC4A9*, *ABCC2*, *ATP6V1B1*), basolateral plasma membrane (*NOX4*, *PTPRC*, *LIMS1*, *RHCG*, *ANK2*, *IL1RL1*, *SLC2A2*, *SLC22A8*, *SLC22A6*, *SLC4A1*, *SLC4A9*, *ATP6V1B1*), insoluble and membrane fraction (*GCNT3*, *CYSLTR1*, *VAPB*, *MME*, *OAS1*, *ATP6V1B1*, *UGT1A7*, *UGT1A9*, *SLC2A2*, *SLC22A6*, *KLK6*, *OLR1*, *SLC12A3*, *SCN2A*, *SLC22A8*, *VPS41*, *NPR3*, *LILRB2*, *UGT1A10*, *PPP1R9A*, *PLCE1*, *SLC17A3*, *CLIC5*, *SLC17A1*, *NPHS1*, *CA4*, *CYP4F3*, *ABCC2*), extracellular matrix part (*LAMA2*, *TF*, *COL9A2*, *COL14A1*, *CILP*, *COL28A1*, *COL4A6*), proteinaceous extracellular matrix (*TF*, *WNT5B*, *MAMDC2*, *CILP*, *COL28A1*, *COL4A6*, *LAMA2*, *ADAMTS6*, *COL9A2*, *COL14A1*, *KAZALD1*, *FBLN7*, *DPT*, *SPON1*), synapse part (*TF*, *WNT5B*, *MAMDC2*, *CILP*, *COL28A1*, *COL4A6*, *LAMA2*, *ADAMTS6*, *COL9A2*, *COL14A1*, *KAZALD1*, *FBLN7*, *DPT*, *SPON1*), and intrinsic to plasma membrane (*CASR*, *SLC6A1*, *SLC5A1*, *CSPG4*, *CACNB2*, *ABCA4*, *ATP12A*, *SYNGR1*, *EPHB1*, *SCTR*, *KCNMB2*, *KCNK3*, *ASGR1*, *EDNRA*, *ADRA2A*, *SLC22A3*, *SLC30A5*, *CGBP2*, *GPIHBP1*, *SELP*, *GLRB*, *PTGER3*, *FLT3*, *PCDHB4*, *SLC6A18*, *GRM1*, *ACCN2*, *NTRK2*, *RYR1*). ABOi, ABO incompatible; GO, gene ontology; HLAi, HLA incompatible.

binding to endothelial cells increased the expression of *CD46* (*MCP*), which acts as a cofactor in the degradation of complement components C3b and C4b (Figure 3B and C, in red), compared with control-compatible stable grafts. When comparing the HLAi and ABOi groups with controls, downstream upregulation of the complement pathway was only observed in the HLAi group (Figure 3C, in red).

The validation of *CD46* expression at protein level by immunohistochemistry showed weak *CD46* staining only in the interstitium with negative staining in glomeruli and peritubular capillaries. There was no difference in the staining intensity among controls and ABOi and HLAi groups. *CD59* protein was localized mainly in peritubular capillaries and with less intensity in glomeruli and arteries. Although *CD59* positive staining of glomeruli was observed in both ABOi and HLAi groups, glomeruli in C4d-negative controls were not stained (Figure S2, SDC, <http://links.lww.com/TP/B673>).

Deregulation of Metallothioneins and Solute Carrier Family Genes in ABOi Compared With HLAi Grafts

To investigate the phenomenon of accommodation, gene expression profiles between ABOi and HLAi cohorts were compared using microarray analysis in a training set of patients. Volcano plot analysis demonstrated differences in mRNA expression values between both groups, with the *P*-value cutoff = 0.05 and the FC cutoff = 2.0 (Figure 1C). We identified 251 upregulated and 337 downregulated genes in the ABOi group compared with the HLAi group (Tables S4 and S5, SDC, <http://links.lww.com/TP/B673>).

Using the David GO tool (<https://david.ncicrf.gov/>) to categorize upregulated genes in the ABOi group, the most significant GO terms relating to cellular

components included ECM (*P* = 0.0018), proteinaceous ECM (*P* = 0.0072), and intrinsic to the plasma membrane (*P* = 0.0126) (Figure 4A).

Gene annotation enrichment analysis of downregulated genes in the ABOi group revealed the most significant GO terms related to cadmium ion binding (*P* < 0.001): anion transmembrane transporter activity (*P* = 0.009) and antiporter activity (*P* = 0.013); or to cellular components: plasma membrane part (*P* = 0.002), basolateral plasma membrane (*P* < 0.01), or apical part of cell (*P* = 0.012) (Figure 4B).

Genes belonging to the solute carrier family were shared among ≥2 GO terms (eg, basolateral plasma membrane, plasma membrane, and anion transmembrane transporter activity).

The cadmium ion-binding GO term reached the highest fold enrichment, totaling 6 class 1 metallothionein isoforms (*MT1F*, *MT1G*, *MT1H*, *MT1E*, *MT1M*, and *MT1X*) downregulated in the ABOi cohort. In contrast, class 3 metallothionein was upregulated in the ABOi group.

Validation Confirms Downregulation of Intrarenal Metallothioneins and Solute Carrier Family Genes in the ABOi Cohort

For validation, we selected significantly deregulated genes among the HLAi and ABOi groups (*P* < 0.05, FC > 2) belonging either to solute carrier family genes or metallothioneins. These genes were highly represented among the top deregulated GO terms.

Increased expression of 5 solute carrier family genes in the HLAi group were evaluated in comparison with the ABOi group: *SLC4A1* (anion exchanger, *P* = 0.018), *SLC4A9* (sodium bicarbonate cotransporter, *P* = 0.003), *SLC17A3* (organic anion transporter, *P* = 0.045), *SLC12A3*

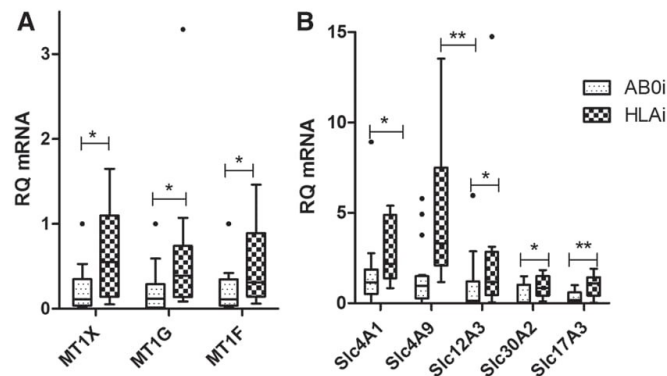


FIGURE 5. Validation of microarray analysis by RT-qPCR in the validation cohort ($n = 27$). Statistically significant differences in the expression of metallothioneins (A) and solute carrier family genes (B) between ABOi and HLAi patients were calculated using the nonparametric Mann-Whitney test, where RQ is relative quantity. ABOi, ABO incompatible; HLAi, HLA incompatible; RT-qPCR, real-time quantitative polymerase chain reaction.

(sodium/chloride transporter, $P = 0.035$), and *SLC30A2* (zinc transporter, $P = 0.037$) (Figure 5). These results confirmed the previous observations from the training set.

Validation further confirmed higher expression of 3 class 1 metallothioneins in the HLAi cohort compared with the ABOi cohort: *MT1F* ($P = 0.045$), *MT1G* ($P = 0.031$), and *MT1X* ($P = 0.021$). Class 3 metallothionein upregulation in the ABOi group observed in the training set was not confirmed in the validation set.

DISCUSSION

It is widely accepted that antibodies against the donor endothelium affect kidney graft survival. However, in ABOi kidney transplantation with low hemagglutinin titers after specific desensitization, long-term outcomes are similar to compatible transplantation.¹⁻³ Similar histological findings have been reported in some HLAi transplants with sAMR, even though long-term outcomes remain inferior. Therefore, we hypothesized that hemagglutinins and anti-HLA antibodies, when bound to the endothelium, might activate different downstream mechanisms. Thus, we evaluated renal transcriptomic differences in C4d+ grafts in patients with stable kidney graft function and circulating antibodies, either isohemagglutinins in the case of ABOi transplantation or DSA in the case of HLAi transplantation. Our main observation was that anti-HLA binding increased intragraft expression of class 1 metallothioneins and distinct epithelial transporters compared to hemagglutinin binding.

Various downstream mechanisms have been suggested to explain the mechanism of accommodation.⁴ Among other mechanisms, low titers of anti-HLA antibodies were hypothesized. Low titers of anti-HLA antibodies were shown to be associated with the activation of PI3K/AKT signaling in the mammalian target of rapamycin (mTOR) complex 2 pathway, leading to cell survival through antiapoptotic gene expression. In contrast, high antibody titers activated signaling in the mTOR complex 1, resulting in cell proliferation and graft rejection.^{15,16} A small microarray study⁶ compared the expression profiles of 4 ABOi grafts with 5 compatible grafts with stable function and

found 440 deregulated transcripts, with several genes involved in cellular metabolism, transcription, translation, and signal transduction. Similarly, in our study, we found an association between accommodation and the alteration of genes involved in cellular metabolism (eg, phenylalanine hydroxylase, cytochrome P450, glutathione peroxidase, acyl-CoA thioesterase, proline dehydrogenase). This higher metabolism activation may cover energy requirements for the production of effector molecules as a consequence of complement activation. Recently, higher expression of mitochondria-associated genes in the peripheral blood of patients with acute rejection has been reported.¹⁷ In our study, under both ABOi and HLAi settings, we observed an increase in intragraft mitochondria-associated transcripts compared with controls, which suggests higher metabolic activity associated with subclinical inflammation. In the ABOi group, rituximab induction therapy was associated with the downregulation of genes involved in inflammatory and defense responses, which is logical consequence of depletive effect of rituximab on B cells.¹⁸

Interestingly, both proximal and distal complement regulatory transcripts, *MCP/CD46* and *CD59*, respectively, were upregulated in ABOi settings, while in HLAi cohort the proximal complement regulatory molecule *CD46* was solely upregulated. Membrane protein (*CD46/MCP*) participates in proteolytic cleavage of both C3b and C4b and thus regulates proximal complement activation cascade. *CD46* is a cofactor for complement Factor I, and thus it is unable to interrupt the complement cascade on its own. Therefore, in both HLAi and ABOi, the C4d deposition occurred despite increased expression of *CD46* without simultaneously increased expression of complement Factor I. Contrary, *CD59* protein inhibits the distal part of complement cascade: the formation of complement MAC. Both *CD46* and *CD59* have been shown to induce regulatory T-cell subsets,^{19,20} leading to downregulation of the immune response. Because the outcome of the HLAi transplantation is different from ABOi one, we hypothesize that activation of distal complement inhibitory molecules such as *CD59* is critical for the outcome of kidney transplantation in the presence of low level of donor reactive antibodies. Interestingly, our observation is supported by in vitro

data as hemagglutinins induced expression of complement regulatory molecules, such as CD59, on endothelial cells in the in vitro experiment.²¹ By immunohistochemistry, we localized CD59 protein in peritubular capillaries, glomeruli, and arteries of both ABOi and HLAi patients but not in C4d-negative stable grafts. Higher expression of CD59 probably reflects protective mechanism against complement-mediated injury, as was shown in chronic AMR and recurrent IgA nephropathy.²² Therefore, as the first we report the involvement of CD59 transcript in the accommodation phenomenon observed in ABOi transplantation. Nevertheless, it is important to note that the magnitude of changes in the complement regulators observed in our study was not abnormally high (an FC range from 1.5 to 2). As only genes with an FC value >2 were selected for validation, we chose not to validate the expression of complement regulatory transcripts using RT-qPCR.

Interestingly, in the HLAi cohort with sAMR, based on our microarray analysis we found a higher expression of genes coding for epithelial transporters (*SLC4A1*, *SLC4A9*, *SLC17A1*, *SLC17A3*, *SLC12A3*, and *SLC30A2*) and class 1 metallothioneins (*MT1F*, *MT1G*, and *MT1X*), which was further validated in another patient set and using different method.

Solute carrier family transcripts are a family of epithelial transporters. They are highly expressed in the normal kidney, where they play important functional roles. The loss of Slc transcripts is associated with histological lesions such as tubulitis and tubular distortion in mouse kidney allografts.²³ In our study, although histological findings for both incompatible groups were similar, differential expression of distinct Slc transcripts may have reflected worse graft function in HLAi patients.

Higher intragraft expression of class 1 metallothioneins in the HLAi cohort compared with the ABOi group is in line with the proposed antioxidative properties of these molecules,^{24,25} whose ability to attenuate activation of the NF- κ B pathway²⁶ may help to decrease the inflammation response induced by DSA binding. Higher expression of class 1 metallothioneins has been observed in kidney allografts with steroid-resistant rejection.²⁷ When analyzing class 1 metallothionein expression in various cell types, the highest expression has been reported for activated macrophages and proximal tubular epithelial cells.^{24,25,27}

The expression of some of discussed molecules is known to be differentially expressed along the length of tubuli. For example, *SLC4A1*, *SLC4A9*, and *SLC12A3* are primarily expressed in distal tubuli,²⁸ whereas others as *SLC17A3* in proximal tubuli.²⁹ In our HLAi cohort, higher podocin expression may theoretically suggest different cortex/medulla proportion than in ABOi group. To limit this potential confounder, we at first validated the expression of selected transcripts on another patient cohort. Moreover, class 1 metallothioneins are localized mainly in proximal tubuli with very weak glomeruli staining,²² and therefore potential unequal glomeruli distribution in samples cannot affect its expression. Similarly, epithelial transporters are expressed primarily in distal or proximal tubuli; thus their differential expression reflects rather an active injury-repair response of renal tubular epithelium than sampling bias.

Our study confirms that compared with compatible grafts, even 3 months after ABOi transplantation (and 4 mo

after rituximab treatment) all B lymphocytes subsets are profoundly depleted (with the exception of plasmablasts), while the relative numbers of naive CD4 and CD8 T lymphocytes remain heightened. This points to the involvement of naive T cells in the accommodation process.

In conclusion, our results indicate that *CD46* and *CD59* complement regulatory transcripts/proteins are increased in both incompatible transplant cohorts, which underline different complement regulation compared with controls. In sAMR, the expression of several distinct solute carriers and protective metallothionein transcripts likely reflects subtle graft damage. Finally, based on our finding that distinct molecular patterns are associated with accommodation in ABOi transplantation and sAMR in HLAi transplantation, it would appear that different downstream mechanisms are involved in both processes.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the National Center for Medical Genomics for its help with the microarray data analysis. They also thank Romana Polackova and Michaela Cerna for their technical assistance in coordinating the sample collection as well as all patients and nurses for their help.

REFERENCES

- Opelz G, Morath C, Süsal C, et al. Three-year outcomes following 1420 ABO-incompatible living-donor kidney transplants performed after ABO antibody reduction: results from 101 centers. *Transplantation*. 2015;99(2):400–404.
- Shishido S, Hyodo YY, Aoki Y, et al. Outcomes of pediatric ABO-incompatible kidney transplantations are equivalent to ABO-compatible controls. *Transplant Proc*. 2012;44(1):214–216.
- Okumi M, Toki D, Nozaki T, et al. ABO-incompatible living kidney transplants: evolution of outcomes and immunosuppressive management. *Am J Transplant*. 2016;16(3):886–896.
- Leffell MS, Zachary AA. Anti-allograft antibodies: some are harmful, some can be overcome, and some may be beneficial. *Discov Med*. 2010;9(48):478–484.
- Lynch RJ, Platt JL. Accommodation in organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2008;13(2):165–170.
- Park WD, Grande JP, Ninova D, et al. Accommodation in ABO-incompatible kidney allografts, a novel mechanism of self-protection against antibody-mediated injury. *Am J Transplant*. 2003;3(8):952–960.
- Iwasaki K, Miwa Y, Haneda M, et al. Significance of HLA class I antibody-induced antioxidant gene expression for endothelial cell protection against complement attack. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;391(2):1210–1215.
- Iwasaki K, Yamamoto T, Motomura G, et al. Prognostic factors associated with a subchondral insufficiency fracture of the femoral head. *Br J Radiol*. 2012;85(1011):214–218.
- Haas M, Loupy A, Lefaucheur C, et al. The Banff 2017 kidney meeting report: revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials. *Am J Transplant*. 2018;18(2):293–307.
- Roufosse C, Simmonds N, Clahsen-van Groningen M, et al. A 2018 reference guide to the Banff classification of renal allograft pathology. *Transplantation*. 2018;102(11):1795–1814.
- Tydén G, Kumlien G, Genberg H, et al. ABO incompatible kidney transplantations without splenectomy, using antigen-specific immunoabsorption and rituximab. *Am J Transplant*. 2005;5(1):145–148.
- Djamali A, Kaufman DB, Ellis TM, et al. Diagnosis and management of antibody-mediated rejection: current status and novel approaches. *Am J Transplant*. 2014;14(2):255–271.
- Viklicky O, Krystufkova E, Brabcova I, et al. B-cell-related biomarkers of tolerance are up-regulated in rejection-free kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2013;95(1):148–154.

14. Edgar R, Domrachev M, Lash AE. Gene expression omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(1):207–210.
15. Jindra PT, Jin YP, Rozengurt E, et al. HLA class I antibody-mediated endothelial cell proliferation via the mtor pathway. *J Immunol.* 2008;180(4):2357–2366.
16. Zhang X, Reed EF. Effect of antibodies on endothelium. *Am J Transplant.* 2009;9(11):2459–2465.
17. Roedder S, Sigdel T, Hsieh SC, et al. Expression of mitochondrial-encoded genes in blood differentiate acute renal allograft rejection. *Front Med (Lausanne).* 2017;4:185.
18. Gutierrez-Roelens I, Galant C, Theate I, et al. Rituximab treatment induces the expression of genes involved in healing processes in the rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis Rheum.* 2011;63(5):1246–1254.
19. Kemper C, Chan AC, Green JM, et al. Activation of human CD4+ cells with CD3 and CD46 induces a T-regulatory cell 1 phenotype. *Nature.* 2003;421(6921):388–392.
20. Killick J, Morisse G, Sieger D, et al. Complement as a regulator of adaptive immunity. *Semin Immunopathol.* 2018;40(1):37–48.
21. Iwasaki K, Miwa Y, Ogawa H, et al. Comparative study on signal transduction in endothelial cells after anti-a/b and human leukocyte antigen antibody reaction: implication of accommodation. *Transplantation.* 2012;93(4):390–397.
22. Cernoch M, Hruba P, Kollar M, et al. Intrarenal complement system transcripts in chronic antibody-mediated rejection and recurrent iga nephropathy in kidney transplantation. *Front Immunol.* 2018;9:2310.
23. Einecke G, Broderick G, Sis B, et al. Early loss of renal transcripts in kidney allografts: relationship to the development of histologic lesions and allo-immune effector mechanisms. *Am J Transplant.* 2007;7(5):1121–1130.
24. Leierer J, Rudnicki M, Braniff SJ, et al. Metallothioneins and renal ageing. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(9):1444–1452.
25. Kojima I, Tanaka T, Inagi R, et al. Metallothionein is upregulated by hypoxia and stabilizes hypoxia-inducible factor in the kidney. *Kidney Int.* 2009;75(3):268–277.
26. Cong W, Niu C, Lv L, et al. Metallothionein prevents age-associated cardiomyopathy via inhibiting NF- κ B pathway activation and associated nitrate damage to 2-OGD. *Antioxid Redox Signal.* 2016;25(17):936–952.
27. Rekers NV, Bajema IM, Mallat MJ, et al. Increased metallothionein expression reflects steroid resistance in renal allograft recipients. *Am J Transplant.* 2013;13(8):2106–2118.
28. Habuka M, Fagerberg L, Hallström BM, et al. The kidney transcriptome and proteome defined by transcriptomics and antibody-based profiling. *PLoS One.* 2014;9(12):e116125.
29. Jutabha P, Anzai N, Kitamura K, et al. Human sodium phosphate transporter 4 (hnp4/SLC17A3) as a common renal secretory pathway for drugs and urate. *J Biol Chem.* 2010;285(45):35123–35132.

7. Diskuze

Transplantace ledvin od HLA inkompatibilních příjemců stimuluje aloimunní odpověď, která je klinicky vyjádřena jako rejekce štěpu. Se zavedením cyklosporinu do klinické praxe v 80. letech došlo k výraznému snížení incidence akutní rejekce. Dalším důležitým momentem ve vývoji bylo zavedení T-buněčné deplece jako indukční léčby v 90. letech. Výrazné snížení incidence akutní rejekce významně zlepšilo krátkodobé i dlouhodobé výsledky přežívání transplantovaných ledvin.

Akutní rejekci dělíme podle mechanismu účinku na T-buňkami a B-buňkami zprostředkovanou (protilátkovou) rejekci.

Mezi rizikové faktory rejekce patří sensitizace HLA systému (PRA), opakované transplantace, afro-americké etnikum. Předtransplantační DSA a HLA AB/DR neshody jsou uváděny jako hlavní riziko protilátkami zprostředkované a T-buňkami zprostředkované rejekce (Wehmeier C. et al. 2017).

V současné době je udáváno, že v USA 75 % příjemců v době transplantace dostává indukční léčbu antithymocytárním globulinem a 90 % příjemců renálních transplantací má udržovací imunopresivní léčbu založenou na trojkombinaci takrolimu, mykofenolát mofetilu s/nebo bez kortikosteroidů. Tyhle režimy jsou vysoce efektivní, s nejnižším výskytem akutní rejekce (Hart A. et al., 2019). Protokoly, ve kterých byla snaha o redukci kalcineurinových inhibitorů, event. jejich nahrazení m-TOR inhibitory, se ukázaly jako rizikové stran vysokého výskytu akutní rejekce a množství nežádoucích účinků.

Imunopatogeneze

Humorální odpověď štěpu je výsledkem rozpoznávání „non-self“ dárcovských HLA antigenů a rozvoj dárcovsky-specifických anti-HLA protilátek (DSA). Hlavní histokompatibilní komplex pozůstává ze tří lokusů I. třídy (HLA -A, -B, -C) a devíti lokusů antigenů II. třídy (alfa a beta řetězce HLA -DR, -DP, -DQ), které jsou tvořeny více než 10 000 sekvencemi nukleotidů, které kodují více než 700 unikátních proteinů (Thomas K.A. et al., 2015). Výsledkem tohoto extrémního polymorfizmu je, že vícero aminokyselin je přítomno na terciální struktuře HLA a významnost je závislá na konstituci a uspořádání na epitopu

HLA molekuly. Předtransplantační matching epitopů je možno využít v redukci de novo DSA strategií (Wiebe C. et al., 2013; Geneugelijk K. et al., 2015).

Patognomické pro vznik rejekce mohou být i non-HLA protilátky, jako například anti-endotheliální protilátky, protilátky proti angiotenzinu II receptoru 1, které jsou nezávislým rizikovým faktorem ztráty štěpu, které jsou asociovány s histologickými známkami AMR bez průkazu DSA (Giral M. et al., 2013; Taniguchi M. et al., 2013; Banasik M. et al., 2014; Lee J. et al., 2015). Obdobné výsledky přežívání štěpů pacientů jsou při detekci MICA protilátek (major histocompatibility complex class I-related chain A) (Terasaki P.I. et al., 2007). Mnoho antiendotheliálních protilátek může zahrnovat agrin, vimentin, perlecan, endoglin, Fms-like tyrosin kináza-3 ligand, EGF like repeats, discoidin I-like doménu 3, intercelulární adhezivní molekulu 4 a další komponenty (Jacskon A.M. et al., 2015).

Protilátky navázané na povrchu endotelu jsou mediované antiinflamatorními i proinflamatorními mechanismy přes klasickou komplementovou dráhu (Heeger P.S. et al., 2015). Štěpným produktem komplementu vznikají chemoatraktanty, které společně s lymfocyty a terminální složkou komplementu vytváří MAC, který ochraňuje endotheliální buňku před jej osmotickou lýzou (Drachenberg C.B. et al., 2013, Papadimitriou J.C. et al., 2013). Endotheliální buňky jsou stimulovány von Willebrandovým faktorem a rychlou vazbou trombocytů (Kuo H.H. et al., 2015) při zánětu a poškození endotelu. Protilátky jsou taktéž navázány pomocí Fc části receptoru na monocyty, makrofágy, neutrofilů a NK buňky (Thomas K.A. et al., 2015). Důležitou roli hraje na protilátkách závislá buněčná toxicita, zejména NK buňky, které byly popsány microarray analýzou v biopsiích renálních štěpů při AMR. Představují komplement nezávislé C4d negativní mechanismy poškození graftu. Spojením sFc receptoru s NK buňkami způsobí uvolnění cytotoxických granul a stimuluje produkci cytokinů, jako jsou TNF- α , IFN- γ (Resch T. a kol., 2015). Rozdíl v glykosylaci a sialylaci Fc části může alterovat afinitu Fc receptoru, která se podílí na patogenezi tvorby protilátek (Malard- Castagnet S. et al., 2016).

Diagnóza

Diagnostika akutní AMR je závislá na pochopení patofyziologických mechanismů, které vznikají při poškození štěpu a použití nových diagnostických technik. Revidované klasifikační schéma (Banff 2013) zahrnuje diagnostická kritéria vzniku akutní AMR. 1.

přítomnost DSA, 2. evidence jejich interakce s vaskulárním endothelem a 3. poškození tkáně (Haas M. et al., 2014).

DSA

Vznik hyperakutní rejekce v minulosti bylo zapříčiněno přítomností anti-HLA protilátek, které se testovaly pomocí buněčných technik. Pozdější využití solid-phase assay a single-antigen bead assay nám umožnilo rozpoznat potognomické protilátky s cílem zamezit vzniku rejekce s abruptním průběhem, která vedou ke ztrátě štěpu. Vysoký stupeň senzitivity u single-antigen bead assay pro klinickou interpretaci vyvstává mnoho otázek a postupů zejména u nemocných s vysokým imunologickým rizikem. Střední intenzita fluorescence (Mean Fluorescence Intensity, MFI) představuje nejlepší „semi-kvantitativní“ popis síly protilátky. Beads (kuličky) mohou také obsahovat denaturované HLA antigeny, které určují patogenicitu a mohou nadhodnocovat senzitivitu (Visentin J. et al., 2014). Mnoho nemocných má inhibitory, které falešně snižují hodnotu MFI, včetně HLA protilátek, které jsou navázané na komplement a mohou blokovat místo detekce protilátky, tento jev se nazývá „pro-zone efekt“. Jeho zamezení dochází, když jsou séra „předlčena“ s EDTA nebo doplňujícím vyšetřením s komparací C1q testu.

Interakce s vaskulárním endotelem

Vaskulární endotel představuje biologickou komunikaci mezi dárcovskou tkání a protilátkami příjemce. Protilátky vedou k aktivaci klasické komplementové cesty. C4d je štěpným produktem aktivace složky komplementu C4, která je kovalentně navázána na endotel buněk štěpu, poškození štěpu závislé na komplementu vyústí do poruchy funkce bazální membrány (Feucht HE. et al., 1993). Kromě C4d pozitivních akutních AMR, existuje fenotyp C4d negativních akutních AMR. Sis B. a kol. zjistili, že s endothelem-asociovaný transkriptom (ENDAT), při pozitivních DSA a histologických změnách potvrzujících AMR jsou C4d negativní formy AMR (Sis B. et al., 2010).

Poškození tkáně

Histologicky se poškození tkáně projeví jako mikrovaskulární inflamace vyjádřena jako peritubulární kapilaritida (ptc > 0) a glomerulitida (g > 0), trombotická mikroangiopatie, fibrinoidní nekróza arteriol (v³-léze), akutní tubulární atrofie bez jasné příčiny (Haas M. et al., 2012). Intimální arteritis nebo v-léze má specifické postavení v klasifikaci AMR, v minulosti se nález hodnotil jako čistá T-buňkami zprostředkovaná rejekce (TCMR), nyní

je v aktualizované Banffské klasifikaci z roku 2013 nález hodnocen akutní poškození tkáně při AMR, intimální arteritida ($v > 0$). Vysvětlení je dáno lézí, která je demonstrována CD68 pozitivními makrofágy, která je asociována s 3x vyšším rizikem ztráty štěpu v porovnání AMR bez intimální léze. Lefaucheur a kol. popisují, že smíšená rejekce TCMR a AMR tvoří většinu humorálních rejekcí (Lefaucheur C. et al., 2013). Zajímavé je, že mnoho nemocných s v-lézí měli molekulární profil bez přítomnosti rejekce. Je důležité správně interpretovat TCMR v kontextu doby od transplantace a přítomnosti DSA.

Nové techniky

Biopsie štěpu představuje zlatý standard při hodnocení rejekce štěpu, měření DSA, C4d barvení a histologické vyšetření má své limity. Přínosem k upřesnění diagnostiky a stratifikace rizika je využití „molekulárního mikroskopu“. Sis B. a kol., 2009 zjistili, že vysoká exprese ENDAT umožňuje lepší predikci ztráty štěpu než stanovení C4d (71 % vs. 31 %), jako problém se jeví nízká specifita (71 % vs. 94 %) (Sis B. et al., 2009). Sellares a kol. vyvinuli AMR skórovací systém na základě genové exprese vyhodnocených 403 indikačních biopsií, kde byly AMR C4d negativní i AMR C4d pozitivní formy. Vysoké skóre koreluje s diagnózou AMR a predikuje ztrátu štěpu v budoucnosti (Sellares J. et al., 2012). Loupy přidal ke skórovacímu systému AMR pomocí molekulárního mikroskopu i endoteliální selektivní DSA transkriptom ke konvenčním metodám stanovení časné AMR a zjistili, že nezávisle predikuje ztrátu štěpu. Využití molekulárního mikroskopu nám umožní lépe řídit, resp. „ušít na míru“ imunosupresivní léčbu (Loupy A. et al., 2014). Ve fázi výzkumu je obdobné využití krve nebo moči ke stanovení genového transkriptomu (HAM., 2014; Kim V.N., 2014; Ong S.G. et al., 2015).

Další neinvazivní diagnostika je stanovení volné frakce dárcovské DNA v periferní krvi (donor- derived cell- free DNA (cf-DNA)). Studie DART z roku 2017 stanovala cf- DNA u 242 biopsií (204 indikačních) s negativní prediktivní hodnotou AMR 96 % při cut- off 1 % v krvi příjemce, avšak pozitivní prediktivní hodnota byla pouze 44 % (Bloom R.D. et al., 2017). Další autoři stanovili cut- off 0,74 % cf- DNA u 63 indikačních biopsií a zjistili pozitivní prediktivní hodnotu AMR 69 % s negativní prediktivní hodnotou 100 %. Problém této studie je, že nerozlišila samotnou AMR a kombinovanou AMR s podílem T-buněčné rejekce (Clark W.F. et al., 2019, Huang S.S., et al., 2019).

Prognóza a stratifikace rizika

Nemocní po transplantaci ledviny s anamnézou akutní AMR mají signifikantně horší prognózu přežívání funkce štěpu v porovnání s nemocnými, kteří mají v anamnéze akutní TCMR nebo neměli žádnou rejekci. Výše uvedená francouzská studie analyzovala indikační biopsie ze 2 center a zjistila, že riziko ztráty štěpu za 10 let měli nemocní s akutní AMR 3x a 9x vyšší než nemocní s nebo bez vaskulární komponenty, resp. v porovnání se samotnou TCMR (Lefaucheur C. et al., 2013). Orandi a kol. identifikoval 6 % nemocných s akutní AMR do 1 roku od transplantace ledviny. Jejich 5leté přežití štěpu s diagnózou akutní AMR ve srovnání se zdravými kontrolami bylo 69 %, resp. 92,5 % (Orandi BJ. Et al., 2016). Dörje C. a kol. poukazuje na čas vzniku AMR. Ztrátu štěpu po 4 letech u nemocných s AMR, která byla do 3 měsíců (medián 10 dní) od transplantace byla 25 % v porovnání s nemocnými, u kterých byla diagnostikována pozdní AMR (více než 3 měsíce od transplantace, medián 22 měsíců), která činila 40 %. Transplantace mezi HLA inkompatibilními páry zvyšuje riziko vzniku akutní AMR až na 50 %, závisí na míře inkompatibility či použití desensitizační léčby (Dörje C. et al., 2013). Malheiro a kol. publikovali, že DSA více než 3 000 MFI jsou asociovány s rozvojem akutní AMR a suma všech DSA více než 11 000 MFI má specifitu 92,3 % pro predikci vzniku akutní AMR (Malheiro J. et al., 2015).

Preformované DSA vedou k aktivaci komplementu, který poškozuje transplantovaný orgán. DSA, které jsou navázány pomocí C1q složky komplementu, aktivují klasickou cestu komplementové kaskády. Loupy a kol. testovali 1016 nemocných, kteří měli pozitivní C1q test a zjistili, že tyto protilátky zvyšují riziko výskytu akutní AMR, závažně postihují štěp a čtyřnásobně zvyšují riziko ztráty štěpu (Loupy A. et al., 2013). Je důležité stanovit podtřídy IgG, speciálně IgG1 a IgG3, které váží komplement a představují další rizikový faktor pro vznik akutní AMR. Lefaucheur a kol. vyšetřili 125 nemocných, kteří vyvinuli DSA jeden rok po transplantaci a zjistili, že pacienti s imunodominantními DSA ve třídě IgG3 vyvinuli rychleji rejekci v důsledku zvýšení poškození mikrocirkulace s pozitivitou C4d, které představují většinu AMR (Lefaucheur C. et al., 2015). I přes uvedená data není jasné, zda fixace komplementu skutečně může zastoupit měření koncentrace protilátek (Guidicelli G. et al., 2015).

Před zavedením C4d negativní formy AMR do klasifikace mnoho dat z literatury ukazovalo na horší přežívání štěpů při C4d pozitivitě (Herzenberg LA. et al., 2000; Lederer JA., et al., 2001). Kapilaritida C4d představuje riziko akutní a závažní formy AMR. Kikic a kol.

analyzovali 1976 renálních biopsií a zjistili, že nemocní s C4d pozitivitou s nebo bez histologických známek AMR měli horší přežívání štěpů (Kikic Ž. et al., 2015). V protikladu s publikovanými daty je, že mikrovaskulární inflamace s pozitivitou C4d má značný prognostický význam.

Léčba

Principem léčby je inhibice různých mechanismů cest vedoucí k AMR, které indukují poškození štěpu a zahrnují inaktivaci B buněk (rituximab, splenektomie), protilátky produkující plazmatické buňky (bortezomib), odstraňování protilátek a imunomodulace (výměny plazmy, IVIG), inhibice protilátek, které indukují terminální komplementovou aktivaci (eculizumab). I přes mnohé léčebné zásahy existuje pouze málo dat, které podporují kombinační léčbu s jasným benefitem pro pacienta. Od roku 1950 do roku 2011 bylo provedeno pouze 12 kontrolovaných studií s nízkým počtem pacientů (od 5 do 23 nemocných s různými zařazovacími kritérii). Všichni autoři přijali závěry, že existují léčebné protokoly s nízkou evidencí efektivity.

I přes limitovaná data však bylo dosaženo konsenzu, že provedení plazmaferéz a aplikace IVIG je léčebným standardem, tak jako jsme to potvrdili i v naší studii (Archdean P. et al., 2011). Otázkou je strategie dávkování a počet provedených procedur. I přes nízkou evidenci účinnosti PP + IVIG Food and Drug Administration (FDA) pracovní skupina pro AMR v roce 2017 (Velidedeoglu E. et al., 2018) a KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes v roce 2010 (Kasiske B.L. et al., 2010) přijali jako standard of care v léčbě akutní aktivní AMR. Zlepšení krátkodobých výsledků potvrzují další studie (Rocha P.N. et al., 2003; Lefaucheur C. et al., 2009; Montgomery R.A., et al., 2000; Böhmig G. et al., 2007). Dlouhodobý účinek je variabilní (Schinstock C.A. et al., 2020). Přídavná léčba specifickou inhibicí B lymfocytů byla opakovaně diskutována, taktéž máme limitovaná data s malou kontrolní skupinou. Studie RITUX-ERA, multicentrická dvojitě zaslepená placebom kontrolovaná, porovnává rituximab s placebem v kombinaci PF+ IVIG u 38 nemocných 1 rok po transplantaci ledviny s diagnózou akutní AMR (Sautenet B. et al., 2016). Renální funkce byla zlepšena u obou skupiny ve 12. dni léčby, nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl v hodnotách sérového kreatininu, proteinurii a hodnotách imunodominantních DSA ve 12. měsíci. Avšak nemocní, kteří byli léčeni rituximabem měli více imunodominantních DSA s MFI méně než 1 500 po léčbě. Obě skupiny zaznamenaly pokles mikrovaskulární

inflamace (g+ptc) 1 měsíc po léčbě, ale tento trend pokračoval v rituximabové skupině i 6 měsíců po léčbě, kde placebová skupina měla rebound mikrovaskulární inflamace, podobně jako před započatím léčby. Je tedy možné konstatovat, že rituximab má význam při zmírnění přechodu z akutní do chronické formy AMR a zlepšuje dlouhodobé přežití ve štěpu.

Bortezomib je známý při využití v desensitizačních protokolech a v léčbě akutní formy AMR. Cílem léčby je inhibovat tvorbu plazmatických buněk, taktéž nemáme dostatek dat k potvrzení efektivity a účinnosti léčby (Trivedi H.L. et al., 2009; Walsh R.C. et al., 2010; Walsh R.C. et al. 2011; Flechner S.M. Et al., 2010; Nguyen S. et al., 2014). Walsh a kol. popisují podávání 4 cyklů bortezomibů v 11 dnech, před každou dávkou byla provedena plazmaferéza s odstupem 72 hodin. Tenhle protokol byl pro nás inspirací v léčbě rezistentní akutní AMR. Walsh a kol. léčili 19 nemocných s tímhle protokolem společně s aplikací 1 dávky rituximabu. Výsledkem bylo zlepšení renální funkce a snížení DSA u pacientů do 6 měsíců i nad 6 měsíců po transplantaci ledviny tj výsledky byli povzbuzující v léčbě akutní a pozdní AMR. Flechner a kol. popisují zlepšení přežívání štěpů u nemocných, kteří byli léčeni bortezomibem u méně závažných postižení štěpu (kreatinin pod 265 $\mu\text{mol/l}$, s nízkou proteinurií pod 1 g/24 hod.).

Alternativní přístup využívající inhibice blokády terminálního komplementu pomocí eculizumabu je finančně velmi náročný, data navíc nejsou podpořena studii. Byla popsána kazuistická sdělení podporující záchranou léčbu 102efrakterní rejekce. Orandi a kol. popisovali komparativní studii splenektomie vs. Eculizumab vs. Eculizumab a splenektomie u 24 nemocných se závažnou akutní AMR jako záchranou léčbu u nemocných, kteří byli transplantováni přes pozitivní cross-match (Orandi B.J. et al., 2014). Nemocní byli sledováni 18 měsíců. Čtrnáct nemocných podstoupilo splenektomii, u 4 nemocných došlo ke selhání štěpu. Ve skupině s monoterapií eculizumabem se 4 nemocní museli vrátit do dialyzačního programu z celkového počtu 5, všech 5 nemocných, kteří byli léčeni kombinací eculizumab a splenektomie, měli funkční štěpy. Avšak protokol eculizumab + splenektomie byl provázen vyšším výskytem infekčních a chirurgických komplikací.

Závěrem lze říct, že kombinovaná léčba plazmaferézou, IVIG, rituximabem ev. bortezomibem může být účinná, avšak nelze říct, že je standardem léčby pro nedostatek klinicky kontrolovaných studií s dostatečným počtem pacientů.

V roce 2016 Orandi B.J. a kol. publikoval práci, kde využil k léčbě akutní AMR kromě PF a aplikace IVIG navíc podání C1 esterázového inhibitoru ve 2 dávkách a zjistil, že 20. den po transplantaci ledviny měli nemocní trend ke zlepšené renální funkce v porovnání s placebem a 6 měsíců od zahájení léčby C1 inhibitorem nemocní neměli v biopsii prokázanou TG (Orandi B.J. et al., 2016). Francouzská skupina autorů (Viglietti D. et al., 2016), ke konvenční léčbě PF/IVIG přidala i aplikaci rituximabu, pokud tato léčba nebyla úspěšná, tak kromě C1 esterázového inhibitoru nemocné léčili i s vysokými dávkami IVIG (2 g/kg tělesné hmotnosti) 1x měsíčně, celkem 6x. Všichni nemocní měli pokles DSA a snížení positivity infiltrace C4d, u skupiny léčené C1 inhibitorem bylo zaznamenáno dosažení signifikantně lepší glomerulární filtrace 6 měsíců po transplantaci ledviny.

Jordan a kol. publikovali možnost desenzitizace nemocných ve vysokém imunologickém riziku pomocí IgG degradujícího enzymu odvozeného od bakterie *Streptococcus pyogenes* (IdeS). IdeS je endopeptidáza, která štěpí lidský IgG na F (ab') a Fc fragmenty inhibující na komplementu závislou cytotoxicitu a na protilátce závislou buněčnou cytotoxicitu (Jordan S.C. et al, 2017). Jedenáct nemocných ve Švédsku a 14 pacientů v USA dostalo IdeS v intravenózní infuzi před HLA inkompatibilní transplantací ledviny. Po 6 hodinách byl zaznamenán dramatický pokles IgG a anti HLA protilátek, avšak po 7 dnech byl pozorován opětovný nárůst DSA. Deset nemocných vyvinulo AMR (v době od 2 týdnů do 5 měsíců po transplantaci ledviny s dobrou odpovědí na léčbu AMR) a 1 nemocnému selhal štěp z důvodu non-HLA IgM a IgA zprostředkovaní rejekce. Celkem bylo zaznamenáno 38 závažných nežádoucích událostí u 15 nemocných.

I nadále zůstává klinickým problémem chronická protilátkami zprostředkovaná rejekce. Studie Borteject nepotvrdila účinnost bortezomibu (Eskandry F. et al., 2018) a klinická studie s tocilizumabem poukazuje na efektivitu za cenu závažných infekčních komplikací (Vo, A.A., 2015). Příslibem se jeví v prevenci rozvoje cAMR clazakizumab (Eskandry F. et al., 2019), který je ve stadiu klinického testování.

Prevence

Hlavním cílem prevence je minimalizovat senzitivizaci nemocných, tj. vyhnout se podávání krevních transfuzí, alokovat orgán s co nejvíce shodami v HLA systému, využívat program párových výměn s cílem najít nejvhodnějšího imunologického dárce. Nezbytné je rovněž

dodržení pokynů transplantačního centra v užívání imunosupresivní léčby s cílem minimalizovat nonadherenci, která je často příčinou ztráty štěpu v důsledky pozdní AMR.

8. Závěr

1. Léčba kombinací plazmaferéz a intravenózních imunoglobulinů představuje bezpečnou a účinnou terapii akutní AMR, což se projevilo významně lepším přežíváním štěpů transplantovaných ledvin a snížením incidence akutní rejekce v rebiopsiích.

Terapeutický protokol založený na podávání bortezomibu při léčbě rezistentní AMR byl bezpečný a dobře tolerován. Nepozorovali jsme život ohrožující komplikace jako oportunní infekce nebo maligní onemocnění.

Střední doba přežívání štěpů nemocných s akutní rezistentní AMR byla srovnatelná s přežíváním štěpů po opakovaných transplantacích.

Vzhledem k možné toxicitě bortezomibu je nutné provést další studie ke stanovení profilu toxicity.

2. Pomocí microarray jsme porovnali transkriptomický profil C4d pozitivních biopsií pacientů po HLA inkompatibilní či ABO inkompatibilní transplantaci s C4d negativními biopsiemi pacientů po HLA kompatibilní transplantaci s normálním nálezem a stabilní funkcí.

U ABOi skupiny byla zvýšená exprese transkriptů asociovaných s GO termínem mitochondrion a u HLAi skupiny s GO termíny oxidation and reduction, carboxylic and organic acid catabolic processes a několik GO termínů souvisejících se skupinou solute carrier family genes.

Transkripty zvýšené u kontrolní skupiny byly zastoupeny méně, v 31 % (v porovnání s ABOi skupinou) a 40 % (v porovnání s HLAi skupinou) ze všech deregulovaných genů. Tyto transkripty se zvýšenou expresí u C4d negativních nálezů v porovnání s ABOi skupinou byly asociovány s GO termíny defense response, response to wounding, inflammatory response a complement activation. Zatímco transkripty zvýšené u C4d negativních control v porovnání se subklinickou AMR byly asociovány s GO termíny proteinaceous extracellular matrix, extracellular matrix and collagen.

3. Srovnáním koncentrace cytokinu BAFF před a po transplantaci ledviny jsme nezjistili statisticky významný rozdíl mezi pacienty, kteří vyvinuli akutní rejekci oproti nemocným,

kteří byli bez známek akutní rejekce. Hodnoty BAFF v době AMR byli signifikantně nižší u nemocných, kteří měli současně kombinovanou AMR a ACR než u pacientů bez rejekce. Nemocní, kteří měli pouze akutní AMR, měli trend k nižším koncentracím BAFF. Nepozorovali jsme žádnou korelaci hodnot BAFF při AMR s produkcí DSA. Naše měření podporují myšlenku, že solubilní BAFF může být pomocným markerem probíhající AMR, zejména při současně přítomné protilátkami zprostředkované rejekci v kombinaci s akutní celulární rejekci po transplantaci ledviny.

4. Vyšší incidence vzniku akutní AMR je asociovaná u nemocných po opakovaných transplantacích. Hodnota solubilního CD30 před a po transplantaci ledviny nekoreluje s přežíváním štěpu. Pozorovali jsme tendenci k vyšší incidenci AMR u nemocných před retransplantací s elevací sCD30 (≥ 100 U/ml). Nebyla prokázána korelace mezi sCD30 a výskytem AMR u prvních transplantací, avšak v případech pozitivních hodnot sCD30 a při přítomnosti anti-HLA protilátek dochází k vyšší incidenci vzniku AMR.

Samotná koncentrace HGF není asociovaná s incidencí AMR v jakékoliv době před a po transplantaci, také nebyla nalezena korelace mezi HGF a přežíváním štěpů.

Nemocní s nízkými hodnotami HGF a vyššími hodnotami sCD30 před transplantací mají vysoké riziko rozvoje AMR.

9. Literatura

1. Aita K, Yamaguchi Y, Horita S, et al. Thickening of the Peritubular Capillary Basement Membrane Is a Useful Diagnostic Marker of Chronic Rejection in Renal Allografts. *Am J Transplant*. 2007;7(4):923-929. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01708.x
2. Akalin E, Pascual M. Sensitization after Kidney Transplantation: Table 1. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006;1(3):433-440. doi:10.2215/CJN.01751105
3. Archdeacon P, Chan M, Neuland C, et al. Summary of FDA Antibody-Mediated Rejection Workshop. *Am J Transplant*. 2011;11(5):896-906. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03525.x
4. Banasik M, Boratyńska M, Kościelska-Kasprzak K, et al. The impact of non-HLA antibodies directed against endothelin-1 type A receptors (ETAR) on early renal transplant outcomes. *Transpl Immunol*. 2014;30(1):24-29. doi:10.1016/j.trim.2013.10.007
5. Banham G, Prezzi D, Harford S, et al. Elevated Pretransplantation Soluble BAFF Is Associated With an Increased Risk of Acute Antibody-Mediated Rejection. *Transplant J*. 2013;96(4):413-420. doi:10.1097/TP.0b013e318298dd65
6. Bartel G, Schwaiger E, Böhmig GA. Prevention and treatment of alloantibody-mediated kidney transplant rejection. *Transpl Int*. 2011;24(12):1142-1155. doi:10.1111/j.1432-2277.2011.01309.x
7. Becker LE, Siebert D, Süsal C, et al. Outcomes Following ABO-Incompatible Kidney Transplantation Performed After Desensitization by Nonantigen-Specific Immunoabsorption. *Transplantation*. 2015;99(11):2364-2371. doi:10.1097/TP.0000000000000753
8. Bloom RD, Bromberg JS, Poggio ED, et al. Cell-Free DNA and Active Rejection in Kidney Allografts. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(7):2221-2232. doi:10.1681/ASN.2016091034
9. Bloom D, Chang Z, Pauly K, et al. BAFF Is Increased in Renal Transplant Patients Following Treatment with Alemtuzumab. *Am J Transplant*. 2009;9(8):1835-1845. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02710.x
10. Böhmig GA, Wahrmann M, Regele H, et al. Immunoabsorption in Severe C4d-

- Positive Acute Kidney Allograft Rejection: A Randomized Controlled Trial. *Am J Transplant*. 2007;7(1):117-121. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01613.x
11. Carlin Walsh R, Alloway RR, Girnita AL, Steve Woodle E. Proteasome inhibitor-based therapy for antibody-mediated rejection. *Kidney Int*. 2012;81(11):1067-1074. doi:10.1038/ki.2011.502
 12. Clark WF, Huang SS. Introduction to therapeutic plasma exchange. *Transfus Apher Sci*. 2019;58(3):228-229. doi:10.1016/j.transci.2019.04.004
 13. Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10(10):2208-2214.
 14. Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(10):807-817. doi:10.1038/nri1702
 15. Cosio FG, Gloor JM, Sethi S, Stegall MD. Transplant Glomerulopathy. *Am J Transplant*. 2008;8(3):492-496. doi:10.1111/j.1600-6143.2007.02104.x
 16. Dehoux J-P, Gianello P. Accommodation and antibodies. *Transpl Immunol*. 2009;21(2):106-110. doi:10.1016/j.trim.2008.10.002
 17. Djamali A, Kaufman DB, Ellis TM, Zhong W, Matas A, Samaniego M. Diagnosis and Management of Antibody-Mediated Rejection: Current Status and Novel Approaches. *Am J Transplant*. 2014;14(2):255-271. doi:10.1111/ajt.12589
 18. Dörje C, Midtvedt K, Holdaas H, et al. Early Versus Late Acute Antibody-Mediated Rejection in Renal Transplant Recipients. *Transplant J*. 2013;96(1):79-84. doi:10.1097/TP.0b013e31829434d4
 19. Drachenberg CB, Papadimitriou JC. Endothelial Injury in Renal Antibody-Mediated Allograft Rejection. *Transplant J*. 2013;95(9):1073-1083. doi:10.1097/TP.0b013e31827e6b45
 20. Duquesnoy RJ, Mostecky J, Hariharan J, Balazs I. Structurally based epitope analysis of major histocompatibility complex class I-related chain A (MICA) antibody specificity patterns. *Hum Immunol*. 2008;69(12):826-832. doi:10.1016/j.humimm.2008.10.003
 21. Eikmans M, Waanders MM, Roelen DL, et al. Differential Effect of Pretransplant Blood Transfusions on Immune Effector and Regulatory Compartments in HLA-Sensitized and Nonsensitized Recipients. *Transplantation*. 2010;90(11):1192-

1199. doi:10.1097/TP.0b013e3181fa943d
22. Eskandary F, Dürr M, Budde K, et al. Clazakizumab in late antibody-mediated rejection: study protocol of a randomized controlled pilot trial. *Trials*. 2019;20(1):37. doi:10.1186/s13063-018-3158-6
 23. Eskandary F, Regele H, Baumann L, et al. A Randomized Trial of Bortezomib in Late Antibody-Mediated Kidney Transplant Rejection. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29(2):591-605. doi:10.1681/ASN.2017070818
 24. Everly MJ, Everly JJ, Susskind B, et al. Bortezomib Provides Effective Therapy for Antibody- and Cell-Mediated Acute Rejection. *Transplantation*. 2008;86(12):1754-1761. doi:10.1097/TP.0b013e318190af83
 25. Farkash EA, Colvin RB. Diagnostic challenges in chronic antibody-mediated rejection. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8(5):255-257. doi:10.1038/nrneph.2012.61
 26. Feucht HE. Complement C4d in Graft Capillaries - the Missing Link in the Recognition of Humoral Alloreactivity. *Am J Transplant*. 2003;3(6):646-652. doi:10.1034/j.1600-6143.2003.00171.x
 27. Feucht HE, Felber E, Gokel MJ, et al. Vascular deposition of complement-split products in kidney allografts with cell-mediated rejection. *Clin Exp Immunol*. 1991;86(3):464-470. doi:10.1111/j.1365-2249.1991.tb02954.x
 28. Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G, et al. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int*. 1993;43(6):1333-1338. doi:10.1038/ki.1993.187
 29. Flechner SM, Fatica R, Askar M, et al. The Role of Proteasome Inhibition With Bortezomib in the Treatment of Antibody-Mediated Rejection After Kidney-Only or Kidney-Combined Organ Transplantation. *Transplantation*. 2010;90(12):1486-1492. doi:10.1097/TP.0b013e3181fdd9b0
 30. Gaston RS, Kaplan B, Shah T, et al. Fixed- or Controlled-Dose Mycophenolate Mofetil with Standard- or Reduced-Dose Calcineurin Inhibitors: The Opticcept Trial. *Am J Transplant*. 2009;9(7):1607-1619. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02668.x
 31. Gelfand EW. Intravenous Immune Globulin in Autoimmune and Inflammatory Diseases. *N Engl J Med*. 2012;367(21):2015-2025. doi:10.1056/NEJMra1009433
 32. Geneugelijck K, Hönger G, van Deutekom HWM, et al. Predicted Indirectly

- Recognizable HLA Epitopes Presented by HLA-DRB1 Are Related to HLA Antibody Formation During Pregnancy. *Am J Transplant*. 2015;15(12):3112-3122. doi:10.1111/ajt.13508
33. Giral M, Foucher Y, Dufay A, et al. Pretransplant Sensitization Against Angiotensin II Type 1 Receptor Is a Risk Factor for Acute Rejection and Graft Loss. *Am J Transplant*. 2013;13(10):2567-2576. doi:10.1111/ajt.12397
34. Gloor J, Matas AJ. Steroid-free Maintenance Immunosuppression and ABO-incompatible Transplantation. *Transplantation*. 2010;89(6):648-649. doi:10.1097/TP.0b013e3181c9cc97
35. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, et al. Transplant Glomerulopathy: Subclinical Incidence and Association with Alloantibody. *Am J Transplant*. 2007;7(9):2124-2132. doi:10.1111/j.1600-6143.2007.01895.x
36. Glotz D, Russ G, Rostaing L, et al. Safety and efficacy of eculizumab for the prevention of antibody-mediated rejection after deceased-donor kidney transplantation in patients with preformed donor-specific antibodies. *Am J Transplant*. 2019;19(10). doi:10.1111/ajt.15397
37. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(8):509-524. doi:10.1038/nrm3838
38. Haas M. Pathologic features of antibody-mediated rejection in renal allografts. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2012;21(3):264-271. doi:10.1097/MNH.0b013e3283520efa
39. Haas M, Sis B, Racusen LC, et al. Banff 2013 Meeting Report: Inclusion of C4d-Negative Antibody-Mediated Rejection and Antibody-Associated Arterial Lesions. *Am J Transplant*. 2014;14(2):272-283. doi:10.1111/ajt.12590
40. Halloran PF, Madres J. Regulation of MHC transplantation. *Transplantation*. 1990;50(5):725-738. doi:10.1097/00007890-199011000-00001
41. Hart A, Smith JM, Skeans MA, et al. OPTN/SRTR 2017 Annual Data Report: Kidney. *Am J Transplant*. 2019;19:19-123. doi:10.1111/ajt.15274
42. Heinemann FM, Rebmann V, Witzke O, Philipp T, Broelsch CE, Grosse-Wilde H. Association of Elevated Pretransplant sCD30 Levels With Graft Loss in 206 Patients Treated With Modern Immunosuppressive Therapies After Renal Transplantation. *Transplantation*. 2007;83(6):706-711.

doi:10.1097/01.tp.0000255326.27474.a4

43. Herzenberg LA, De Rosa SC, Herzenberg LA. Monoclonal antibodies and the FACS: complementary tools for immunobiology and medicine. *Immunol Today*. 2000;21(8):383-390. doi:10.1016/S0167-5699(00)01678-9
44. Homs S, Mansour H, Desvaux D, et al. Predominant Th1 and Cytotoxic Phenotype in Biopsies from Renal Transplant Recipients with Transplant Glomerulopathy. *Am J Transplant*. 2009;9(5):1230-1236. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02596.x
45. Hrubá P, Krejčík Z, Stranecký V, et al. Molecular Patterns Discriminate Accommodation and Subclinical Antibody-mediated Rejection in Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2019;103(5). doi:10.1097/TP.0000000000002604
46. Ibernón M, Gil-Vernet S, Carrera M, et al. Therapy With Plasmapheresis and Intravenous Immunoglobulin for Acute Humoral Rejection in Kidney Transplantation. *Transplant Proc*. 2005;37(9):3743-3745. doi:10.1016/j.transproceed.2005.09.128
47. Iwasaki O, Noma K. Global genome organization mediated by RNA polymerase III-transcribed genes in fission yeast. *Gene*. 2012;493(2):195-200. doi:10.1016/j.gene.2010.12.011
48. Jackson AM, Sigdel TK, Delville M, et al. Endothelial Cell Antibodies Associated with Novel Targets and Increased Rejection. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(5):1161-1171. doi:10.1681/ASN.2013121277
49. Jordan SC. Evaluation of Intravenous Immunoglobulin as an Agent to Lower Allosensitization and Improve Transplantation in Highly Sensitized Adult Patients with End-Stage Renal Disease: Report of the NIH IG02 Trial. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(12):3256-3262. doi:10.1097/01.ASN.0000145878.92906.9F
50. Jordan SC. Management of the Highly HLA- Sensitized Patient. A Novel Role for Intravenous Gammaglobulin. *Am J Transplant*. 2002;2(8):691-692. doi:10.1034/j.1600-6143.2002.20801.x
51. Jordan SC, Pescovitz MD. Presensitization: The Problem and Its Management. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006;1(3):421-432. doi:10.2215/CJN.01651105
52. Jordan SC, Lorant T, Choi J, et al. IgG Endopeptidase in Highly Sensitized Patients Undergoing Transplantation. *N Engl J Med*. 2017;377(5):442-453.

doi:10.1056/NEJMoa1612567

53. Kaposztas Z, Podder H, Mauyyedi S, et al. Impact of rituximab therapy for treatment of acute humoral rejection. *Clin Transplant*. 2009;23(1):63-73. doi:10.1111/j.1399-0012.2008.00902.x
54. Kasiske BL, Zeier MG, Chapman JR, et al. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients: a summary. *Kidney Int*. 2010;77(4):299-311. doi:10.1038/ki.2009.377
55. Kikić Ž, Kainz A, Kozakowski N, et al. Capillary C4d and Kidney Allograft Outcome in Relation to Morphologic Lesions Suggestive of Antibody-Mediated Rejection. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(8):1435-1443. doi:10.2215/CJN.09901014
56. Kojima N, Tanaka T. Medicinal Chemistry of Annonaceous Acetogenins: Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Analogues. *Molecules*. 2009;14(9):3621-3661. doi:10.3390/molecules14093621
57. 111. Kuo H-H, Fan R, Dvorina N, Chiesa-Vottero A, Baldwin WM. Platelets in Early Antibody-Mediated Rejection of Renal Transplants. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(4):855-863. doi:10.1681/ASN.2013121289
58. Langan LL, Park LP, Hughes TL, et al. Post-Transplant HLA class II Antibodies and High Soluble CD30 Levels are Independently Associated with Poor Kidney Graft Survival. *Am J Transplant*. 2007;7(4):847-856. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01691.x
59. Lee J, Park Y, Kim BS, et al. Clinical Implications of Angiotensin II Type 1 Receptor Antibodies in Antibody-mediated Rejection Without Detectable Donor-specific HLA Antibodies After Renal Transplantation. *Transplant Proc*. 2015;47(3):649-652. doi:10.1016/j.transproceed.2014.11.055
60. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet*. 2013;381(9863):313-319. doi:10.1016/S0140-6736(12)61265-3
61. 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. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02591.x
62. Lehrich RW, Rocha PN, Reinsmoen N, et al. Intravenous Immunoglobulin and

- Plasmapheresis in Acute Humoral Rejection: Experience in Renal Allograft Transplantation. *Hum Immunol*. 2005;66(4):350-358.
doi:10.1016/j.humimm.2005.01.028
63. Leirer DJ, Iyegbe CO, Di Forti M, et al. Differential gene expression analysis in blood of first episode psychosis patients. *Schizophr Res*. 2019;209:88-97.
doi:10.1016/j.schres.2019.05.011
64. Locke JE, Zachary AA, Haas M, et al. The Utility of Splenectomy as Rescue Treatment for Severe Acute Antibody Mediated Rejection. *Am J Transplant*. 2007;7(4):842-846. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01709.x
65. 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.
doi:10.1056/NEJMoa1302506
66. Lucas JG, Co JP, Nwaogwugwu UT, Dosani I, Sureshkumar KK. Antibody-mediated rejection in kidney transplantation: an update. *Expert Opin Pharmacother*. 2011;12(4):579-592. doi:10.1517/14656566.2011.525219
67. Lynch RJ, Platt JL. Accommodation in renal transplantation: unanswered questions. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15(4):481-485.
doi:10.1097/MOT.0b013e32833b9c25
68. Mao Q, Terasaki PI, Cai J, El-Awar N, Rebellato L. Analysis of HLA Class I Specific Antibodies in Patients with Failed Allografts. *Transplantation*. 2007;83(1):54-61.
doi:10.1097/01.tp.0000250492.55775.83
69. Mahmoud K, Opelz G, Pelzl S, et al. Evaluation of Hepatocyte Growth Factor as a Sensitive Marker for Early Detection of Acute Renal Allograft Rejection. *Transplantation*. 2007;83(8):1035-1040.
doi:10.1097/01.tp.0000259653.41436.24
70. Malheiro J, Tafulo S, Dias L, et al. Analysis of preformed donor-specific anti-HLA antibodies characteristics for prediction of antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Transpl Immunol*. 2015;32(2):66-71.
doi:10.1016/j.trim.2015.01.002
71. Malard-Castagnet S, Dugast E, Degauque N, et al. Sialylation of antibodies in kidney recipients with de novo donor specific antibody, with or without antibody mediated rejection. *Hum Immunol*. 2016;77(11):1076-1083.

doi:10.1016/j.humimm.2015.10.02

72. Mannick JA, Rodrick ML, Lederer JA. The immunologic response to injury. *J Am Coll Surg*. 2001;193(3):237-244. doi:10.1016/S1072-7515(01)01011-0
73. Mauiyyedi S, Colvin RB. Humoral rejection in kidney transplantation: new concepts in diagnosis and treatment. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2002;11(6):609-618. doi:10.1097/00041552-200211000-00007
74. Mengel M. What Is the Significance of Subclinical Inflammation in Human Renal Allografts? It Depends! *Transplantation*. 2012;93(1):22-23. doi:10.1097/TP.0b013e31823bb6ae
75. Mitka M. Nephrologists Question ACP's Kidney Disease Guidelines. *JAMA*. 2013;310(22):2387. doi:10.1001/jama.2013.282671
76. Mohan S, Palanisamy A, Tsapepas D, et al. Donor-Specific Antibodies Adversely Affect Kidney Allograft Outcomes. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(12):2061-2071. doi:10.1681/ASN.2012070664
77. Montgomery RA, Locke JE, King KE, et al. ABO Incompatible Renal Transplantation: A Paradigm Ready for Broad Implementation. *Transplantation*. 2009;87(8):1246-1255. doi:10.1097/TP.0b013e31819f2024
78. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC, et al. 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(6):887-895. doi:10.1097/00007890-200009270-00006
79. Moreno Gonzales MA, Gandhi MJ, Schinstock CA, et al. 32 Doses of Bortezomib for Desensitization Is Not Well Tolerated and Is Associated With Only Modest Reductions in Anti-HLA Antibody. *Transplantation*. 2017;101(6):1222-1227. doi:10.1097/TP.0000000000001330
80. Moreso F, Carrera M, Goma M, et al. Early Subclinical Rejection as a Risk Factor for Late Chronic Humoral Rejection. *Transplantation*. 2012;93(1):41-46. doi:10.1097/TP.0b013e31823bb647
81. Mueller TF, Einecke G, Reeve J, et al. Microarray Analysis of Rejection in Human Kidney Transplants Using Pathogenesis-Based Transcript Sets. *Am J Transplant*. 2007;7(12):2712-2722. doi:10.1111/j.1600-6143.2007.02005.x

82. Narayan S, Tsai EW, Zhang Q, Wallace WD, Reed EF, Ettenger RB. Acute rejection associated with donor-specific anti-MICA antibody in a highly sensitized pediatric renal transplant recipient. *Pediatr Transplant*. 2011;15(1):E1-E7. doi:10.1111/j.1399-3046.2010.01407.x
83. Nguyen S, Gallay B, Butani L. Efficacy of bortezomib for reducing donor-specific antibodies in children and adolescents on a steroid minimization regimen. *Pediatr Transplant*. 2014;18(5):463-468. doi:10.1111/petr.12274
84. Okumi M, Toki D, Nozaki T, et al. ABO-Incompatible Living Kidney Transplants: Evolution of Outcomes and Immunosuppressive Management. *Am J Transplant*. 2016;16(3):886-896. doi:10.1111/ajt.13502
85. Ong S-G, Lee WH, Kodo K, Wu JC. MicroRNA-mediated regulation of differentiation and trans-differentiation in stem cells. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;88:3-15. doi:10.1016/j.addr.2015.04.004
86. Orandi BJ, Alachkar N, Kraus ES, et al. Presentation and Outcomes of C4d-Negative Antibody-Mediated Rejection After Kidney Transplantation. *Am J Transplant*. 2016;16(1):213-220. doi:10.1111/ajt.13434
87. Orandi BJ, Garonzik-Wang JM, Massie AB, et al. Quantifying the Risk of Incompatible Kidney Transplantation: A Multicenter Study. *Am J Transplant*. 2014;14(7):1573-1580. doi:10.1111/ajt.12786
88. Osickova K, Parikova A, Maluskova J, Fronck J, Viklicky O. Similar Microvascular Inflammation and Tubulointerstitial Injury in ABO-Incompatible and Matched ABO-Compatible Kidney Allografts. *Transplant Proc*. 2018;50(5):1305-1309. doi:10.1016/j.transproceed.2018.02.063
89. Patel R, Terasaki PI. Significance of the Positive Crossmatch Test in Kidney Transplantation. *N Engl J Med*. 1969;280(14):735-739. doi:10.1056/NEJM196904032801401
90. Pavlova YA, Malek I, Honsova E, et al. Hepatocyte growth factor and antibodies to HLA and MICA antigens in heart transplant recipients. *Tissue Antigens*. 2010;76(5):380-386. doi:10.1111/j.1399-0039.2010.01523.x
91. Pelzl S, Opelz G, Daniel V, Wiesel M, S??sal C. Evaluation of posttransplantation soluble CD30 for diagnosis of acute renal allograft rejection1. *Transplantation*. 2003;75(3):421-423. doi:10.1097/01.TP.0000044702.18327.66

92. Pelzl S, Opelz G, Wiesel M, et al. Soluble CD30 as a predictor of kidney graft outcome. *Transplantation*. 2002;73(1):3-6. doi:10.1097/00007890-200201150-00002
93. Racusen L, Lefaucheur C. Renal Allograft Rejection: Pieces of the Puzzle. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(5):1004-1005. doi:10.1681/ASN.2014090932
94. Reeve J, Einecke G, Mengel M, et al. Diagnosing Rejection in Renal Transplants: A Comparison of Molecular- and Histopathology-Based Approaches. *Am J Transplant*. 2009;9(8):1802-1810. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02694.x
95. Rekers N V., Bajema IM, Mallat MJK, et al. Increased Metallothionein Expression Reflects Steroid Resistance in Renal Allograft Recipients. *Am J Transplant*. 2013;13(8):2106-2118. doi:10.1111/ajt.12314
96. Resch T, Fabritius C, Ebner S, Ritschl P, Kotsch K. The Role of Natural Killer Cells in Humoral Rejection. *Transplantation*. 2015;99(7):1335-1340. doi:10.1097/TP.0000000000000757
97. Rocha A, Malheiro J, Martins LS, et al. Kidney Transplantation in Type 2 Diabetic Patients: A Matched Survival Analysis. *Transplant Proc*. 2013;45(6):2141-2146. doi:10.1016/j.transproceed.2012.11.013
98. Rocha PN, Plumb TJ, Crowley SD, Coffman TM. Effector mechanisms in transplant rejection. *Immunol Rev*. 2003;196(1):51-64. doi:10.1046/j.1600-065X.2003.00090.x
99. Rodríguez LM, París SC, Arbeláez M, et al. Kidney graft recipients with pretransplantation HLA CLASS I antibodies and high soluble CD30 are at high risk for graft loss. *Hum Immunol*. 2007;68(8):652-660. doi:10.1016/j.humimm.2007.05.004
100. Roufosse C, Simmonds N, Clahsen-van Groningen M, et al. A 2018 Reference Guide to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology. *Transplantation*. 2018;102(11):1795-1814. doi:10.1097/TP.0000000000002366
101. Sautenet B, Blancho G, Büchler M, et al. One-year Results of the Effects of Rituximab on Acute Antibody-Mediated Rejection in Renal Transplantation. *Transplantation*. 2016;100(2):391-399. doi:10.1097/TP.000000000000009
102. Sberro-Soussan R, Zuber J, Suberbielle-Boissel C, et al. Bortezomib as the Sole Post-Renal Transplantation Desensitization Agent Does Not Decrease Donor-

- Specific Anti-HLA Antibodies. *Am J Transplant.* 2010;10(3):681-686.
doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02968.x
103. Schinstock CA, Mannon RB, Budde K, et al. Recommended Treatment for Antibody-mediated Rejection After Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2020;104(5):911-922. doi:10.1097/TP.0000000000003095
 104. Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M, et al. Understanding the Causes of Kidney Transplant Failure: The Dominant Role of Antibody-Mediated Rejection and Nonadherence. *Am J Transplant.* 2012;12(2):388-399. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03840.x
 105. Sheen JH, Heeger PS. Effects of complement activation on allograft injury. *Curr Opin Organ Transplant.* 2015;20(4):468-475.
doi:10.1097/MOT.0000000000000216
 106. Shishido SN, Varahan S, Yuan K, Li X, Fleming SD. Humoral innate immune response and disease. *Clin Immunol.* 2012;144(2):142-158.
doi:10.1016/j.clim.2012.06.002
 107. Singh N, Pirsch J, Samaniego M. Antibody-mediated rejection: treatment alternatives and outcomes. *Transplant Rev.* 2009;23(1):34-46.
doi:10.1016/j.trre.2008.08.004
 108. Sis B, Campbell PM, Mueller T, Hunter C, Cockfield SM, Cruz J, Meng C, Wishart D, Solez K, Halloran PF. Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant.* 2007 Jul;7(7):1743-52. doi: 10.1111/j.1600-6143.2007.01836.x.
PMID: 17564636.
 109. Sis B, Jhangri GS, Bunnag S, Allanach K, Kaplan B, Halloran PF. Endothelial Gene Expression in Kidney Transplants with Alloantibody Indicates Antibody-Mediated Damage Despite Lack of C4d Staining. *Am J Transplant.* 2009;9(10):2312-2323.
doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02761.x
 110. Sis B, Mengel M, Haas M, et al. Banff '09 Meeting Report: Antibody Mediated Graft Deterioration and Implementation of Banff Working Groups. *Am J Transplant.* 2010;10(3):464-471. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02987.x
 111. Slavcev A, Honsova E, Lodererova A, et al. Soluble CD30 in patients with antibody-mediated rejection of the kidney allograft. *Transpl Immunol.*

- 2007;18(1):22-27. doi:10.1016/j.trim.2007.04.001
112. Slatinska J, Honsova E, Burgelova M, Slavcev A, Viklicky O. Plasmapheresis and Intravenous Immunoglobulin in Early Antibody-Mediated Rejection of the Renal Allograft: A Single-Center Experience. *Ther Apher Dial.* 2009;13(2):108-112. doi:10.1111/j.1744-9987.2009.00664.x
113. Snanoudj R, Candon S, Roelen DL, et al. Peripheral B-Cell Phenotype and BAFF Levels are Associated With HLA Immunization in Patients Awaiting Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2014;97(9):917-924.
114. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 Classification of Renal Allograft Pathology: Updates and Future Directions. *Am J Transplant.* 2008;8(4):753-760. doi:10.1111/j.1600-6143.2008.02159.x
115. Stegall MD, Diwan T, Raghavaiah S, et al. Terminal Complement Inhibition Decreases Antibody-Mediated Rejection in Sensitized Renal Transplant Recipients. *Am J Transplant.* 2011;11(11):2405-2413. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03757.x
116. Steurer W, Mark W, Margreiter R, et al. Clearance of C4d deposition after successful treatment of acute humoral rejection in follow-up biopsies: a report of three cases. *Transpl Int.* 2004;17(4):177-181. doi:10.1007/s00147-004-0699-2
117. Taniguchi M, Rebellato LM, Cai J, et al. Higher Risk of Kidney Graft Failure in the Presence of Anti-Angiotensin II Type-1 Receptor Antibodies. *Am J Transplant.* 2013;13(10):2577-2589. doi:10.1111/ajt.12395
118. Terasaki PI, Ozawa M. Predictive Value of HLA Antibodies and Serum Creatinine in Chronic Rejection: Results of a 2-year Prospective Trial. *Transplantation.* 2005;80(9):1194-1197. doi:10.1097/01.tp.0000174338.97313.5a
119. Terasaki PI, Ozawa M, Castro R. Four-year Follow-up of a Prospective Trial of HLA and MICA Antibodies on Kidney Graft Survival. *Am J Transplant.* 2007;7(2):408-415. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01644.x
120. Thibault-Espitia A, Foucher Y, Danger R, et al. BAFF and BAFF-R Levels Are Associated With Risk of Long-Term Kidney Graft Dysfunction and Development of Donor-Specific Antibodies. *Am J Transplant.* 2012;12(10):2754-2762. doi:10.1111/j.1600-6143.2012.04194.x
121. Thomas KA, Valenzuela NM, Gjertson D, et al. An Anti-C1s Monoclonal, TNT003,

- Inhibits Complement Activation Induced by Antibodies Against HLA. *Am J Transplant.* 2015;15(8):2037-2049. doi:10.1111/ajt.13273
122. Tillou 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. doi:10.1038/ki.2010.75
 123. Touzot M, Couvrat-Desvergnés G, Castagnet S, et al. Differential Modulation of Donor-Specific Antibodies After B-Cell Depleting Therapies to Cure Chronic Antibody Mediated Rejection. *Transplantation.* 2015;99(1):63-68. doi:10.1097/TP.0000000000000285
 124. Trivedi HL, Terasaki PI, Feroz A, et al. Abrogation of Anti-HLA Antibodies via Proteasome Inhibition. *Transplantation.* 2009;87(10):1555-1561. doi:10.1097/TP.0b013e3181a4b91b
 125. Velidedeoglu E, Cavaillé-Coll MW, Bala S, Belen OA, Wang Y, Albrecht R. Summary of 2017 FDA Public Workshop. *Transplantation.* 2018;102(6):e257-e264. doi:10.1097/TP.00000000000002141
 126. Viglietti D, Lefaucheur C, Glotz D. Evidence for an important role of both complement-binding and noncomplement-binding donor-specific antibodies in renal transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2016;21(4):433-440. doi:10.1097/MOT.0000000000000324
 127. Viklický O. Bortezomib není účinný v léčbě chronické humorální rejekce. *Postgraduální Nefrol.* 2018;16(1):26-27.
 128. Viklicky O, Hribova P, Volk H-D, et al. Molecular phenotypes of acute rejection predict kidney graft prognosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(1). doi:10.1681/ASN.2008121268
 129. Viklický O, Janoušek L, Baláž P a kolektiv. *Transplantace Ledviny v Klinické Praxi - Grada;* 2008.
 130. Visentin J, Guidicelli G, Moreau J-F, Lee J-H, Taupin J-L. Deciphering allogeneic antibody response against native and denatured HLA epitopes in organ transplantation. *Eur J Immunol.* 2015;45(7):2111-2121. doi:10.1002/eji.201445340
 131. Visentin J, Vigata M, Daburon S, et al. Deciphering Complement Interference in Anti-Human Leukocyte Antigen Antibody Detection With Flow Beads Assays.

- Transplantation*. 2014;98(6):625-631. doi:10.1097/TP.0000000000000315
132. Vo AA, Petrozzino J, Yeung K, et al. Efficacy, Outcomes, and Cost-Effectiveness of Desensitization Using IVIG and Rituximab. *Transplant J*. 2013;95(6):852-858. doi:10.1097/TP.0b013e3182802f88
 133. Vo AA, Zeevi A, Choi J, et al. A Phase I/II Placebo-Controlled Trial of C1-Inhibitor for Prevention of Antibody-Mediated Rejection in HLA Sensitized Patients. *Transplantation*. 2015;99(2):299-308. doi:10.1097/TP.0000000000000592
 134. Waiser J, Budde K, Schutz M, et al. Comparison between bortezomib and rituximab in the treatment of antibody-mediated renal allograft rejection. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(3):1246-1251. doi:10.1093/ndt/gfr465
 135. Walsh RC, Brailey P, Girnita A, et al. Early and Late Acute Antibody-Mediated Rejection Differ Immunologically and in Response to Proteasome Inhibition. *Transplantation*. 2011;91(11):1218-1226. doi:10.1097/TP.0b013e318218e901
 136. Walsh RC, Everly JJ, Brailey P, et al. Proteasome Inhibitor-Based Primary Therapy for Antibody-Mediated Renal Allograft Rejection. *Transplantation*. 2010;89(3):277-284. doi:10.1097/TP.0b013e3181c6ff8d
 137. Wehmeier C, Hönger G, Cun H, et al. Donor Specificity but Not Broadness of Sensitization Is Associated With Antibody-Mediated Rejection and Graft Loss in Renal Allograft Recipients. *Am J Transplant*. 2017;17(8):2092-2102. doi:10.1111/ajt.14247
 138. Weimer R, Susal C, Yildiz S, et al. Post-Transplant sCD30 and Neopterin as Predictors of Chronic Allograft Nephropathy: Impact of Different Immunosuppressive Regimens. *Am J Transplant*. 2006;6(8):1865-1874. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01407.x
 139. White NB, Greenstein SM, Cantafio AW, et al. Successful Rescue Therapy with Plasmapheresis and Intravenous Immunoglobulin for Acute Humoral Renal Transplant Rejection. *Transplantation*. 2004;78(5):772-774. doi:10.1097/01.TP.0000128194.55934.48
 140. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, 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. doi:10.1111/j.1600-6143.2012.04013.x
 141. Wiebe C, Pochinco D, Blydt-Hansen TD, et al. Class II HLA Epitope Matching-A

Strategy to Minimize De Novo Donor-Specific Antibody Development and Improve Outcomes. *Am J Transplant*. 2013;13(12):3114-3122.
doi:10.1111/ajt.12478

142. Xu H, He X, Liu Q, et al. Abnormal High Expression of B-Cell Activating Factor Belonging to the TNF Superfamily (BAFF) Associated With Long-Term Outcome in Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc*. 2009;41(5):1552-1556.
doi:10.1016/j.transproceed.2008.10.024
143. Xu H, He X, Liu Q, et al. The Abnormal High Expression of B Cell Activating Factor Belonging to TNF Superfamily (BAFF) and Its Potential Role in Kidney Transplant Recipients. *Cell Mol Immunol*. 2008;5(6):465-470. doi:10.1038/cmi.2008.58
144. Zhou Z, Zhou Z, Chen Z, et al. BAFF and BAFF-R of peripheral blood and spleen mononuclear cells in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Autoimmunity*. 2009;42(2):112-119. doi:10.1080/08916930802397848

10. Seznam publikací

Publikace in extenso, které jsou podkladem disertace

a) s IF

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Slavčev, A., Viklický, O. Plasmapheresis and intravenous immunoglobulin in early acute humoral rejection of the renal allograft. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. 2009, **13**(2), 108-112. ISSN 1744-9979. **IF 1,310**.

Slatinská, J., Slavčev, A., Honsová, E., Hrubá, P., Kratochvílová, I., Rohál, T., Viklický, O. Efficacy and safety of BORTEZOMIB treatment for refractory acute antibody-mediated rejection - a pilot study. *HLA*. 2018, **92**(Suppl. 2), 47-50. ISSN 2059-2302. e-ISSN 2059-2310. **IF 1,00**.

Pavlová, Y., Viklický, O., Slatinská, J., Bürgelová, M., Süsal, C., Skibová, J., Honsová, E., Stříž, I., Kolesár, L., Slavčev, A. Soluble CD30 and Hepatocyte growth factor as predictive markers of antibody-mediated rejection of the kidney allograft. *Transplant immunology*. 2011, **25**(1), 72-76. ISSN 0966-3274. **IF 1,697**.

Slavčev, A., Brožová, J., Slatinská, J., Sekerová, Z., Honsová, E., Skibová, J., Stříž, I., Viklický, O. Soluble BAFF cytokine levels and antibody-mediated rejection of the kidney allograft. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*. 2016, **64**(Supplement 1), S47-S53. ISSN 0004-069X. e-ISSN 1661-4917. **IF 2,040**.

Hrubá, P., Krejcik, Z., Stranecky, V., Maluskova, J., Slatinska, J., Gueler, F., Gwinner, W., Brasen, J., Wohlfahrtova, M., Parikova, A., Osickova, K., Fronek, J., Seda, O., Prefertusova, L., Honsova, E., Viklicky, O. Molecular patterns discriminate accommodation and subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Transplantation*. 2019, **103**(5), 909-917. ISSN 0041-1337. e-ISSN 1534-6080. **IF 4,546**.

Viklický, O., Slatinská, J., Novotný, M., Hrubá, P. Developments in immunosuppression. *Current opinion in organ transplantation*. 2021, **26**(1), 91-96. ISSN 1087-2418. e-ISSN 1531-7013. **IF 2,571** z r. 2019.

Hrubá, P., Madill-Thomsen, K., Mackova, M., Klema, J., Malušková, J., Voska, L., Paříková, A., Slatinská, J., Halloran, P., Viklický, O. Molecular patterns of isolated tubulitis differ from tubulitis with interstitial inflammation in early indication biopsies of kidney allografts. *Scientific reports*. 2020, **10**(1), art. no. 22220. ISSN 2045-2322. **IF 3,998** z r. 2019.

Straňavová, L., Hrubá, P., Slatinská, J., Sawitzki, B., Reinke, P., Volk, H., Viklický, O. Dialysis therapy is associated with peripheral marginal zone B-cell augmentation. *Transplant immunology*. 2020, **60**(June), art. no. 101289. ISSN 0966-3274. **IF 1,624** z r. 2019.

Švachová, V., Sekerová, A., Hrubá, P., Týcová, I., Rodová, M., Čerčrdlová, E., Slatinská, J., Honsová, E., Stříž, I., Viklický, O. Dynamic changes of B-cell compartments in kidney transplantation: lack of transitional B cells is associated with allograft rejection. *Transplant International*. 2016, **29**(5), 540-548. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277. **IF 3,079**.

Viklický, O., Kryštůfková, E., Brabcová, I., Sekerová, A., Wohlfahrt, P., Hřibová, P., Wohlfahrtová, M., Sawitzki, B., Slatinská, J., Stříž, I., Volk, H., Reinke, P. B-cell-related biomarkers of tolerance are up-regulated in rejection-free kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2013, **95**(1), 148-154. ISSN 0041-1337. e-ISSN 1534-6080. **IF 3,535**.

Viklický, O., Hřibová, P., Volk, H., Slatinská, J., Petrášek, J., Bandúr, Š., Honsová, E., Reinke, P. Molecular phenotypes of acute rejection predict kidney graft prognosis. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2010, **21**(1), 173-180. ISSN 1046-6673. **IF 8,288**.

b) bez IF

Viklický, O., Paříková, A., Slatinská, J., Hanzal, V., Pagáčová, L., Honsová, E., Kieslichová, E., Janoušek, L., Froněk, J. Transplantace ledviny při inkompatibilitě krevní skupiny - úvodní zkušenosti programu. *Vnitřní lékařství*. 2015, **61**(7-8), 725-730. ISSN 0042-773X.

Slatinská, J., Viklický, O. Protilátkami zprostředkovaná rejekce: současné pohledy na patofyziologii a terapii. *Aktuality v nefrologii*. 2014, **20**(1), 20-30. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Slavčev, A., Viklický, O. Plasmapheresis and Intravenous Immunoglobulin in the Treatment and Prevention of Antibody Mediated Rejection. *Transplantationsmedizin*. 2010, **22**(4), 277-281. ISSN 0946-9648.

Slatinská, J., Honsová, E., Lyerová, L., Slavčev, A., Viklický, O. Akutní humorální rejekce transplantované ledviny. *Vnitřní lékařství*. 2007, **53**(3), 246-252. ISSN 0042-773X.

[Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace](#)

a) s IF

Hrubá, P., Krejčík, Z., Dostalová, M., Klema, J., Stranecký, V., Slatinská, J., Malusková, J., Honsová, E., Viklický, O. Molecular fingerprints of borderline changes in kidney allografts are influenced by donor category. *Frontiers in immunology [online]*. 2020, **11**(March), art. no. 423. ISSN 1664-3224. e-ISSN 1664-3224. **IF 5,085** z r. 2019.

Viklický, O., Krivanec, S., Vavrinová, H., Berlakovich, G., Marada, T., Slatinská, J., Neradová, T., Zamečnicková, R., Salat, A., Hofmann, M., Fischer, G., Slavčev, A., Chromý, P., Oberbauer, R., Pantoflíček, T., Wenda, S., Lehner, E., Fae, I., Ferrari, P., Froněk, J., Boehming, G. Crossing borders to facilitate live donor kidney transplantation: the

Czech-Austrian kidney paired donation program - a retrospective study. *Transplant International*. 2020, **33**(10), 1199-1210. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277. **IF 3,177** z r. 2019.

Rousse, J., Salama, A., Ben-arye, S.L., Hrubá, P., Slatinská, J., Evanno, G., Duvaux, O., Blanchard, D., Yu, H., Chen, X., Bach, J., Padler-Karavani, V., Viklický, O., Soullillou, J. Quantitative and qualitative changes in anti-Neu5Gc antibody response following rabbit anti-thymocyte IgG induction in kidney allograft recipients. *European Journal of Clinical Investigation*. 2019, **49**(4), art. no. e13069. ISSN 0014-2972. e-ISSN 1365-2362. **IF 3,481**.

Selby, N., Blankestijn, P., Boor, P., Combe, C., Eckardt, K., Eikefjord, E., Garcia-Fernandez, N., Golay, X., Gordon, I., Grenier, N., Hockings, P., Jensen, J., Joles, J., Kalra, P., Kraemer, B., Mark, P., Mendichovszky, I., Nikolic, O., Odudu, A., Ong, A., Ortiz, A., Pruijm, M., Remuzzi, G., Rorvik, J., De Seigneux, S., Simms, R., Slatinská, J., Summers, P., Taal, M., Thoeny, H. Magnetic resonance imaging biomarkers for chronic kidney disease: a position paper from the European Cooperation in Science and Technology Action Parenchima. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*. 2018, **33**(Supplement 2), II4-II14. ISSN 0931-0509. e-ISSN 1460-2385. **IF 4,198**.

Straňavová, L., Hrubá, P., Girmanová, E., Týcová, I., Slavčev, A., Froněk, J., Slatinská, J., Reinke, P., Volk, H., Viklický, O. The effect of induction therapy on established CMV specific T cell immunity in living donor kidney transplantation. *Physiological Research*. 2018, **67**(2), 251-260. ISSN 0862-8408. e-ISSN 1802-9973. **IF 1,701**.

Týcová, I., Hrubá, P., Maixnerová, D., Girmanová, E., Mrázová, P., Straňavová, L., Zachoval, R., Merta, M., Slatinská, J., Kollár, M., Honsová, E., Tesař, V., Viklický, O. Molecular profiling in IgA nephropathy and focal and segmental glomerulosclerosis. *Physiological Research*. 2018, **67**(1), 93-105. ISSN 0862-8408. **IF 1,701**.

Zachoval, R., Borovička, V., Marada, T., Viklický, O., Froněk, J., Krhut, J., Janoušek, L., Slatinská, J., Nencka, P. The effects of diuresis, duration of dialysis and age on lower urinary tract function in urologically healthy male patients on the waiting list for kidney transplant. *Urology journal*. 2018, **15**(2), 49-54. ISSN 1735-1308. e-ISSN 1735-546X. **IF 1,463**.

Hrubá, P., Týcová, I., Krepsová, E., Girmanová, E., Sekerková, A., Slatinská, J., Stříž, I., Honsová, E., Viklický, O. Steroid free immunosuppression is associated with enhanced Th1 transcripts in kidney transplantation. *Transplant Immunology*. 2017, **42**(June 2017), 18-23. ISSN 0966-3274. **IF 1,655**.

Slavčev, A., Rybáková, K., Svobodová, E., Slatinská, J., Honsová, E., Skibová, J., Viklický, O., Stříž, I. Pre-transplant donor-specific Interferon-gamma-producing cells and acute rejection of the kidney allograft. *Transplant Immunology*. 2015, **33**(2), 63-68. ISSN 0966-3274. **IF 1,317**.

Janoušek, L., Kudla, M., Slatinská, J., Viklický, O., Froněk, J. Kidney transplant early venous complications managed by re-perfusion and re-transplantation - salvage procedure. *Bratislavské lekárske listy*. 2014, **115**(2), 101-102. ISSN 0006-9248. **IF 0,439**.

Sekerová, A., Krepsová, E., Brabcová, E., Slatinská, J., Viklický, O., Lánská, V., Stříž, I. CD14+CD16+and CD14+CD163+monocyte subpopulations in kidney allograft transplantation. *BMC Immunology*. 2014, **15**(February 6), art. No. 4. ISSN 1471-2172. **IF 2,481**.

Zavada, J., Pesickova, S., Rysava, R., Horak, P., Hrcir, Z., Lukac, J., Rovensky, J., Vitova, J., Havrda, M., Rychlik, I., Boehmova, J., Vlasakova, V., Slatinska, J., Zadrazil, J., Olejarova, M., Tegzova, D., Tesar, V. Extended follow-up of the CYCLOFA-LUNE trial comparing two sequential induction and maintenance treatment regimens for proliferative lupus nephritis based either on cyclophosphamide or on cyclosporine A. *Lupus*. 2014, **23**(1), 69-74. ISSN 0961-2033. e-ISSN 1477-0962. **IF 2,197**.

Slatinská, J., Rohál, T., Wohlfahrtová, M., Viklický, O. Long-term follow-up of stable kidney transplant recipients after conversion from tacrolimus twice daily immediate release to tacrolimus once-daily prolonged release: A large single-center experience. *Transplantation Proceedings*. 2013, **45**(4), 1491-1496. ISSN 0041-1345. e-ISSN 1873-2623. **IF 0,984**.

Zachoval, R., Jarabák, J., Slatinská, J., Bürgelová, M., Sobotka, V., Vránová, J., Krhut, J. Dynamics of fertility in patients on waiting list for kidney transplantation. *Bratislavské lekárske listy*. 2013, **114**(12), 711-715. ISSN 0006-9248. **IF 0,446**.

Honsová, E., Lodererová, A., Slatinská, J., Bouček, P. Cured malakoplakia of the renal allograft followed by long-term good function: A case report. *Biomedical papers*. 2012, **156**(2), 180-182. ISSN 1213-8118. **IF 0,990**.

b) bez IF

Zachoval, R., Jarabák, J., Slatinská, J., Bürgelová, M., Sobotka, V., Vránová, J. Parametry spermiogeneze a jejich vývoj u hemodialyzovaných pacientů do 49 let zařazených na čekací listinu k transplantaci. *Česká urologie*. 2012, **16**(3), 171-179. ISSN 1211-8729. e-ISSN 2336-5692.

Viklický, O., Slatinská, J., Bürgelová, M., Vítko, Š., Urbanová, M., Lažanská, R., Hanzal, V., Bandúr, Š., Teplan, V., Matl, I., Janoušek, L., Honsová, E., Drastichová, M., Malý, J. Transplantace ledviny v IKEM. *Časopis lékařů českých*. 2011, **150**(1), 56-59. ISSN 0008-7335.

Jachymova, M., Brabcova, I., Germanova, A., Slatinska, J., Mestek, O., Matl, I., Zima, T., Viklicky, O., Kalousova, M. A419C Polymorphism of Glyoxalase I Gene: Renal Function and Histological Findings at 12 Months after Renal Transplantation. *International journal of Nephrology and Urology*. 2010, **2**(4), 504-513. ISSN 2008-4684.

Magicová, M., Novotný, M., Slatinská, J., Viklický, O. Hluboká žilní trombóza jako primární manifestace COVID 19 u pacienta po transplantaci ledviny. *Postgraduální nefrologie*. 2020, **18**(4), 38-40. ISSN 1214-178X.

Petr, V., Slatinská, J., Viklický, O. Pozdní reparace akutního selhání ledvin. *Postgraduální nefrologie*. 2019, **17**(4), 32-33. ISSN 1214-178X.

Schmalz, M., Slatinská, J., Viklický, O. Časná rekurence C3 glomerulopatie po transplantaci ledviny? *Postgraduální nefrologie*. 2018, **16**(4), 28-30. ISSN 1214-178X.

Rohál, T., Slatinská, J. Minimální změny glomerulů, nebo syndrom barona Prášila? *Postgraduální nefrologie*. 2014, **12**(4), 63-64. ISSN 1214-178X.

Slatinská, J., Rajnochová Bloudíčková, S., Rohál, T., Brůžková, I., Hanzal, V., Vítko, Š., Viklický, O. Transplantace ledvin od žijících dárců. *Postgraduální medicína*. 2013, **15**(6), 662-667. ISSN 1212-4184.

Rajnochová Bloudíčková, S., Řepová, B., Slatinská, J., Vaňková, S. Transplantace ledviny u HIV pozitivního příjemce. *Postgraduální nefrologie*. 2012, **10**(2), 30-31. ISSN 1214-178X.

Slatinská, J., Macháčková, K., Honsová, E. Časný záchyt Goodpastureovy choroby. *Postgraduální nefrologie*. 2012, **10**(4), 62-64. ISSN 1214-178X.

Slatinská, J., Viklický, O., Froněk, J. Komenář [k článku: Párová výměna ledvin k transplantaci]. *Postgraduální nefrologie*. 2012, **10**(1), 16. ISSN 1214-178X.

Kapitoly v monografiích

Paříková, A., Rajnochová Bloudíčková, S., Slatinská, J., Wohlfahrtová, M. Předtransplantační období: před transplantací ledviny. In: M. Wohlfahrtová, O. Viklický, R. Lischke. *Transplantace orgánů v klinické praxi*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2021, s. 19-35. ISBN 978-80-271-0721-6.

Slatinská, J., Vítko, Š. Desenzitizace rituximabem před transplantací ledviny. In: I. Rychlík. *Budoucnost farmakoterapie v nefrologii*. 1. vyd. Praha: Mladá fronta, 2015, s. 260-279. ISBN 978-80-204-3865-2.

Viklický, O., Matl, I., Pokorná, E., Stříž, I., Lyerová, L., Slatinská, J. Transplantace ledviny. In: V. Tesař, O. Viklický. *Klinická nefrologie*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2015, s. 455-493. ISBN 978-80-247-4367-7.

Slatinská, J. Vyšetření žijícího dárce ledviny. In: O. Viklický, V. Tesař, S. Dusilová - Sulková. *Doporučené postupy a algoritmy v nefrologii*. 1. vyd. Praha: Grada, 2010, s. 123-124. ISBN 978-80-247-3227-5.

Slatinská, J. Sledování žijícího dárce. In: O. Viklický, V. Tesař, S. Dusilová - Sulková. *Doporučené postupy a algoritmy v nefrologii*. 1. vyd. Praha: Grada, 2010, s. 125-126. ISBN 978-80-247-3227-5.

Viklický, O., Slatinská, J. Příprava k transplantaci ledviny od žijícího dárce. In: O. Viklický, S. Dusilová Sulková, I. Rychlík. *Predialýza*. 1. vyd. Praha: Maxdorf, 2013, s. 221-231. ISBN 978-80-7345-356-5.

Abstrakta

Hanzal, V., Slatinská, J., Hrubá, P., Viklický, O. Analysis of risk factors for CMV disease in kidney transplant patients - single center study. Poster. *57th ERA-EDTA Congress*. 06. 06. 2020 - 09. 06. 2020. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*. 2020, **35**(Supplement 3), 1983-1983, abstr. no. 1667. ISSN 0931-0509. e-ISSN 1460-2385.

Hrubá, P., Madill-Thomsen, KS., Mackova, M., Malušková, J., Honsová, E., Slatinská, J., Halloran, PF., Viklický, O. Natural Course of Borderline Changes in Kidney Allografts: A MMDx Study. *American Transplant Congress (ATC)*. 30. 05. 2020 - 01. 06. 2020. *American Journal of Transplantation*. 2020, **20**(Supplement 3), 634-634. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Hrubá, P., Madill-Thomsen, KS., Mackova, M., Malušková, J., Honsová, E., Slatinská, J., Halloran, PF., Viklický, O. Evolution of Molecular MMDx Scores after Kidney Transplantation in Different Donor Categories. *American Transplant Congress (ATC)*. 30. 05. 2020 - 01. 06. 2020. *American Journal of Transplantation*. 2020, **20**(Supplement 3), 727-728. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Kábrtová, K., Říčková, K., Macholdová, K., Valhová, Š., Röder, M., Jančušková, T., Slavčev, A., Slatinská, J., Viklický, O. FASC crossmatch u HLA-inkompatibilních transplantací - předběžné výsledky Transplantačního centra IKEM. *XXXVII. sjezd českých a slovenských alergologů a klinických imunologů; XVI. kongres českých a slovenských imunologů*. Praha, CZ, 08. 10. 2020 - 09. 10. 2020. *Alergie*. 2020, **22**(Suppl. 2), 22. ISSN 1212-3536.

Maixnerová, D., Hrubá, P., Neprašová, M., Bednářová, K., Slatinská, J., Suchánek, M., Tesař, V., Viklický, O. Olivňuje pohlaví prognózu pacientů s IgAN po transplantaci ledviny?. *38. kongres České nefrologické společnosti s mezinárodní účastí - on line*. Praha, CZ, 07. 12. 2020 - 11. 12. 2020. *Zorg. Česká nefrologická společnost. Aktuality v nefrologii*. 2020, **26**(suppl. 1), 13. ISSN 1210-955X.

Petr, V., Hrubá, P., Šafránek, R., Krejčí, K., Štěpánková, S., Dědochová, J., Machová, J., Kollár, M., Slatinská, J., Honsová, E., Viklický, O. Trombotická mikroangiopatie po transplantaci ledviny. Poster. *38. kongres České nefrologické společnosti s mezinárodní účastí - on line*. Praha, CZ, 07. 12. 2020 - 11. 12. 2020. *Zorg. Česká nefrologická společnost. Aktuality v nefrologii*. 2020, **26**(suppl. 1), 28. ISSN 1210-955X.

Petr, V., Hrubá, P., Šafránek, R., Dědochová, J., Krejčí, K., Štěpánková, S., Machová, J., Slatinská, J., Kollár, M., Honsová, E., Sulková, SD., Viklický, O. Thrombotic microangiopathy in kidney transplant recipients. Poster. *57th ERA-EDTA Congress*. 06. 06. 2020 - 09. 06. 2020. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*. 2020, **35**(Supplement 3), 2019-2019, abstr. no. 1702. ISSN 0931-0509. e-ISSN 1460-2385.

Slatinská, J., Honsová, E., Rohál, T., Slavčev, A., Hrubá, P., Viklický, O. Do we know how to treat BK nephropathy? Is cidofovir therapy effective? A single-centre experience. Poster. *38. kongres České nefrologické společnosti s mezinárodní účastí - on line*. Praha, CZ, 07. 12. 2020 - 11. 12. 2020. Zörg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2020, **26**(suppl. 1), 30. ISSN 1210-955X.

Hrubá, P., Malušková, J., Slatinská, J., Osičková, K., Wohlfahrtová, M., Honsová, E., Viklický, O. Isolated tubulitis in kidney allografts: the debate is not resolved. *19th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Copenhagen, DK, 15. 09. 2019 - 18. 09. 2019. Zörg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2019, **32**(Suplement 2), 211-212, abstr. no. BOS253. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Hrubá, P., Malusková, J., Krejčík, Z., Merkerová-Dostalová, M., Stranecký, V., Klema, J., Slatinská, J., Osičková, K., Wohlfahrtová, M., Honsová, E., Viklický, O. Risk phenotypes of early borderline changes in kidney allografts. *19th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Copenhagen, DK, 15. 09. 2019 - 18. 09. 2019. Zörg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2019, **32**(Suplement 2), 38, abstr. no. OS114. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Marada, T., Pantoflíček, T., Janoušek, L., Slatinská, J., Vavřínová, H., Chromý, P., Slavčev, A., Neradová, T., Zámečnicková, R., Viklický, O., Froněk, J. The Czech national kidney exchange transplant program - 7 years of experience. *19th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Copenhagen, DK, 15. 09. 2019 - 18. 09. 2019. Zörg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2019, **32**(Suplement 2), 232, abstr. no. BOS344. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Osičková, K., Hrubá, P., Slatinská, J., Malušková, J., Marada, T., Slavčev, A., Viklický, O. Tailored induction immunosuppression based on pretransplant donor specific antibodies to prevent antibody mediated rejection. *19th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Copenhagen, DK, 15. 09. 2019 - 18. 09. 2019. Zörg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2019, **32**(Suplement 2), 15, abstr. no. OS030. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Rousse, J., Salama, A., Ben-A, S., Hrubá, P., Evanno, G., Slatinská, J., Duvaux, O., Yu, H., Chen, X., Bach, J., Padler-Karavan, V., Viklický, O., Soullillou, J. Anti-neu5gc responses in kidney allograft recipients after treatment with rabbit anti-thymocytes globulins. Poster. *19th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Copenhagen, DK, 15. 09. 2019 - 18. 09. 2019. Zörg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2019, **32**(Suplement 2), 253, abstr. no. BOS445. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slatinská, J., Rohál, T., Honsová, E., Slavčev, A., Hrubá, P., Viklický, O. Cidofovir for BK nephropathy rescue treatment: a single center experience. Poster. *19th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Copenhagen, DK, 15. 09. 2019 - 18. 09. 2019. Zörg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2019, **32**(Suplement 2), 328, abstr. no. PO047. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slatinská, J., Honsová, E., Rohál, T., Slavčev, A., Hrubá, P., Viklický, O. Cidofovir for BK Nephropathy Rescue Treatment: A Single Center Experience. Poster. *American Transplant Congress (ATC)*. Boston, US, 01. 06. 2019 - 05. 06. 2019. *American Journal of Transplantation*. 2019, **19**(Supplement 3), 986, abstr. no. C261. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Slavčev, A., Budská, V., Niemann, M., Kovandová, B., Kábrtová, K., Valhová, Š., Röder, M., Slatinská, J., Viklický, O. Pirche epitope matching in liver and heart transplantation - a single center study. *33rd European Immunogenetics and Histocompatibility Conference*. Lisbon, PT, 08. 05. 2019 - 08. 05. 2019. Zörg. European Federation for Immunogenetics. *HLA*. 2019, **93**(5), 296-296. ISSN 2059-2302. e-ISSN 2059-2310.

Straňavová, L., Hrubá, P., Slatinská, J., Sawitzki, B., Reinke, P., Volk, H., Viklický, O. Is there an immunological explanation of the success of preemptive kidney transplantation?. *19th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Copenhagen, DK, 15. 09. 2019 - 19. 09. 2019. Zörg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2019, **32**(Supplement 2), 172, abstr. no. BOS064. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Viklický, O., Froněk, J., Berlakovich, G., Marada, T., Slatinská, J., Vavřinová, H., Neradová, T., Salat, A., Fisher, G., Slavčev, A., Chromý, P., Pantoflíček, T., Wenda, S., Fae, I., Lehner, E., Boehming, GA. Crossing borders to enhance live donor kidney transplantation: the Czech-Austrian kidney paired donation program. *19th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Copenhagen, DK, 15. 09. 2019 - 18. 09. 2019. Zörg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2019, **32**(Supplement 2), 74, abstr. no. OS247. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Černoch, M., Kollár, M., Hrubá, P., Lodererová, A., Slatinská, J., Honsová, E., Viklický, O. Complement regulator CD46 transcripts are associated with progression of chronic antibody mediated rejection and recurrent IgA nephropathy. *27th International Congress of the Transplantation-Society (TTS)*. Madrid, ES, 30. 06. 2018 - 05. 07. 2018. Zörg. Transplantation Society. *Transplantation*. 2018, **102**(Supplement 7), S681-S682, abstr. no. P. 407. ISSN 0041-1337.

Hrubá, P., Krejčík, Z., Stránecký, V., Gueler, F., Gwinner, W., Paříková, A., Slatinská, J., Wohlfahrtová, M., Stříž, I., Froněk, J., Malušková, J., Honsová, E., Viklický, O. Differential expression of metallothioneins and Slc family genes in accommodation and subclinical antibody mediated rejection. *27th International Congress of the Transplantation-Society (TTS)*. Madrid, ES, 30. 06. 2018 - 05. 07. 2018. Zörg. Transplantation Society. *Transplantation*. 2018, **102**(Supplement 7), S689, abstr. no. P. 423. ISSN 0041-1337. e-ISSN 1534-6080.

Hrubá, P., Malušková, J., Honsová, E., Slatinská, J., Wohlfahrtová, M., Viklický, O. Early borderline changes represent a risk for T-cell mediated rejection and graft failure in kidney transplantation. *27th International Congress of the Transplantation-Society (TTS)*. Madrid, ES, 30. 06. 2018 - 05. 07. 2018. Zörg. Transplantation-Society. *Transplantation*. 2018, **102**(Supplement 7), S478, abstr. no. P. 032. ISSN 0041-1337. e-ISSN 1534-6080.

Osičková, K., Hrubá, P., Slatinská, J., Slavčev, A., Froněk, J., Honsová, E., Viklický, O. Mid-term outcome of donor specific antibody positive deceased donor kidney transplantation with peri-transplant desensitization. *27th International Congress of the Transplantation-Society (TTS)*. Madrid, ES, 30. 06. 2018 - 05. 07. 2018. Zorg. Transplantation Society. *Transplantation*. 2018, **102**(Supplement 7), S260, abstr. no. 502.4. ISSN 0041-1337. e-ISSN 1534-6080.

Osičková, K., Hrubá, P., Slatinská, J., Slavčev, A., Froněk, J., Honsová, E., Viklický, O. Mid-term outcome of donor specific antibody positive deceased donor kidney transplantation with peri-transplant desensitization. *American Transplant Congress*. Seattle, US, 02. 06. 2018 - 05.06. 2018. *American Journal of Transplantation*. 2018, **18**(Supplement 4), 525, abstr. no. A147. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Pletková, A., Černoš, M., Kollár, M., Hrubá, P., Lodererová, A., Slatinská, J., Honsová, E., Viklický, O. Complement regulator CD46 transcripts are associated with progression of chronic antibody mediated rejection and recurrent IgA nephropathy. Poster. *27th International Congress of The Transplantation Society*. Madrid, ES. 30. 06. 2018 - 05. 07. 2018. Zorg. Transplantation Society. In: *27th International Congress of The Transplantation Society*. Madrid: Transplantation Society, 2018, s. nestr., č. abstr. P. 407.

Pletková, A., Hrubá, P., Mrázová, P., Slatinská, J., Honsová, E., Viklický, O. Association of increased peripheral transitional B cells and plasmablasts with long-term kidney graft survival. Poster. *27th International Congress of the Transplantation-Society (TTS)*. Madrid, ES, 30. 06. 2018 - 05. 07. 2018. Zorg. Transplantation Society. *Transplantation*. 2018, **102**(Supplement 7), S692, abstr. no. P. 428. ISSN 0041-1337.

Slatinská, J., Honsová, E., Rohál, T., Kratochvílová, I., Hrubá, P., Viklický, O. Do C1q-positive donor specific antibodies have prognostic effect in patients with resistant antibody mediated rejection treated with bortezomib? Single-centre experience. *55th ERA-EDTA Congress*. Copenhagen, DK, 24. 05. 2018 - 27. 05. 2018. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*. 2018, **33**(Supplement 1), nestr., abstr. no. SP737. ISSN 0931-0509. e-ISSN 1460-2385.

Slatinská, J., Fraňková, S., Froněk, J., Hanzal, V., Viklický, O. Kombinované transplantace jater a ledviny - mají nemocní s polycystózou jater a ledviny horší prognózu?. *37. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 04. 06. 2018 - 06. 06. 2018. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2018, **24**(Supplement 1), 23. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Honsová, E., Rohál, T., Kratochvílová, I., Hrubá, P., Viklický, O. Do C1q-positive donor specific antibodies have prognostic effect in patients with resistant antibody-mediated rejection treated with bortezomib? Single-centre experience. *27th International Congress of the Transplantation-Society (TTS)*. Madrid, ES, 30. 06. 2018 - 05. 07. 2018. Zorg. Transplantation Society. *Transplantation*. 2018, **102**(Supplement 7), S257, abstr. no. 501.5. ISSN 0041-1337.

Straňavová, L., Hrubá, P., Girmanová, E., Týcová, I., Slatinská, J., Slavčev, A., Froněk, J., Viklický, O. rATG and basiliximab in CMV specific T cell immunity in kidney transplant

recipients. 2. kongres Slovenskej transplantologickej spoločnosti SLS s medzinárodnou účasťou. Bratislava, SK, 18. 10. 2018 - 20. 10. 2018. Zorg. Slovenská transplantologická spoločnosť. *Transplant.SK*. 2018, **2**(3-4), nestr. ISSN 2453-9945.

Stříž, I., Kotschwarová, K., Švachová, V., Slatinská, J., Fialová, M., Čerčrdlová, E., Viklický, O. Chemokine levels and proportions of peripheral immune cells in kidney allograft recipients. *American Academy of Allergy Asthma and Immunology / World Allergy Organization Joint Congress*. Orlando, US, 02. 03. 2018 - 08. 03. 2018. Zorg. Amer Acad Allergy Asthma & Immunol. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018, **141**(2, Supplement S), AB175, no. abstr. 554. ISSN 0091-6749. e-ISSN 1097-6825.

Hrubá, P., Krejčík, Z., Stranecky, V., Paříková, A., Slatinská, J., Stříž, I., Froněk, J., Honsová, E., Viklický, O. Metallothioneins 1 and 3 discriminate accommodation and antibody mediated rejection in kidney transplantation. *18th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Barcelona, ES, 24. 09. 2017 - 27. 09. 2017. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2017, **30**(Supplement 2), 17, abstr. no. OS026. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Kopecka, I., Švachová, V., Slatinská, J., Fialová, M., Sekerová, A., Viklický, O., Stříž, I. Phenotypic changes of peripheral blood monocytes after kidney allograft transplantation. Poster. *Analytical Cytometry IX*. Prague, CZ. 14. 10. 2017 - 17. 10. 2017. Zorg. Czech Society for Analytical Cytometry. In: *Analytical Cytometry IX [online]*. 2017, s. 132-133, pIM-12.

Osičková, K., Paříková, A., Slatinská, J., Froněk, J., Viklický, O. Early outcomes of low risk ABO incompatible kidney transplantations. Poster. *18th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Barcelona, ES, 24. 09. 2017 - 27. 09. 2017. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2017, **30**(Supplement 2), 446-447, abstr. no. P211. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slatinská, J., Honsová, E., Rohál, T., Boháčová, P., Hrubá, P., Viklický, O. Do we know how to treat resistant antibody - mediated rejection effectively? A single centre experience. *18th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Barcelona, ES, 24. 09. 2017 - 27. 09. 2017. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2017, **30**(Supplement 2), 76, abstr. no. OS201. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slatinská, J., Honsová, E., Rohál, T., Boháčová, P., Hrubá, P., Viklický, O. Is treatment of chronic antibody-mediated rejection by bortezomib effective?. *18th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Barcelona, ES, 24. 09. 2017 - 27. 09. 2017. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2017, **30**(Supplement 2), 317, abstr. no. BOS531. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slavčev, A., Janatová, K., Fornbaumová, I., Košťáková, Š., Röder, M., Verřlová, A., Slatinská, J., Viklický, O. Forbidden HLA antigens in kidney re-transplantation - A single center study. *31st European Immunogenetics and Histocompatibility Conference (EFI) 25th Annual Meeting of the German Society for Immunogenetics (DGI)*.

Mannheim/Heidelberg, DE, 30. 05. 2017 - 02. 06. 2017. *HLA*. 2017, **89**(6), 396, abstr. no. P29. ISSN 2059-2302. e-ISSN 2059-2310.

Stříž, I., Švachová, V., Sekerová, A., Slatinská, J., Kopecká, K., Fialová, M., Viklický, O. Subpopulations of peripheral blood monocytes in kidney allograft recipients. *American Transplant Congress 2017*. Chicago, US, 29. 04. 2017 - 03. 05. 2017. Zorg. American Society of Transplant Surgeons. *American Journal of Transplantation*. 2017, **17**(Supplement 3), 659, abstr. no. C131. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Stříž, I., Švachová, V., Sekerová, A., Slatinská, J., Kotschwarová, K., Fialová, M., Viklický, O. Phenotypic changes of blood monocytes in kidney transplant recipients. *Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology*. Helsinki, FI, 17. 06. 2017 - 21. 06. 2017. Zorg. European Acad Allergy & Clin Immunol. *Allergy*. 2017, **72**(Supplement 103), 191, abstr. no. 0568. ISSN 0105-4538.

Boháčová, P., Kolesár, L., Svobodová, E., Janatová, K., Slavčev, A., Viklický, O., Slatinská, J., Froněk, J., Zámečníková, R., Chromý, P. Kidney Paired Donation Program in the Czech Republic. *30th European Immunogenetics and Histocompatibility Conference*. Kos Island, GR, 11. 05. 2016 - 14. 05. 2016. *HLA*. 2016, **87**(4), 253, abstr. no. P47. ISSN 2059-2302. e-ISSN 2059-2310.

Hanzal, V., Honsová, E., Slatinská, J., Viklický, O. Mild microscopic hematuria of renal origin: Hidden threat?. *53rd ERA-EDTA Congress*. Vienna, AT, 21. 05. 2016 - 24. 05. 2016. Zorg. European Renal Association. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*. 2016, **31**(Supplement 1), 369, abstr. no. MP082. ISSN 0931-0509.

Hrubá, P., Týcová, I., Maixnerová, D., Girmanová, E., Straňavová, L., Tesař, V., Zachoval, R., Kollár, M., Slatinská, J., Viklický, O. Molekulární profil pacientů s IgA nefropatií a fokální segmentální glomerulosklerózou. Poster. *36. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 06. 06. 2016 - 08. 06. 2016. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2016, **22**(Suppl. 1), 29, č. abstr. P02. ISSN 1210-955X.

Jeníčková, P., Zachoval, R., Peregrin, J., Slatinská, J., Janoušek, R. Extrakorporální litotrypsy u akcidentální transplantace nefrolitiázy. Poster. *36. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 06.06.2016 - 08.06.2016. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2016, **22**(Suppl. 1), 48, č. abstr. P39. ISSN 1210-955X.

Klečka, M., Novák, J., Peregrin, J., Marada, T., Slatinská, J., Janoušek, R., Viklický, O. Stenóza neoureteru a benigní hyperplázie prostaty. diagnosticko-terapeutický oříšek. Poster. *36. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 06. 06. 2016 - 08. 06. 2016. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2016, **22**(Suppl. 1), 48, č. abstr. P40. ISSN 1210-955X.

Osičková, K., Paříková, A., Slatinská, J., Rajnochová Bloudíčková, S., Froněk, J., Viklický, O. Eculizumab v prevenci rekurence aHUS po transplantaci ledviny: kazuistika. Poster. *36. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 06. 06. 2016 - 08. 06. 2016. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2016, **22**(Suppl. 1), 50, č. abstr. P44. ISSN 1210-955X.

Rodová, M., Sekerová, Z., Kolesár, L., Valhová, Š., Slatinská, J., Viklický, O., Slavčev, A. Role of BAFF cytokine in kidney transplant rejection. Poster. *30th European Immunogenetics and Histocompatibility Conference*. Kos Island, GR, 11. 05. 2016 - 14. 05. 2016. *HLA*. 2016, **87**(4), 255-256, abstr. no. P53. ISSN 2059-2302. e-ISSN 2059-2310.

Slatinská, J., Honsová, E., Hanzal, V., Boháčová, P., Marada, T., Hrubá, P., Zelinová, M., Viklický, O. Do we know how to treat resistant antibody-mediated rejection effectively? A single centre experience. *2016 TTS Congress*. Hongkong, CN, 18. 08. 2016 - 23. 08. 2016. *Transplantation*. 2016, **100**(7 / Supplement 1), S30-S30. ISSN 0041-1337. e-ISSN 1534-6080.

Slatinská, J., Hanzal, V., Honsová, E., Boháčová, P., Hrubá, P., Zelinová, M., Viklický, O. Do we know how to treat resistant antibody-mediated rejection effectively? A single centre experience. *53rd ERA-EDTA Congress*. Vienna, AT, 21. 05. 2016 - 24. 05. 2016. Zorg. European Renal Association. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*. 2016, **31**(Supplement 1), 324, abstr. no. SP687. ISSN 0931-0509.

Stříž, I., Čerčrdlová, E., Sekerová, A., Slatinská, J., Švachová, V., Viklický, O. Serum levels of soluble myeloid antigens after kidney allograft transplantation. *American Transplant Congress*. Boston, US, 11. 06. 2016 - 15. 06. 2016. Zorg. American Society of Transplant Surgeons. *American Journal of Transplantation*. 2016, **16**(Suppl. 3), 617-617, art. no. C49. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Zelinová, M., Slatinská, J., Beneš, M., Viklický, O. Hemorhagická cytomegalovirová enterokolitida u séronegativní pacientky: paušální profylaxe není vhodná pro všechny aneb one size does not fit all. Poster. *36. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 06. 06. 2016 - 08. 06. 2016. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2016, **22**(Suppl. 1), 50-51, č. abstr. P46. ISSN 1210-955X.

Froněk, J., Janoušek, L., Marada, T., Pantoflíček, T., Zámečnicková, R., Chromy, P., Slatinská, J., Viklický, O. Czech national kidney exchange program-3 years and 43 transplants. *ESOT 2015. 17th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Brussels, BE, 13. 09. 2015 - 16. 09. 2015. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2015, **28**(Supplement 4), 172, abstr. no. BO124. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Sekerová, A., Slatinská, J., Stříž, I., Viklický, O. Steroid-free immunosuppression is associated with enhanced Th1 transcripts. *ESOT 2015. 17th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Brussels, BE, 13. 09. 2015 - 16. 09. 2015. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2015, **28**(Supplement 4), 404, abstr. no. P188. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Koňářiková, A., Svobodová, E., Wohlfahrtová, M., Vrbová, M., Slatinská, J., Slavčev, A., Pokorná, E., Viklický, O. Luminex a alokace ledviny k transplantaci. *8. výzkumné fórum Pyramida*. Jizerka, Horní Polubný, CZ, 09. 01. 2015 - 11. 01. 2015. Zorg. Transplantcentrum IKEM. In: *8. výzkumné fórum Pyramida*. Praha: IKEM, 2015, s. 10.

Rajnochová Bloudíčková, S., Slatinská, J., Janoušek, L., Adamec, M., Kudla, M., Marada, T., Baláž, P., Viklický, O. Donor age - a key factor of long-term kidney transplantation outcomes in the elderly recipient?. *52nd Congress of the European Renal Association European Dialysis and Transplant Association*. London, GB, 28. 05. 2015 - 31. 05. 2015. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*. 2015, **30**(suppl. 3), SP846. ISSN 0931-0509.

Rajnochová Bloudíčková, S., Slatinská, J., Janoušek, L., Adamec, M., Kudla, M., Marada, T., Baláž, P., Viklický, O. Donore age - a key factor of long-term kidney transplantation outcomes in the elderly recipient?. *ESOT 2015. 17th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Brussels, BE, 13. 09. 2015 - 16. 09. 2015. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2015, **28**(Supplement 4), 756, abstr. no. P685. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slatinská, J. Rituximab v desenzitizačních protokolech po transplantaci ledviny. 6. *edukační symposium "Budoucnost farmakoterapie v nefrologii" a Jan Brod memorial lecture*. Ostrava, CZ, 22. 04. 2015 - 23. 04. 2015. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2015, **21**(1, příl.), P-15-P-17. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Svobodová, E., Honsová, E., Marada, T., Hanzal, V., Viklický, O. Bortezomib in the treatment of resistant acute antibody-mediated rejection: A single centre experience. *17th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Brussels, 13. 09. 2015 - 16. 09. 2015. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2015, **28**(Supplement 4), 207, abstr. no. BO228. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slavčev, A., Rybáková, K., Brožová, J., Svobodová, E., Slatinská, J., Honsová, E., Stříž, I., Viklický, O. Pre-transplant interferon-gamma and IGG producing cells and acute rejection of the kidney allograft. *European Federation for Immunogenetics Conference*. Geneva, CH, 26. 04. 2015 - 29. 04. 2015. Zorg. European Federation for Immunogenetics. *Tissue antigens*. 2015, **85**(5), 409, abstr. no. P219. ISSN 0001-2815. e-ISSN 1399-0039.

Borovička, V., Zachoval, R., Marada, T., Froněk, J., Slatinská, J., Viklický, O., Janoušek, L. Contribution of urodynamic investigation of the prediction of urological complications after renal transplantation. *EAU 14th Central European Meeting*. Cracow, PL, 10. 10. 2014 - 12. 10. 2014. Zorg. European Association of Urology. *European urology supplements*. 2014, **13**(6), e1323, abstr. no. C139. ISSN 1569-9056.

Borovička, V., Zachoval, R., Marada, T., Froněk, J., Slatinská, J., Viklický, O. Význam urodynamického vyšetření pro predikci urologických komplikací po transplantaci ledviny. *V. česko-slovenský transplantální kongres*. Olomouc, CZ, 02. 10. 2014 - 04. 10. 2014. Zorg. Česká transplantální společnost, Slovenská transplantologická spoločnosť. In: *V. česko-slovenský transplantální kongres: Program, Abstrakta*. Praha: Česká transplantální společnost, 2014, s. 31, č. abstr. O-12.

Borovička, V., Zachoval, R., Marada, T., Froněk, J., Slatinská, J., Viklický, O. Význam urodynamického vyšetření pro predikci urologických komplikací po transplantaci ledviny. *60. výroční konference České urologické společnosti*. Brno, CZ, 22. 10. 2014 - 24. 10.

2014. Zorg. Česká lékařská společnost JEP. *Česká urologie*. 2014, **18**(Suppl. 1), 63. ISSN 1211-8729. e-ISSN 2336-5692.

Hanzal, V., Honsová, E., Slatinská, J., Viklický, O. Bioptické nálezy u minimální erytrocyturie renálního původu. V. *česko-slovenský transplantální kongres*. Olomouc, CZ. 02. 10. 2014 - 04. 10. 2014. Zorg. Česká transplantální společnost, Slovenská transplantologická společnost. In: *V. česko-slovenský transplantální kongres: Program, Abstrakta*. Praha: Česká transplantální společnost, 2014, s. 32-33, č. abstr. O-16.

Hanzal, V., Honsová, E., Slatinská, J., Viklický, O. Bioptické nálezy u minimální erytrocyturie renálního původu. *35. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 25. 06. 2014 - 27. 06. 2014. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2014, **20**(suppl. 1), 20, č. abstr. O 15. ISSN 1210-955X.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Slatinská, J., Stříž, I., Sekerová, A., Viklický, O. Tolerance and rejection associated transcripts in low-risk kidney transplant recipients: prospective study. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26. 07. 2014 - 31. 07. 2014. *American Journal of Transplantation*. 2014, **14**(Supplement 3), 226-227, abstr. no. 2200. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Sekerová, A., Slatinská, J., Stříž, I., Viklický, O. Steroid free immunosuppression is associated with enhanced Th1 transcripts. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26. 07. 2014 - 31. 07. 2014. *American Journal of Transplantation*. 2014, **14**(Supplement 3), 894, abstr. no. B780. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Slatinská, J., Stříž, I., Sekerová, A., Viklický, O. Tolerance and rejection associated transcripts in low-risk kidney transplant recipients: Prospective Study. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26. 07. 2014 - 31. 07. 2014. Zorg. American Society of Transplant Surgeons. *Transplantation*. 2014, **98**(Suppl. 1), 226-227. ISSN 0041-1337.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Sekerová, A., Slatinská, J., Stříž, I., Viklický, O. Tolerance and rejection associated transcripts in low-risk kidney transplant recipients: prospective study. Poster. V. *česko-slovenský transplantální kongres*. Olomouc, CZ. 02. 10. 2014 - 04. 10. 2014. Zorg. Česká transplantální společnost, Slovenská transplantologická společnost. In: *V. česko-slovenský transplantální kongres: Program, Abstrakta*. Praha: Česká transplantální společnost, 2014, s. 54, č. abstr. P-05.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Sekerová, A., Slatinská, J., Stříž, I., Viklický, O. Steroid free immunosuppression is associated with enhanced Th1 transcripts. V. *česko-slovenský transplantální kongres*. Olomouc, CZ. 02. 10. 2014 - 04. 10. 2014. Zorg. Česká transplantální společnost, Slovenská transplantologická společnost. In: *V. česko-slovenský transplantální kongres: Program, Abstrakta*. Praha: Česká transplantální společnost, 2014, s. 41, č. abstr. O-35.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Sekerová, A., Slatinská, J., Stříž, I., Viklický, O. Vysazení steroidů z imunoprese zvyšuje expresi TH1 transkriptů. Poster. *35. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 25. 06. 2014 - 27. 06. 2014. Zorg. Česká

nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2014, **20**(suppl. 1), 39, č. abstr. P 40. ISSN 1210-955X.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Sekerová, A., Slatinská, J., Stříž, I., Viklický, O. Steroid free immunosuppression is associated with enhanced Th1 transcripts. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26. 07. 2014 - 31. 07. 2014. *Transplantation*. 2014, **98**(suppl. 1), 894, abstr. no. B780. ISSN 0041-1337.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Slatinská, J., Sekerová, A., Stříž, I., Zachoval, R., Viklický, O. Steroid free immunosuppression is associated with enhanced Th1 transcripts. *51st Congress of the European-Renal-Association(ERA)/European-Dialysis-and-Transplant-Association (EDTA)*. Amsterdam, NL, 31. 05. 2014 - 03. 06. 2014. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2014, **29**(Supplement 3), 529-530, abstr. no. MP594. ISSN 0931-0509.

Hrubá, P., Brabcová, I., Krepsová, E., Slatinská, J., Sekerová, A., Stříž, I., Zachoval, R., Viklický, O. Tolerance and rejection associated transcripts in low-risk kidney transplant recipients: prospective study. *51st Congress of the European-Renal-Association(ERA)/European-Dialysis-and-Transplant-Association (EDTA)*. Amsterdam, NL, 31. 05. 2014 - 03. 06. 2014. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2014, **29**(Supplement 3), 530-531, abstr. no. MP596. ISSN 0931-0509.

Rajnochová Bloudíčková, S., Slatinská, J., Brůžková, I., Jeníčková, P., Macháčková, K., Rohál, T., Janoušek, L., Adamec, M., Kudla, M., Marada, T., Baláž, P., Viklický, O. Dlouhodobé výsledky transplantací ledvin od žijících nepříbuzenských dárců v IKEM 2000 - 2010. *35. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 25. 06. 2014 - 27. 06. 2014. *Zorg*. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2014, **20**(suppl. 1), 21-22, č. abstr. O 18. ISSN 1210-955X.

Rajnochová Bloudíčková, S., Slatinská, J., Brůžková, I., Jeníčková, P., Macháčková, K., Rohál, T., Janoušek, L., Adamec, M., Kudla, M., Marada, T., Baláž, P., Viklický, O. Dlouhodobé výsledky transplantací ledvin od žijících nepříbuzných dárců v IKEM 2000-2010. *V. česko-slovenský transplantační kongres*. Olomouc, CZ, 02. 10. 2014 - 04. 10. 2014. *Zorg*. Česká transplantační společnost, Slovenská transplantologická společnost. In: *V. česko-slovenský transplantační kongres: Program, Abstrakta*. Praha: Česká transplantační společnost, 2014, s. 29, č. abstr. O-8.

Slatinská, J., Svobodová, E., Honsová, E., Hanzal, V., Viklický, O. Bortezomib v léčbě akutní protilátkami zprostředkované rejekci (AMR), zkušenosti našeho centra. *V. česko-slovenský transplantační kongres*. Olomouc, CZ, 02. 10. 2014 - 04. 10. 2014. *Zorg*. Česká transplantační společnost, Slovenská transplantologická společnost. In: *V. česko-slovenský transplantační kongres: Program, Abstrakta*. Praha: Česká transplantační společnost, 2014, s. 40, č. abstr. O-33.

Slatinská, J., Svobodová, E., Honsová, E., Hanzal, V., Viklický, O. Bortezomib v léčbě rezistentní akutní protilátkami zprostředkované rejekci (AMR), zkušenosti našeho centra. *35. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 25. 06. 2014 - 27. 06. 2014. *Zorg*.

Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2014, **20**(suppl. 1), 22, č. abstr. O 19. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Svobodová, E., Honsová, E., Marada, T., Hanzal, V., Viklický, O. Bortezomib in the treatment of resistant acute antibody-mediated rejection: a single centre experience. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26. 07. 2014 - 31. 07. 2014. *American Journal of Transplantation*. 2014, **14**(Supplement 3), 435-436, abstr. no. A125. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Slatinská, J., Svobodová, E., Honsová, E., Marada, T., Hanzal, V., Viklický, O. Bortezomib in the treatment of resistant acute antibody-mediated rejection: A single centre experience. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26. 07. 2014 - 31. 07. 2014. Zorg. American Society of Transplant Surgeons. *Transplantation*. 2014, **98**(Suppl. 1), 435-436, abstr. no. A125. ISSN 0041-1337.

Slavčev, A., Svobodová, E., Valhová, Š., Slatinská, J., Viklický, O. Mica-specific antibodies may predict long-term kidney graft survival. *28th EFI European Immunogenetics and Histocompatibility Conference*. Stockholm, SE, 25. 06. 2014 - 28. 06. 2014. *Tissue antigens*. 2014, **84**(1), 80-81. ISSN 0001-2815. e-ISSN 1399-0039.

Slavčev, A., Valhová, Š., Svobodová, E., Janatová, K., Boháčová, P., Slatinská, J., Viklický, O. Donor-specifické protilátky a dlouhodobé přežití transplantované ledviny. *V. česko-slovenský transplantální kongres*. Olomouc, CZ. 02. 10. 2014 - 04. 10. 2014. Zorg. Česká transplantální společnost, Slovenská transplantologická spoločnosť. In: *V. česko-slovenský transplantální kongres: Program, Abstrakta*. Praha: Česká transplantální společnost, 2014, s. 39, č. abstr. O-31.

Stříž, I., Sekerová, A., Kryštůfková, E., Brabcová, E., Slatinská, J., Viklický, O. Induction therapy modulates the proportions of CD14+CD16+and CD14+CD163+monocytes in kidney allograft recipients. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26. 07. 2014 - 31. 07. 2014. Zorg. American Society of Transplant Surgeons. *Transplantation*. 2014, **98**(Suppl. 1), 581-581. ISSN 0041-1337.

Stříž, I., Sekerová, A., Kryštůfková, E., Brabcová, E., Slatinská, J., Viklický, O. Induction therapy modulates the proportions of CD14+CD16+and CD14+CD163+monocytes in kidney allograft recipients. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26. 07. 2014 - 31. 07. 2014. *American Journal of Transplantation*. 2014, **14**(Supplement 3), 581, abstr. no. C1800. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Verflová, A., Svobodová, E., Viklický, O., Slatinská, J., Slavčev, A., Pokorná, E. Definice zakázaných antigenů jako součást alokačních kritérií u retransplantace ledviny: analýza současného přístupu. *35. kongres České nefrologické společnosti*. Praha, CZ, 25. 06. 2014 - 27. 06. 2014. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2014, **20**(suppl. 1), 22, č. abstr. O 20. ISSN 1210-955X.

Verflová, A., Svobodová, E., Vrbová, M., Slavčev, A., Pokorná, E., Slatinská, J., Viklický, O. Definice zakázaných antigenů jako součást alokačních kritérií u retransplantace ledviny: analýza současného přístupu. *V. česko-slovenský transplantální kongres*. Olomouc, CZ. 02. 10. 2014 - 04. 10. 2014. Zorg. Česká transplantální společnost, Slovenská

transplantologická společnost. In: *V. česko-slovenský transplantační kongres: Program, Abstrakta*. Praha: Česká transplantační společnost, 2014, s. 41-42, č. abstr. O-36.

Verflová, A., Slimáčková, E., Slatinská, J., Slavčev, A., Vítko, Š., Honsová, E., Viklický, O. Antibody-mediated rejection in kidney retransplantation and restricted antigens (pilot study). *7. výzkumné fórum Pyramida*. Jizerka, Horní Polubný, CZ. 10. 01. 2014 - 12. 01. 2014. Zorg. Transplantcentrum IKEM. In: *7. výzkumné fórum Pyramida*. Praha: IKEM, 2014, s. 19.

Verflová, A., Svobodová, E., Slatinská, J., Slavčev, A., Pokorná, E., Viklický, O. Restriction of previous donor HLA antigens with current antibody production limits access to retransplantation but does not reduce the incidence of antibody mediated rejection. *51st Congress of the European-Renal-Association(ERA)/European-Dialysis-and-Transplant-Association (EDTA)*. Amsterdam, NL, 31. 05. 2014 - 03. 06. 2014. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2014, **29**(Supplement 3), 307-308. ISSN 0931-0509.

Viklický, O., Paříková, A., Slatinská, J., Pagáčová, L., Malý, J., Froněk, J. ABO incompatible living donor kidney transplantation program in Prague. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26.07.2014 - 31.07.2014. *American journal of transplantation*. 2014, **14**(Supplement 3), 613-614, abstr. no. 1918. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Viklický, O., Paříková, A., Slatinská, J., Hanzal, V., Froněk, J. ABO incompatible living donor kidney transplantation program in Prague. *51st Congress of the European-Renal-Association(ERA)/European-Dialysis-and-Transplant-Association (EDTA)*. Amsterdam, NL, 31. 05. 2014 - 03. 06. 2014. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2014, **29**(Supplement 3), 328-329, abstr. no. SP775. ISSN 0931-0509.

Viklický, O., Paříková, A., Froněk, J., Slatinská, J., Hanzal, V., Janoušek, L., Pagáčová, L., Eretová, Z. ABO inkompatibilní transplantace ledvin v IKEM. *V. česko-slovenský transplantační kongres*. Olomouc, CZ. 02. 10. 2014 - 04. 10. 2014. Zorg. Česká transplantační společnost, Slovenská transplantologická společnost. In: *V. česko-slovenský transplantační kongres: Program, Abstrakta*. Praha: Česká transplantační společnost, 2014, s. 29-30, č. abstr. O-9.

Viklický, O., Paříková, A., Slatinská, J., Pagačová, L., Malý, J., Froněk, J. ABO incompatible living donor kidney transplantation program in Prague. *World Transplant Congress*. San Francisco, US, 26. 07. 2014 - 31. 07. 2014. Zorg. American Society of Transplant Surgeons. *Transplantation*. 2014, **98**(Suppl. 1), 613-614. ISSN 0041-1337.

Chlupáč, J., Marada, T., Slatinská, J., Janoušek, L., Froněk, J. Thromboembolic events in renal transplantation. *XXXVIII Angiological Days 2013 : with international participation*. Prague, CZ. 28. 02. 2013 - 02. 03. 2013. In: *XXXVIII Angiological Days 2013 : with international participation : book of abstracts*. Praha: AMCA, 2013, s. 11. ISBN 978-80-905449-0-1.

Pagačová, L., Hošková, L., Kubánek, M., Dorazilová, Z., Málek, I., Slavčev, A., Slatinská, J., Viklický, O., Paříková, A., Kryštůfková, E. Our experience with protein A immunoabsorption in transplant medicine. *16th ESOT Congress*. Vienna, AT. 08. 11. 2013

- 11. 11. 2013. Zorg. European Society for Organ Transplantation. In: *Transplant International*. Oxford: Wiley-Blackwell, 2013, s. 79-79.

Pagačová, L., Hošková, L., Kubánek, M., Dorazilová, Z., Málek, I., Slavčev, A., Slatinská, J., Viklický, O., Paříková, A., Kryštůfková, E. Immunoabsorption onto staphylococcal protein A has use for transplantology. *23rd Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion*. Amsterdam, NL, 02. 06. 2013 - 05. 06. 2013. Zorg. International Society of Blood Transfusion. *Vox sanguinis*. 2013, **105**(suppl. 1), 257-258, abstr. no. P-573. ISSN 0042-9007. e-ISSN 1423-0410.

Rybáková, K., Brožová, J., Slimáčková, E., Slatinská, J., Viklický, O., Stříž, I., Slavčev, A. Donor-specific interferon-gamma producing cells and acute rejection after kidney transplantation. *2nd Meeting of Middle - European Societies for Immunology and Allergology*. Opatija, HR. 10. 10. 2013 - 13. 10. 2013. Zorg. Croatian Immunological Society. In: *2nd Meeting of Middle - European Societies for Immunology and Allergology : Abstract Book*. Berlin: European Federation of Immunological Societies, 2013, s. 57, abstr. no. 21.

Slatinská, J. Transplantace ledvin od žijících dárců. *5. edukační symposium "Predialýza" a 12. Jan Brod Memorial Lecture*. Plzeň, CZ, 24. 04. 2013 - 25. 04. 2013. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2013, **19**(1), P48-P51. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Honsová, E., Wohlfahrtová, M., Slimáčková, E., Rajnochová Bloudíčková, S., Viklický, O. Bortezomib in the treatment of resistant acute antibody-mediated rejection: A single centre experience. *50th European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association Congress*. Istanbul, TR, 18. 05. 2013 - 21. 05. 2013. Zorg. ERA, EDTA. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2013, **28**(suppl. 1), 511. ISSN 0931-0509.

Slatinská, J., Honsová, E., Wohlfahrtová, M., Slimáčková, E., Rajnochová Bloudíčková, S., Viklický, O. Bortezomib in the treatment of resistant acute antibody - mediated rejection: A single centre experience. *16th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Vienna, AT, 08. 09. 2012 - 11. 09. 2012. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2013, **26**(suppl. 2), 136, abstr. no. BO258. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slimáčková, E., Janatová, K., Verřlová, A., Slatinská, J., Pokorná, E., Viklický, O., Slavčev, A. Forbidden HLA antigens in patients waiting for kidney re-transplantation - a single centre experience. *27th Annual EFI European Immunogenetics and Histocompatibility Conference*. Maastricht, 11. 05. 2013 - 14. 05. 2013. *Tissue antigens*. 2013, **81**(5), 328-328. ISSN 0001-2815. e-ISSN 1399-0039.

Slimáčková, E., Verřlová, A., Slatinská, J., Pokorná, E., Slavčev, A., Viklický, O. Forbidden HLA antigens in patients waiting for kidney re-transplantation - a single centre experience. *16th Congress of the European Society for Organ Transplantation*. Vienna, AT, 08. 09. 2013 - 11. 09. 2013. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International*. 2013, **26**(Supplement 2), 248-248. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Fantová, L., Vaňková, S., Slatinská, J., Marada, T., Viklický, O. Léčba selhání ledvin HIV pozitivního pacienta zakončená úspěšnou transplantací - kazuistika. Poster. *34. kongres české nefrologické společnosti*. Brno, CZ, 14. 06. 2012 - 16. 06. 2012. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2012, **18**(suppl. 1), 32, č. abstr. P15. ISSN 1210-955X.

Jarabák, J., Zachoval, R., Bürgelová, M., Slatinská, J. Erektální dysfunkce u mužů do 50 let léčených pro chronické renální selhání hemodialýzou, zařazených na waiting list k transplantaci ledviny. *4. československý transplantační kongres*. Donovaly, SK. 13. 09. 2012 - 15. 09. 2012. Zorg. Slovenská transplantologická spoločnosť SLS, Česká transplantační společnost. In: *4. československý transplantační kongres : Abstrakty*. B.m.n., 2012, s. 20.

Jarabák, J., Zachoval, R., Bürgelová, M., Slatinská, J. Erektální dysfunkce u mužů do 50 let léčených pro chronické renální selhání hemodialýzou, zařazených na waiting list k transplantaci ledviny. *58. výroční konference České urologické společnosti*. Ostrava, CZ, 31. 10. 2012 - 02. 11. 2012. Zorg. Česká lékařská společnost JEP. *Česká urologie*. 2012, **16**(Suppl. 1), 78. ISSN 1211-8729. e-ISSN 2336-5692.

Kryštůfková, E., Brabcová, I., Lepeyová, M., Hřibová, P., Wohlfahrt, P., Wohlfahrtová, M., Slatinská, J., Sawitzki, B., Volk, H., Reinke, P., Viklický, O. B cell-related biomarkers of tolerance are up-regulated in rejection-free kidney transplant recipients. *24th International Congress of The Transplantation Society*. Berlín, DE, 15. 07. 2012 - 19. 07. 2012. Zorg. Transplantation Society. *Transplantation*. 2012, **94**(10, Supplement S), 323, abstr. no. 1184. ISSN 0041-1337. e-ISSN 1534-6080.

Kryštůfková, E., Brabcová, I., Hřibová, P., Wohlfahrt, P., Wohlfahrtová, M., Slatinská, J., Sawitzki, B., Hanz-Dieter Volk, H., Reinke, P., Viklický, O. Tolerance markers in kidney transplantation: prospective study. *4. československý transplantační kongres*. Donovaly, SK. 13. 09. 2012 - 15. 09. 2012. Zorg. Slovenská transplantologická spoločnosť SLS, Česká transplantační společnost. In: *4. československý transplantační kongres : Abstrakty*. B.m.n., 2012, s. 51.

Malušková, J., Hřibová, P., Slatinská, J., Brabcová, I., Viklický, O., Honsová, E. Molecular signatures of chronic rejection of renal allografts. *24th European Congress of Pathology*. Prague, CZ, 08. 09. 2012 - 12. 09. 2012. Zorg. European Society of Pathology. *Virchows archiv*. 2012, **461**(Suppl. 1), S34-S35, abstr. no. OFP-12-001. ISSN 0945-6317. e-ISSN 1432-2307.

Pagačová, L., Slavčev, A., Kubánek, M., Hošková, L., Dorazilová, Z., Málek, I., Slatinská, J., Viklický, O., Paříková, A., Kryštůfková, E. Imunoadsorpce v transplantační medicíně. *4. československý transplantační kongres*. Donovaly, SK. 13. 09. 2012 - 15. 09. 2012. Zorg. Slovenská transplantologická spoločnosť. In: *4. československý transplantační kongres : Abstrakty*. B.m.n., 2012, s. 6.

Slatinská, J., Honsová, E., Rohál, T., Wohlfahrtová, M., Viklický, O. Je bezpečná konverze takrolimu 2x denně proti preparátu s pozvolným uvolňováním účinné látky, možný podání v jedné denní dávce po transplantaci ledviny. Poster. *34. kongres české*

nefrologické společnosti. Brno, CZ, 14. 06. 2012 - 16. 06. 2012. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2012, **18**(suppl. 1), 33, č. abstr. P17. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Honsová, E., Rohál, T., Wohlfahrtová, M., Viklický, O. How safe is conversion from twice-daily tacrolimus to once-daily prolonged formulation? Single centre experience. *American Transplant Congress*. Boston, US, 02. 06. 2012 - 06. 06. 2012. *American Journal of Transplantation*. 2012, **12**(suppl. 3), 326-327. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Slatinská, J., Hanzal, V., Honsová, E., Slimáčková, E., Viklický, O. Nové možnosti léčby akutní protilátkami zprostředkované rejekce. 4. *československý transplantační kongres*. Donovaly, SK. 13. 09. 2012 - 15. 09. 2012. Zorg. Slovenská transplantologická spoločnosť SLS, Česká transplantační společnost. In: *4. československý transplantační kongres : Abstrakty*. B.m.n., 2012, s. 7.

Slatinská, J., Honsová, E., Rohál, T., Wohlfahrtová, M., Viklický, O. How safe is conversion from twice-daily tacrolimus to once-daily prolonged formulation? Single centre experience. *24th International Congress of the Transplantation Society*. Berlin, DE, 15. 07. 2012 - 19. 07. 2012. Zorg. Transplantation Society. *Transplantation*. 2012, **94**(10, Supplement S), 996, abstr. no. 1781. ISSN 0041-1337. e-ISSN 1534-6080.

Slavčev, A., Slimáčková, E., Ziková, K., Slatinská, J., Stříž, I., Viklický, O. Donor-specifické interferon-gama produkující buňky a predikace rejekce transplantované ledviny. 4. *československý transplantační kongres*. Donovaly, SK. 13. 09. 2012 - 15. 09. 2012. Zorg. Slovenská transplantologická spoločnosť SLS, Česká transplantační společnost. In: *4. československý transplantační kongres : Abstrakty*. B.m.n., 2012, s. 54.

Stříž, I., Sekerová, A., Kryštůfková, E., Brabcová, E., Slatinská, J., Viklický, O. CD14+CD16+and CD14+CD163 monocytes in kidney allograft transplantation. *24th International Congress of the Transplantation Society*. Berlin, DE, 15. 07. 2012 - 19. 07. 2012. Zorg. Transplantation Society. *Transplantation*. 2012, **94**(10, Supplement S), 1162, abstr. no. 573. ISSN 0041-1337. e-ISSN 1534-6080.

Zachoval, R., Jarabák, J., Slatinská, J., Bürgelová, M., Sobotka, V., Vránová, J. Parametry spermiogeneze a jejich vývoj u hemodialyzovaných pacientů do 49 let zařazených na čekací listinu k transplantaci ledviny. 4. *československý transplantační kongres*. Donovaly, SK. 13. 09. 2012 - 15. 09. 2012. Zorg. Slovenská transplantologická spoločnosť SLS, Česká transplantační společnost. In: *4. československý transplantační kongres : Abstrakty*. B.m.n., 2012, s. 21.

Zachoval, R., Jarabák, J., Slatinská, J., Bürgelová, M., Sobotka, V., Vránová, J. Parametry spermiogeneze a jejich vývoj u hemodialyzovaných pacientů do 49 let zařazených na čekací listinu k transplantaci ledviny. 58. *výroční konference České urologické společnosti*. Ostrava, CZ, 31. 10. 2012 - 02. 11. 2012. Zorg. Česká lékařská společnost JEP. *Česká urologie*. 2012, **16**(Suppl. 1), 79. ISSN 1211-8729. e-ISSN 2336-5692.

Hřibová, P., Slatinská, J., Brabcová, I., Honsová, E., Viklický, O. Molecular homogeneity of chronic kidney allograft rejection. *American Transplant Congress*. Philadelphia, US, 30. 04. 2011 - 04. 05. 2011. Zorg. American Society of Transplantation and the American

Society of Transplant Surgeons. *American Journal of Transplantation*. 2011, **11**(suppl. 2), 400, abstr. no. 1270. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Hřibová, P., Brabcová, I., Slatinská, J., Viklický, O. Similar gene transcript patterns in chronic rejections of kidney allograft. *25th Conference on European Immunogenetics and Histocompatibility*. Prague, CZ, 04. 05. 2011 - 07. 05. 2011. Zorg. European Federation for Immunogenetics. *Tissue antigens*. 2011, **77**(5), 449, abstr. no. P136. ISSN 0001-2815. e-ISSN 1399-0039.

Pavlová, Y., Viklický, O., Slatinská, J., Bürgelová, M., SÜSAL, C., Stříž, I., Slavčev, A. Soluble CD30 and hepatocyte growth factor as predictive markers of antibody-mediated rejection of the kidney allograft. *15th Congress of the European Society for Organ Transplantation & 22nd Annual Conference of the British Society for Histocompatibility & Immunogenetics*. Glasgow, GB, 04. 09. 2011 - 07. 09. 2011. *Transplant International*. 2011, **24**(suppl. s2), 261, abstr. no. P-128. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slatinská, J., Malušková, J., Bürgelová, M., Viklický, O. Rekurencia Wegenerovej granulomatózy 7 rokov po transplantácii "en-block" obličiek. *34. kongres Slovenskej nefrologickej spoločnosti s medzinárodnou účasťou*. Horný Smokovec, SK, 19. 10. 2011 - 21. 10. 2011. Zorg. Slovenská lekárska spoločnosť. *Aktuality v nefrologii*. 2011, **17**(4), 162, č. abstr. O-31. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Slimáčková, E., Viklický, O. Does chronic active antibody-mediated rejection have better prognosis than chronic T-cell mediated rejection? Poster. *15th Congress of the European Society for Organ Transplantation & 22nd Annual Conference of the British Society for Histocompatibility & Immunogenetics*. Glasgow, UK, 04. 09. 2011 - 07. 09. 2011. Zorg. British Society for Histocompatibility & Immunogenetics. *Transplant International*. 2011, **24**(Supplement 2), 302, abstr. no. P-300. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Slimáčková, E., Viklický, O. Does chronic active antibody - mediated rejection have better prognosis than chronic T-cell mediated rejection?. *XLVIIIth ERA-EDTA Congress*. Prague, CZ. 23. 06. 2011 - 26. 06. 2011. Zorg. European Renal Association. In: *XLVIIIth ERA-EDTA Congress. Abstracts. [CD-ROM]*. Oxford: European Renal Association, 2011, s. nestr., č. abstr. Sa527.

Slimáčková, E., Viklický, O., Pavlová, Y., Slatinská, J., Bürgelová, M., Honsová, E., Lodererová, A., Kolesár, L., Slavčev, A. Clinical relevance of antibodies as defined by the X-map technology and antibody-mediated rejection of the kidney allograft. *25th Conference on European Immunogenetics and Histocompatibility*. Prague, CZ, 04. 05. 2011 - 07. 05. 2011. Zorg. European Federation for Immunogenetics. *Tissue antigens*. 2011, **77**(5), 463, abstr. no. P170. ISSN 0001-2815. e-ISSN 1399-0039.

Slimáčková, E., Viklický, O., Pavlová, Y., Slatinská, J., Bürgelová, M., Honsová, E., Lodererová, A., Slavčev, A. Antibodies as defined by the x-Map technology, antibody-mediated rejection and survival of the kidney allograft. *37th Annual Meeting of the American Society for Histocompatibility and Immunogenetics*. New Orleans, US, 17. 10.

2011 - 21. 10. 2011. *Human Immunology*. 2011, **72**(suppl. 1), S63. ISSN 0198-8859. e-ISSN 1879-1166.

Brůžková, I., Viklický, O., Slatinská, J., Pokorná, E. Transplantace ledvin od žijících dárců a kontraindikace potenciálních dárců ledvin v IKEM za rok 2009. *III. česko-slovenský transplantační kongres*. Špindlerův Mlýn, CZ. 16. 09. 2010 - 18. 09. 2010. Zorg. Česká a Slovenská transplantační společnost. In: *III. česko-slovenský transplantační kongres*. B.m.: Česká transplantační společnost, 2010, s. 82, č. abstr. SO-9.

Bürgelová, M., Slatinská, J., Brůžková, I., Viklický, O. Hypertension in Living Kidney Donors Is Frequent, Well Corrected and Without Markers of Damage of the Solitary Kidney After 5 Years. *33rd Congress of the Czech Society of Nephrology*. Prague, CZ, 10. 06. 2010 - 12.06.2010. Zorg. Czech Society of Nephrology. *Kidney and Blood Pressure Research*. 2010, **33**(4), 328-328, abstr. no. 32. ISSN 1420-4096.

Bürgelová, M., Urbanová, M., Slatinská, J., Wohlfahrt, P., Malý, J., Viklický, O. Převod imunosupresivní léčby z preparátu prograf na advagraf u pacientů po transplantaci ledviny v jednom transplantačním centru. Poster. *III. česko-slovenský transplantační kongres*. Špindlerův Mlýn, CZ. 16. 09. 2010 - 18. 09. 2010. Zorg. Česká a slovenská transplantační společnost. In: *III. česko-slovenský transplantační kongres*. B.m.: Česká transplantační společnost, 2010, s. 55, č. abstr. P-6.

Bürgelová, M., Slatinská, J., Brůžková, I., Viklický, O. Hypertenze u žijících dárců ledvin je po 5 letech častá, dobře korigovaná a bez známek poškození solitární ledviny. *Medzinárodné nefrologické sympóziium*. Banská Bystrica, SK, 20. 10. 2010 - 22. 10. 2010. Zorg. Slovenská lekárska spoločnosť. *Aktuality v nefrologii*. 2010, **16**(4), 138, č. abstr. O-18. ISSN 1210-955X.

Bürgelová, M., Slatinská, J., Brůžková, I., Viklický, O. Hypertenze u žijících dárců ledvin je po 5ti letech častá, dobře korigovaná a bez známek poškození solitární ledviny. *33. kongres České nefrologické společnosti s mezinárodní účastí*. Praha, CZ, 10. 06. 2010 - 12. 06. 2010. *Aktuality v nefrologii*. 2010, **16**(suppl. 1), 51, č. abstr. O-32. ISSN 1210-955X.

Hřibová, P., Brabcová, I., Slatinská, J., Honsová, E., Zachoval, R., Viklický, O. Imunologie, genetika, transplantace pankreatu a ostrůvků. *III. česko-slovenský transplantační kongres*. Špindlerův Mlýn, CZ. 16. 09. 2010 - 18. 09. 2010. Zorg. Česká a slovenská transplantační společnost. In: *III. česko-slovenský transplantační kongres*. B.m.: Česká transplantační společnost, 2010, s. 28, č. abstr. O-1.

Kryštůfková, E., Sekerová, A., Stříž, I., Brabcová, I., Slatinská, J., Viklický, O. Regulační T lymfocyty u nemocných s indukční imunosupresí. *III. česko-slovenský transplantační kongres*. Špindlerův Mlýn, CZ. 16. 09. 2010 - 18. 09. 2010. Zorg. Česká a slovenská transplantační společnost. In: *III. česko-slovenský transplantační kongres*. B.m.: Česká transplantační společnost, 2010, s. 28, č. abstr. O-2.

Mrázová, P., Brabcová, I., Slatinská, J., Honsová, E., Zachoval, R., Viklický, O. Genetická heterogenita chronické rejekce transplantované ledviny. *III. česko-slovenský transplantační kongres*. Špindlerův Mlýn, CZ. 16. 09. 2010 - 18. 09. 2010. Zorg. Česká

transplantační společnost. In: *III. česko-slovenský transplantační kongres : program, abstrakta*. Praha: Česká transplantační společnost, 2010, s. 28.

Pavlová, Y., Slavčev, A., Bürgelová, M., SUSAL, C., Slatinská, J., Opelz, G., Skibová, J., Sajdlová, H., Kolesár, L., Viklický, O. Prediction of acute kidney allograft rejection by analysis of HLA antibodies, soluble CD30 and hepatocyte growth factor. Poster. *24th European Immunogenetics and Histocompatibility Conference and 17th Italian Society for Immunogenetics and Transplantation Biology Meeting. Abstracts*. Florence, IT, 15. 05. 2010 - 18. 05. 2010. *Tissue antigens*. 2010, **75**(5), 596-597, č. abstr. P256. ISSN 0001-2815. e-ISSN 1399-0039.

Pavlová, Y., Slavčev, A., Bürgelová, M., SUSAL, C., Slatinská, J., Opelz, G., Skibová, J., Sajdlová, H., Stríž, I., Kolesár, L., Viklický, O. HLA protilátky, solubilní CD30 a hepatocytární růstový faktor v diagnostice rejekce ledviny. *III. česko-slovenský transplantační kongres*. Špindlerův Mlýn, CZ. 16. 09. 2010 - 18. 09. 2010. *Zorg*. Česká a slovenská transplantační společnost. In: *III. česko-slovenský transplantační kongres*. B.m.: Česká transplantační společnost, 2010, s. 29, č. abstr. O-3.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Pavlová, Y., Viklický, O. Rituximab v liečbe akútnej protilátkami sprostredkovanej rejekci. *Medzinárodné nefrologické sympóziium*. Banská Bystrica, SK, 20. 10. 2010 - 22. 10. 2010. *Zorg*. Slovenská lekárska spoločnosť. *Aktuality v nefrologii*. 2010, **16**(4), 138-139, č. abstr. O-19. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Pavlová, Y., Wohlfahrt, P., Viklický, O. Rituximab in the Treatment of Acute Antibody Mediated Rejection. *33rd Congress of the Czech Society of Nephrology*. Prague, CZ, 10. 06. 2010 - 12. 06. 2010. *Zorg*. Czech Society of Nephrology. *Kidney and Blood Pressure Research*. 2010, **33**(4), 325-325, abstr. no. 26. ISSN 1420-4096.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Pavlová, Y., Wohlfahrt, P., Viklický, O. Rituximab v léčbě akutní protilátkami zprostředkované rejekce. *33. kongres České nefrologické společnosti s mezinárodní účastí*. Praha, CZ, 10. 06. 2010 - 12. 06. 2010. *Aktuality v nefrologii*. 2010, **16**(suppl. 1), 48, č. abstr. O-26. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Pavlová, Y., Viklický, O. Chronická rejekce po transplantaci ledviny. Poster. *III. česko-slovenský transplantační kongres*. Špindlerův Mlýn, CZ. 16. 09. 2010 - 18. 09. 2010. *Zorg*. Česká a slovenská transplantační společnost. In: *III. česko-slovenský transplantační kongres*. B.m.: Česká transplantační společnost, 2010, s. 64, č. abstr. P-27.

Viklický, O., Slatinská, J., Janoušek, L., Volk, H-D., Sawitzki, B., Miqueu, P., Janoušek, L., Reinke, P. Indukční imunosuprese s campath 1H a infliximabem s následnou monoterapií takrolimem nebo sirolimem: 12-měsíční výsledky. *III. česko-slovenský transplantační kongres*. Špindlerův Mlýn, CZ. 16. 09. 2010 - 18. 09. 2010. *Zorg*. Česká a slovenská transplantační společnost. In: *III. česko-slovenský transplantační kongres*. B.m.: Česká transplantační společnost, 2010, s. 50, č. abstr. O-53.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Slavčev, A., Viklický, O. Late antibody - mediated rejection; single centre experience. Poster. *14th Congress of the European Society for*

Organ Transplantation and the European Liver and Intestine Transplant Association. Paris, FR, 30. 08. 2009 - 02. 09. 2009. Zorg. European Society for Organ Transplantation. *Transplant International.* 2009, **22**275-275. ISSN 0934-0874.

Bürgelová, M., Slatinská, J., Vychodilová, T., Viklický, O. Poruchy cirkadiálního rytmu krevního tlaku závisí na použité imunopresi. Poster. *2. československý transplantáčný kongres.* Starý Smokovec, SK, 10. 09. 2008 - 12. 09. 2008. Zorg. Slovenská transplantáčná spoločnosť. *Orgánové transplantácie.* 2008, **4**(1), 22, č. abstr. P.8. ISSN 1336-7129.

Bürgelová, M., Slatinská, J., Vychodilová, T., Viklický, O. Těhotenství po transplantaci ledviny: dva etické přístupy. *32. kongres České nefrologické společnosti s mezinárodní účastí.* Olomouc, CZ, 19. 06. 2008 - 21. 06. 2008. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii.* 2008, **14**(2), 90. ISSN 1210-955X.

Slatinská, J., Voska, L., Bürgelová, M., Slavčev, A., Viklický, O. Chronická humorální rejekce, zkušenosti našeho centra. Poster. *2. československý transplantáčný kongres.* Starý Smokovec, SK, 10. 09. 2008 - 12. 09. 2008. Zorg. Slovenská transplantáčná spoločnosť. *Orgánové transplantácie.* 2008, **4**(1), 21, č. abstr. P.4. ISSN 1336-7129.

Viklický, O., Hřibová, P., Slatinská, J., Honsová, E., Bartošová, K., Volk, HD. Profily intrarenální exprese genů pro markery zánětu a tkáňového poškození v průběhu časné protilátkami zprostředkované rejekce transplantované ledviny a jejich prognostický význam. *2. československý transplantáčný kongres.* Starý Smokovec, SK, 10. 09. 2008 - 12. 09. 2008. Zorg. Slovenská transplantáčná spoločnosť. *Orgánové transplantácie.* 2008, **4**(1), 2, č. abstr. L.6. ISSN 1336-7129.

Viklický, O., Bürgelová, M., Slatinská, J., Hanzal, V., Urbanová, M., Bloudičková, S., Štěpánková, J., Vychodilová, T. První zkušenosti s advagrafem po transplantaci ledviny. Poster. *2. československý transplantáčný kongres.* Starý Smokovec, SK, 10. 09. 2008 - 12. 09. 2008. Zorg. Slovenská transplantáčná spoločnosť. *Orgánové transplantácie.* 2008, **4**(1), 21, č. abstr. P.5. ISSN 1336-7129.

Hřibová, P., Slatinská, J., Bartošová, K., Hyklová, K., Brabcová, I., Vítko, Š., Viklický, O. Higher intrarenal TGF-beta1 gene expression predicts better outcome of early acute humoral rejection of kidney allografts. *American Transplant Congress.* San Francisco, US, 05. 05. 2007 - 09. 05. 2007. Zorg. American Society of Transplantation. *American Journal of Transplantation.* 2007, **7**(suppl. 2), 210, č. abstr. 242. ISSN 1600-6135. e-ISSN 1600-6143.

Viklický, O., Hřibová, P., Slatinská, J., Lyerová, L., Volk, HD., Vítko, Š. Early acute humoral rejection of renal allografts: a protective role of enhanced intrarenal TGF-beta 1 gene expression phenotype. Poster. *13th Congress of the European Society for Organ Transplantation. 15th Congress of the European Transplant Coordinators Organization.* Prague, CZ, 29. 09. 2007 - 03. 10. 2007. Zorg. Congress of the European Society for Organ Transpl. *Transplant International.* 2007, **20**(suppl. 2), 199, č. abstr. P435. ISSN 0934-0874. e-ISSN 1432-2277.

Hřibová, P., Bartošová, K., Slatinská, J., Hyklová, K., Brabcová, I., Volk, H., Viklický, O. Vyšší intrarenální exprese TGF-beta 1 při časné akutní humorální rejekci ledvinného

štěpu. *31. kongres České nefrologické společnosti*. Hradec Králové, CZ, 22. 06. 2006 - 24. 06. 2006. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2006, **12**(suppl. 1), 26, č. abstr. O-32. ISSN 1210-955X.

Hřibová, P., Bartošová, K., Slatinská, J., Hyklová, K., Brabcová, I., Volk, H., Viklický, O. Higher intrarenal expression of TGF-beta 1 in early acute humoral rejection of kidney graft. *31st Congress of the Czech Society of Nephrology*. Hradec Králové, CZ, 22. 06. 2006 - 24. 06. 2006. Zorg. Czech Society of Nephrology. *Kidney and Blood Pressure Research*. 2006, **29**(6), 381, abstr. no. O20. ISSN 1420-4096.

Slatinská, J., Lyerová, L., Vítko, Š., Viklický, O. Plazmaferéza versus plazmaferéza a intravenózní imunoglobuliny v léčbě akutní humorální rejekce transplantované ledviny. *1. československý transplantční kongres*. Brno, CZ. 16. 11. 2006 - 18. 11. 2006. In: *1. československý transplantční kongres. Sborník abstrakt s programem*. B.m.: b.n., 2006, s. nestr., č. abstr. U43. ISBN 80-239-8022-X.

Slatinská, J., Lyerová, L., Honsová, E., Bartošová, K., Teplan, V., Vítko, Š., Viklický, O. Plasmapheresis versus plasmapheresis and in immunoglobulin in the treatment of acute humoral rejection of renal allografts: a single centre experience. *43rd Congress ERA-EDTA*. Glasgow, GB, 15. 07. 2006 - 18. 07. 2006. Zorg. European Society of Nephrology. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2006, **21**(suppl. 4), 550. ISSN 0931-0509.

Slatinská, J., Honsová, E., Lyerová, L., Teplan, V., Vítko, Š., Viklický, O. Léčba akutní humorální rejekce u nemocných po transplantaci ledviny. Poster. *31. kongres České nefrologické společnosti*. Hradec Králové, CZ, 22. 06. 2006 - 24. 06. 2006. Zorg. Česká nefrologická společnost. *Aktuality v nefrologii*. 2006, **12**(suppl. 1), 43-44, č. abstr. P-52. ISSN 1210-955X.

Viklický, O., Lyerová, L., Bartošová, K., Slatinská, J., Vavřinová, H., Levora, J., Teplan, V., Vítko, Š. Indukce polyklonální protilátkou ATG-fresenius (ATG-F) u příjemců transplantované ledviny ve vysokém imunologickém riziku. *1. československý transplantční kongres*. Brno, CZ. 16. 11. 2006 - 18. 11. 2006. In: *1. československý transplantční kongres. Sborník abstrakt s programem*. B.m.: b.n., 2006, s. nestr., č. abstr. U44. ISBN 80-239-8022-X.

PŘEDNÁŠKY A POSTERY

Slatinská, J. Dlouhodobá potransplantační imunosuprese. *Colours of sepsis*. Ostrava, CZ. 27. 01. 2020 - 31. 01. 2020. Zorg. Czech and Slovak Forum for Sepsis.

Slatinská, J. Transplantace ledviny od „starých dárců“. *5. konference Dárce orgánů a Klinický update*. Praha, CZ. 14. 11. 2019 - 14. 11. 2019. Zorg. Společnost pro orgánové transplantace ČLS JEP.

Slatinská, J. HLA inkompatibilní transplantace. *2. postgraduální symposium Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP*. Kroměříž, CZ. 23. 05. 2019 - 24. 05. 2019. Zorg. ČLS JEP.

Slatinská, J. Načasování preemptivní transplantace ledviny. *Brodovy dny 2019 : 8. edukační symposium České nefrologické společnosti*. Olomouc, CZ. 04. 04. 2019 - 05. 04. 2019. Zorg. Česká nefrologická společnost.

Slatinská, J. Pacient s diabetem a potřebou RRT – koho a jak léčit transplantací. *1. edukační sympóziium ČTS Cesta do čekací listiny k transplantaci*. Plzeň, CZ. 07. 10. 2019 - 08. 10. 2019. Zorg. Česká transplantační společnost.

Budská, V., Slavčev, A., Říčková, K., Valhová, Š., Niemann, Slatinská, J., Viklický, O. Analýza epitopů HLA antigenů pro transplantaci ledviny za využití programu PIRCHE - zkušenosti transplantčního centra IKEM. Poster. *II. kongres Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP*. Špindlerův Mlýn, CZ. 04. 04. 2018 - 07. 04. 2018. Zorg. Česká lékařská společnost JEP.

Černoch, M., Kollár, M., Hrubá, P., Lodererová, A., Slatinská, J., Honsová, E., Viklický, O. Complement regulator CD46 transcripts are associated with progression of chronic antibody mediated rejection and recurrent IgA nephropathy. Poster. *II. kongres Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP*. Špindlerův Mlýn, CZ. 04. 04. 2018 - 07. 04. 2018. Zorg. Česká lékařská společnost JEP.

Hanzal, V., Slatinská, J., Honsová, E., Viklický, O. Alemtuzumab po transplantaci ledviny. *II. kongres Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP*. Špindlerův Mlýn, CZ. 04. 04. 2018 - 07. 04. 2018. Zorg. Česká lékařská společnost JEP.

Hrubá, P., Krejčík, Z., Stránecký, V., Faikah, G., Paříková, A., Slatinská, J., Wohlfahrtová, M., Malušková, J., Honsová, E., Viklický, O. Differential expression of metallothioneins and Slc family genes in accommodation and subclinical antibody mediated rejection. *II. kongres Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP*. Špindlerův Mlýn, CZ. 04. 04. 2018 - 07. 04. 2018. Zorg. Česká lékařská společnost JEP.

Osičková, K., Slatinská, J., Hrubá, P., Viklický, O. Mid-term outcome of donor specific antibody positive deceased donor kidney transplantation with peri-transplant desensitization. *II. kongres Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP*. Špindlerův Mlýn, CZ. 04. 04. 2018 - 07. 04. 2018. Zorg. Česká lékařská společnost JEP.

Pletková, A., Hrubá, P., Mrázová, P., Slatinská, J., Honsová, E., Viklický, O. Association of increased peripheral transitional B cells and plasmablasts with long-term kidney graft survival. *II. kongres Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP*. Špindlerův Mlýn, CZ. 04. 04. 2018 - 07. 04. 2018. Zorg. Česká lékařská společnost JEP.

Slatinská, J., Honsová, E., Kratochvílová, I., Hrubá, P. Do C1q-positive donor specific antibodies have prognostic effect in patients with resistant antibody-mediated rejection treated with bortezomib? Single-centre experience. *II. kongres Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP*. Špindlerův Mlýn, CZ. 04. 04. 2018 - 07. 04. 2018. Zorg. Česká lékařská společnost JEP.

Slatinská, J. Transplantace ledviny u pacienta s vysokým imunologickým rizikem. *II. kongres Společnosti pro orgánové transplantace ČLS JEP*. Špindlerův Mlýn, CZ. 04. 04. 2018 - 07. 04. 2018. Zorg. Česká lékařská společnost JEP.

Slatinská, J. Pacient s vysokým imunologickým rizikem. Umíme zvládnout AMR?. 2. kongres Slovenskej transplantologickej spoločnosti SLS. Bratislava, SK. 18.10. 2018 - 20. 10. 2018. Zorg. Slovenská transplantologická spoločnosť SLS.

Fraňková, S., Slatinská, J. Transplantace srdce a ledviny. SOT 2017. 1. postgraduální symposium. Mikulov, CZ. 08. 06. 2017 - 09. 06. 2017. Zorg. Společnost pro orgánové transplantace ČLS JEP.

Malý, J., Slatinská, J. Transplantace srdce a ledviny. SOT 2017. 1. postgraduální symposium. Mikulov, CZ. 08. 06. 2017 - 09. 06. 2017. Zorg. Společnost pro orgánové transplantace ČLS JEP.

Slatinská, J. Dárcovské specifické protilátky před a po transplantaci ledviny. (The donor-specific antibodies before and after kidney transplantation.). Kongres Slovenskej transplantologickej spoločnosti SLS s medzinárodnou účasťou. Košice, SK. 06. 10. 2016 - 08. 10. 2016.

Slatinská, J. Vyšetření žijícího dárce - co lze akceptovat?. 1. kongres Společnosti pro orgánové transplantace. Špindlerův Mlýn, CZ. 31. 03. 2016 - 02. 04. 2016. Zorg. Společnost pro orgánové transplantace ČLS JEP.

Slatinská, J. Čekací listina na transplantaci ledvin. (Kidney transplant waiting list.). Kongres Slovenskej transplantologickej spoločnosti SLS s medzinárodnou účasťou. Košice, SK. 06. 10. 2016 - 08. 10. 2016.

Malušková, J., Slatinská, J. Koincidence BKV nefropatie s akutní „humorální rejekcí“ - možnosti terapeutického postupu (klinicko-patologická kazuistika). 4. československý transplantační kongres. Donovaly, SK. 13. 09. 2012 - 15. 09. 2012. Zorg. Slovenská transplantologická spoločnosť SLS, Česká transplantační společnost.

Bürgelová, M., Slatinská, J. Hypertenze a život s jednou ledvinou. Transplantace ledvin od žijících dárců. Praha, CZ. 12. 03. 2009.

Mikušová, K., Slatinská, J., Urbanová, M., Hojný, M. Klinicky významné interakce imunosupresiv. VIII. Zjazd Slovenskej farmaceutickej spoločnosti. Bratislava, SK. 03. 09. 2009 - 05. 09. 2009. Zorg. SLS, SLF, SLK, ČFS JEP.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Slavčev, A., Viklický, O. Chronická humorální rejekce transplantované ledviny. Brodův večer. Praha, CZ. 12. 10. 2009. Zorg. Spolek lékařů českých.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Slavčev, A., Viklický, O. Late antibody - mediated rejection; single centre experience. Poster. World Congress of Nephrology. Milan, IT. 22. 05. 2009 - 26. 05. 2009.

Slatinská, J., Honsová, E., Bürgelová, M., Slavčev, A., Viklický, O. Plasmapheresis and intravenous immunoglobulin is the superior treatment of acute humoral rejection of renal allograft (a single center experience). Astellas Development Programme in Transplantation (ADePT). Cannes, FR. 09. 03. 2009 - 10. 03. 2009.

Slatinská, J. Transplantace ledvin od žijícího dárce. *Doškolovací kurz pro anesteziology*. Praha, CZ. 03. 12. 2009. Zorg. IPVZ.

Hřibová, P., Bartošová, K., Slatinská, J., Hyklová, K., Brabcová, I., Volk, HD., Viklický, O. Higher intrarenal TGF-beta1 gene expression in early acute humoral rejection of renal allografts. *World Transplant Congress 2006*. Boston, US. 22. 07. 2006 - 27. 07. 2006.

Viklický, O., Slatinská, J., Bartošová, K., Lyerová, L., Vítko, Š. Plasmapheresis versus plasmapheresis and intravenous immunoglobulins in the treatment of acute humoral rejection of renal allografts: a single centre experience. *World Transplant Congress 2006*. Boston, US. 22. 07. 2006 - 27. 07. 2006.