

# Tek Antijen Boncuk Çalışması ile Donöre Özgü Antikorların Saptanması

## Donor-Specific Antibodies with Single Antigen Beads Assay Determination: Review

Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA,<sup>a</sup>  
Hayriye ŞENTÜRK ÇİFTÇİ,<sup>a</sup>  
Dr. Mehmet GÜRTEKİN<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Tıbbi Biyoloji AD,  
İstanbul Üniversitesi  
İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 20.05.2010  
Kabul Tarihi/Accepted: 20.10.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA  
İstanbul Üniversitesi  
İstanbul Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Biyoloji AD, İstanbul,  
TÜRKİYE/TURKEY  
tulayayna@gmail.com

**ÖZET** Böbrek transplantasyonu için bekleme listesindeki hastaların, insan lökosit antijenleri [human leukocytes antigen (HLA)] antijenleri ile ilişkili antikorlarının bilinmesi, sıklıkla transplantasyon için kabul edilemez olarak ifade edilir. Panel reaktif antikorlar (PRA) olarak ifade edilen bu yaklaşım, hastada HLA'larına özgü antikorların olup olmadığını saptamak için yapılır. Komplemana bağlı sitotoksikite çalışmalarından daha duyarlı ve daha doğru olan solid faz tekniklerinin kullanılması HLA antikorlarının daha iyi tanınması ile sonuçlanır. Tek HLA molekülleri ile kaplanmış [single antigen bead (SAB)] solid faz çalışmaları, hastanın HLA antikor spesifisitelerini, donörün HLA tiplmesi ile sanal olarak karşılaştırarak donöre özgü HLA antikorlarının saptanmasına imkân sağlar. Sanal çaprazlama [cross-match (CM)] yaklaşımı, duyarlılığı olan hastalara uygun böbrek allogrefti paylaşımında başarı ile kullanılmıştır. Birçok organ tedarik eden kuruluş, etkili bir organ paylaşımı için böyle bir strateji uygulamayı uygun bulmaktadır. Çünkü sanal CM yaklaşımının tüm uygulamaları, SAB analizlerine dayanır. Özel bir test olan SAB ile saptanan donöre özgü antikor [donor specific antibody (DSA)]'ların klinik ile ilişkisinin belirlenmesi son derece önemlidir. Bu derleme, ileriye dönük ve geçmişe yönelik çeşitli çalışmalarla, negatif sanal CM'nin, çok düşük erken rejeksiyon riski ve uzun dönem allogreft sağkalımı ile ilişkisini göstermektedir. Aksine, pozitif sanal CM'de, önemli erken rejeksiyon riski ve azalan allogreft sağkalımı ile bağlantılıdır. Bu çalışmalar, nakil öncesi risk değerlendirmesi ve organ paylaşımı için SAB çalışmasının yararlı olduğunu desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Böbrek transplantasyonu; transplantasyon immünolojisi

**ABSTRACT** The corresponding human leukocytes antigens (HLA) of alloantibodies identified in patients awaiting kidney transplantation are often listed as unacceptable for transplantation. Referred to as panel reactive antibody (PRA) analysis, this approach is used, to determine whether a patient possesses antibodies to HLA antigens. The use of solid phase testing, being more sensitive and accurate than conventional complement-dependent cytotoxicity assay, has resulted in increased identification of alloantibodies. Solid phase assays covered with single HLA molecules allow determining the presence of donor-specific HLA antibodies virtually by comparison of the HLA antibody specificities of the recipient with the HLA typing of the donor. The virtual cross-match approach has been successfully used to allocate suitable renal allograft to sensitized patients. Therefore, many organ procurement organizations consider implementing such a strategy for efficient organ allocation. Because both applications of the virtual cross-match approach rely on single antigen bead (SAB) analyses, defining the clinical relevance of HLA-donor specific antibody (DSA) detected by SAB as an individual test is of major importance. In the review, several prospective and retrospective studies indicate that a negative virtual cross-match is associated with a very low risk of early rejection and good long-term allograft survival. By contrast, a positive virtual cross-match is associated with a significant risk for early rejection and decreased allograft survival. These studies support the utility of SAB assay for pretransplant risk assessment and organ allocation.

**Key Words:** Kidney transplantation; transplantation immunology

**K**an transfüzyonları, rejeksiyonlar ve gebelikler sonucu insan lökosit antijenleri [human leukocyte antigen (HLA)]'ne özgü antikorlar gelişmektedir.<sup>1</sup> Bu olaylar sonucunda gelişen anti-HLA antikorlarına genel olarak Panel Reaktif Antikor (PRA) denir. %85 veya daha yüksek oranda PRA'ya sahip kişiler hipersensitize yüksek oranda hassas (HS) olarak ifade edilir. Yüksek PRA düzeyi böbrek nakli için önemli bir engeldir.<sup>2</sup> Kronik böbrek yetmezliği olan bir hastanın, immünolojik açıdan, nakil olabilmeye ihtimali "transplantability index" terimi ile ifade edilmektedir. Bu terim kısaca, %80 PRA pozitifliği olan bir hastanın beş donörü ile yapılacak çaprazlama [cross-match (CM)] test sonuçlarından dördünün pozitif olma olasılığını bildirmektedir.<sup>3</sup> Son dönemlerde bu olasılık sanal CM olarak ifade edilmektedir. Başka bir deyişle, PRA pozitifliğinin donöre özgü antikor [donor specific antibody (DSA)] görülme şansını tahmin etmektir. Bu bir öngörüdür.<sup>4</sup> Bekleme listesindeki hastaların nakil olma şansı PRA'nın oranları ile yakından ilişkilidir. "United Network for Organ Sharing (UNOS)" bekleme listesindeki hastaların yaklaşık 1/3'ü HLA'larına karşı duyarlıdır. Bu listedeki hastaların PRA sonuçları ve bekleme listesindeki bulunma süreleri araştırıldığında, PRA sonucu, < %30 olan hastalar ortalama 493 gün sonra böbrek nakli olurken, PRA %30 olan hasta grubunun ise ortalama 1.047 gün nakil olmak için bekleme süreleri gerekmektedir. UNOS verilerine göre duyarlı olan hastaların kadavra donörlerden böbrek nakli olabilmeye şansı %14'tür.<sup>3</sup> Böbrek nakillerinin %15'lik bir kısmı akraba olmayan kadavra donörlerden tam uyumlu olan hastalara yapılmaktadır. Ancak bu da her hastanın eşit şansı var anlamına gelmemektedir. Sık rastlanan HLA haplotiplerine sahip bir hasta bu şansı yakalayabilirken, nadir görülen HLA haplotiplerine sahip olan bir böbrek hastasının elbette tam uyumlu bir kadavra donörden böbrek alma şansı da az olmaktadır. Birçok merkezde yüksek duyarlılığı olan hastaların böbrek nakli olma şansını artırmak için iki alternatif yol uygulanmaktadır. Bunlardan birincisi ABO kan grubu uyumlu olan tüm donörlerle CM testi yapmak, ikincisi ise sadece HLA'ları iyi karşılaştırılmış donörlerle CM testi yapmaktır. ABO kan uyumu olan tüm donörlerle CM testi yap-

mak gereksiz bir maliyet ve iş gücü kaybına sebep olmaktadır. HLA'ları kapsamlı olarak karşılaştırılmış bir donör bulma şansı azdır. Standart kadavra çalışma protokollerinde (ülkemizde de bu aynı şekilde uygulanmaktadır) HLA-A, HLA-B ve HLA-DR çalışılmaktadır. HLA-DQ, DP ve Cw çalışılmamakta, bu sebeple de tam uyumlu donör bulma şansı azalmaktadır.<sup>1</sup> Son dönemde bu hastaların nakil şansını artırmak amacıyla birtakım çalışmalar yapılmaktadır. Bunlar, hastanın kabul edebileceği (acceptable mismatch) veya hastanın kabul edemeyeceği (unacceptable mismatch) HLA antijenlerini saptamaya yönelik çalışmalar ile HLA "matchmaker" programlarıdır. Hastanın kabul edebileceği HLA antijenlerini saptamak için kullanılacak en iyi yöntem, tek HLA antijeni ile kaplı boncuklar [single antigen bead (SAB)] ile hasta serumlarının test edilmesidir.<sup>5</sup> SAB tekniği kullanarak sanal CM sonucunun tahmin edildiği çalışmalar ile nakil öncesi yaygın olarak kullanılan iki önemli CM yönteminin sonuçları karşılaştırıldığında, sanal CM ve komplemana bağlı sitotoksik CM [complement dependent cytotoxic (CM-CDCCM)] arasındaki verimlilik %75-77 civarında iken, akım sitometri ile CM [flow cytometric cross match (FCCM)] arasındaki verimlilik %85-95 arasındadır.<sup>1,6</sup> HLA antikorlarını saptayan testler son derece önemli bir öngörüye sahip olduklarından, seçilen testlerin birtakım kriterlere de sahip olması gerekmektedir. Bunlar;

1- HLA antikorlarını en iyi düzeyde saptayan teknik kullanılmalıdır. Çünkü DSA'ların belirlenmesi sayesinde, yüksek duyarlılığı olan hastalar da, nakil olma şansı bulabilecektir.

2- HLA antikorlarını saptamak amacıyla kullanılan testler standardize edilmelidir. Bu sayede, laboratuvarlar arasındaki farklı değerlendirilen sonuçlar azalacaktır.

3- Belirlenen HLA antikorları ile CM sonuçlarının ilişkisi, gelecek yıllarda CM yapmaksızın sanal CM sonuçları ile nakil yapılmasına izin verilecektir.

HLA antikorlarının detaylı saptanması ile klinik uyumun yakalanması yine sanal CM'yi destekleyecektir. DSA'ların belirlenmesinde öncelikli test olarak antikor tarama testleri kullanılacaktır.

HLA antikorları ve CM sonuçları ile ilgili dört temel senaryo mevcuttur. Bunlardan birincisi, PRA'nın ve CM'nin negatif olduğu durumdur. Bu beklenen ve olması muhtemel bir sonuçtur. İkincisi PRA sonucunun (-), CM sonucunun (+) olduğu senaryodur. Burada uygulanan PRA testi kapsamlı ve tam bir test ise CM sonucu oluşan pozitiflik non-HLA antikorlarından dolayı olabilir. Üçüncü senaryo PRA sonucunun (+), CM sonucunun negatif olmasıdır. Bu durum sanal CM'nin önemini ortaya çıkardığı bir senaryodur ki, sanal CM'yi en iyi tahmin edebilecek çalışma da SAB çalışmasıdır. Bu senaryoda SAB ön plana çıkar. Bu sonuçların klinik ile korelasyonu son derece önemlidir. Dördüncü senaryo ise PRA sonucu (+), CM sonucunun (+) olmasıdır.<sup>7,8</sup> Sanal CM'nin amacı, özellikle yüksek duyarlılığı olan hastalarda, DSA'ların belirlenmesi ve bu sonuçlar esas alınarak CM testi yapılmaksızın nakil yapılmasıdır. Ancak bugünkü şartlarda bu mümkün görülmemektedir. SAB üretimi esnasında, denatürasyon sonucu HLA antijenlerinin yeni epitoplara ortaya çıkmaktadır. İn vivo hücre yüzeyinde bulunmayan bu yeni epitoplara yabancı pozitifliklere sebep olabilmektedir. Bu sebeple bazı çalışmalarda, SAB tekniği ile belirlenen HLA antikorlarının hücresel tekniklerle de doğrulanması önerilmektedir.<sup>9</sup>

Klasik CDC tekniği dışında son dönemlerde kullanılan solid faz teknikleri HLA antikorlarının belirlenmesinde önemli tekniklerdir. Bunlardan akım sitometrisi ve süspansiyon çalışmaları (luminex), çalışma sistemi olarak birbirine benzeyen tekniklerdir. Her ikisinde de HLA antijenleri ile kaplanmış boncuklar HLA antikorlarının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Akım sitometrisi çalışmalarında ikincil antikor FITC ile işaretli iken, luminex çalışmalarında ikincil antikor PE boyası ile işaretlenmiştir. Luminex çalışmasında çoğunlukla ortalama floresans hassasiyeti [mean fluorescence incidence (MFI)] kullanılırken, akım sitometrisi çalışmalarında % pozitiflik, ortalama kanal kayması (mean channel shift) değerleri sonuçların değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. ELISA yönteminde ise HLA antijenleri ile kaplanmış plaklarda hasta serumları alkalın fosfat ile konjuge edilmiş IgG antikorunun eklenmesiyle değerlendirilmektedir.

Solid faz teknikleri ile üç farklı antijen sistemi kullanılarak test yapılmaktadır. Havuzlanmış antijenler kullanılarak yapılan testler hızlı ve pahalı olmayan testlerdir. Ancak bu testlerin hassasiyeti düşüktür ve bazı antikorlar saptanamayabilir. Fenotip panelleri şeklindeki test sistemi, HLA antikorlarının büyük bölümünü, başarı ile belirleyebilir. Ancak yüksek duyarlılığı olan hastalarda sonuçları değerlendirmek bu sistem ile güçtür. Akım sitometrisinde Flow-PRA spesifik kitleri ile HLA spesifisiteleri belirlenmektedir. SAB, PRA çalışmasında, sadece Sınıf I antikorlarını saptamak için (32 veya 44) farklı boncuk popülasyonu değerlendirilmektedir. Dört gruba bölünmüş olan boncuk popülasyonları farklı yoğunluklarda phycoerythrin (PE) ile boyanmıştır. Her bir Sınıf I boncuk popülasyonu 2A, 2B ve Cw antijenlerini içermektedir. Sınıf II boncukları ise 2DR, DQ ve DP antijenlerini (toplam 32 boncuk popülasyonu) içermektedir. Negatif kontrol boncukları ile karşılaştırılan ortalama kanal kaymaları skorlanarak, "software" programına yüklenmekte ve otomatik olarak hastanın sahip olduğu HLA antikorları belirlenmektedir. SAB'ların üretim tekniği çok önemlidir. Aksi takdirde, sonuçlar verimli olmayacaktır. Akım sitometrisi ile yapılan SAB çalışmaları sistem olarak spesifik teste benzer özelliktedir. Önemli bir farklılık, her bir boncuk popülasyonunun sadece tek bir HLA antijeni ile kaplanmış olmasıdır.<sup>10</sup> Sonuçların değerlendirilmesi için bir "software" programına ihtiyaç yoktur. Bu sebeple bilgisayar programından kaynaklanabilecek yanlış sonuçlar da ortadan kalkmaktadır.<sup>9</sup> Luminex ve akım sitometrisi ile yapılan SAB çalışmalarındaki HLA antijenleri toplumda en sık rastlanan HLA allelleri kapsamaktadır. Her iki yöntemde çalışılan antijen paneli birbirine son derece benzerdir.<sup>11,12</sup> Genellikle spesifik HLA antikorlarının araştırılması ile SAB araştırma sonuçları uyumlu olmakla birlikte, SAB çalışması spesifik PRA testleri ile saptanamayan antijenleri tespit etmek veya hatalı saptanan antikorları belirleyerek DSA'ların saptanmasında kullanılır.<sup>9</sup> SAB'lere HLA Sınıf I antikorlarının bağlanma profilleri ile ilgili yapılan bir çalışmada, serumların %78'inin 1/50 dilüsyon yapıldığında MFI değerlerinde düşüşler belirlen-

miştir. Serumların %9'unda 1/50 dilüsyon yapıldığında, MFI değerlerinde küçük artışlar, %13'lük bir kısmında ise, MFI değerlerinde belirgin artışlar saptanmış ve dilüsyonun IgG antikorlarının belirlenmesindeki prozon etkisini ortadan kaldıracığı ifade edilmiştir. Yine aynı çalışma grubu HLA antijenlerine özgü oluşan IgM antikorlarının da prozon etkisini araştırmak amacıyla, IgM antikorlarına sahip olan ve DSA olan böbrek hastalarına donörlerinden kan transfüzyonu yaparak, transfüzyon öncesi ve transfüzyon sonrası hasta serumlarını SAB'ler ile test etmişlerdir. Sonuçta prozon etkisinin ya serumun dilüe edilmesi ya da IgM'lerin inaktive edilmesi ile ortadan kaldırılacağı görülmüştür.<sup>12</sup> SAB teknolojisinin nakildeki önemi ve DSA'ları saptama özelliği retrospektif çalışmalar ile araştırılmaktadır. Amico ve ark.nın yaptığı bir çalışmada böbrek hastalarının nakil gününde alınan serumlarda SAB çalışması ile DSA'lar araştırılmıştır. Nakil grubuna nakil öncesi T ve B CDCCM uygulanmıştır. Özellikle antitimosit globulin (ATG) kullanan hastalar, ATG'nin antikor salınımını etkileyebileceği düşüncesi ile çalışmaya alınmamıştır. Toplam 334 hasta çalışmaya dâhil edilmiştir. Presensitizasyonu olan 163 hastadan 67'sinde DSA tespit edilmiştir. Nakil sonrası 200 gündeki akut mediated rejeksiyon (AMR) olasılığı DSA (+) olan grupta %55 iken, DSA (-) olan grupta %5 olarak tespit edilmiştir. Greft sağkalımının, DSA (+), AMR (+) olan grupta, DSA (+), AMR (-) olan gruptan daha düşük olduğu görülmüştür. Hasta sağkalımı açısından ise bir farklılık saptanmamıştır.<sup>5</sup> Bray ve ark. ise yüksek duyarlılığı olan hastaların PRA değerlendirmesini SAB tekniği ile çalışmışlardır. Bu çalışmada nakil öncesi CM testleri akım sitometrisi ile yapılmıştır. CM testleri hem hastanın nakil öncesi serumu ile hem de son bir yıla ait iki serumu ile test edilmiştir. Ancak tüm CM sonuçları (-) olduğunda nakil yapılmıştır. Hastalar PRA oranlarına göre, farklı gruplara ayrıldığı halde nakil sonrası 70 ayda greft sağkalımı açısından farklılık görülmemiştir. Ancak genel düşünce nakil sonrası oluşan antikorların sonunda rejeksiyona sebep olacağı yönündedir.<sup>3</sup> Nakil sonrası oluşan antikorların tipi de greft yetmezliği açısından son derece önemlidir. Nakil son-

rası Sınıf I antikorları oluşması ve greft yetmezliği görülmesi arasında geçen zaman; 634 gün iken, Sınıf II antikorları oluşması ve greft yetmezliği görülmesi arasında geçen zaman ortalama 1.503 gündür.<sup>13</sup> Ancak son zamanlarda, düşük düzeyde oluşan HLA antikorlarının hücre yüzeyindeki alloantijenlere bağlanarak, mTOR2 yolunu stimüle ettiği belirtilmektedir. mTOR2 sitoplazmadaki Akt ve Bad proteinlerini fosforile eder. Böylece apoptotik protein Bcl-2 ve Bcl-xL'in aktivasyonunu sağlayarak greft sağkalımına katkıda bulunmaktadır.<sup>14,15</sup> Terasaki ve ark.nın yaptığı farklı yıllardaki anti-HLA antikor oluşum oranları %13.6-26.9 olarak tespit edilmiştir. Nakil sonrası kullanılan immünsüpresifler ile antikor gelişimi araştırıldığında ise mikofenolat mofetil [mycophenolate mofetil (MMF)] kullanılan tedavi protokollerinde, daha düşük düzeyde anti-HLA antikor geliştiği görülmüştür.<sup>13</sup> Nakil sonrası non-HLA antikorlardan olan anti-MIC antikorları araştırıldığında, MICA\*001 ve MICA\*007 allellerine karşı oluşan antikorlar, HLA antikor olmadığı halde rejeksiyon geçiren böbrek hastalarında yüksek bulunmuştur.<sup>16</sup> Berg-Loonen ve ark. Eurotrans bünyesindeki kabul edilebilir uyumsuzluklar programına katılan yüksek duyarlılığı olan hastalardaki HLA antikorlarını SAB tekniği ile çalışmışlardır. Donörleri ile HLA uyumsuzluğu olan hastaların %48.1'inde DSA'nın (+) olduğu belirlenmiştir. Akut rejeksiyon tedavisi alan hastaların %75'inin DSA (+) olan grupta olması, SAB tekniği ile saptanan DSA'ların klinik ile korelasyonunu göstermektedir.<sup>2</sup> Billman ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, SAB tekniği ile DSA (+) ve DSA (-) olan yüksek duyarlılığı olan hastalar belirlenmiştir. İki gruba farklı tedavi protokolleri uygulanarak klinik takipleri yapılmıştır. Nakil sonrası ilk üç hafta içinde akut rejeksiyon atağı geçiren 3 hastanın 2'si DSA (+) gruptan olduğu gibi, DSA (+) hastalar %44, DSA (-) olan hastalar ise %4 oranında indüksiyon tedavisi almıştır.<sup>6</sup> Gupta ve ark.nın yaptığı çalışmada da yüksek duyarlılığı olan hastaların nakil öncesi serumları ile retrospektif olarak SAB tekniği ile DSA'lar araştırılmıştır. DSA (+) olan grupta bir yıllık ve 5 yıllık greft sağkalımların daha düşük olduğu belirlenmiştir.<sup>17</sup>

Son dönemlerdeki böbrek nakillerinin immünojenik değerlendirilmesinde SAB teknikleri ile yapılan çalışmalar önemli yer tutmaktadır. Bu çalışmalar ile SAB tekniğinin böbrek nakillerindeki önemi daha iyi anlaşılmaktadır. Bu tekniklerin daha da

geliştirilmesi sayesinde CM testlerine ihtiyaç kalmaksızın böbrek nakli yapılabilme ihtimali yakalanabilir. Bu da, özellikle kadavradan yapılan böbrek nakillerinde soğuk iskemi süresinin kısalmasına, dolayısı ile de hastaya ve kliniğe katkıda bulunacaktır.

## KAYNAKLAR

- Vaidya S, Partlow D, Susskind B, Noor M, Barnes T, Gugliuzza K. Prediction of cross-match outcome of highly sensitized patients by single and/or multiple antigen bead luminex assay. *Transplantation* 2006;15; 82(11):1524-8.
- van den Berg-Loonen EM, Billen EV, Voorter CE, van Heum LW, Claas FH, van Hooff JP, et al. Clinical relevance of pretransplant donor-directed antibodies detected by single antigen beads in highly sensitized renal transplant patients. *Transplantation* 2008;27;85(8):1086-90.
- Bray RA, Nolen JD, Larsen C, Pearson T, Newell KA, Kokko K, et al. Transplanting the highly sensitized patient: The emory algorithm. *Am J Transplant* 2006;6(10):2307-15.
- Claas FH, Doxiadis II. Management of the highly sensitized patient. *Curr Opin Immunol* 2009;21(5):569-72.
- Amico P, Hönger G, Mayr M, Steiger J, Hopfer H, Schaub S. Clinical relevance of pretransplant donor-specific HLA antibodies detected by single-antigen flow-beads. *Transplantation* 2009;15;87(11):1681-8.
- Bielmann D, Hönger G, Lutz D, Mihatsch MJ, Steiger J, Schaub S. Pretransplant risk assessment in renal allograft recipients using virtual crossmatching. *Am J Transplant* 2007; 7(3):626-32.
- Bray RA, Gebel HM. Strategies for human leukocyte antigen antibody detection. *Curr Opin Organ Transplant* 2009;14(4):392-7.
- Amico P, Hönger G, Steiger J, Schaub S. Utility of the virtual crossmatch in solid organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2009;14(6):656-61.
- Pei R, Lee JH, Shih NJ, Chen M, Terasaki PI. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Transplantation* 2003;75(1):43-9.
- Zachary AA, Leffell MS. Detecting and monitoring human leukocyte antigen-specific antibodies. *Hum Immunol* 2008;69(10):591-604.
- Gebel HM, Bray RA. Laboratory assessment of HLA antibodies circa 2006. *Transpl Rev* 2006;20(4):189-94.
- Kosmoliaptsis V, Bradley JA, Peacock S, Chaudhry AN, Taylor CJ. Detection of immunoglobulin G human leukocyte antigen-specific alloantibodies in renal transplant patients using single-antigen-beads is compromised by the presence of immunoglobulin M human leukocyte antigen-specific alloantibodies. *Transplantation* 2009;27;87(6):813-20.
- Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant*. 2004;4(3):438-43.
- Zhang X, Reed EF. Effect of antibodies on endothelium. *Am J Transplant* 2009;9(11):2459-65.
- Tang AH, Platt JL. Accommodation of grafts: implications for health and disease. *Hum Immunol* 2007;68(8):645-51.
- Mizutani K, Terasaki PI, Shih RN, Pei R, Ozawa M, Lee J. Frequency of MIC antibody in rejected renal transplant patients without HLA antibody. *Hum Immunol* 2006;67(3): 223-9.
- Gupta A, Iveson V, Varagunam M, Bodger S, Sinnott P, Thuraisingham RC. Pretransplant donor-specific antibodies in cytotoxic negative crossmatch kidney transplants: are they relevant? *Transplantation* 2008;27;85(8):1200-4.