



Probir antitijela non-HLA – prvi rezultati

Screening for Non-HLA Antibodies – the very first results

Marija Burek Kamenarić¹ , Lucija Jukić¹, Renata Žunec¹

¹ Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Klinički bolnički centar Zagreb

Deskriptori

HLA ANTIGENI – imunologija;
TESTIRANJE HISTOKOMPATIBILNOSTI – metode;
PROTUTIJELA; TRANSPLANTACIJA BUBREGA;
ODBACIVANJE PRESATKA

Descriptors

HLA ANTIGENS – immunology;
HISTOCOMPATIBILITY TESTING – methods;
ANTIBODIES; KIDNEY TRANSPLANTATION;
GRAFT REJECTION

SAŽETAK. *Cilj:* Važnost i uloga antitijela usmjerenih protiv humanih leukocitnih antigena (HLA) u reakcijama odbacivanja posredovanih antitijelima nakon transplantacije solidnih organa danas je jasno dokazana. Smatra se da su i antitijela usmjerena na antigene koji nisu dio sustava HLA, tzv. antitijela non-HLA, također povezana s humoralnim odbacivanjem te da mogu utjecati na preživljenje presatka. Prisutnost antitijela non-HLA dodatno ukazuje na bolesnike s povećanim imunološkim rizikom prije i nakon transplantacije organa. Cilj rada bio je odrediti prisutnost antitijela non-HLA u skupinama bolesnika prije i nakon transplantacije bubrega, odrediti njihovu učestalost pojavljivanja validiranim testovima probira te verificirati analizu rezultata. *Ispitanici i metode:* Analiza prisutnosti antitijela non-HLA provedena je u 17 visoko HLA-senzibiliziranih bolesnika na listi čekanja za transplantaciju bubrega (skupina *pre-tx*) i u 10 bolesnika s transplantiranim bubregom (skupina *post-tx*) čiji nalazi biopsija ukazuju na humoralno odbacivanje, a bez dokazanih prisutnih donor-specifičnih antitijela HLA (DSA). Za određivanje antitijela non-HLA korišten je test temeljen na tehnologiji *Luminex* koji omogućuje izravnu simultanu detekciju antitijela IgG protiv 60 različitih antigena non-HLA. *Rezultati:* Prisutnost antitijela non-HLA najmanje jedne specifičnosti dokazana je u 16/17 (94,1%) primatelja *pre-tx* skupine te u 7/10 (77,0%) primatelja *post-tx* skupine. Vrijednosti intenziteta fluorescencije pozitivnih reakcija bile su statistički značajno više u *pre-tx* skupini u usporedbi s *post-tx* skupinom. Broj specifičnosti antitijela non-HLA određenih po pojedinom primatelju bio je veći u *pre-tx* skupini. *Zaključak:* Test omogućuje vrlo osjetljivo dokazivanje prisutnosti i specifičnosti antitijela non-HLA. Prisutnost antitijela non-HLA visoka je u obje ispitivane skupine, a broj specifičnosti i intenzitet pozitivnih reakcija značajno je veći u visoko HLA-senzibiliziranih primatelja. Biopsijom dokazano humoralno odbacivanje bez prisutnih HLA DSA može biti povezano s antitijelima non-HLA u *post-tx* skupini.

SUMMARY. *Objective:* The importance and role of antibodies directed against human leukocyte antigens (HLA) in antibody-mediated rejection (AMR) reactions after solid organ transplantation has been clearly demonstrated. Antibodies against non-HLA antigens (non-HLA antibodies) are also thought to be associated with humoral rejection and may affect graft survival. The presence of non-HLA antibodies additionally indicates an increased immunological risk before and after organ transplantation. The aim of the work was determination of non-HLA antibodies in groups of patients before and after kidney transplantation using validated screening tests for non-HLA antibodies and, based on results analysis determine the frequency of non-HLA antibodies occurrence. *Subjects and Methods:* We tested one of the two currently available non-HLA antibody assays based on *Luminex* platform which allows the direct simultaneous detection of IgG antibodies to 60 non-HLA auto-antigens. The tested cohort consisted of 17 HLA highly sensitized recipients on the kidney waiting list (*pre-tx* group) and 10 kidney transplant recipients (*post-tx* group) with biopsies showing evidence of AMR in the absence of detectable HLA donor-specific antibodies (DSA). *Results:* The presence of at least one of non-HLA antibody was detected in 16/17 (94.1%) *pre-tx* group recipients while in *post-tx* group non-HLA antibody was detected in 7/10 (77.0%) recipients. The fluorescence intensity for positive reactions was significantly higher in *pre-tx* group compared to *post-tx* group. The number of different non-HLA specificities detected per recipient was also much higher in *pre-tx* group. *Conclusion:* The assay enabled highly sensitive detection and characterization of non-HLA antibodies. The presence of non-HLA antibodies is high in both investigated groups, and the number of specificities and intensity of positive reactions were significantly higher in HLA highly sensitized recipients. Biopsy proven AMR without detected HLA DSA can be associated with the presence of non-HLA antibodies in the *post-tx* group.

Antitijela razvijena protiv antigena koji nisu humani leukocitni antigeni (HLA) nazivamo antitijela non-HLA. Antitijela non-HLA mogu se podijeliti na aloantitijela (usmjerena protiv nepodudarnih antigena non-HLA darivatelja) i na autoantitijela (usmjerena protiv vlastitih antigena non-HLA izloženih na površini stanica nakon apoptoze).^{1,2} Uzrok nastanka anti-

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Marija Burek Kamenarić, dr. med., <https://orcid.org/0000-0003-2781-4576>
Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb,
Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, e-pošta: mburek@kbc-zagreb.hr

Primljeno 14. ožujka 2024., prihvaćeno 31. svibnja 2024.

Antigen non-HLA	Naziv gena / Gene name	Antigen non-HLA	Naziv gena / Gene name
ACTIN	Actin	IFNG	Interferon Gamma
AGRN	Agrin	IL21	Interleukin 21
APOL2	Apolipoprotein L2	IL8	Interleukin 8, CXCL8
ARHGDIB	ARHGDIB	KRT18	Cytokeratin 18
ATP5B	ATP Synthase F1 Subunit Beta	KRT8	Cytokeratin 8
CCP	Cyclic Citrullinated Peptide	LGALS3	Galectin 3
CD40	CD40 molecule	LGALS8	Galectin 8
CGB5	Chorionic Gonadotropin Subunit Beta 5	LMNA	Lamin-A/C
COLLAGEN I	Collagen I	LPHN1	Latrophilin 1
COLLAGEN II	Collagen II	Mcosin	Myosin
COLLAGEN III	Collagen III	NCL	Nucleolin
COLLAGEN IV	Collagen IV	P2RY11	Purinergic Receptor P2Y11
COLLAGEN V	Collagen V	PECR	Peroxisomal Trans-2-enoyl-CoA Reductase
COLLAGEN VI	Collagen VI	PLA2R1	Phospholipase A2 Receptor 1
CSF2	Colony Stimulating Factor 2	PRKCH	Protein kinase C, Eta
CXCL11	C-X-C Motif Chemokine Ligand 11	PRKCZ	Protein kinase C, Zeta
CXCL9	C-X-C Motif Chemokine Lignad 9	PTPRO	Receptor type Tyrosine - protein Phosphatase U
DEXI	Dexamethasone-induced transcript	ROR1	Receptor Tyrosine Kinase-Like Orphan Receptor 1
EMCN	Endomucin	SHC3	SHC Adaptor Protein 3
ENO1	Alpha-enolase	SNRPB2	Small Nuclear Ribonucleoprotein Polypeptide B
FAS	Fas Cell Surface Death Receptor	SNRPN	Small Nuclear Ribonucleoprotein Polypeptide N
FIBRONECTIN 1	Fibronectin 1	SSB	Sjogren Syndrome Antigen B
FLRT2	Fibronectin Leucine Rich Transmembrane Protein 2	STAT6	Signal Transducer And Activator of Transcription 6
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase	Thyroglobulin	Thyroglobulin
GDNF	Glial Cell Derived Neurotrophic Factor	TUBA1B	Tubulin Alpha 1b
GSTT1	Glutathione S-Transferase Theta-1	TUBB	Tubulin Beta
HARS	Jo-1	TUBULIN	Tubulin
HSPB1	Heat Shock Protein Beta-1	VCL	Vinculin
Human Transferrin	Transferrin	VEGFA	Vascular Endothelial Growth Factor A
ICAM1	Intracellular Adhesion Molecule 1	VIM	Vimentin

SLIKA 1. PANEL IMMUCOR LIFECODES SA 60 RAZLIČITIH ANTIGENA NON-HLA NAMIJENJENIH ZA OTKRIVANJE PRISUTNOSTI I SPECIFIČNOSTI ANTITIJELA NON-HLA U SERUMU BOLESNIKA

FIGURE 1. IMMUCOR LIFECODES PANEL WITH 60 DIFFERENT NON-HLA ANTIGENS APPLIED FOR THE DETECTION AND SCREENING OF NON-HLA ANTIBODIES IN PATIENT'S SERUM SAMPLE

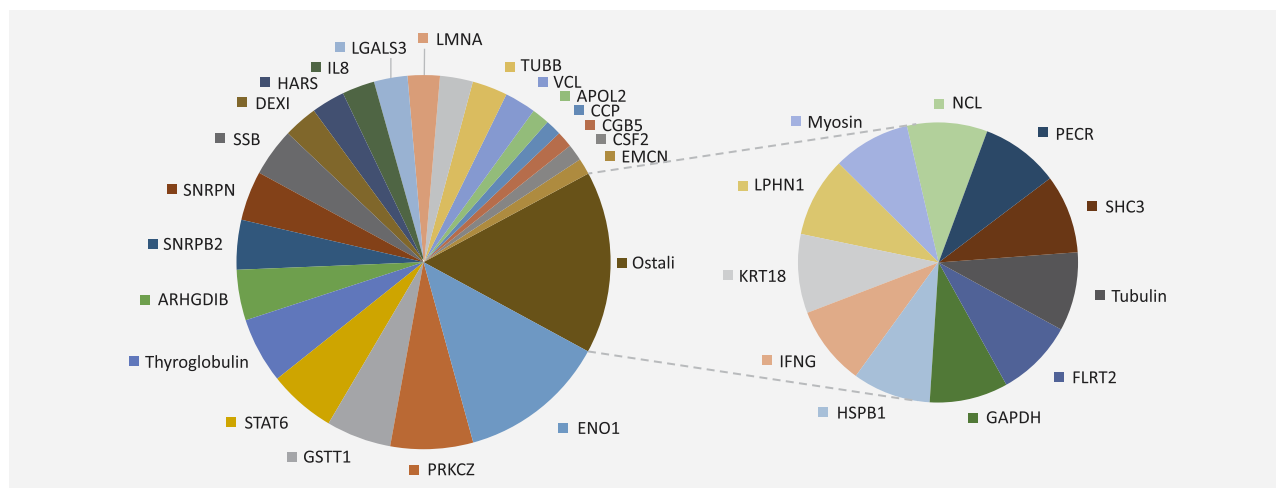
tijela non-HLA najčešće je endotelna ozljeda koja u prijetransplantacijskom periodu može nastati zbog različitih razloga, kao npr. akutne ozljede bubrega, kronične bubrežne bolesti, lupusnog nefritisa, žarišne segmentalne glomeruloskleroze, dijabetesa ili preeklampsije.¹ U posttransplantacijskom periodu endotelna ozljeda može biti posljedica npr. ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja, nefropatije uzrokovane humanim BK poliomavirusom, akutnog pijelonefritisa presatka, humoralnog odbacivanja, imunosupresije i slično.^{1,3} Antitijela non-HLA prepoznaju antigene non-HLA koji se nalaze na različitim stanicama i tkivima kao što su endotelne stanice, glatke mišićne stanice, tubularne epitelne stanice, podociti, mezangijske stanice i stanice imunskog sustava.^{1,2,4}

U liječenju transplantacijom prisutnost antitijela protiv antigena HLA specifičnih za nepodudarne antigene HLA darivatelja, tzv. donor-specifična antitijela (engl. *donor specific antibodies*, DSA) glavni su uzrok humoralnog odbacivanja presatka.⁵ Međutim, sve je

više dokaza kako humoralno odbacivanje mogu uzrokovati i antitijela non-HLA.⁶⁻⁹ Prisutnost antitijela non-HLA najčešće se očituje kliničkom disfunkcijom presatka i histopatološkim dokazom humoralnog odbacivanja u bolesnika kod kojih nije dokazano prisustvo HLA DSA.¹ Antitijela non-HLA mogu se pojaviti samostalno ili istodobno s antitijelima HLA stvarajući sinergistički učinak na presadak.^{4,5}

Unatoč dokazima o važnosti i utjecaju antitijela non-HLA na presadak, probir za njihovu prisutnost u serumu bolesnika prije ili nakon transplantacije još uvijek nije rutinski postupak u imunološkom praćenju bolesnika. Kako bi se to omogućilo, potrebna je tehnologija i test visoke osjetljivosti te široke specifičnosti koji će biti lako reproducibilan te omogućiti usklađene i validirane rezultate u laboratorijima na temelju kojih će se valjano analizirati otkrivena antitijela non-HLA te procijeniti njihovu kliničku važnost.^{5,10}

Cilj ovog rada bio je testirati jedan od dvaju na tržištu trenutno dostupnih testova za simultano odre-



SLIKA 2. SPECIFIČNOSTI ANTITIJELA NON-HLA ODREĐENE U OBJE ISPITIVANE SKUPINE. OD UKUPNO 33 RAZLIČITE ODREĐENE SPECIFIČNOSTI, 16 SPECIFIČNOSTI UOČENO JE SAMO JEDNOM („OSTALI“).

FIGURE 2. SPECIFICITIES OF NON-HLA ANTIBODIES DETECTED IN BOTH INVESTIGATED GROUPS. OUT OF A TOTAL OF 33 DIFFERENT SPECIFICITIES DETECTED, 16 SPECIFICITIES WERE OBSERVED ONLY ONCE („OSTALI“).

divanje antitijela non-HLA temeljena na tehnologiji *Luminex* te preliminarno procijeniti pojavnost antitijela non-HLA u dvije odabrane skupine ispitanika.

Ispitanici i metode

Za istraživanje su odabrane dvije skupine ispitanika. Prva skupina obuhvaćala je 17 primatelja (6 žena i 11 muškaraca) koji se nalaze na Eurotransplantovoj listi čekanja za transplantaciju bubrega (skupina pre-tx). Među njima, 16/17 primatelja su visoko HLA-senzibilizirani s prisutnim antitijelima protiv HLA razreda I (N=1), antitijelima protiv HLA razreda II (N=4) ili antitijelima protiv HLA razreda I i II (N=11). Jedan primatelj je bio negativan za antitijela protiv HLA. Drugu testiranu skupinu činilo je 10 primatelja (3 žene i 7 muškaraca) s transplantiranim bubregom u poslijetransplantacijskom praćenju (skupina post-tx) čiji su histopatološki nalazi biopsija ukazivali na humoralno odbacivanje, a bez prisutnih HLA DSA. Kod 5/10 primatelja iz ove skupine bila su prisutna HLA non-DSA antitijela razreda I, 2/10 imalo je HLA non-DSA antitijela razreda I i II, dok kod 3/10 primatelja nije dokazana prisutnost antitijela HLA. Za određivanje prisutnosti antitijela non-HLA korišten je *LIFECODES Non-HLA Antibody Assay* kit (Immucor Inc., Norcross, Georgia, USA) koji omogućuje izravno simultano određivanje antitijela IgG protiv 60 različitih antigena non-HLA (slika 1).

Test se temelji na sintetskim polistirenskim mikrokuglicama na čijoj su površini vezani antigeni non-HLA. Inkubacijom 40 μ L mikrokuglica s 10 μ L seruma bolesnika tijekom 30 minuta, prisutna antitijela non-HLA specifično se vežu na antigene non-HLA vezane na mikrokuglicama. Nakon ispiranja dodaje se 45 μ L fikoeritrinom obilježenoga sekundarnog antiti-

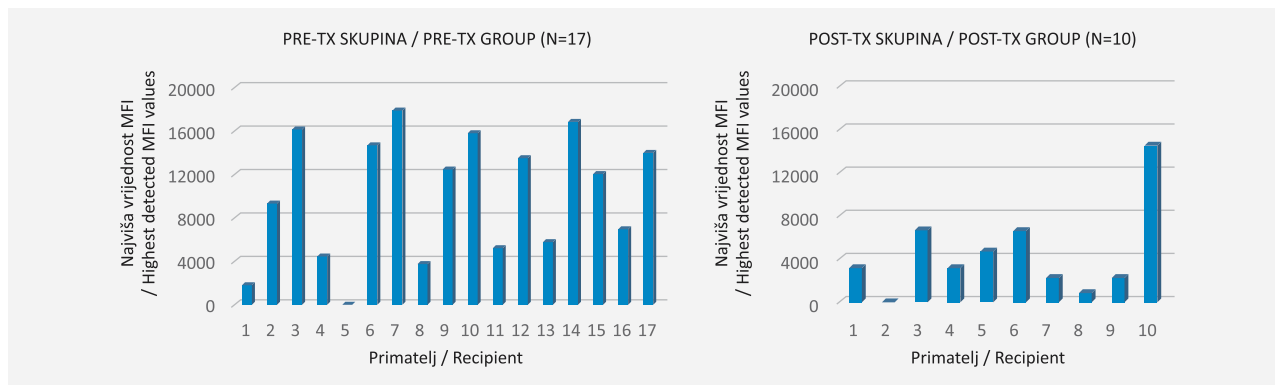
jela koje se tijekom sljedećih 30 minuta inkubacije veže na kompleks antigen non-HLA / antitijelo non-HLA na mikrokuglicama. Reakcije se laserski očitavaju u uređaju *Luminex*, a signali se izražavaju kao srednji intenzitet fluorescencije, tzv. MFI (engl. *median fluorescence intensity*). Kao prag pozitivnosti reakcija u našem testu odabrana je minimalno dvostruko veća vrijednost MFI u usporedbi s definiranom vrijednošću MFI za pozitivnu reakciju od strane proizvođača testova kako bismo sa sigurnošću izbjegli lažno pozitivne reakcije. Rezultati se analiziraju pomoću Excel programa *LIFECODES Non-HLA Antibody Analysis Tool* kreiranog i licenciranog od strane proizvođača.

Statistička analiza rezultata obuhvaćala je direktno brojenje te izračunavanje srednjih vrijednosti i usporedbu između dviju testiranih skupina koristeći *online* kalkulator (<https://goodcalculators.com/one-way-anova-calculator>).

Rezultati

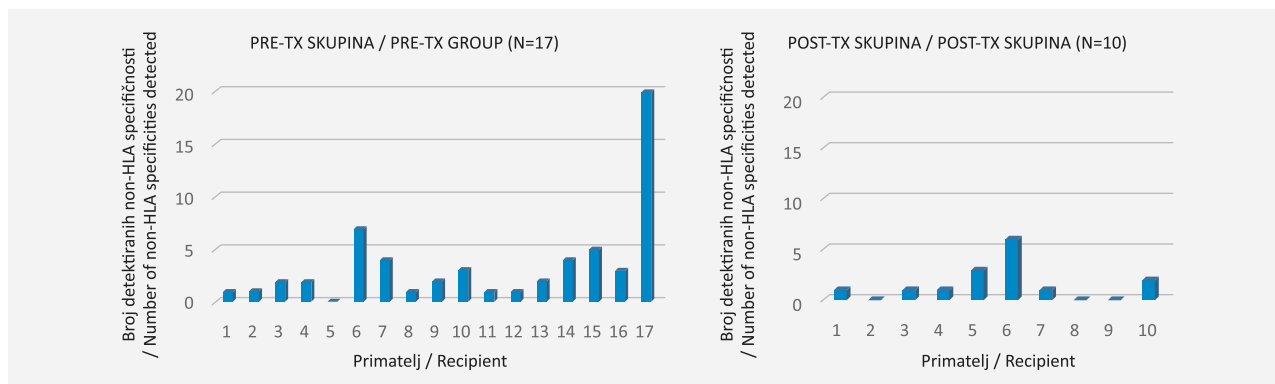
Prisutnost antitijela non-HLA najmanje jedne specifičnosti uočena je u 16/17 (94,1%) primatelja pre-tx skupine te u 7/10 (77,0%) primatelja post-tx skupine. Ukupno 33 različite specifičnosti antitijela non-HLA određene su u obje skupine (slika 2). Kod najvećeg broja ispitanika bila su prisutna antitijela non-HLA specifičnosti: alfa-enolaza, ENO1 (37,5%); protein kinaza C zeta, PRKCZ (20,8%); glutation-S-transferaza theta 1, GSTT1 (12,1%); signalni transduktor i aktivator transkripcije 6, STAT6 (12,1%) te Thyroglobulin (12,1%).

Analizirane su i uspoređene vrijednosti očitane fluorescencije najjačih pozitivnih reakcija za svakog primatelja među skupinama (slika 3). Vrijednosti MFI-pozitivnih reakcija bile su statistički značajno



SLIKA 3. NAJVIŠE VRIJEDNOSTI OČITANIH INTENZITETA FLUORESCENCIJE, MFI (ENGL. *MEDIAN FLUORESCENCE INTENSITY*) U ISPITIVANOM UZORKU SERUMA SVAKOG PRIMATELJA IZ PRE-TX SKUPINE I POST-TX SKUPINE

FIGURE 3. VALUES OF THE DETECTED MEDIAN FLUORESCENCE INTENSITIES (MFI) IN THE EXAMINED SERUM SAMPLE OF EACH RECIPIENT FROM THE PRE-TX GROUP AND POST-TX GROUP



SLIKA 4. BROJ RAZLIČITIH SPECIFIČNOSTI ANTITIJELA NON-HLA U ISPITIVANOM UZORKU SERUMA SVAKOG PRIMATELJA IZ PRE-TX SKUPINE I POST-TX SKUPINE

FIGURE 4. THE NUMBER OF DETECTED NON-HLA ANTIBODIES OF DIFFERENT SPECIFICITIES IN THE EXAMINED SERUM SAMPLE OF EACH RECIPIENT FROM THE PRE-TX GROUP AND THE POST-TX GROUP

više u pre-tx skupini (srednja vrijednost: 10 009,5) u usporedbi s post-tx skupinom (srednja vrijednost: 4436,7), $P = 0,0129$.

Broj različitih specifičnosti non-HLA određenih po primatelju (slika 4) bio je veći u pre-tx skupini (srednja vrijednost 3,6; raspon: 1 – 22) nego među primateljima post-tx skupine (srednja vrijednost 1,5; raspon: 1 – 6), $P > 0,005$.

Rasprava

Potreba dokazivanja prisutnosti i specifičnosti antitijela non-HLA u transplantaciji solidnih organa dobiva sve veći značaj. Najuvjerljiviji dokaz su rezultati kliničkih istraživanja histopatoloških odbacivanja organa posredovanih antitijelima, a bez prisutnih donor-specifičnih antitijela HLA, kao i pojava humoralnog odbacivanja kod bolesnika s transplantiranim bubregom od HLA-identičnih sestre ili brata.^{9,11}

Prvi rezultati proizašli iz ovog testiranja pokazuju visoku učestalost antitijela non-HLA u obje ispitivane skupine. Iako su ispitivane skupine male, rezultati

odražavaju zaključke brojnih studija prema kojima su antitijela non-HLA često prisutna kod visoko HLA-senzibiliziranih bolesnika i djeluju sinergično s antitijelima HLA.⁶⁻¹⁰ Prema studiji Philogene i suradnika, bolesnici s visokom HLA senzibilizacijom kod kojih su dokazana i antitijela non-HLA imaju dodatan rizik za ranu ozljedu presatka te je bitna rana terapija odmah nakon transplantacije.¹¹ Nadalje, zaključuju da prisutnost antitijela non-HLA nije kontraindikacija za transplantaciju, već biljeg koji upućuje na neko prethodno ili trenutno aktivno oštećenje tkiva te se time izdvajaju bolesnici koje treba drugačije liječiti prije ili nakon transplantacije kako bi se izbjeglo oštećenje samog presatka. Nadalje, utvrđivanje prisutnosti antitijela non-HLA utječe i na odabir liječenja koje može biti drugačije od onoga koje bi se primijenilo u slučaju prisutnosti isključivo antitijela HLA. Tako Kardol-Hoefnagel i suradnici u svom radu navode važnost standardizacije terapijskih protokola i daju pregled mogućnosti liječenja humoralnog odbacivanja uzrokovanog antitijelima non-HLA.¹²

Naši rezultati također mogu potkrijepiti pretpostavke drugih studija da su antitijela non-HLA vrlo vjerojatan uzrok humoralnog odbacivanja u slučajevima kada HLA DSA nisu dokazana. Rezultati istraživanja Seneva i suradnika pokazuju da bolesnici s prisutnim antitijelima non-HLA nakon transplantacije bubrega imaju značajno viši rizik humoralnog odbacivanja bez prisutnih HLA DSA.⁷ Nastavak našeg istraživanja bit će proširen na povezanost antitijela non-HLA s kliničkim parametrima i ishodima transplantacije bubrega, ali i drugih solidnih organa.

Iako njihova uloga u transplantaciji još nije potpuno jasna, probir antitijela non-HLA pruža korisne dodatne informacije koje mogu pomoći u identifikaciji bolesnika s povećanim imunološkim rizikom, bilo prije transplantacije ili nakon transplantacije. Uključivanje antitijela non-HLA u imunološku procjenu rizika utjecalo bi i na protokole liječenja u slučaju odbacivanja presatka.

Zaključak

Ovim preliminarnim rezultatima možemo potvrditi da je korišten test omogućio vrlo osjetljivo otkrivanje i određivanje antitijela non-HLA širokog broja specifičnosti. Daljnja testiranja omogućit će detaljniju validaciju i određivanje granice pozitivnosti reakcija (tzv. *cut-off*) za svaku specifičnost non-HLA u panelu. Nužno je pomoću ovih testova koji su sada dostupni na tržištu i zadovoljavaju kriterije visoke osjetljivosti, široke specifičnosti i lake primjenjivosti uniformirati istraživanja i odrediti stvaran klinički značaj antitijela non-HLA u transplantaciji. Praćenje razine antitijela non-HLA prije transplantacije te kontinuirano nakon transplantacije, uz standardizaciju terapijskih protokola, nužno je za optimalno liječenje primatelja transplantiranih organa.

INFORMACIJE O SUKOBU INTERESA

Autori nisu deklarirali sukob interesa relevantan za ovaj rad.

INFORMACIJA O FINANCIRANJU

Za ovaj članak nisu primljena financijska sredstva.

DOPRINOS AUTORA

KONCEPCIJA ILI NACRT RADA: MKB, LJ, RŽ

PRIKUPLJANJE, ANALIZA I INTERPRETACIJA PODATAKA: MKB, LJ

PISANJE PRVE VERZIJE RADA: MKB

KRITIČKA REVIZIJA: MKB, LJ, RŽ

LITERATURA

1. Sorohan BM, Baston C, Tacu D, Bucşa C, Ţincu C, Vizireanu P i sur. Non-HLA antibodies in kidney transplantation: immunity and genetic insights. *Biomedicines*. 2022;10(7):1506. doi: 10.3390/biomedicines10071506.
2. Zhang O, Reed EF. The importance of non-HLA antibodies in transplantation. *Nat Rev Nephrol*. 2016;12(8):484-95. doi: 10.1038/nrneph.2016.88.
3. Dragun D, Catar R, Philippe A. Non-HLA antibodies against endothelial targets bridging allo- and autoimmunity. *Kidney Int*. 2016;90(2):280-88. doi: 10.1016/j.kint.2016.03.019
4. Butler CL, Valenzuela NM, Thomas KA, Reed EF. Not all antibodies are created equal: factors that influence antibody mediated rejection. *J Immunol Res*. 2017;2017:7903471(1-9). doi: 10.1155/2017/7903471.
5. Loupy A, Lefaucheur C. Antibody-Mediated Rejection of Solid-Organ Allografts. *N Engl J Med*. 2018; 379(12):1150-60. doi: 10.1056/NEJMra1802677.
6. Lammerts RGM, Altulea D, Hepkema BG, Sanders JS, van den Born J, Berger SP. Antigen and cell-based assays for the detection of non-HLA antibodies. *Front Immunol*. 2022;13: 864671(1-17). doi: 10.3389/fimmu.2022.864671.
7. Senev A, Ray B, Lerut E, Hariharan J, Heylen C, Kuypers D i sur. The pre-transplant non-HLA antibody burden associates with the development of histology of antibody-mediated rejection after kidney transplantation. *Front Immunol*. 2022; 13:809059(1-13). doi: 10.3389/fimmu.2022.809059.
8. Lefaucheur C, Louis K, Philippe A, Loupy A, Coates PT. The emerging field of non-human leukocyte antigen antibodies in transplant medicine and beyond. *Kidney Int*. 2021;100(4): 787-98. doi: 10.1016/j.kint.2021.04.044.
9. Jackson AM, Sigdel TK, Delville M, Hsieh S-C, Hong D, Bagnasco S i sur. Endothelial cell antibodies associated with novel targets and increased rejection. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26 (5):1161–71. doi: 10.1681/ASN.2013121277.
10. Philogene MC, Zhou S, Lonze BE, Bagnasco S, Alasfar S, Montgomery RA i sur. Pre-transplant screening for non-HLA antibodies: Who should be tested? *Hum Immunol*. 2018;79(4): 195-202. doi: 10.1016/j.humimm.2018.02.001.
11. Graffit CA, Cornell LD, Gloor JM, Cosio FG, Gandhi MJ, Dean PG i sur. Antibody-mediated rejection following transplantation from an HLA-identical sibling. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2010;25(1):307–10. doi.org/10.1093/ndt/gfp526.
12. Kardol-Hoefnagel T, Otten GH. A comprehensive overview of the clinical relevance and treatment options for antibody-mediated rejection associated with non-HLA antibodies. *Transplantation*. 2021;105(7):1459-70. doi: 10.1097/TP.00000 00000003551.