

ARTICOLI ORIGINALI

Il trapianto renale: una sfida continua



Claudio Ponticelli

Istituto Scientifico Humanitas, Rozzano, Milano

Abstract

Il trapianto renale rappresenta la terapia di elezione per i pazienti affetti da insufficienza renale irreversibile. I nuovi farmaci immunosoppressori hanno abbattuto l'incidenza e la gravità del rigetto acuto. Oggi, la maggior causa di fallimento precoce non è più il rigetto acuto, ma piuttosto la cattiva qualità del rene trapiantato, la recidiva fulminante di alcune malattie o una complicazione chirurgica. I dati europei dimostrano un considerevole miglioramento anche della sopravvivenza renale a 10 anni, con corrispondente aumento dell'emivita stimata del trapianto. Tuttavia, restano numerosi i casi di fallimento tardivo, per due principali ragioni: A) morte del paziente con trapianto funzionante, causata da eventi cardiovascolari, infezioni o neoplasie maligne; B) progressivo deterioramento della funzione renale causato sia da fattori immunologici che non immunologici.

La carenza di reni per trapianto rimane il problema maggiore. Il numero di reni da donatori deceduti può essere aumentato non solo da provvedimenti legislativi, organizzativi ed economici, ma anche dall'utilizzazione di donatori deceduti a cuore fermo. Il trapianto da vivente consente di incrementare notevolmente il numero di trapianti. Grazie ai progressi dell'immunosoppressione, il trapianto tra soggetti geneticamente non compatibili (ad es. coniugi) offre risultati simili al trapianto tra familiari geneticamente compatibili. Oggi, in alcune nazioni come gli USA, i donatori viventi sono più numerosi rispetto ai donatori deceduti. Invece, in Italia i trapianti da vivente sono poco più del 10% rispetto ai trapianti da donatore deceduto.

Le due grandi speranze per il futuro sono la possibilità di avere un numero tale di reni da assicurare il pieno trattamento con trapianto a tutti gli uremici e la possibilità di rinunciare alla terapia immunosoppressiva inducendo una tolleranza immunologica specifica. Le tecniche di bioingegneria cellulare e la manipolazione di cellule e mediatori della risposta immunitaria hanno aperto qualche prospettiva, ma è probabile che l'applicazione clinica di queste scoperte richieda ancora diversi anni.

Introduzione

Nel 1954, a Boston è stato eseguito con successo il primo trapianto renale tra gemelli mono- zigoti. Da allora, vi è stato un enorme progresso nelle conoscenze immunologiche e nello sviluppo di farmaci in grado di interferire con la risposta immunitaria. Oggi il trapianto renale rappresenta la modalità terapeutica ottimale per i pazienti con insufficienza renale terminale, offrendo, rispetto alla dialisi, un'attesa di vita più prolungata [1], una migliore riabilitazione [2] [3] ed una migliore qualità di vita [4] per il paziente. Inoltre consente un considerevole risparmio economico [5] al sistema sanitario. Questi vantaggi si hanno non soltanto quando si prendano in considerazione donatori e riceventi standard, ma anche con trapianti effettuati con donatori e/o riceventi ad alto rischio [6] (full text). Tuttavia, se la medicina moderna è stata in grado di trasformare il mito del trapianto in attività clinica di routine, numerosi problemi rimangono ancora aperti. Questa breve rassegna si limiterà a rappresentare come alcune problematiche vengano affrontate oggi e quali potrebbero

essere gli approcci futuri per cercare di ovviare alle due principali esigenze tuttora irrisolte: la carenza di organi e l'induzione della tolleranza immunologica.

Il presente

L'immunosoppressione

Fino agli inizi degli anni '80, l'immunosoppressione di base è stata rappresentata dalla combinazione di glucocorticoidi ed azatioprina. Tale terapia ha consentito di ottenere e mantenere una buona funzione del rene trapiantato in diversi casi. Tuttavia, il rischio di fallimento per rigetto acuto era elevato e molti riceventi morivano per complicazioni infettive già pochi mesi dopo l'intervento. Pur con meritevoli eccezioni, la maggior parte dei centri riportava una sopravvivenza del trapianto da donatore deceduto attorno al 50% nel primo anno. La scoperta della ciclosporina (CsA) ha consentito di ottenere un'immunosoppressione più efficace ed un consistente miglioramento di risultati rispetto alla terapia con azatioprina e steroidi sia nel breve che nel lungo termine [7] [8] (full text). Dalla metà degli anni novanta, sono stati resi disponibili in rapida successione altri farmaci immunosoppressori, tra cui una nuova soluzione di ciclosporina, derivati dell'acido micofenolico, tacrolimus (TAC), oltre a potenti reagenti biologici, quali anticorpi anti-timociti (ATG) policlonali, anticorpi monoclonali diretti contro il recettore delle cellule T (OKT3), la molecola CD56 espressa sui linfociti (Campath-1), la subunità CD25 del recettore dell'interleuchina-2 (Basiliximab, Daclizumab). Dal 2000, sono stati commercializzati gli mTOR inibitori (sirolimus ed everolimus), un anticorpo monoclonale diretto contro la molecola CD20 espressa sulle cellule B (Rituximab), un anticorpo monoclonale diretto contro la frazione C5 del complemento (Eculizumab), una proteina di fusione agonista di CD28, capace quindi di interferire con la presentazione dell'antigene alle cellule immunocompetenti (Belatacept). L'impiego di questi farmaci ha minimizzato il rischio di rigetto acuto e consentito un'eccellente sopravvivenza renale a 1 anno, superiore al 90% nel caso di trapianto da donatore deceduto.

Per quanto la terapia immunosoppressiva del trapianto sia continuativa, si tende oggi a distinguere in due fasi: di induzione e di mantenimento.

Per la *terapia di induzione* vengono impiegati reagenti biologici, associati con steroidi (inizialmente in bolo venoso e poi per via orale), un inibitore della calcineurina (CNI) ed un inibitore della sintesi purinica. Diversi studi controllati hanno dimostrato una ridotta incidenza di rigetto acuto con l'uso di ATG [9], daclizumab [10] (full text) o basiliximab [11]. L'impressione clinica è che le ATG siano più potenti degli anti-CD25, ma esponano ad un maggiore rischio di infezioni da CMV o malattia linfoproliferativa [12] (full text). Nel 2010, le linee guida KDIGO hanno raccomandato l'uso di un anticorpo anti-CD25 per l'induzione in pazienti standard, preferendo invece l'uso di ATG nei pazienti ad alto rischio [13]. Mentre i reagenti biologici vengono usati solo per l'induzione, gli altri immunosoppressori vengono continuati nella terapia di mantenimento a dosi progressivamente ridotte.

La *terapia di mantenimento* più utilizzata consiste nell'associazione di un CNI, con un inibitore della sintesi purinica e basse dosi di prednisone. Vi è stato molto dibattito fra gli esperti di trapianto circa il superiore indice terapeutico di CsA nei confronti di TAC o viceversa. Uno studio di meta-analisi ha confrontato gli effetti positivi e negativi dei due farmaci ed ha concluso che trattando 100 pazienti con TAC invece che CsA si può evitare la comparsa di rigetto acuto in 12 pazienti e la perdita del trapianto in 2 casi nel primo anno, ma si può provocare la comparsa di diabete mellito insulina-dipendente in 5 pazienti [14]. Mancano però studi di confronto nel lungo termine.

I derivati dell'acido micofenolico sembrano essere più potenti dell'azatioprina. Raccogliendo i dati di tre grandi trials internazionali si è visto che il mofetil micofenolato (MMF) in associazione alla vecchia formulazione di CsA e steroidi riduceva significativamente l'incidenza e la gravità del rigetto acuto, migliorava la funzione renale, ma non modificava la sopravvivenza del trapianto ad un anno in confronto all'azatioprina [15]. Tuttavia, quando l'immunosoppressione primaria era basata sulla nuova microemulsione di CsA, Neoral, non vi era più differenza significativa [16] (full text). Questi dati apparentemente contrastanti possono essere spiegati dal fatto che gli inibitori della sintesi purinica vengono usati come farmaci additivi rispetto all'immunosoppressione di base. Quindi, il vero confronto dovrebbe riguardare la diversa possibilità di ridurre il dosaggio di CNI.

I glucocorticoidi hanno sempre rappresentato uno dei cardini terapeutici nel trapianto d'organi. Tuttavia, questi farmaci sono tanto efficaci quanto tossici. L'introduzione della CsA ha incoraggiato i tentativi di eliminare gli steroidi, ma uno studio di meta-analisi ha dimostrato che la sospensione precoce aumentava il rischio di rigetto acuto, mentre una sospensione più tardiva risultava in un'aumentata incidenza di rigetti tardivi e perdita del trapianto [17] (full text). Tuttavia, uno studio multicentrico italiano con follow-up prolungato aveva dimostrato che se la sospensione precoce dello steroide aumentava l'incidenza di rigetto acuto consentiva però di ridurre nel lungo termine gli incidenti cardiovascolari, l'osteoporosi e la cataratta [18] (full text). Recentemente, grazie alla disponibilità di nuovi e più potenti farmaci, il dosaggio dei glucocorticoidi viene minimizzato ed alcuni gruppi tendono ad eliminare completamente gli steroidi nel mantenimento, riservandone l'uso al periodo di induzione ed al trattamento del rigetto.

Nel 2000 è stato approvato da FDA ed EMA l'uso di sirolimus, un inibitore di mTOR che è un mediatore chiave di una famiglia di chinasi, che in risposta all'IL-2 fornisce il segnale di proliferazione ai linfociti. In associazione a dosi standard di CsA sirolimus ha dimostrato di ridurre il rischio di rigetto acuto rispetto all'associazione CsA-azatioprina, ma la clearance della creatinina era inferiore nei pazienti trattati con sirolimus [19]. Purtroppo, l'esperienza clinica con sirolimus non è stata favorevole a causa del suo uso improprio. Infatti, il farmaco è stato utilizzato in associazione a dosi normali di CsA o in combinazione con MMF, senza CNI. Questi schemi hanno messo in risalto gli effetti collaterali più che i potenziali vantaggi del farmaco.

Le attuali scelte terapeutiche sono state largamente influenzate da un grande trial randomizzato internazionale. In questo studio, chiamato Symphony [20] (full text), 1645 pazienti con trapianto de novo venivano randomizzati a 4 gruppi. Un gruppo era assegnato ad una terapia con CsA, MMF e steroidi, gli altri 3 gruppi ricevevano daclizumab, MMF e steroidi in combinazione con basse dosi di CsA, o basse dosi TAC o basse dosi di sirolimus. I risultati migliori, in termine di filtrazione glomerulare e rigetto acuto, si ebbero nel gruppo assegnato a TAC. La sopravvivenza renale a 1 anno era simile nei gruppi con basse dosi di TAC (94%) e basse dosi di CsA (93%) e tendenzialmente peggiore nei gruppi con dosi standard di CsA (89%) e basse dosi di sirolimus (89%). Gli eventi avversi erano più frequenti nei pazienti assegnati a sirolimus.

Pochi anni dopo il sirolimus, è stato commercializzato everolimus, un derivato della rapamicina, con azione analoga ma emivita più breve rispetto a sirolimus. Poiché vi è un sinergismo farmacologico ed immunomodulante tra mTOR inibitori e CsA, in uno studio multicentrico randomizzato italiano (Everest) everolimus è stato associato a dosi minime o dosi basse di CsA, dimostrando la fattibilità e l'efficacia di una combinazione everolimus/CsA a dosi minime [21]. Paragonando i dati di questo studio al migliore braccio di Symphony non si notano differenze importanti tra i due schemi, nonostante vi fosse un maggior numero di trapianti da vivente nello studio Symphony (Tabella 1). Potenzialmente, i vantaggi degli

inibitori di mTOR dovrebbero manifestarsi nel lungo termine. Infatti, vi sono evidenze cliniche e sperimentali che questi farmaci possono svolgere azione protettiva nei confronti di infezioni virali, eventi cardiovascolari e neoplasie [22]. Mancano però studi clinici a lungo termine che confermino questi potenziali vantaggi.

In buona sostanza, è oggi possibile ottenere una sopravvivenza renale ad un anno superiore al 90-95% con qualsiasi schema terapeutico. L'incidenza di rigetto è ormai ridotta sotto il 10-20% e la maggior parte dei rigetti acuti possono essere risolti con la somministrazione di boli venosi di metilprednisolone o infusione di ATG nei casi resistenti agli steroidi. Il rischio di fallimento a breve termine esiste tuttora, per quanto molto ridotto. Tuttavia, la maggior causa di fallimento precoce non è più il rigetto acuto, ma piuttosto la cattiva qualità del rene trapiantato (*nonviable kidney*), la recidiva fulminante di alcune malattie (sindrome emolitico-uremica atipica, glomerulosclerosi segmentaria e focale, ossaluria primitiva, ecc.) o una complicazione chirurgica (trombosi vascolare).

In un prossimo futuro sarà molto difficile dimostrare che un farmaco o una combinazione di farmaci possa ottenere risultati migliori rispetto agli attuali. Se nel ricevente a basso rischio la sopravvivenza a 1 anno del trapianto si aggira attorno al 95% sarà necessario reclutare molte migliaia di trapiantati per dimostrare che una sopravvivenza del 98% è statisticamente superiore a quella attuale. Con buona pace degli statistici, i trials non avranno più lo scopo di dimostrare una superiorità di un nuovo regime terapeutico ma piuttosto la sua non-inferiorità. L'end-point primario non sarà più il rigetto, ma probabilmente qualche effetto collaterale maggiore che può influenzare l'evoluzione a lungo termine.

Risultati lungo termine

La disponibilità di nuovi farmaci immunosoppressori si è associata ad un progressivo miglioramento di risultati non solo nel breve termine ma anche nel lungo termine. Mentre i dati di registro americani riportano solo un modesto incremento dell'emivita del trapianto renale, i dati europei raccolti a Heidelberg dal Collaborative Transplant Study riportano che nel trapianto da donatore deceduto l'emivita teorica per i trapianti renali funzionanti ad un anno è passata da circa 9 anni per i trapianti effettuati tra il 1985 ed il 1987 ad oltre 20 anni per i trapianti effettuati dopo il 2000 (Fig. 1). Questa differenza con i dati americani può essere probabilmente spiegata dal diverso sistema sanitario americano rispetto a quello dell'Europa occidentale (negli USA il costo dei farmaci immunosoppressori viene coperto dal sistema sanitario nazionale per soli 3 anni, nel mantenimento il paziente viene spesso seguito dal medico generico e non dal centro trapianti).

Tuttavia, anche i dati europei riportano un'emivita sostanzialmente invariata nell'ultimo decennio. Due sono le cause principali di fallimento del trapianto nel lungo termine. Un

Tabella 1. Risultati ad 1 anno del miglior braccio dello studio Symphony [10] e del miglior braccio dello studio Everest [11].

	SYMPHONY TAC, MMF, Pred	EVEREST EVR, low CsA, Pred
Patient survival	97,2%	98,6%
Pure Graft survival	96,4%	97,9%
DGF (DD)	35,7%	23,2%
BPAR	15,4%	11,9%
GFR (Cockcroft-Gault)	65,4 ml/min	63,8 ml/min

Non vi era differenza tra questi due gruppi nell'età media del donatore (45 vs 44) o del ricevente (45 per entrambi i gruppi). L'incompatibilità HLA era leggermente in favore di Symphony 2,9 vs 3,4). La maggiore differenza era nella percentuale di trapianti da vivente, nettamente maggiore nello studio Symphony (37% vs 3%).

lento e progressivo deterioramento della funzione renale e la morte con trapianto funzionante. Sia fattori immunologici (rigetto cellulare tardivo, rigetto anticorpo-mediato, cattiva aderenza alle prescrizioni, recidiva di nefropatie autoimmuni) che non immunologici (nefrotossicità di CNI e altri farmaci, diabete, ipertensione arteriosa, infezioni, cattiva qualità del rene etc.) possono determinare la perdita del trapianto. La morte del paziente è generalmente causata da eventi cardiovascolari, infezioni o neoplasie maligne.

La scelta dei farmaci immunosoppressori ed il loro dosaggio hanno un pesante impatto sul rischio di fallimento. Se poco aggressiva, l'immunosoppressione può favorire lo sviluppo di rigetto subclinico con progressivo deterioramento funzionale, se troppo aggressiva può esercitare un tossicità renale diretta o favorire lo sviluppo di complicazioni che amplificano i danni renali o causano eventi avversi potenzialmente letali (Tabella 2). Queste complicazioni inoltre richiedono cambi di terapia, spesso seguiti dallo sviluppo di peggioramento funzionale [23] (full text). Infine, i frequenti effetti collaterali provocati dagli immunosoppressori influenzano la qualità di vita del ricevente e favoriscono una cattiva aderenza alle prescrizioni terapeutiche, una delle cause maggiori di fallimento del trapianto [24] (full text).

In fondo, nonostante gli enormi progressi realizzati, il clinico è tuttora indeciso se utilizzare un'immunosoppressione pesante per prevenire il rigetto o un'immunosoppressione più leggera per prevenire i frequenti e gravi effetti collaterali (Tabella 3). Questa indecisione deriva anche da un dibattito tuttora irrisolto tra chi sostiene che la maggior causa di fallimento del trapianto sia rappresentata dalla tossicità di CNI [25] (full text) e chi ritiene che sia invece conseguenza di rigetto cronico anticorpo-mediato [26] (full text). In verità, le cause di disfunzione del rene trapiantato sono numerose (Tabella 4). Anche se molte di queste sono direttamente o indirettamente correlate alla terapia anti-rigetto, nel bene e nel male sembra più importante l'intensità dell'immunosoppressione che la tipologia della stessa.

Per questo motivo, molti clinici ritengono che si debba passare dalla medicina basata sull'evidenza alla personalizzazione. Purtroppo, i tentativi di personalizzare la terapia nel trapiantato sono tuttora basati sulla soggettività del clinico più che su parametri che indichino con buona approssimazione se e quando sia utile aumentare o ridurre l'intensità

Tabella 2. Tutti i farmaci impiegati nella terapia di mantenimento del trapianto hanno un basso indice terapeutico.

Farmaci	Principali effetti collaterali
Glucocorticoidi	Diabete, ipertensione, iperlipemia, infezioni, obesità, cataratta, osteoporosi, necrosi asettica, reazioni psichiatriche, alterazioni estetiche
Inibitori della calcineurina	Tossicità renale, ipertensione, diabete, iperuricemia, infezioni, iperlipemia, tumori, alterazioni esoteriche
Inibitori della sintesi purinica	Tossicità midollare, infezioni virali (CMV, BKV), tossicità gastroenterinale
mTOR inibitori	Iperlipemia, plastrinopenia, leucopenia, proteinuria, diabete, stomatite

Tabella 3. Vantaggi e svantaggi di un'immunosoppressione pesante o leggera nel mantenimento.

	Pro	Contro
Immunosoppressione pesante	Riduce il rischio di rigetti cellulari tardivi. Può ridurre il rischio di rigetto anticorpo-mediato.	Effetti collaterali frequenti e gravi. Maggiore mortalità.
Immunosoppressione leggera	Previene effetti collaterali. Può ridurre il rischio di mortalità.	Rischio aumentato di rigetti tardivi e fallimento del trapianto.

dell'immunosoppressione in un determinato ricevente. Qualche progresso è stato ottenuto con l'interferon-gamma Elispot che può identificare un significativo aumento della risposta cellulare T diretta contro antigeni del donatore, ma si tratta solo di un primo passo su una lunga via da percorrere. In un prossimo futuro, è possibile immaginare che l'immunosoppressione del trapianto venga guidata dalla farmacogenetica e dalla farmacogenomica, cioè quelle branche della biologia molecolare che si propongono di studiare le variazioni nella sequenza dei geni ("varianti polimorfiche") responsabili dell'efficacia e della tollerabilità di un farmaco in un determinato individuo. I test del DNA, che identificano queste varianti polimorfiche, sono in grado di predire, almeno in parte, come un paziente risponderà ad un determinato farmaco. I risultati del test genetico saranno utilizzati dal medico per scegliere quale farmaco impiegare per il trattamento di un determinato paziente, per ottimizzare il dosaggio da somministrare e per minimizzare il rischio di effetti collaterali. Buoni risultati sono già stati ottenuti in oncologia, ma lo sviluppo di queste tecniche dipende dalla capacità di identificare le variazioni genetiche in modo rapido e, possibilmente, economico.

Quest'ultimo aspetto rischia di rappresentare un potente freno per quanto riguarda la possibilità di aumentare l'efficacia o ridurre la tossicità degli schemi attualmente usati sembra resa difficile dalla crisi economica. Non solo gli studi di farmacocinetica e farmacogenomica, ma anche l'impiego di farmaci biologici molto promettenti (belatacept, abatacept, eculizumab etc) hanno un prezzo troppo elevato per potere usati nella routine clinica.

Carenza di organi da trapiantare

In tutti i paesi civili, compresa la Spagna che è la nazione con il maggiore reclutamento di organi provenienti da donatori deceduti, vi è una drammatica discrepanza tra richiesta ed offerta di reni per trapianto. Paradossalmente, questo fenomeno è in larga parte causato

Tabella 4. Principali cause di danno irreversibile del rene trapiantato.

Qualità del rene	Donatore anziano, iperteso, diabetico Danno da ischemia-riperfusione
Rigetto	Acuto (cellulare, anticorpo-mediato) Cronico (cellulare, anticorpo-mediato)
Nefrotossità farmaci	CNI Antivirali Antibiotici FANS ...
Cattiva compliance	Immunospressori Terapia sintomatica
Fattori di accelerazione	Diabete Ipertensione arteriosa Sindrome metabolica ...
Recidiva malattia originale	Glomerulonefriti primitive o secondarie Ossalosi Sindrome emolitico-uremica ...
Malattie renali <i>de novo</i>	Glomerulonefriti acute Pielonefriti Nefriti interstiziali
Infezioni vitali	Nefrite da BK virus Nefrite da CMV
Complicazioni chirurgiche	Trombosi vascolare Stenosi arteriosa Stenosi o fistola ureterale

e progressivamente aggravato dagli eccellenti risultati ottenuti col trapianto. Pazienti che consideravano il trapianto come una terapia sperimentale sono ora consapevoli dei grandi vantaggi che può offrire questo intervento e premono per essere inclusi nelle liste di attesa. Altri che fino a pochi anni fa erano esclusi dalle liste di attesa, in quanto anziani, diabetici, portatori di HCV, HBV, HIV o di altra morbilità extra-renale, sono oggi considerati come candidati idonei al trapianto. Le controindicazioni assolute al trapianto sono limitate a quei pazienti che hanno in atto una neoplasia maligna, una grave infezione o disturbi psichiatrici incontrollabili. In pazienti con insufficienza respiratoria cronica, grave cardiopatia, avanzata insufficienza epatica il trapianto di solo rene è controindicato, ma è possibile un doppio trapianto rene-polmone, rene-cuore, o rene-fegato.

Negli USA vi erano 50.000 pazienti iscritti nelle liste d'attesa nel 2000. Questo numero è quasi raddoppiato nel 2009, oltre 95.000 [27]. In Italia, non si è avuto questo enorme aumento di candidati al trapianto. Al contrario, i dati del Centro Nazionale Trapianti indicano poche oscillazioni negli ultimi anni, con liste d'attesa stabili attorno a 6.500-6.600 pazienti [28]. Anche se questo dato viene visto ottimisticamente da alcuni, dovrebbe invece essere ovvio che la maggior parte dei pazienti che ne hanno diritto vengono esclusi dalla lista d'attesa. Infatti, è difficile immaginare che soltanto 6.600 su circa 50.000 pazienti in dialisi (13%) non abbiano controindicazioni al trapianto renale. Esiste quindi una notevole disuguaglianza tra i centri dialisi italiani nel segnalare i potenziali candidati al trapianto [29]. Ciò nonostante la discrepanza tra domanda ed offerta è destinata a farsi sempre più ampia. Nel 2011 il 23% dei pazienti in lista d'attesa (1.542/6.643) ha ricevuto un trapianto renale [28]. Quindi, anche se partiamo dal 2011 ignorando il periodo precedente, dovremmo avere 5.000 potenziali riceventi ai quali vanno aggiunti i nuovi arrivi in dialisi. Ogni anno 160 nuovi pazienti per milione di abitanti (circa 9.600 persone) entrano in dialisi [30]. L'età media di questi pazienti è 67±15 anni, un'età che oggi non è più considerata come controindicazione al trapianto. Se realmente tutti i pazienti senza specifiche controindicazioni venissero ammessi alla lista d'attesa per trapianto, si raggiungerebbero numeri astronomici.

A fronte di questa progressiva carenza di reni da trapiantare, la comunità del trapianto ha proposto alcune iniziative che possono venire riassunte in: migliore organizzazione nella segnalazione di potenziali donatori da parte delle strutture ospedaliere, particolare attenzione nell'approccio ai familiari di un donatore deceduto al fine di ridurre il numero di rifiuti al prelievo, incentivazione economica alle rianimazioni, utilizzo di donatori marginali, utilizzo di donatori a cuore fermo, donazione da vivente. Quest'ultima modalità di trapianto, limitata per molti anni a riceventi e donatori HLA-identici o allo-identici, ha trovato un enorme impulso da quando è stata dimostrata ottenere le stesse probabilità di successo a lungo termine sia nei pazienti che ricevevano il rene da familiari HLA-compatibili, come genitori o fratelli, che in quelli che ricevevano il rene da donatori geneticamente estranei, come ad esempio coniugi [31] (full text). Inoltre, vi è un'ampia evidenza che la donazione di rene da parte di una persona sana non presenta rischi di nefropatia o altre complicazioni nel lungo termine [32] (full text). Mentre l'applicazione di queste proposte ha portato ad un considerevole aumento delle donazioni in alcuni paesi occidentali, in Italia ci si è limitati ad un ampio utilizzo di donatori deceduti, considerati *marginali* a causa di comorbilità dovute all'età avanzata o alla presenza di malattie cardiovascolari. Molte regioni si sono dimostrate incapaci di organizzare una rete efficiente di reclutamento di donatori deceduti. In pochissimi casi sono stati concessi incentivi alle rianimazioni più attive. L'impiego di donatori a cuore fermo non è stato realizzato.

In particolare, non è stato dato nessun impulso alla donazione da vivente, che ha anzi incontrato potenti ostacoli da parte di un Ministro della Salute (sic!), di alcuni chirurghi, di molti medici di base. Sovente, gli stessi nefrologi si sono dimostrati poco attenti alla pos-

sibilità di suggerire un trapianto da vivente ed incapaci di fornire le necessarie informazioni ai pazienti ed alle loro famiglie. Lo stesso iter diagnostico e burocratico per valutare l'idoneità clinica e psicologica del donatore è così lungo e tortuoso da scoraggiare sia il nefrologo che il donatore. Così, mentre già nel 2005 il numero di donatori viventi negli USA era superiore a quello dei donatori deceduti [31] (full text), ancora nel 2010 in Italia erano stati fatti solo 203 trapianti da vivente su un totale di 1651 (12,3%) trapianti [28]. Eppure, piace sperare a chi scrive che la sensibilità e l'interessamento a questa procedura stia crescendo nei nefrologi. Di grande importanza è la corretta informazione che dobbiamo fornire ai pazienti ed alle loro famiglie. A questo proposito è giusto menzionare alcune meritevoli iniziative, quale il recente filmato disponibile su You tube (*Stratta trapianto renale da vivente*), preparato dal gruppo di Novara.

Il futuro (?)

Le due grandi speranze per il futuro del trapianto renale sono la possibilità di avere un numero tale di reni da assicurare il pieno trattamento con trapianto per tutti gli uremici e la possibilità di rinunciare alla terapia immunosoppressiva ed ai suoi effetti collaterali inducendo una tolleranza immunologica specifica.

Possiamo sperare di risolvere o attenuare la carenza d'organi per trapianto in un prossimo futuro?

Fino a qualche anno fa, alcuni studi sperimentali sembravano indicare concrete possibilità di successo con trapianto di rene da animale (particolarmente maiale) ad uomo. Tuttavia, molti laboratori hanno abbandonato la ricerca sullo xenotrapianto, per il rischio di infezioni virali trasmesse dal maiale (zoonosi) con possibilità di successive pandemie (tipo AIDS) incontrollabili. Un'altra barriera era rappresentata dal rigetto anticorpo-mediato, la cui prevenzione avrebbe richiesto un'immunosoppressione molto aggressiva. D'altra parte, anche se venissero risolti questi problemi, le diverse caratteristiche anatomo-fisiologiche renderebbero improbabile il largo impiego di reni porcini a scopo di trapianto.

I progressi recenti della medicina rigenerativa e della bioingegneria potrebbero aprire nuove speranze.

Un approccio alternativo, tanto promettente in alcuni animali da esperimento quanto difficile da realizzare nell'uomo, è quello di creare tessuti od organi da cellule mesenchimali. Questi organi sarebbero assolutamente sterili (evitando così il rischio di infezioni da retrovirus o altri patogeni) e molto compatibili dal punto di vista immunologico. Alcuni tipi di cellule staminali ottenute da tessuti uterini, liquido amniotico o placenta hanno dimostrato la possibilità di indurre cellule pluripotenti e di produrre sorgenti di cellule staminali per applicazioni terapeutiche basate sulla bioingegneria cellulare [32] (full text). Recentemente è stata dimostrata la possibilità di costruire organoidi renali da sospensioni di cellule renali embrionali murine. Impiantando queste cellule sotto la capsula renale di un topo si è ottenuta un'ulteriore maturazione del tessuto renale, neoformazione di nefroni con glomeruli vascolarizzati e tubuli in grado di svolgere normali funzioni di riassorbimento [33] [34]. Il maggiore ostacolo che si oppone alla neoformazione di un rene è però rappresentato dalla sua complessa struttura anatomica che coinvolge una serie di diverse cellule e tessuti. Solo come esempio, mentre nello sviluppo embrionale i dotti escretori si raccolgono nel bacinetto per formare un unico sbocco nell'uretere, nei modelli di organogenesi renale si ha una moltitudine di dotti collettori scollegati tra loro. Oltre alla difficoltà di generare un rene con un'adeguata struttura tridimensionale ed apparato escretore unico, va poi verificata la possibilità che il neo-rene possa svolgere le normali funzioni endocrine [35] (full text). Una soluzione a questi problemi è possibile, ma richiederà certamente almeno 10 o più anni. Nel

breve termine, è più probabile che le tecniche di bioingegneria cellulare trovino applicazione nella rigenerazione tissutale in reni con insufficienza anatomo-funzionale prodotta da cause immunologiche o non immunologiche.

La tolleranza immunologica specifica

Nel campo dei trapianti d'organo la soluzione terapeutica ideale sarebbe quella di ottenere una tolleranza immunologica, capace di impedire lo sviluppo di qualsiasi forma di rigetto, mantenendo intatta la capacità di risposta ai vaccini e a patogeni. Come vedremo, siamo ancora lontani dall'ottenere questo tipo di tolleranza.

Esiste una tolleranza immunologica naturale che consente al nostro organismo di non reagire contro i nostri stessi antigeni. Può essere distinta in centrale e periferica. La *tolleranza centrale* si sviluppa nel timo e nel midollo osseo durante la vita fetale, quando i linfociti che riconoscono gli antigeni self vengono eliminati prima che si trasformino in cellule immunocompetenti e sviluppino autoimmunità. Questo processo può continuare oltre la vita fetale ogni qualvolta vengono generati linfociti immaturi. La *tolleranza periferica* si sviluppa quando le cellule T e B mature penetrano in periferia e rispondono ad antigeni self negli organi linfoidi secondari. La tolleranza può svilupparsi se questi linfociti auto-reattivi subiscono segnali di morte cellulare per apoptosi oppure se non vi è reattività all'antigene a causa di anergia..

Negli anni '50, il premio Nobel sir Peter Medawar aveva dimostrato che l'introduzione di antigeni estranei in feti di topo, prima cioè che si sviluppasse il sistema immunitario poteva indurre uno stato di tolleranza immunologica [36]. Si è quindi ipotizzato che dopo la completa ablazione del sistema emopoietico ed immunitario sarebbe stato possibile eseguire un trapianto d'organo che sarebbe stato accettato dal sistema immunitario dopo la sua ricostituzione. Diversi studi in diversi modelli animali di trapianto hanno verificato la validità di questi presupposti. Un successo terapeutico è stato anche ottenuto in 4 su 5 pazienti trapiantati al Massachusetts General Hospital di Boston [37]. Questi pazienti con insufficienza renale terminale hanno ricevuto un trattamento rivolto a distruggere la maggior parte delle cellule immuni prodotte dal midollo. Hanno poi ricevuto un trapianto combinato di midollo e rene da donatori viventi aploidentici. Dopo la rigenerazione midollare, le nuove cellule immunitarie si sono dimostrate tolleranti all'organo donato. Quattro soggetti sono riusciti a sospendere il trattamento immunosoppressivo senza che si verificasse alcun rigetto e senza che la funzionalità dell'organo venisse compromessa. Un paziente ha invece sviluppato un rigetto anticorpo-mediato. Per indurre questo tipo di tolleranza è però necessario ottenere una mieloablazione completa, esponendo il paziente ad una pesante chemioterapia e irradiazione massiva che possono produrre infezioni letali e sviluppo di neoplasie maligne nel lungo termine. Tale strategia terapeutica, volta a favorire un chimerismo immunologico, dovrebbe quindi essere limitata a pazienti ad alto rischio come quelli affetti da tumori maligni non altrimenti trattabili.

Una serie di altri approcci sono stati effettuati. I tentativi di eliminare o rendere anergiche le cellule T hanno avuto successo in alcuni modelli sperimentali, ma nel trapianto clinico hanno mostrato un effetto limitato. Va, infatti, ricordato che nell'allotrapianto viene generato un vastissimo repertorio di cellule alloreattive. Inoltre, un ostacolo principale è rappresentato dalle cellule della memoria. Ogni attivazione dell'immunità adattiva genera una risposta cellulare che si esaurisce dopo l'eliminazione dell'antigene, in quanto la maggior parte delle cellule va incontro ad apoptosi. Tuttavia, una sottopopolazione di cellule sopravvive e conserva la memoria immunologica nel lungo termine. E' estremamente difficile eliminare queste cellule della memoria, anche perché la premessa per eliminarle o renderle anergiche si basa sull'assenza di stimoli antigenici, mentre nel trapianto le cellule della memoria vengono continuamente stimulate dalla persistenza di antigeni estranei.

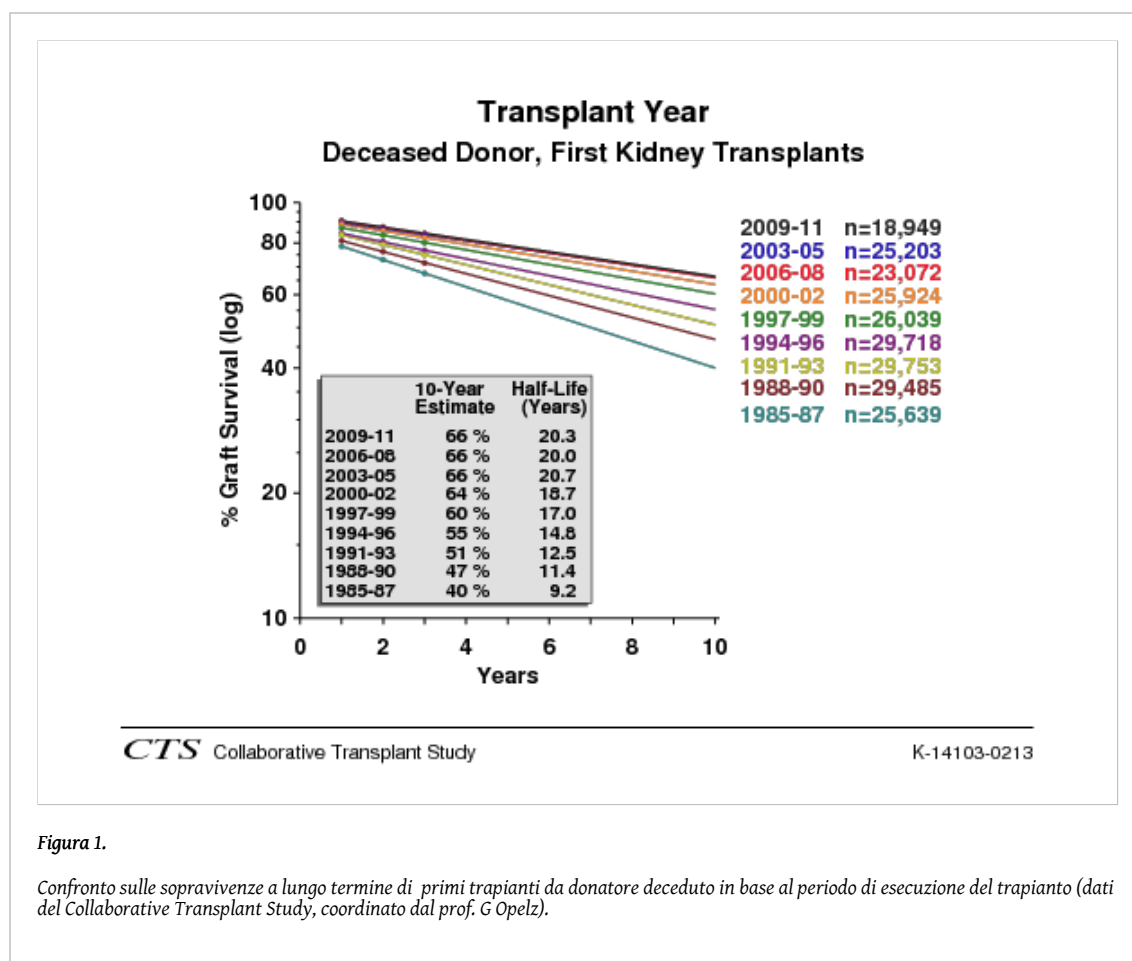
La ricerca corrente è piuttosto indirizzata ad ottenere una tolleranza *appropriata* o *operativa*, rivolta cioè ad evitare il rigetto acuto e cronico con una minima terapia immunosoppressiva. Risultati promettenti sono stati riportati da Calne, con una singola iniezione prima del trapianto di Alemtumumab, un anticorpo che riconosce ed elimina i linfociti che presentano sulla propria superficie la molecola CD52. Su 31 pazienti che ricevettero Alemtumumab e monoterapia con ciclosporina, 29 avevano ancora un trapianto renale funzionante dopo un periodo medio di 21 mesi. In questi pazienti vi furono 6 episodi di rigetto [38]. Da allora Alemtumumab è stato largamente usato come terapia di induzione. Molti centri hanno confermato la possibilità di ridurre la terapia di mantenimento, ma è stata anche riportata una maggiore incidenza di infezioni virali, infezioni opportunistiche rigetti anticorpo-mediati e perdita del trapianto rispetto a terapie di induzioni più tradizionali [39] (full text).

Un approccio diverso è diretto ad interferire sulla maturazione delle cellule dendritiche (DCs) o sulla produzione di cellule T regolatorie (CD4+CD25+FoxP3). Negli ultimi anni, è stata riconosciuta l'importanza dell'immunità innata nell'attivare l'immunità adattiva. Un ruolo di ponte fra questi due tipi di immunità è svolto dalle cellule dendritiche. Queste cellule hanno un comportamento diverso che dipende dal microambiente in cui operano. Se immature, le DCs hanno una funzione tollerogena, favorendo la produzione di cellule T regolatorie, che sopprimono una risposta immune esagerata ad antigeni self o estranei. Invece, in presenza di infiammazione, le cellule dendritiche vanno incontro a maturazione e, dopo avere intercettato l'antigene, migrano ai linfonodi ove presentano l'antigene alle cellule immunocompetenti [40], [41]. Nell'organo trapiantato il danno da ischemia-riperfusion attiva l'immunità innata che monta una risposta infiammatoria con maturazione di DCs [42] (full text). Un possibile approccio per ottenere una tolleranza operativa può quindi consistere nell'inibire la maturazione delle cellule dendritiche e favorire la produzione di cellule T regolatorie (Treg), già prima del trapianto o nell'immediato periodo post-operatorio, quando si sviluppa il danno da ischemia-riperfusion. Teoricamente, sarebbe possibile ottenere la tolleranza interferendo con l'attività di alcune cellule dell'immunità innata, come natural killers [43], inibendo il riconoscimento dell'antigene da parte dei toll-like receptors [44], o inibendo l'amplificazione del segnale di pericolo da parte di molecole adattrici come MYD88 [45]. Però, queste cellule e molecole svolgono un ruolo fondamentale nella nostra difesa contro i patogeni ed una loro alterata attività potrebbe portare allo sviluppo di infezioni letali.

Il tipo di immunosoppressione può influenzare lo sviluppo di Treg. Mentre CNI inibiscono la produzione di Treg, gli inibitori di mTOR sembrano favorirne l'espressione [46], le ATG permettono la ripopolazione di T reg dopo aver ottenuto la deplezione di linfociti [47], il bortezomib, sopprimendo il nuclear factor- κ B, inibisce la maturazione delle cellule dendritiche e favorisce la generazione di Treg [48]. Anche l'aspirina può ridurre la capacità di reattiva delle cellule dendritiche ed inibire la produzione di cellule T effettrici [49] (full text). Tuttavia, il reale impatto di questi farmaci sullo sviluppo di una tolleranza operativa non è dimostrato nella pratica clinica, anche perché esiste una enorme sproporzione fra T effettrici e Treg, che rappresentano il 5-10% delle cellule T. Inoltre, anche in presenza di farmaci favorevoli allo sviluppo di Treg, l'ischemia-reperfusion produce un'importante infiammazione del trapianto che favorisce la produzione di Th1 e Th17 alterando l'attività inibitoria delle Treg fino a trasformarle in cellule infiammatorie [50]. Risultati promettenti, ma molto preliminari, sono stati ottenuti nel trapianto di isole pancreatiche con un anticorpo monoclonale diretto contro CD3. Questo anticorpo induce apoptosi delle cellule T effettrici risparmiando invece le Treg. Se somministrato nel momento in cui si sviluppano le cellule Th1 e Th17 può indurre tolleranza immunologica. In uno studio, è stata ottenuta la completa

accettazione di isole trapiantate, iniettando basse dosi di anti-CD3 nel periodo di risposta primaria delle T cellule effettrici [51].

Ricerche recenti, hanno dimostrato che le cellule mesenchimali stromali multipotenti possano interagire con le cellule pro-infiammatorie Th17 e aumentare le cellule dendritiche tollerogeniche, inibendo la risposta alloimmune e favorendo l'accettazione del trapianto. Inoltre, queste cellule hanno la capacità di migrare nelle sedi di danno tissutale favorendo la riparazione attraverso la secrezione di fattori anti-fibrotici e pro-angiogenici [52]. Tuttavia, le cellule mesenchimali possono anche favorire lo sviluppo di infezioni opportunistiche e di neoplasie. L'efficacia e la sicurezza delle cellule mesenchimali dipendono dal tempo di somministrazione, dalla via di somministrazione e dalla provenienza delle cellule, autologhe o da donatore [53]. In uno studio randomizzato 159 pazienti trapiantati sono stati assegnati a ricevere cellule mesenchimali inoculate al momento della perfusione del rene e 14 giorni dopo più dosi standard di inibitore della calcineurina in 53 casi o basse dosi di CNI in altri 52 pazienti. Un terzo gruppo di 51 pazienti ha ricevuto invece anticorpi monoclonali anti-CD25 e dosi standard di CNI. Nei pazienti che ricevettero induzione con cellule mesenchimali il rigetto era significativamente meno frequente (7,5% e 7,7% rispettivamente) che nei controlli (21,6%). Tuttavia dopo un anno dal trapianto l'incidenza di rigetto era aumentata a 17% nei gruppi trattati con cellule mesenchimali [54] (full text). Altri studi clinici di fase 1-2 sono in corso. Tuttavia i risultati osservati in studi pre-clinici non fugano le preoccupazioni circa la sicurezza di questa metodica. Inoltre, non è chiaro quali siano i tempi, le dosi ed la via di somministrazioni ottimali. Considerando i potenziali rischi a lungo termine, ulteriori studi con *follow-ups* sufficientemente lunghi sono necessari per valutare i vantaggi ed i rischi delle cellule stromali mesenchimali.



Bibliografia

- [1] Port FK, Wolfe RA, Mauger EA et al. Comparison of survival probabilities for dialysis patients vs cadaveric renal transplant recipients. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 1993 Sep 15;270(11):1339-43
- [2] Matas AJ, Lawson W, McHugh L et al. Employment patterns after successful kidney transplantation. *Transplantation* 1996 Mar 15;61(5):729-33
- [3] van der Mei SF, van Son WJ, van Sonderen EL et al. Factors determining social participation in the first year after kidney transplantation: a prospective study. *Transplantation* 2007 Sep 27;84(6):729-37
- [4] Keown P Improving quality of life--the new target for transplantation. *Transplantation* 2001 Dec 27;72(12 Suppl):S67-74
- [5] Loubeau PR, Loubeau JM, Jantzen R et al. The economics of kidney transplantation versus hemodialysis. Progress in transplantation (Aliso Viejo, Calif.) 2001 Dec;11(4):291-7
- [6] Ojo AO, Hanson JA, Meier-Kriesche H et al. Survival in recipients of marginal cadaveric donor kidneys compared with other recipients and wait-listed transplant candidates. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2001 Mar;12(3):589-97 (full text)
- [7] Beveridge T, Calne RY Cyclosporine (Sandimmun) in cadaveric renal transplantation. Ten-year follow-up of a multicenter trial. European Multicentre Trial Group. *Transplantation* 1995 Jun 15;59(11):1568-70
- [8] Ponticelli C, Civati G, Tarantino A et al. Randomized study with cyclosporine in kidney transplantation: 10-year follow-up. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 1996 May;7(5):792-7 (full text)
- [9] Mourad G, Garrigue V, Squifflet JP et al. Induction versus noninduction in renal transplant recipients with tacrolimus-based immunosuppression. *Transplantation* 2001 Sep 27;72(6):1050-5
- [10] Vincenti F, Kirkman R, Light S et al. Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. Daclizumab Triple Therapy Study Group. *The New England journal of medicine* 1998 Jan 15;338(3):161-5 (full text)
- [11] Ponticelli C, Yussim A, Cambi V et al. A randomized, double-blind trial of basiliximab immunoprophylaxis plus triple therapy in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2001 Oct 15;72(7):1261-7
- [12] Brennan DC, Daller JA, Lake KD et al. Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation. *The New England journal of medicine* 2006 Nov 9;355(19):1967-77 (full text)
- [13] Kasiske BL, Zeier MG, Chapman JR et al. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients: a summary. *Kidney international* 2010 Feb;77(4):299-311
- [14] Webster AC, Woodroffe RC, Taylor RS et al. Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. *BMJ (Clinical research ed.)* 2005 Oct 8;331(7520):810
- [15] Halloran P, Mathew T, Tomlanovich S et al. Mycophenolate mofetil in renal allograft recipients: a pooled efficacy analysis of three randomized, double-blind, clinical studies in prevention of rejection. The International Mycophenolate Mofetil Renal Transplant Study Groups. *Transplantation* 1997 Jan 15;63(1):39-47
- [16] Remuzzi G, Cravedi P, Costantini M et al. Mycophenolate mofetil versus azathioprine for prevention of chronic allograft dysfunction in renal transplantation: the MYSS follow-up randomized, controlled clinical trial. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2007 Jun;18(6):1973-85 (full text)
- [17] Kasiske BL, Chakkeri HA, Louis TA et al. A meta-analysis of immunosuppression withdrawal trials in renal transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2000 Oct;11(10):1910-7 (full text)
- [18] Montagnino G, Tarantino A, Segoloni GP et al. Long-term results of a randomized study comparing three immunosuppressive schedules with cyclosporine in cadaveric kidney transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2001 Oct;12(10):2163-9 (full text)
- [19] Kahan BD Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. The Rapamune US Study Group. *Lancet* 2000 Jul 15;356(9225):194-202
- [20] Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *The New England journal of medicine* 2007 Dec 20;357(25):2562-75 (full text)
- [21] Salvadori M, Scolari MP, Bertoni E et al. Everolimus with very low-exposure cyclosporine a in de novo kidney transplantation: a multicenter, randomized, controlled trial. *Transplantation* 2009 Nov 27;88(10):1194-202
- [22] Ponticelli C The pleiotropic effects of mTor inhibitors. *Journal of nephrology* 2004 Nov-Dec;17(6):762-8
- [23] Montagnino G, Banfi G, Campise MR et al. Impact of chronic allograft nephropathy and subsequent modifications of immunosuppressive therapy on late graft outcomes in renal transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2004 Oct;19(10):2622-9 (full text)
- [24] Ponticelli C, Graziani G Education and counseling of renal transplant recipients. *Journal of nephrology* 2012 Nov-Dec;25(6):879-89 (full text)
- [25] Chapman JR Chronic calcineurin inhibitor nephrotoxicity--lest we forget. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2011 Apr;11(4):693-7 (full text)
- [26] 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. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2012 Feb;12(2):388-99 (full text)
- [27] Matas AJ, Smith JM, Skeans MA et al. OPTN/SRTR 2011 Annual Data Report: kidney. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2013 Jan;13 Suppl 1:11-46
- [28] Sistema Informativo Trapianti
- [29] Neri L, Gallieni M, Rocca Rey LA et al. Inequalities in Transplant Waiting List Activation across Italian Dialysis Centers. *American journal of nephrology* 2013;37(6):575-85

- [30] Limido A, Nichelatti M, Postorino M, Levaldi Ghiron JH, Di Napoli A, Maggiore U, Nordio M, Quintaliani M, Rustici A. Come cambia la popolazione uremica nel registro nazionale di dialisi e trapianto G Ital Nefrol 2012; 29 (S 58) S21-6
- [31] Gjertson DW, Cecka JM Living unrelated donor kidney transplantation. *Kidney international* 2000 Aug;58(2):491-9 (full text)
- [32] Ibrahim HN, Foley R, Tan L et al. Long-term consequences of kidney donation. *The New England journal of medicine* 2009 Jan 29;360(5):459-69 (full text)
- [33] Steinbrook R Public solicitation of organ donors. *The New England journal of medicine* 2005 Aug 4;353(5):441-4
- [34] Atala A Tissue engineering of reproductive tissues and organs. *Fertility and sterility* 2012 Jul;98(1):21-9
- [35] Ganeva V, Unbekandt M, Davies JA et al. An improved kidney dissociation and reaggregation culture system results in nephrons arranged organotypically around a single collecting duct system. *Organogenesis* 2011 Apr-Jun;7(2):83-7 (full text)
- [36] Xinaris C, Benedetti V, Rizzo P et al. In vivo maturation of functional renal organoids formed from embryonic cell suspensions. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2012 Nov;23(11):1857-68
- [37] Yokote S, Yokoo T Organogenesis for kidney regeneration. *Current opinion in organ transplantation* 2013 Apr;18(2):186-90
- [38] Billingham RE, Brent L, Medawar PB et al. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 1953 Oct 3;172(4379):603-6
- [39] Kawai T, Cosimi AB, Spitzer TR et al. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *The New England journal of medicine* 2008 Jan 24;358(4):353-61 (full text)
- [40] Calne R, Moffatt SD, Friend PJ et al. Campath 1H allows low-dose cyclosporine monotherapy in 31 cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation* 1999 Nov 27;68(10):1613-6
- [41] LaMattina JC, Mezrich JD, Hofmann RM et al. Alemtuzumab as compared to alternative contemporary induction regimens. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 2012 May;25(5):518-26
- [42] Ponticelli C The mechanisms of acute transplant rejection revisited. *Journal of nephrology* 2012 Mar-Apr;25(2):150-8 (full text)
- [43] Wood KJ, Goto R Mechanisms of rejection: current perspectives. *Transplantation* 2012 Jan 15;93(1):1-10
- [44] Land WG The role of postischemic reperfusion injury and other nonantigen-dependent inflammatory pathways in transplantation. *Transplantation* 2005 Mar 15;79(5):505-14
- [45] Orr MT, Lanier LL Natural killer cell education and tolerance. *Cell* 2010 Sep 17;142(6):847-56
- [46] Broad A, Jones DE, Kirby JA et al. Toll-like receptor (TLR) response tolerance: a key physiological "damage limitation" effect and an important potential opportunity for therapy. *Current medicinal chemistry* 2006;13(21):2487-502
- [47] Rivas MN, Koh YT, Chen A et al. MyD88 is critically involved in immune tolerance breakdown at environmental interfaces of Foxp3-deficient mice. *The Journal of clinical investigation* 2012 May 1;122(5):1933-47
- [48] Sathaliyawala T, O'Gorman WE, Greter M et al. Mammalian target of rapamycin controls dendritic cell development downstream of Flt3 ligand signaling. *Immunity* 2010 Oct 29;33(4):597-606
- [49] Boenisch O, Lopez M, Elyaman W et al. Ex vivo expansion of human Tregs by rabbit ATG is dependent on intact STAT3-signaling in CD4⁺ T cells and requires the presence of monocytes. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2012 Apr;12(4):856-66 (full text)
- [50] Weng J, Lai P, Lv M et al. Bortezomib modulates regulatory T cell subpopulations in the process of acute graft-versus-host disease. *Clinical laboratory* 2013;59(1-2):51-8
- [51] Buckland M, Lombardi G Aspirin and the induction of tolerance by dendritic cells. *Handbook of experimental pharmacology* 2009;(188):197-213
- [52] Chadha R, Heidt S, Jones ND et al. Th17: contributors to allograft rejection and a barrier to the induction of transplantation tolerance? *Transplantation* 2011 May 15;91(9):939-45
- [53] You S, Zuber J, Kuhn C et al. Induction of allograft tolerance by monoclonal CD3 antibodies: a matter of timing. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2012 Nov;12(11):2909-19
- [54] Reinders ME, Fibbe WE, Rabelink TJ et al. Multipotent mesenchymal stromal cell therapy in renal disease and kidney transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2010 Jan;25(1):17-24 (full text)