



Karolina Kędzierska¹, Monika Nowosiad², Ewa Kwiatkowska¹, Katarzyna Sporniak-Tutak³,
Stefania Giedrys-Kalemba², Kazimierz Ciechanowski¹

¹Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

²Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

³Zakład Chirurgii Stomatologicznej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

Tolerancja immunologiczna u pacjenta z autosomalnym dominującym zwyrodnieniem wielotorbielowatym nerek po transplantacji nerki

Immunological tolerance in patient with autosomal dominant polycystic kidney disease after renal transplantation

ABSTRACT

Despite a significant progress in immunosuppressive treatment of patients after solid organs transplantations and a decrease in the number of acute rejection episodes, there has been no improvement achieved in late graft and recipient survival. In a search for new therapeutic solutions attempts are being made to induce immune tolerance selectively against graft antigens. In this article we discuss the

clinical case of ADPKD patient, where despite considerable reduction of immunosuppressive therapy due to severe septic complications shortly after the transplantation, acute rejection of the transplant kidney is not observed. We analyze possible mechanisms of immune tolerance induction suspected in case of presented patient.

Forum Nefrologiczne 2010, vol. 3, no 3, 174–178

Key words: renal transplantation, ADPKD, immune tolerance

WSTĘP

W ciągu ostatnich 20 lat dokonał się olbrzymi postęp w transplantacji narządów unaczynionych. Dzięki temu zmniejszyły się odsetek epizodów ostrego odrzucania oraz poprawiły się wyniki krótkotrwałego przeżycia greftu; niestety nie wpłynęły one znacząco na wyniki odległe przeżycia przeszczepionego narządu ani jego biorcy [1]. Utrata funkcji przeszczepionego narządu jest spowodowana wieloma przyczynami, w tym immunologicznymi.

W prawidłowo rozwiniętym układzie odpornościowym „obce” antygeny kontaktujące się z układem immunologicznym są przez niego rozpoznawane i eliminowane. Podobnie antygeny HLA dawcy przeszczepionego narządu wywołują niszczącą odpowiedź zapalną [1, 2].

Aby jej zapobiec, stosuje się leki immunosupresyjne, co skutkuje nieswoistym obniżeniem reaktywności w stosunku do wszystkich obcych antygenów i prowadzi do licznych powikłań infekcyjnych i nowotworowych [1]. Dla-

Adres do korespondencji:
dr n. med. Karolina Kędzierska
Klinika Nefrologii, Transplantologii
i Chorób Wewnętrznych Pomorskiej
Akademii Medycznej w Szczecinie
Al. Powstańców Wielkopolskich 72,
70–111 Szczecin
tel.: (91) 466 11 97
faks: (91) 466 11 96

tego podejmuje się próby wywołania w organizmie stanu tolerancji wybiórczej dla antygenów graftu — byłyby to idealny stan u biorcy przeszczepionego narządu. Tolerancja immunologiczna to zjawisko określające brak reakcji immunologicznej na swoisty antygen. Jest podstawowym procesem w trakcie dojrzewania układu immunologicznego, kiedy to są eliminowane autoreaktywne limfocyty powstające w wyniku losowej rearanżacji genów warunkujących swoistość i obejmuje liczne mechanizmy — tolerancję centralną — kiedy to autoreaktywne limfocyty T są usuwane w grasicy, a B w szpiku (delecja klonalna) oraz tolerancję obwodową, do której należą sekwestracja anatomiczna, anergia klonalna i aktywna supresja przez limfocyty T regulatorowe. Ważny aspekt fizjologicznej tolerancji to tolerancja śluzówkowa, proces niezbędny dla prawidłowego funkcjonowania organizmu ciągle stykającego się z obcymi antygenami. Wadliwe funkcjonowanie tych procesów powoduje powstanie chorób autoimmunologicznych i alergii [2].

W transplantologii tolerancja to brak niszczącej odpowiedzi immunologicznej na obecność graftu w organizmie o prawidłowo rozwiniętym układzie immunologicznym. Nie oznacza całkowitego braku reakcji układu immunologicznego na przeszczep, a raczej brak niszczącej odpowiedzi na niego przy obecnej kompetentnej immunologicznej odpowiedzi ogólnej [1, 3].

Aby to osiągnąć, próbuje się naśladować mechanizmy fizjologicznej tolerancji centralnej i obwodowej, jednak większość tych prób pozostaje na etapie doświadczeń na modelach zwierzęcych i pierwszych prób klinicznych [4]. Podejmowano próby wytworzenia stanu mikrochimerizmu (transplantacji narządu wraz z przeszczepem szpiku) w osłonie immunosupresji, [5] eliminowania limfocytów (delecja limfocytów z użyciem surowic antylimfocytarnych), blokowania ich aktywacji (anergię), wpływania na regulację immunologiczną z udziałem komórek supresyjnych T regulatorowych czy sieci cytokinowej (supresja), odizolowania „obcych antygenów”, stosując peptydy blokujące receptory, opłaszczanie MHC komórek czy maksymalny dobór immunologiczny [6, 7]. Na próby kliniczne oczekuje również metoda wywołująca tolerancję przez podanie antygeny na śluzówki. Inne metody wywołania tolerancji są ze względów technicznych niemożliwe (jak np. sekwestracja anatomiczna wykorzystująca naturalne bariery dla układu immunologicznego, tolerancja noworodkowa) lub przy obecnym stanie

wiedzy są zbyt ryzykowne i nieprzewidywalne (tolerancja z wyczerpania klonu w wyniku połącznej odpowiedzi immunologicznej) [2, 7].

OPIS PRZYPADKU

Pacjent W.K., lat 57, z przewlekłą niewydolnością nerek w przebiegu autosomalnej dominującej postaci zwyrodnienia wielotorbielowatego nerek (ADPKD, *autosomal dominant polycystic disease*). Chorobę rozpoznano u niego w 40. roku życia podczas rutynowego badania USG. W wywiadzie rozpoznano ponadto nadciśnienie tętnicze — również w 40. roku życia. Pacjenta objęto stałą opieką poradni nefrologicznej. Schyłkowa niewydolność nerek wystąpiła w 53. roku życia, rozpoczęto wówczas dializoterapię na przetocze naczyniowej. W trakcie przygotowywania do procedury transplantacji nerki usunięto obie nerki własne. Ze względu na olbrzymich rozmiarów torbiele w wątrobie zdecydowano o ich resekcji — przebieg pooperacyjny był powikłany chłonnokotkiem, a następnie ropniem w okolicy wątroby, wymagającym relaparotomii oraz długotrwałej antybiotykoterapii. Pacjenta zakwalifikowano do transplantacji nerki od dawcy zmarłego. Procedurę transplantacji wykonano w dniu 28 marca 2007 roku. Przebieg pooperacyjny był niepowikłany, diureza — natychmiastowa, nastąpił szybki spadek kreatyniny do wartości 0,64 mg/dl. Czas zimnego niedokrwienia — 8 godzin, 15 min, zgodność HLA = 18 punktów. W leczeniu zastosowano indukcję basiliximabem 20 mg (doba 0 i 4). Podawano metylprednizolon w sumarycznej dawce 375 mg, Encorton 2–3 doby 1 × 100 mg, następnie w zmniejszających się dawkach do 20 mg przy wypisie, belatacept — 730 mg dożylnie przed transplantacją, następnie w 4., 14. dobie i co 2 tygodnie we wlewach dożylnych. Ponadto stosowano CellCept 2 × 1 g. Pacjent czuł się bardzo dobrze, zgłaszał się na systematyczne kontrole i podaż belataceptu. Sześć tygodni po transplantacji nerki u pacjenta wystąpiła nagle wysoka gorączka — 41° C z towarzyszącymi dreszczami. W badaniach dodatkowych stwierdzono obecność wskaźników stanu zapalnego, w posiewie krwi wyhodowano *Escherichia coli* wrażliwą na wiele antybiotyków. W badaniu USG stwierdzono wśród licznych torbieli wątroby istnienie jednej o podwyższonej echogeniczności. Wysunięto podejrzenie ropnia wątroby. Torbiel budzącą podejrzenie odbarczono chirurgicznie, założono dren. Mimo włączenia Zin-

»W transplantologii tolerancja to brak niszczącej odpowiedzi immunologicznej na obecność graftu w organizmie o prawidłowo rozwiniętym układzie immunologicznym«

►► Obecnie największe nadzieje na wywołanie tolerancji immunologicznej wiąże się z blokowaniem aktywności limfocytów T ◀◀

natu, nie stwierdzono poprawy, dopiero leczenie Tienamem spowodowało ustąpienie gorączki i powrót do wartości prawidłowych wskaźników stanu zapalnego. Kontynuowano leczenie immunosupresyjne, opuszczono 1 dawkę belataceptu. W ciągu kolejnych 10 tygodni pacjent nie gorączkował, wyniki badań były stabilne, kreatynina w granicach 0,6–0,7 mg/dl, otrzymywał leczenie zgodnie ze schematem (Encorton 1 × 20 mg, CellCept 2 × 750 mg, belatacept 730 mg co 2 tygodnie, następnie co miesiąc). Po tym czasie wystąpiła kolejna gorączka do 40° C z dreszczami. W posiewie ponownie wyhodowano wielowrażliwą *Escherichia coli*. W tomografii komputerowej jamy brzusznej nie uwidoczniiono patologicznego wzmocnienia w obrębie którejkolwiek z licznych torbieli wątroby. Z powodu podejrzenia zakażenia wykonano drenaż 15 największych torbieli wątroby i kontynuowano antybiotykoterapię celowaną. Mimo leczenia i uzyskania ujemnych posiewów kontrolnych krwi, pacjent nadal gorączkował (do 38° C). Odstawiono belatacept, w leczeniu immunosupresyjnym utrzymano CellCept 2 × 750 mg i Encorton 1 × 15 mg. W ciągu kolejnych miesięcy pacjenta hospitalizowano wielokrotnie z powodu posocznicy *Escherichia coli*. Gorączka nie występowała wyłącznie podczas dożylniej antybiotykoterapii Tienamem. W posiewach krwi wciąż hodowano *Escherichia coli*. Stężenie kreatyniny wynosiło 0,6 mg/dl. W dziewiątym miesiącu po transplantacji zdecydowano o odstawieniu CellCeptu, w leczeniu immunosupresyjnym pozostawiono jedynie Encorton 1 × 15 mg. Mimo to u pacjenta nadal występowały objawy posocznicy. W jedenastym miesiącu po transplantacji wykonano badanie kolonoskopowe oraz badanie scyntygraficzne znakowanymi leukocytami. W badaniu kolonoskopowym wykazano obecność licznych uchyłków jelita grubego, nie stwierdzono makroskopowych cech zapalenia uchyłków. W badaniu scyntygraficznym wykazano obecność patologicznego gromadzenia leukocytów w środkowej części jamy brzusznej w rzucie kręgosłupa na wysokości poprzecznicy. Wykonano hemikolektomię lewostronną. Od czasu zabiegu nie stwierdzono u pacjenta gorączki. Przez kolejne 2 lata po transplantacji pacjenta leczono wyłącznie Encortonem 1 × 15 mg. Wyniki badań pozostają stabilne, kreatynina w granicach 0,9–1,0 mg/dl. W trzydziestym miesiącu od transplantacji do leczenia immunosupresyjnego dołączono Certican, początkowo w dawce

1 × 0,75 mg, następnie po upewnieniu się o bezpieczeństwie stosowanej terapii dawkę zwiększono do 2 × 1,5 mg. Obecnie u pacjenta stężenie kreatyniny występuje w granicach 1,1 mg/dl, mocznika — 29 mg/dl. Dotychczas nie wykonywano biopsji nerki — jest ona planowana po ustąpieniu zakrzepicy żyły podobojczykowej prawej, z powodu której pacjent jest leczony Sintromem.

DYSKUSJA

Przy obecnym stanie wiedzy, uzyskanie całkowitej tolerancji utrzymującej się bez jakiegokolwiek leczenia prawdopodobnie nie jest możliwe do osiągnięcia. Dotychczas wszystko, co udało się uzyskać u ludzi, to stan tak zwanej „prawie tolerancji”, w którym przeszczep zachowuje dobrą czynność mimo niewielkiej immunosupresji lub immunomodulacji, bezpiecznej dla pacjenta i potencjalnie chroniącej przed wystąpieniem przewlekłego odrzucania.

Czy w opisywanym przypadku doszło do wywołania zjawiska tolerancji?

Wiele na to wskazuje. Minimalna immunosupresja, która wystarcza w tym przypadku, mieści się z pewnością w definicji „prawie tolerancji”. Warto zastanowić się nad mechanizmami, które mogły doprowadzić do takiego stanu immunologicznego.

Niewątpliwie czynnikiem sprzyjającym był wyjątkowo wysoce zbliżony dobór immunologiczny antygenów głównego układu zgodności tkankowej dawcy i biorcy — zgodność w zakresie HLA wynosiła 18 punktów i obejmowała oba antygeny HLA klasy II, która czyni graft na tyle immunologicznie „podobnym”, że intensywność reakcji immunologicznej jest znacznie obniżona. Im większe podobieństwo do antygenów własnych, tym łatwiejsza jest indukcja tolerancji [8].

Ponadto pacjent otrzymał dość intensywne leczenie immunosupresyjne o różnych punktach uchwytu w procesie hamowania aktywacji limfocytów — w ramach indukcji zastosowano basiliximab, następnie przez 5 miesięcy pacjent otrzymywał belatacept, przy niewielkich dawkach standardowych leków immunosupresyjnych (CellCept i Encorton). Obecnie największe nadzieje na wywołanie tolerancji immunologicznej wiąże się z blokowaniem aktywności limfocytów T. Starsze metody opierają się na niszczeniu limfocytów — delecji (surowice antytymocytarne, anntyCD3, antyCD4, antyCD8, antyCD20), nowszej indukcji stanu anergii, czyli braku reaktywności limfocytów mimo swoiste-

go rozpoznania, poprzez hamowanie ich aktywacji na różnych etapach złożonego procesu odpowiedzi immunologicznej na obcy antygen [1, 6, 7]. Do aktywacji limfocyta koniecznych jest wiele sygnałów i interakcji — począwszy od adhezji cząsteczek ICAM 1(CD154) i 3 z LFA-1(CD11a/CD18), przez swoiste rozpoznanie antygeny zaprezentowanego w rowku MHC przez receptor TCR z jego koreceptorem CD3 (I sygnał), kostymulację (II sygnał), w której najważniejsze są interakcja białek z rodziny B7 [B7.1(CD80) i B7.2(CD86)] z CD28 i jej alternatywnym homologiem CTLA-4(CD152), przez działanie sygnałów cytokinowych, szczególnie interleukiny Il-2, między innymi na receptor Il2R (CD25), aż po III sygnał — transmisję sygnału aktywacji wewnątrz komórki, prowadzącego do aktywacji komórki, która zaczyna proliferować i syntetyzować cytokiny [2, 9]. Podstawowym narzędziem wykorzystanym do specyficznie ukierunkowanego działania są przeciwciała monoklonalne swoiste dla różnego rodzaju cząstek kostymulacyjnych lub receptorów [(antyCD3 (OKT3), anty-Il2R (podjednostka alfa Tac — daklizumab, anty CD25 — basiliximab), antyCD20 (rituksimab), CTLA-4Ig (belatacept), anty CD52 (alemtuzumab)] [1].

Obecnie najwięcej uwagi w kontekście indukcji tolerancji poświęca się interakcjom II fazy sygnału (szczególnie kostymulacji B7 z jego ligandem i CD 40 z jego ligandem) — ich zablokowanie nie tylko hamuje aktywację limfocytów T, ale także prowadzi do ich anergii, a więc wytworzenia tolerancji [10, 11].

Tolerancja wynikająca z blokady czy delecji nie musi być trwała, gdyż może być zależna od tworzenia nowych limfocytów z ich prekursorów. Także czas utrzymywania się przeciwciał monoklonalnych w krwiobiegu jest ograniczony i wynosi 4–6 tygodni. Tymczasem efekt supresyjny w przypadku opisywanym przez autorów niniejszego artykułu utrzymywał się przez 3 kolejne lata, mimo przerwania podawania belataceptu i stosowania minimalnej immunosupresji wymuszonej ciężkimi powikłaniami infekcyjnymi. W takiej sytuacji stan anergii limfocytów T wydaje się prawdopodobny.

Trwalsze efekty mogłyby także wynikać z indukcji regulatorowych komórek T o potencjale supresyjnym. Wyniki badań wykazują, że po przeszczepie nerki odsetek komórek T regulatorowych, określanych jako CD4(+)CD25(+)IL-7Rlow, ściśle koreluje z rozwojem tolerancji przeszczepionego narządu [12, 13]. Wywołanie tolerancji z użyciem komórek regulatorowych jest możliwa przez

zahamowanie innych komórek lekami immunosupresyjnymi lub przeciwciałami, co ułatwia spontaniczną ekspansję komórek regulatorowych, a także przez izolację tych komórek od biorcy, stymulację ich *ex vivo* komórkami dawcy i podanie przed zabiegiem przeszczepienia, co jest jednak możliwe tylko w przypadku przeszczepów od dawców żywych [7].

Na siłę odpowiedzi immunologicznej wpływa także regulacja cytokinowa. W zapobieganiu aktywacji limfocytów szczególnie są pożądane cytokiny o potencjale hamującym odpowiedź komórkową — TGFbeta i Il-10 [14]. Podobnie hamujące efekty można uzyskać przez zahamowanie produkcji lub receptorów najbardziej aktywnych interleukin, wśród których najsilniejszą jest Il-2 (Il2R = CD25 blokowany przez basiliximab). Także zablokowanie działania chemokiny Mig (CXCL-9) ogranicza naciekanie przeszczepu skóry przez limfocyty T [7].

Wykorzystując dane i narzędzia, którymi dysponuje się w codziennej praktyce, trudno jest wskazać jednoznacznie procesy immunologiczne, które miały miejsce w przypadku opisanym przez autorów niniejszego artykułu, oraz z całą pewnością powiedzieć, że zaobserwowana 3-letnia dobra funkcja przeszczepionej nerki przy minimalnych dawkach leków immunosupresyjnych jest wynikiem tolerancji immunologicznej. W przedstawionym przypadku można również tworzyć inne hipotezy, tłumaczące brak reaktywności układu immunologicznego.

Obserwacja przebiegu potransplantacyjnego biorców wskazuje na fakt, że niezależnie od skomplikowanych procedur immunologicznych, reaktywność organizmu na obecność obcych komórek maleje z czasem. Świadczy o tym utrzymująca się długoletnia „przeżywalność” graftu, mimo malejącej immunosupresji, a tłumaczy się to różnymi zmianami morfologicznymi i funkcjonalnymi, jakie występują w przeszczepionym narządzie z biegiem czasu — leukocyty pasażerskie, blokada receptorów wolnymi MHC.

Poza tym na zmniejszoną odpowiedź układu immunologicznego u przedstawionego pacjenta mógł również wpłynąć jego wiek w momencie transplantacji. W miarę starzenia się organizmu spada aktywność odpowiedzi immunologicznej, szczególnie komórkowej, a ta jest kluczowa w procesie odrzucania przeszczepu, dlatego obserwuje się niższe jego ryzyko u osób starszych [15].

Kolejne pytanie to: czy nawracające epizody posocznicy mogły mieć jakikolwiek wpływ na

wywołanie tolerancji u pacjenta? Opisuje się wprawdzie zjawisko tolerancji z wyczerpania klonu w wyniku potężnej odpowiedzi immunologicznej, jednak dotyczy to klonu swoistego dla antygeny, na który wytworzyła się tolerancja. Można się jednak zastanowić, czy układ immunologiczny zajęty walką z bakterią *Escherichia coli* jest w pełni wydolny w walce z innymi, mniej „zjadliwymi” antygenami? Układ immunologiczny funkcjonuje jako całość, a regulacja odpowiedzi immunologicznej przebiega w ten sposób, że mniej przydatne elementy układu odpornościowego są hamowane przez te bardziej wydajne w danym procesie. W eliminacji patogenów zewnątrzkomórkowych, a takim jest *Escherichia coli*, potrzebna jest aktywność komórek fagocytujących, którym pomaga odpowiedź swoista humoralna. Promocja odpowiedzi humoralnej wiąże się z hamowaniem odpowiedzi komórkowej między innymi z udziałem

cytokin, z których największe znaczenie przypisuje się Il-10 [2]. Etapy rekrutacji leukocytów do przeszczepionego narządu zależą od lokalnego stężenia cytokin. Czy w sytuacji maksymalnego zaangażowania układu humoralnego do walki o przeżycie przyhamowany układ komórkowej odpowiedzi immunologicznej pacjenta „przestał dostrzegać” nerkę przeszczepioną? Na te pytania nie ma odpowiedzi.

Autorzy niniejszego artykułu z zainteresowaniem będą się przyglądać wynikom badań nad funkcjonowaniem układu immunologicznego, rozwojem tolerancji immunologicznej oraz wieloletnim obserwacjom pacjentów poddawanych terapii lekami mającymi potencjał indukcji tolerancji. Obserwowanie opisanego pacjenta przez kolejne lata oraz planowanie biopsji nerki przeszczepionej być może dadzą odpowiedź na temat zaistniałych procesów immunologicznych i „kondycji” przeszczepionego narządu.

STRESZCZENIE

Mimo dużego postępu w zakresie leczenia immunosupresyjnego pacjentów po transplantacji narządów unaczynionych i zmniejszeniu odsetka epizodów ostrego odrzucania nie uzyskano poprawy odległych wyników przeżycia przeszczepionego narządu ani jego biorcy. W poszukiwaniu nowych rozwiązań terapeutycznych podejmuje się próby wywołania w organizmie biorcy stanu tolerancji wybiórczej dla antygenów narządu przeszczepionego. W niniejszej pracy opisano przypadek pacjenta z autosomalnie dominującą

postacią zwyrodnienia wielotorbielowatego nerek (ADPKD, *autosomal dominant polycystic disease*), u którego z powodu ciężkich powikłań septycznych, które wystąpiły krótko po transplantacji, odstawiono leczenie immunosupresyjne i nie zaobserwowano ostrego odrzucania przeszczepionej nerki. Zanalizowano możliwe mechanizmy wywołania tolerancji immunologicznej w opisywanym przypadku.

Forum Nefrologiczne 2010, tom 3, nr 3, 174–178

Słowa kluczowe: tolerancja transplantologiczna, przeszczep nerki, limfocyty regulatorowe, cytokiny, inhibitory kostymulacji

Piśmiennictwo

1. Danovitch G.M. Podręcznik transplantacji nerek. Czelej, Lublin 2007.
2. Male D., Roth D.B., Roitt I., Brostoff J. Immunologia. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2008.
3. Seyfert-Margolis V., Feng S. Tolerance: is it achievable in pediatric solid organ transplantation? *Pediatr. Clin. North Am.* 2010; 57: 523–538.
4. Graves S.S., Stone D., Loretz C. i wsp. Establishment of long-term tolerance to SRBC in dogs by recombinant canine CTLA4-Ig. *Transplantation*. 2009; 88: 317–322.
5. Janes S., Dhaliwal P., Wood K. Tolerance in renal transplantation: is mixed chimerism the missing link? *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009; 24: 1726–1729.
6. Casiraghi F., Aiello S., Remuzzi G. Transplant tolerance: progress and challenges. *J. Nephrol.* 2010 Mar 24. pii: AF0CF470-BE9C-4E08-9EE5-5839A44D8CA2. [Epub ahead of print]
7. Krajewska M., Weyde W., Klinger M. Tolerancja immunologiczna po przeszczepieniu nerki. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2006; 60: 163–169.
8. Sykes M., Sachs D.H. Tolerance. W: *Giannis L.C., Cosimi A.B., Morris P.J. (red.). Transplantation. Blackwell Science, Malden Massachusetts 1999; 79–93.*
9. Sayegh M.H., Turka L.A. The role of T-cell costimulatory activation pathways in transplant rejection. *N. Engl. J. Med.* 1998; 338: 1813–1821.
10. Sakthivel P. Bench to bedside of CTLA-4: a novel immunotherapeutic agent for inflammatory disorders. *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug. Discov.* 2009; 3: 84–95.
11. Lechler R.I., Chai J.G., Marelli-Berg F. i wsp. The contributions of T-cell anergy to peripheral T-cell tolerance. *Immunology* 2001; 103: 262–269.
12. De Serres S.A., Sayegh M.H., Najafian N. Immunosuppressive drugs and Tregs: a critical evaluation! *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 4: 1661–1669.
13. Waldmann H., Graca L., Cobbold S. i wsp. Regulatory T cells and organ transplantation. *Semin. Immunol.* 2004; 16: 119–126.
14. Zeller J.C., Panoskaltis-Mortari A., Murphy W.J. i wsp. Induction of CD 4+ T cell allo-antigen hyporesponsiveness by Il-10 and TGF-beta. *Journal of Immunology* 1999; 163: 3684–3691.
15. Friedman A.L., Goker O., Kalish M.A. i wsp. Renal transplant recipients over aged 60 have diminished immune activity and a low risk of rejection. *Int. Urol. Nephrol.* 2004; 36: 451–456.