

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

AYLA CAROLINA DE ALMEIDA

Monitoramento de aloanticorpos HLA em pacientes renais transplantados da
região Norte/Noroeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil

Maringá
2017

AYLA CAROLINA DE ALMEIDA

Monitoramento de aloanticorpos HLA em pacientes renais transplantados da
região Norte/Noroeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde
Área de concentração: Saúde Humana
Orientador: Prof.a Dr.a Sueli Donizete Borelli

Maringá

2017

FOLHA DE APROVAÇÃO

AYLA CAROLINA DE ALMEIDA

Monitoramento de aloanticorpos HLA em pacientes renais transplantados da região Norte/Noroeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof^ª. Dr^ª. Sueli Donizete Borelli
Universidade Estadual de Maringá

Prof^ª. Dr^ª. Sandra Mara Alessi Aristides
Universidade Estadual de Maringá

Prof^ª. Dr^ª. Eliane Papa Ambrósio
Universidade Estadual de Maringá

Prof^ª. Dr^ª. Rejane Cristina Ribas
Faculdade Integrado de Campo Mourão

Aprovada em: 30 de março de 2017.

Local de defesa: Sala 01, Bloco 126, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

DEDICATÓRIA(S)

Dedico este trabalho a todos que
contribuíram para sua realização
e que estiveram ao meu lado
neste momento.

AGRADECIMENTO(S)

Primeiramente a Deus por me permitir estar aqui, por guiar meus caminhos e por ser minha fonte de força nos momentos difíceis.

Aos meus pais Marcia e Robson que não mediram esforços para que eu pudesse me dedicar exclusivamente à realização desse sonho.

À minha irmã Thayli e minha avó Isabel pelo incentivo e pelas orações.

Ao meu namorado Ryan que desde o início esteve ao meu lado, me encorajando e incentivando.

Aos amigos que se mantiveram presentes mesmo com a minha ausência em muitos momentos.

À minha orientadora Sueli Borelli pela confiança, por dividir todo seu conhecimento comigo e me auxiliar nas dificuldades.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão desse trabalho.

Monitoramento de aloanticorpos HLA em pacientes renais transplantados da região Norte/Noroeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil

RESUMO

O processo de rejeição que pode levar a perda do enxerto renal pós-transplante se inicia com uma resposta imunológica do receptor contra o órgão transplantado, e o sistema HLA é um dos principais envolvidos nesse processo. Neste trabalho foi monitorada a presença de aloanticorpos HLA, no pré e pós-transplante renal, em pacientes da região Norte e Noroeste do Paraná, Brasil. Foram estudados 103 pacientes submetidos ao transplante renal. Foi realizada a tipificação HLA pelo método de reação em cadeia da polimerase-sequência específica de oligonucleotídeos (PCR-SSO), associado à tecnologia Luminex e a detecção de aloanticorpos HLA através da metodologia LabScreen (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, EUA). Dentre os 103 pacientes estudados, 58 (56,4%) receberam enxerto de doador falecido, os demais de doador vivo relacionado. Na fase pré-transplante 40 (38,8%) dos pacientes apresentaram aloanticorpos HLA. Destes 40, 18 (45,0%) reagiram ao Painel Reativo de Anticorpos (PRA) para HLA-classe I, 9 (22,5%) para classe II e 13 (32,5%) para ambas as classes. Sobre a PRA no 6º mês pós-transplante, observamos que 71 (68,9%) pacientes não apresentaram anticorpos e 32 (31,1%) pacientes apresentaram (PRA \neq 0), sendo que 17 (53,1%) tinham PRA positiva para classe I, 5 (15,6%) para classe II e 10 (31,3%) para ambas as classes. No 12º mês pós-transplante, dos 59 pacientes acompanhados, observamos que 42 (40,7%) pacientes não apresentaram anticorpos (PRA = 0) e 17 (59,3%) pacientes apresentaram, sendo 8 (47,0%) positivos para classe I, 5 (29,4%) para classe II e 4 (23,6%) para ambas. Nos pacientes monitorados durante 6 meses foi observado aumento no percentual de PRA para classe I em 11,6%, diminuição em 19,4% e inalterado em 68,9% quando comparado ao PRA antes do transplante. Para classe II, houve aumento de PRA em 3,9% dos pacientes, diminuição em 15,5% e inalterado em 80,6%. Nos pacientes monitorados durante 12 meses foi observado aumento no percentual de PRA para classe I em 11,9%, diminuição em 11,9% e inalterado em 76,3%. Para HLA classe II houve aumento do percentual de PRA em 6,8%, diminuição em 13,6% e inalterado em 79,7%. Em dois grupos de pacientes monitorados houve maior porcentagem de diminuição de PRA em pacientes maiores de 50 anos quando comparados com os de até 50 anos. Este estudo poderá contribuir para o entendimento da cinética da produção de aloanticorpos HLA e minimizar os processos de rejeição mediante uma imunossupressão individualizada.

Palavras-chave: Anticorpos. Antígenos HLA. Rejeição de enxerto.

Monitoring of HLA alloantibodies in kidney patients transplanted from the North / Northwest region of the State of Paraná, Southern Brazil

ABSTRACT

The rejection process that can take the loss of the renal graft after transplantation starts with an immune response of the receptor against the transplanted organ, being the HLA system one of the main involved in this process. In this study, the presence of HLA alloantibodies in the pre and post renal transplantation was monitored in patients from the North and Northwest region of Paraná, Brazil. A total of 103 patients undergoing renal transplantation were studied. HLA typing was performed using the polymerase chain reaction-oligonucleotide specific sequence (SSO-PCR) method, associated with Luminex technology and detection of HLA alloantibodies using the LabScreen methodology (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, USA). Among the 103 patients studied, 58 (56.4%) received a deceased donor graft, the remaining from a related live donor. In the pre-transplantation phase 40 (38.8%) of the patients presented HLA alloantibodies. Of these 40, 18 (45.0%) reacted to the Antibody Reactor Panel (PRA) for HLA-class I, 9 (22.5%) for class II and 13 (32.5%) for both classes. About PRA in the 6th month after transplantation, we observed that 71 (68.9%) patients had no antibodies and 32 (31.1%) patients had (PRA \neq 0), and 17 (53.1%) had PRA Positive for class I, 5 (15.6%) for class II and 10 (31.3%) for both classes. In the 12th month after transplantation, of the 59 patients followed up, we observed that 42 (40.7%) patients presented no antibodies (PRA = 0) and 17 (59.3%) patients presented, of which 8 (47.0%) were positive for class I, 5 (29.4%) for class II and 4 (23.6%) for both. In patients monitored for 6 months, an increase in the percentage of PRA for class I was observed in 11.6%, decrease in 19.4% and unchanged in 68.9% when compared to PRA before transplantation. For class II, there was an increase in PRA in 3.9% of patients, a decrease of 15.5% and an unchanged rate of 80.6%. In patients monitored for 12 months, an increase in the percentage of PRA for class I was observed in 11.9%, decrease in 11.9% and unchanged in 76.3%. For HLA class II there was an increase in the percentage of PRA in 6.8%, decrease in 13.6% and unchanged in 79.7%. In two groups of patients monitored, there was a higher percentage of PRA reduction in patients over 50 years of age when compared to those up to 50 years of age. This study may contribute to the understanding of the kinetics of HLA alloantibody production and to minimize the rejection processes through an individualized immunosuppression.

Keywords: Antibodies. HLA antigens. Graft Rejection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Mapa do MHC humano.....	13
Figura 1. Distribuição de pacientes com teste positivo para aloanticorpos HLA classe I, classe II e classe I/II antes do transplante, determinados através da PRA.....	28
Figura 2. Distribuição de pacientes com teste positivo para aloanticorpos HLA classe I, classe II e classe I/II 6 e 12 meses após o transplante, determinados através da PRA.....	29
Tabela 1. Comparação do percentual de PRA classe I e II nos períodos pré-transplante e após o transplante (6 e 12 meses).....	30
Tabela 2. Comparação do percentual de PRA classe I e II nos períodos pré-transplante e após o transplante (6 e 12 meses) e faixa etária.....	30

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da ABNT (Capítulo I) e das publicações científicas (Capítulo II): Journal of Clinical Laboratory Analysis.

Disponível em:

<[http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/\(ISSN\)1098-2825/homepage/ForAuthors.html](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/(ISSN)1098-2825/homepage/ForAuthors.html)>

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO I	11
1.1. Doença Renal Crônica	11
1.2. Transplante Renal	11
1.3. Complexo Principal de Histocompatibilidade	12
1.4. Sistema HLA e a rejeição de enxertos	14
1.5. Avaliação Imunológica	15
1.5.1. Tipificação HLA	15
1.5.2. PRA	16
1.5.3. Prova cruzada	16
1.6. Justificativa	16
1.7. Objetivos	16
1.7.1. Geral	16
1.7.2. Específicos	16
1.8. Referências	17
2. CAPÍTULO II	21
2.1. Artigo 1: Monitoramento de aloanticorpos HLA em pacientes transplantados renais	21
3. CAPÍTULO III	35
3.1. Conclusões	35
3.2. Perspectivas futuras	35

CAPITULO I

1.1. DOENÇA RENAL CRÔNICA

A doença renal crônica (DRC) é uma lesão renal progressiva que leva a perda irreversível da função renal e é considerada um problema de saúde pública mundial, gerando altos custos para seu tratamento (JUNIOR, 2004; RIBEIRO et al, 2008; BASTOS; BREGMAN; KIRSZTAJN, 2010; YAMAKAWA et al, 2012;). No Brasil, segundo o Inquérito Brasileiro de Diálise de 2014, 112.004 pacientes encontravam-se em tratamento dialítico e 36.548 iniciaram o tratamento no ano de 2014, sendo que mais da metade (51%) eram da região Sudeste. O número alarmante de óbitos de pacientes em diálise em 2014 foi 21.281 (SESSO et al, 2016).

Após a perda da função renal, os pacientes iniciam tratamentos por hemodiálise ou diálise peritoneal, que tem como objetivo substituir a função do rim afetado. Estes tratamentos podem não ser efetivos, além de causarem desconforto e piora na qualidade de vida do paciente (TORESAN, 2007). Sendo assim, o transplante renal passa a ser a melhor opção de tratamento para DRC.

1.2. TRANSPLANTE RENAL

O primeiro transplante bem sucedido foi realizado nos anos 50 por John Merrill, Joseph Murray e Hartwell Harrison entre gêmeos idênticos, chamado singênico (MANFRO; CARVALHAL, 2003; MORRIS, 2004; BARRY; MURRAY, 2006), porém os transplantes realizados em indivíduos geneticamente diferentes, chamado alogênico, levava a rejeição do enxerto. A partir da década de 60, os pesquisadores começaram a entender sobre os processos imunológicos, a importância da histocompatibilidade, o processo de rejeição, a imunossupressão, com o uso de corticosteroides e azatropina, e a impressão destas informações permitiram aperfeiçoar o transplante renal (MORRIS, 2004; GARCIA; HARDEN; CHAPMAN, 2012). Nos anos 80, com a introdução da ciclosporina e do tacrolimus e a evolução na qualidade dos imunossupressores houve uma sensível diminuição de perdas do enxerto relacionadas ao processo de rejeição (FILHO; RAMALHO, 1997; LUVISOTTO; CARVALHO; GALDEANO, 2007; MANFRO, 2011).

Pacientes com DRC sem contraindicações para a cirurgia (maiores de 70 anos, obesidade, infecção por HIV, hepatite B e C, doença arterial coronária, entre outras) são encaminhados para o transplante, que pode ser realizado com doador vivo ou falecido. Os doadores vivos podem ser familiares ou indivíduos consanguíneos. Pacientes que não conseguem um doador vivo são inseridos na fila de espera e aguardam para receber o órgão de um doador falecido (por morte cerebral ou cardíaca) que seja compatível (MANFRO; CARVALHAL, 2003; BARNETT; MAMODE, 2011; THIRUCHELVAN et al, 2011).

Segundo a Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO), de janeiro a setembro de 2016, 4.114 transplantes de rim foram realizados, sendo 906 de doador vivo e 3.208 de doador falecido. Ressaltando que o grande aumento do número de transplantes com doador falecido pode estar intimamente relacionado com o aumento da violência e do número de mortes de jovens, além de uma melhora no sistema de transplante de órgão do Brasil e ainda das campanhas de conscientização sobre a importância da doação (OLIVEIRA et al, 2016).

O insucesso do transplante renal está relacionado principalmente com a presença de anticorpos anti-HLA do Complexo Principal de Histocompatibilidade, que podem levar ao desenvolvimento de rejeições hiperagudas, agudas ou crônicas após o transplante e a perda do enxerto.

1.3. COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE (*MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX*)

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH ou MHC) foi descoberto por Peter Gorer e George Snell na década de 1940 em um estudo de transplante de tecidos em camundongos e era definido como uma região cromossômica diretamente relacionada com os processos de rejeição de enxerto. Nesse estudo de Gorer e Snell, foi identificado um gene no cromossomo 17 que codificava um antígeno denominado antígeno II, por essa razão essa região foi descrita como histocompatibilidade-2 ou H-2 (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Nas décadas de 1950 – 1960, Jean Dausset, Jan van Rood e seus colegas descobriram que indivíduos que passavam por situações como transfusões sanguíneas, transplantes renais e gestações desenvolviam anticorpos circulantes que reconheciam as células dos doadores ou do pai. Assim eles foram os primeiros a identificar em humanos genes compatíveis com o H-2 em camundongos, que viria se chamar *Human Leucocyte Antigen* (HLA) (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015). Através desses estudos, foi possível concluir que os genes

relacionados com os processos de rejeição do enxerto estão presentes em todos os mamíferos e são homólogos ao gene H-2, que são os genes do MHC em camundongos.

O MHC humano está localizado no braço curto do cromossomo 6 (6p21.3) e tem extensão de 3500 Kb, sendo dividido em três classes: I, II e III (Figura 1). Cada região contém diversos *loci* com genes que codificam moléculas HLA de classe I e II, sendo essas moléculas, glicoproteínas com estruturas e funções distintas (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008; HORA, 2014).

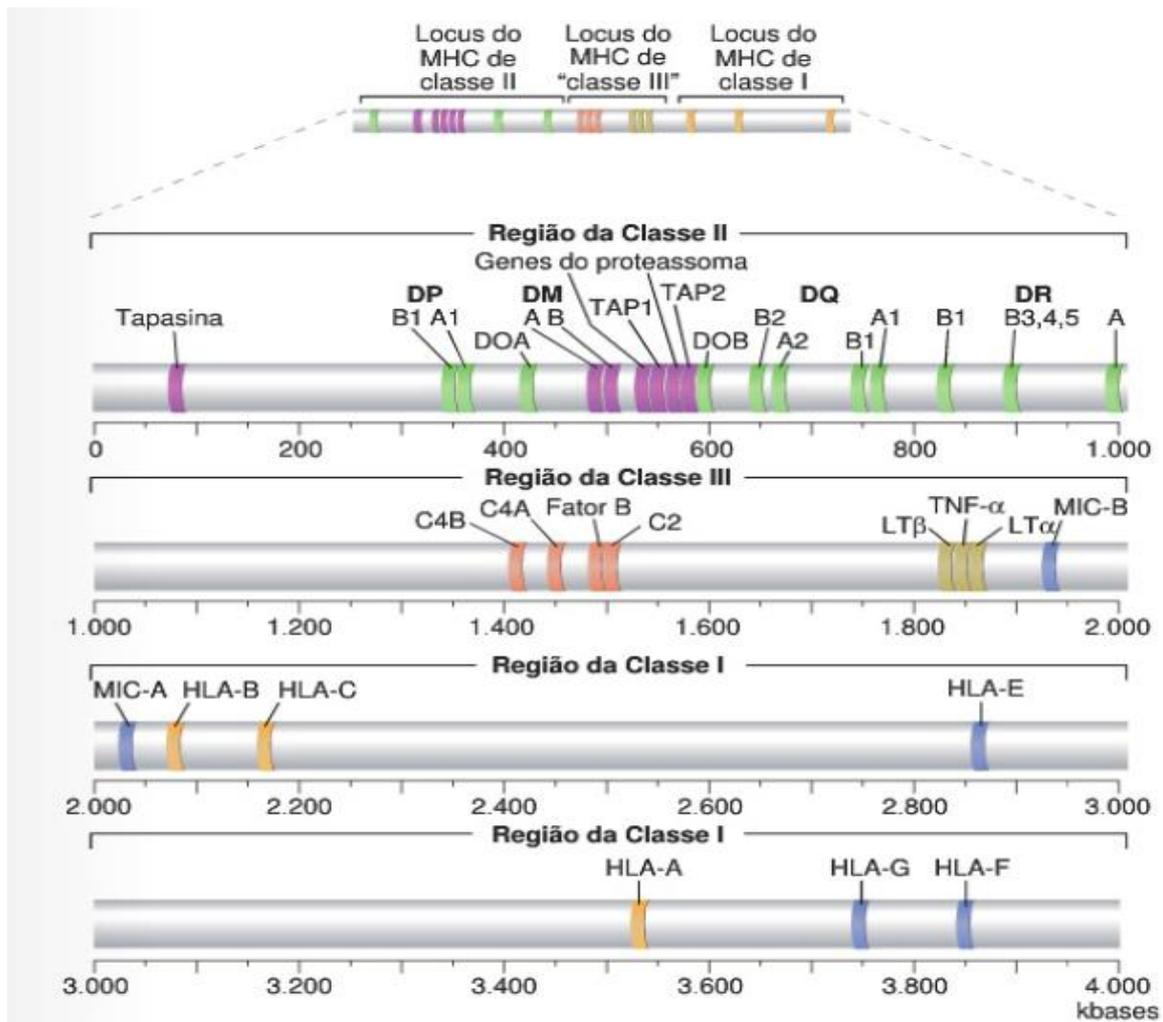


Figura 1 – Mapa do MHC humano (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015)

A região do MHC de classe I codifica as moléculas clássicas HLA -A, -B e -C, expressas em todas as células nucleadas, além das moléculas HLA -E, -F e -G, que são não clássicas, possuindo distribuição tecidual restrita, funções não totalmente definidas, além de polimorfismo limitado. Dentre as moléculas não clássicas, HLA-G tem sido o mais estudado atualmente, tendo sua função relacionada principalmente com problemas na gravidez (DAHL; HVIID, 2012; DAHL; DJURISIC; HVIID, 2014; DAHL et al, 2015). As moléculas da região

de classe I estão relacionadas aos receptores de linfócitos TCD8+, pois quando ligadas a estes receptores são responsáveis por eliminar células infectadas por vírus ou células tumorais. Em sua estrutura encontramos uma cadeia polipeptídica pesada (α) codificada no *loci* MHC ligada a uma cadeia não codificada no *loci* MHC (β 2-microglobulina), que formam a fenda de ligação de peptídeos (ENGELHARD, 1994; MAGALHÃES; BOHLKE; NEUBARTH, 2004; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

A região de classe II do MHC codifica as moléculas HLA –DR, -DP, -DQ e são expressas nas células dendríticas, linfócitos B, macrófagos e outros tipos celulares. Estão relacionadas aos receptores de linfócitos TCD4+ que quando ligadas a eles ativam essas células e atuam na eliminação de micro-organismos extracelulares fagocitados. Em sua estrutura encontramos duas cadeias polipeptídicas associadas (α e β) e ambas são codificadas por genes do MHC. Os segmentos α e β interagem e formam a fenda de ligação de peptídeos, com estrutura semelhante a da região de classe I (MAGALHÃES; BOHLKE; NEUBARTH, 2004).

A região de classe III do MHC não codifica moléculas HLA, somente componentes do sistema complemento, fator de necrose tumoral (TNF), linfotoxina- β , dentre outros (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008; GOLDBERG; RIZZO, 2015).

1.4. SISTEMA HLA E A REJEIÇÃO DE ENXERTOS

O transplante de órgãos ou tecidos de um indivíduo para outro que não seja idêntico, pode levar a rejeição por uma resposta imune adaptativa e esse processo de rejeição é o principal responsável pelo insucesso dos transplantes (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

O processo de rejeição se inicia com uma resposta imunológica do indivíduo contra o órgão do doador, sendo o receptor de células T (TCR) responsável por reconhecer os antígenos HLA do doador como próprios ou estranhos, processo chamado de alorreconhecimento (FARIA et al, 2008; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

O alorreconhecimento pode ocorrer em duas vias: direta e indireta. Na via direta, as células T do receptor reconhecem moléculas de MHC intactas na superfície das células apresentadoras de antígenos (APCs) do doador. Na via indireta, as células T do receptor reconhecem peptídeos do doador, que são liberados de células e tecidos, processados e apresentados pelo MHC das APCs do receptor (OCHANDO; KRIEGER; BROMBERG, 2006; BENICHO; THOMSON, 2009; BREMAN et al, 2014).

Os linfócitos TCD4+ atuam se diferenciando em células efetoras produtoras de citocinas, que vão lesar o enxerto, além de ativar linfócitos B para produzir anticorpos anti-HLA. Os

linfócitos TCD8⁺ se diferenciam em citotóxicos, destruindo células do enxerto que expressam moléculas HLA de classe I (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

De acordo com as características histológicas, o tempo e as proteínas liberadas, o processo de rejeição passou a ser classificado em hiperagudo, agudo ou crônico. A rejeição hiperaguda, se inicia minutos ou horas após a ligação dos vasos do receptor com o enxerto e causa oclusão trombótica dos vasos, sendo causada por anticorpos pré-existentes, devido a exposições prévias a aloantígenos (transplantes anteriores, gestação e transfusão sanguínea). A rejeição aguda ocorre após a primeira semana de transplante e causa dano parenquimal e vascular mediado por células T e anticorpos. A rejeição crônica se manifesta meses ou anos após o transplante, causando fibrose e anormalidades vasculares que levam a perda da função do enxerto (MICHAEL; FISHBEIN; COLVIN, 2003; CAI; TERASAKI, 2005; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015; BAKER; WATSON, 2015).

1.5. AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA

Devido a todos esses processos imunológicos que ocorrem na transplantação, alguns exames são exigidos pela Associação Brasileira de Transplante de Órgãos para minimizar os riscos de rejeição. Entre estes exames, os quais são realizados na fase pré-transplante, estão tipagem sanguínea ABO, tipificação HLA e a pesquisa de anticorpos anti-HLA, que pode ser feita de maneira específica contra o doador, técnica conhecida como prova cruzada ou de forma genérica contra um painel de células pelo Painel de Reatividade de Anticorpos (PRA) (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

1.5.1. TIPIFICAÇÃO HLA

A tipificação HLA é o teste realizado para verificar o grau de compatibilidade genética entre doador e receptor. Para os transplantes de órgãos são tipificadas as moléculas HLA classe I (locos A e B) e classe II (loco DR). No início a técnica era realizada por testes sorológicos e atualmente passou a ser feita através de testes moleculares, como a PCR (reação em cadeia da polimerase) associada com SSP (sequence-specific primers) ou SSO (sequence-specific oligonucleotide) obtendo-se resultados mais precisos para o teste (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015)

1.5.2. PRA

O Painel de Reatividade de Anticorpos (PRA) é um teste realizado de forma genérica ou específica, onde o soro dos receptores é analisado para verificar a presença de anticorpos pré-formados contra moléculas HLA prevalentes na população. A ligação dos anticorpos com as moléculas MHC é determinada por citometria de fluxo ou ELISA (*Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*) e é relatada em porcentagem, que pode variar de acordo com o painel de células a qual o receptor foi testado (LIBER et al, 2007; TORESAN, 2007; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015)

1.5.3. PROVA CRUZADA

A prova cruzada é um teste realizado especificadamente contra as células do doador, onde é pesquisado presença de anticorpos específicos no soro do receptor, contra as células do doador. O teste é feito misturando o soro do receptor com linfócitos sanguíneos do doador e os métodos utilizados para a realização dessa prova são citotoxicidade dependente de complemento (CDC) e citometria de fluxo (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

1.6. JUSTIFICATIVA

Pacientes renais podem desenvolver anticorpos anti-HLA através de transfusões sanguíneas, transplantes e gestações/abortos. A presença, no receptor, de anticorpos HLA doador específico (DSA) são as principais responsáveis pelas rejeições hiperagudas do enxerto e, após o transplante, contribuem para as rejeições aguda e crônica. Neste contexto, o monitoramento desses anticorpos poderá contribuir para o manejo da imunossupressão e consequentemente para a boa evolução do transplante.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. GERAL

Monitorar a presença de aloanticorpos HLA, no pré e pós-transplante renal, em pacientes da região Norte e Noroeste do Paraná, Brasil.

1.7.2. ESPECÍFICO

Analisar a tipificação HLA de pacientes renais e seus respectivos doadores;

- Determinar a presença de aloanticorpos HLA classe I e classe II no receptor;
- Determinar a presença de aloanticorpos HLA doador-específico (DSA);
- Determinar a presença de aloanticorpos HLA não doador-específico;
- Determinar a presença de aloanticorpos HLA pertencentes ao grupo de reatividade cruzada (CREG);
- Avaliar a frequência das especificidades de aloanticorpos;
- Determinar aumento, diminuição ou manutenção de PRA no período pré-transplante;
- Determinar aumento, diminuição ou manutenção de PRA no período pós-transplante, no 6º e no 12º mês;
- Avaliar aumento, diminuição ou manutenção de PRA em pacientes com até 50 anos de idade;
- Avaliar aumento, diminuição ou manutenção de PRA em pacientes maiores de 50 anos de idade.

1.8. REFERÊNCIAS

- ABTO – Associação Brasileira de Transplante de Órgãos. Registro Brasileiro de Transplantes, Ano XXII, n. 3, janeiro-setembro, 2016.
- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 8ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- BAKER, R.J.; WATSON, C.J.E. Renal Transplantation. **Medicine**, Philadelphia, v.43, n.9, p.497-506, 2015.
- BARNETT, N.; MAMODE, N. Kidney transplantation. **Surgery**, v.29, n.7, p.330-335, 2011.
- BARRY, J.M.; MURRAY, J.E. The First Human Renal Transplants. **J. Urol.**, United States, v.176, p.888-890, 2006.
- BASTOS, M.G.; BREGMAN, R.; KIRSZTAJN, G.M. Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 56, n.2, p.248-253, 2010.

BENICHOU, G.; THOMSON, A.W. Direct versus Indirect Allorecognition Pathways: On the Right Track. **Am. J. Transplant.**, United States, v.9, p.655-656, 2009.

BREMAN, E. et al. HLA Monomers as a Tool to Monitor Indirect Allorecognition. **Transplantation**, London, v.97, n.11, p.1119-1127, 2014.

CAI, J.; TERASAKI, P.I. Human Leukocyte Antigen Antibodies for Monitoring Transplant Patients. **Surg. Today**, v.35, p.605-612, 2005.

DAHL, M.; HVIID, T.V.F. Human leucocyte antigen class Ib molecules in pregnancy success and early pregnancy loss. **Hum. Reprod. Update**, Oxford, v.18, n.1, p.92-109, 2012.

DAHL, M. et al. Human leukocyte antigen (HLA)-G during pregnancy part II: Associations between maternal and fetal HLA-G genotypes and soluble HLA-G. **Hum. Immunol.**, USA, v.76, p. 260-271, 2015.

DAHL, M.; DJURISIC, S.; HVIID, T.V.F. The Many Faces of Human Leukocyte Antigen-G: Relevance to the Fate of Pregnancy. **J. Immunol. Res.**, v.2014, p.1-11, 2014.

ENGELHARD, V.H. Structure of peptides associated with class I and class II MHC molecules. **Annu. Rev. Immunol.**, California, v.12, p.181-207, 1994.

FARIA, B.A. et al. Ação dos linfócitos T regulatórios em transplantes. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, São Paulo, v.30, n.4, p.309-315, 2008.

FILHO, M.A.; RAMALHO, H.J. Revisão/Atualização em Transplante Renal: Novos agentes imunossupressores. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v.19, n.2, p.215-223, 1997.

GARCIA, G.G.; HARDEN, P.; CHAPMAN, J. The global role of kidney transplantation. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v.34, n.1, p.1-7, 2012.

GOLDBERG, A.C.; RIZZO, L.V. Estrutura do MHC e função – apresentação de antígenos. Parte 1. **Einstein**, São Paulo, v.13, n.1, p.153-156, 2015.

HORA, A.S. HLA – Uma questão de frequência entre as diferentes populações. **Rev. Saúde Desenv.**, Curitiba, v.6, n.3, p.115-137, 2014.

JUNIOR, J.E.R. Doença Renal Crônica: Definição, Epidemiologia e Classificação. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v.26, n. 3, 2004.

KINDT, T.J.; GOLDSBY, R.A.; OSBORNE, B.A. **Imunologia de Kuby**. 6^o.ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

LIBER, S.R. et al. Effect of Panel-Reactive Antibody in Predicting Crossmatch Selection of Cadaveric Kidney Recipients. **Transplant. Proc.**, Houston, v.39, n.2, p.429-431, 2007.

LUVISOTTO, M.M.; CARVALHO, R.; GALDEANO, L.E. Transplante renal: diagnósticos e intervenções de enfermagem em pacientes no pós-operatório imediato. **Einstein**, São Paulo, v.5, n.2, p.117-122, 2007.

MAGALHÃES, P.S.C.; BOHLKE, M.; NEUBARTH, F. Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC): codificação genética, bases estruturais e implicações clínicas. **Rev. Med. UCPEL**, Pelotas, v. 2, n.1, p. 54-59, 2004.

MANFRO, R.C.; CARVALHAL, G.F. Transplante renal. **Rev. AMRIGS**, Porto Alegre, v.47, n.1, p.14-19, 2003.

MANFRO, R.C. Manejo da doença crônica do enxerto renal. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v.33, n.4, p.485-492, 2011.

MICHAEL, P.J.; FISHBEIN, M.C.; COLVIN, R.B. Humoral rejection of human organ transplants. **Springer Semin. Immunopathol.**, Germany, v.25, p.119-140, 2003.

MORRIS, P.J. Transplantation — A Medical Miracle of the 20th Century. **N. Engl. J. Med.**, Massachusetts, v.351, n.26, 2004.

OCHANDO, J.C.; KRIEGER, N.R.; BROMBERG, J.S. Direct versus Indirect Allorecognition: Visualization of Dendritic Cell Distribution and Interactions During Rejection and Tolerization. **Am. J. Transplant.**, United States, v.6, p.2488-2496, 2006.

OLIVEIRA, J.G.R. et al. Increasing violent deaths and organ transplantation in Brazil: is there a parallel? **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v.38, n.3 p.383-384, 2016.

RIBEIRO, R.C.H.M. et al. Caracterização e etiologia da insuficiência renal crônica emunidade de nefrologia do interior do Estado de São Paulo. **Acta Paul. Enferm.**, São Paulo, n. 21, p.207-211, 2008.

SESSO, R.C. et al. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2014. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v.38, n.1, p.54-61, 2016.

THIRUCHELVAN, P.T.R. et al. Renal Transplantation. **BMJ**, London, v.343, 2011.

TORESAN, R. Avaliação da presença de anticorpos anti-HLA no primeiro ano do transplante renal. 131. Dissertação. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2007.

YAMAKAWA, R.H. et al. Chronic kidney disease: information on southern brazilian patients with kidney disease. **Acta Scientiarum Health Sci.**, Maringá, v. 34, Special Edition, p. 247-250, 2012.

CAPITULO II

Artigo 1: “Monitoramento de aloanticorpos HLA em pacientes renais transplantados da região Norte/Noroeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil”

Monitoramento de aloanticorpos HLA em pacientes renais transplantados da região Norte/Noroeste do Estado do Paraná, Sul do Brasil

Ayla Carolina de Almeida¹, Rodrigo Amaral Kulza², Sueli Donizete Borelli¹

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

² Laboratório Histogene, Maringá, Paraná, Brasil.

Autor para correspondência:

Sueli Donizete Borelli

Universidade Estadual de Maringá

Departamento de Ciências Básicas da Saúde

Av. Colombo 5790, CEP: 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.

Telefone: +55 44 3011.5388

E-mail: sueliborelli@gmail.com

RESUMO

Introdução: A presença de anticorpos doador-específico, no pós-transplante, está intimamente relacionada à má evolução do enxerto.

Métodos: Foram monitorados 103 pacientes submetidos ao transplante renal. Foi realizada a tipificação HLA pelo método de reação em cadeia da polimerase-sequência específica de oligonucleotídeos (PCR-SSO), associado à tecnologia Luminex e a detecção de aloanticorpos HLA utilizando a metodologia LabScreen (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, EUA).

Resultados: Dentre os 103 pacientes estudados, 45 (43,6%) transplantaram com doador vivo e 58 (56,4%) com dador falecido. No pré-transplante, 63 (61,2%) pacientes não apresentaram anticorpos e 40 (38,8%) pacientes apresentaram anticorpos, no 6º mês pós-transplante 71 (68,9%) pacientes não apresentaram anticorpos e 32 (31,1%) pacientes apresentaram anticorpos e no 12º mês pós-transplante, 42 (40,7%) pacientes não apresentaram anticorpos e 17 (59,3%) pacientes apresentaram anticorpos. Comparando classe I e classe II no pré-transplante e no 6º mês pós-transplante, um maior número de pacientes obteve diminuição de PRA (19,4% e 15,5%, respectivamente). Comparando o período pré-transplante com o 12º mês pós-transplante, para classe I obtivemos mesmo número de pacientes com aumento e diminuição (11,9%) e para classe II maior porcentagem de diminuição de PRA (13,6%). Por fim, comparando grupos de pacientes com até 50 anos de idade e maiores de 50 anos de idade, observamos que o percentual de PRA diminuiu em ambos os grupos.

Conclusão: O monitoramento de aloanticorpos HLA, em pacientes renais, poderá ser útil na prevenção e tratamento da rejeição do enxerto.

Palavras-chave: Anticorpos; Antígenos HLA; Rejeição de enxerto; Transplante de rim; Transplantados.

ABSTRACT

Background: The presence of donor-specific antibodies, in the post-transplantation, is closely related to poor graft evolution.

Methods: Total of 103 patients undergoing renal transplantation were studied. HLA typing was performed using the polymerase chain reaction-oligonucleotide-specific sequence (SSO-PCR) method, associated with Luminex technology and detection of HLA alloantibodies using the LabScreen methodology (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, USA).

Results: Among the 103 patients studied, 45 (43.6%) transplanted with a live donor and 58 (56.4%) with a deceased donor. In the pre-transplantation, 63 (61.2%) patients had no antibodies and 40 (38.8%) had antibodies, in the 6th month after transplantation, 71 (68.9%)

patients had no antibodies and 32 (31.1%) patients had antibodies. In the 12th month after transplantation, 42 (40.7%) patients had no antibodies and 17 (59.3%) had antibodies. Comparing class I and class II in the pre-transplant and post-transplant of 6 months, a greater number of patients obtained PRA decrease (19.4% and 15.5%, respectively). Comparing the pre-transplant with the post-transplant of 12 months period for class I, we obtained the same number of patients with increase and decrease (11.9%), for class II, a greater percentage had PRA reduction (13.6%). Finally, comparing groups of patients up to 50 years of age and over 50 years of age, we observed that the percentage of PRA decreased in both groups.

Conclusion: The monitoring of HLA alloantibodies in renal patients may be useful in the prevention and treatment of graft rejection.

Keywords: Antibodies; HLA Antigens; Graft Rejection; Kidney Transplantation; Transplant Recipients.

INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é uma doença progressiva que leva a perda irreversível da função do rim. Os pacientes com DRC são encaminhados para hemodiálise ou diálise peritoneal, que tem como objetivo substituir a função do rim afetado. O transplante renal é considerado o melhor tratamento visando melhorar a qualidade de vida dos portadores de DRC [1, 2]. No Brasil, segundo o Inquérito Brasileiro de Diálise de 2014, 112.004 pacientes com DRC encontravam-se em tratamento dialítico e o número de óbitos de pacientes em diálise em 2014 foi 21.281. De janeiro a setembro de 2016, 4.114 transplantes de rim foram realizados [3].

Um dos fatores limitantes no transplante é a rejeição, sendo as moléculas HLA (*Human Leukocyte Antigen*) as principais envolvidas nesse processo [4].

Durante a espera por um órgão, o paciente pode se sensibilizar ao entrar em contato com antígenos HLA diversos e desenvolver anticorpos contra as moléculas HLA, ao se deparar com situações como transfusões sanguíneas, transplantes e gestações, dificultando a escolha do doador [5, 6].

Vários estudos mostram que a presença de anticorpos anti-HLA, e particularmente anticorpos anti-HLA doador-específico, no soro dos receptores, indicam pior evolução no transplante renal [7, 8].

Assim, é importante não somente avaliar as respostas imunológicas (presença de anticorpos anti-HLA) na fase pré-transplante como também monitorar sua presença no pós-transplante para minimizar os efeitos da rejeição e até mesmo a falência do órgão transplantado.

Diante disso, o objetivo deste estudo foi monitorar a presença de aloanticorpos HLA nos períodos pré e pós-transplante renal em pacientes da região Norte e Noroeste do Paraná, Sul Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado com 103 pacientes submetidos ao transplante renal da região Norte e Noroeste do Paraná, Sul do Brasil. Todos os dados necessários sobre idade, gênero, tipo de transplante (doador vivo ou falecido), tipagem HLA, resultados do Painel Reativo de Anticorpos (PRA) foram obtidos dos registros das clínicas de diálise.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (COPEP – UEM), pelo Parecer nº 1.406.359/2015.

Tipificação HLA

Para a tipificação HLA foram coletados 5 mL de sangue periférico dos receptores em tubos de vácuo (Vacutainer, Becton e Dickson, Oxford, Inglaterra), contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) como anticoagulante.

A extração do DNA foi executada pelo método de coluna de separação, utilizando o kit comercial Biopur (Biometrix, Curitiba, Paraná, Brazil), seguindo o protocolo do fabricante. Após ajuste de concentração do DNA, obtido por densidade óptica, a tipificação HLA foi realizada pelo método de reação em cadeia da polimerase-sequência específica de oligonucleotídeos (PCR-SSO) associado à tecnologia Luminex, utilizando kits comerciais SSO-LAB Type I de HLA (HLA-A,-B) e classe II (HLA-DRB1) (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, EUA), seguindo o protocolo do fabricante.

O DNA genômico foi amplificado utilizando um iniciador específico de sequenciação biotilado para HLA de classe I e classe II em um termociclador GeneAmp9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Depois foi realizada a hibridação com sondas de DNA complementares conjugadas com microesferas marcadas com fluorocromos diferentes para identificar as sequências do DNA amplificado. Posteriormente, as amostras foram lidas por citometria de fluxo no LABScanTM100 (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, EUA), e seguiram para análise pelo HLA Fusion software version 2.0 (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, EUA).

Detecção de aloanticorpos HLA

Para a detecção de aloanticorpos HLA, através do Painel Reativo de Anticorpos, foram coletados 2 mL de sangue, em tubos de vácuo (Vacutainer, Becton e Dickson, Oxford, Inglaterra) sem anticoagulante, para a obtenção de soro, tanto dos doadores quanto dos receptores.

Foi utilizada a metodologia LabScreen (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, EUA), que se iniciou com a adição da amostra de soro humano do receptor junto com as microesferas (bead) revestidas com o antígeno HLA, permitindo a ligação do anticorpo presente na amostra com o antígeno específico. Em seguida, foi realizada uma lavagem e a adição de IgG caprino anti-humano conjugado com R-Ficoeritrina. Por fim, essas amostras foram colocadas para leitura no aparelho LABScanTM100 (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, EUA) que identifica a intensidade fluorescente da ficoeritrina e a intensidade colorimétrica de cada microesfera.

Análise Estatística

A análise das frequências de especificidades dos anticorpos foi feita pelo programa Excel. Os softwares STATISTICA 7 e BioEstat 5.0 foram utilizados para determinar as porcentagens de PRA nos períodos pré-transplante e pós-transplante, para fazer comparações entre grupos de pacientes e calcular o valor de “p”.

Os valores de “p” foram considerados significativos quando inferiores a 0,05.

RESULTADOS

Foram avaliados um total de 103 pacientes, com média de idade de $45,78 \pm 13,8$ anos, sendo que 63 (61,1%) eram do gênero masculino e 40 (38,9%) do gênero feminino. Destes pacientes, 45 (43,6%) transplantaram com doador vivo e 58 (56,4%) com doador falecido.

Do total de pacientes, 44 não apresentaram dados suficientes sobre o 12º mês pós-transplante, por isso não foram incluídos nos resultados.

Entre as especificidades de anticorpos anti-HLA doador específico (DSA) no pré-transplante, as mais frequentes para classe I foram -A2 e -A68 (com frequência de 2) e para classe II, -DR13 (com frequência de 2). Com as especificidades de anticorpos anti-HLA não DSA no pré-transplante, as mais frequentes para classe I foram -A32 (com frequência de 3) e -B49 (com frequência de 5) e para classe II, -DR51 (com frequência de 7). Entre as especificidades de anticorpos anti-HLA CREG (grupo de reatividade cruzada) no pré-transplante as mais frequentes para classe I foram -A25 (com frequência de 6), -A68 (com frequência de 6), -B52 (com frequência de 9) e para classe II, -DR18 (com frequência de 7).

Conforme a PRA (Painel Reativo de Anticorpos) no pré-transplante, 63 (61,2%) pacientes não apresentaram anticorpos (PRA=0) e 40 (38,8%) pacientes apresentaram anticorpos (PRA≠0), Dos 40 pacientes com PRA≠0, 18 (45,0%) tinham PRA positiva apenas para classe I, 9 (22,5%) apenas para classe II e 13 (32,5%) para ambas as classes, conforme ilustrado na figura 1.

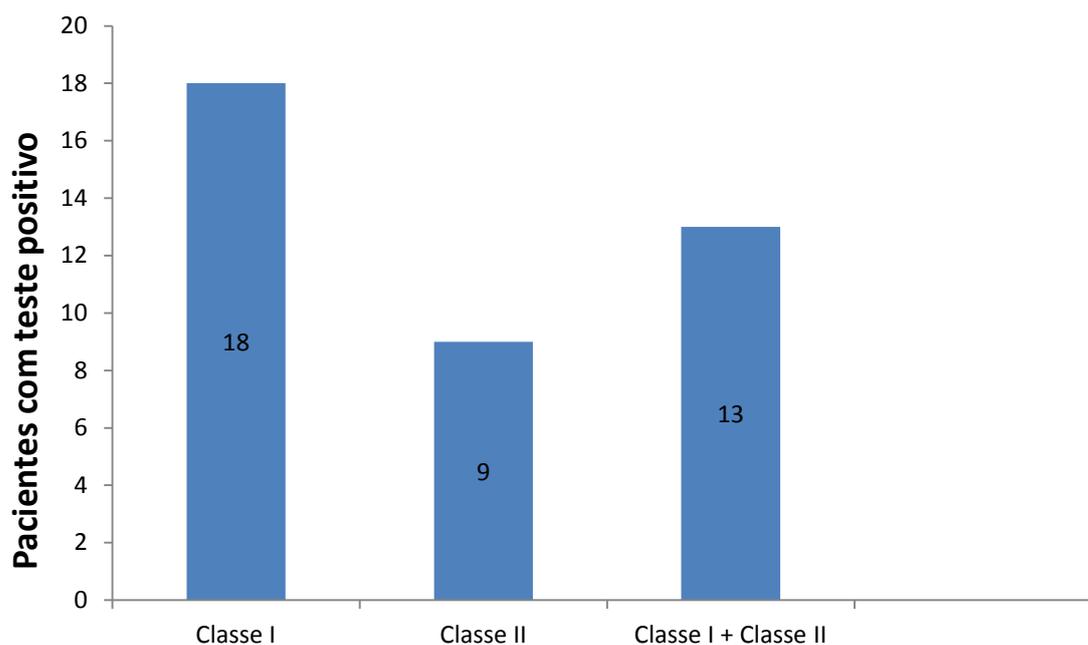


Figura 1. Distribuição de pacientes com teste positivo para aloanticorpos HLA classe I, classe II e classe I/II antes do transplante, determinados através da PRA.

No 6º mês pós-transplante, tanto para classe I quanto para classe II de anticorpos DSA, todas as especificidades encontradas tiveram a mesma frequência (-A2, -A23, -B7, -B35, -DR1, -DR13, -DR14, -DR17, com frequência de 1), que foram diferentes das encontradas no pré-transplante. Para anticorpos não DSA, encontramos -B49 (com frequência de 8) e -A25 (com frequência de 4) como mais frequente para classe I e o -DR51 (com frequência de 7) para classe II. E ainda, para anticorpos do grupo CREG, as mais frequentes foram -A25 (com frequência de 4), -B51 (com frequência de 7), -B52 (com frequência de 7) para classe I e -DR52 (com frequência de 3) para classe II.

No 12º mês pós-transplante para anticorpos DSA, todas tinham a mesma frequência (-A23, -B35, -DR7, -DR14, com frequência de 1). Para anticorpos não DSA, a especificidade mais frequente para classe I foram -B44 (com frequência de 3) e -B50 (com frequência de 3) e para classe II, -DR10 (com frequência de 2), -DR15 (com frequência de 2), -DR16 (com frequência de 2) e -DR51 (com frequência de 2). E no grupo CREG, para classe I as mais frequentes foram as especificidades -A25 (com frequência de 3), -B55 (com frequência de 3), -B60 (com frequência de 3), -B72 (com frequência de 3) e para classe II, -DR13 (com frequência de 3).

Nos resultados encontrados do teste de PRA no 6º mês pós-transplante observamos que 71 (68,9%) pacientes não apresentaram anticorpos (PRA=0) e 32 (31,1%) pacientes

apresentaram anticorpos (PRA≠0), sendo que 17 (53,1%) tinham PRA positiva para classe I, 5 (15,6%) para classe II e 10 (31,3%) para ambas as classes. Já no 12º mês pós-transplante, observamos que 42 (40,7%) pacientes não apresentaram anticorpos (PRA=0) e 17 (59,3%) pacientes apresentaram anticorpos, sendo 8 (47,0%) positivos para classe I, 5 (29,4%) para classe II e 4 (23,6%) para ambas, conforme figura 2.

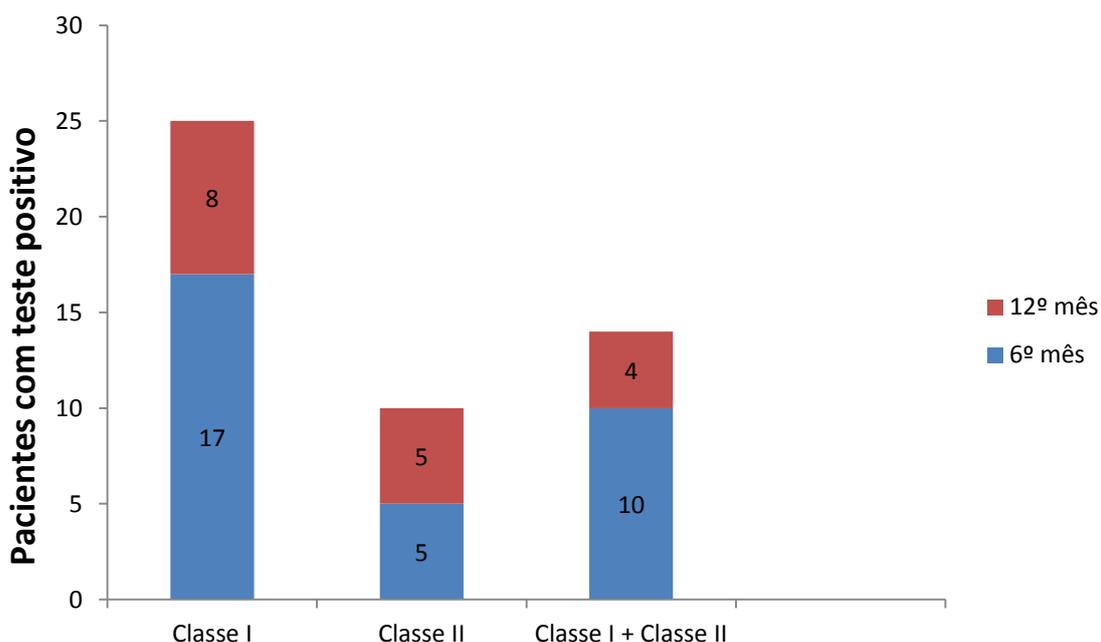


Figura 2. Distribuição de pacientes com teste positivo para aloanticorpos HLA classe I, classe II e classe I/II 6 e 12 meses após o transplante, determinado através da PRA.

Quando comparamos a PRA dos pacientes nos períodos pré e pós-transplante, observamos que ocorreram grandes variações. Comparando o pré-transplante com o pós de 6 meses para classe I obtivemos aumento de PRA em 11,6% dos pacientes e diminuição em 19,4%, além disso os outros 68,9% mantiveram o mesmo valor de PRA. Para classe II, obtivemos aumento de PRA em 3,9% dos pacientes e diminuição em 15,5%, além dos 80,6% que mantiveram os valores, conforme observado na tabela 1.

Comparando também o período pré-transplante com o pós de 12 meses para classe I obtivemos 11,9% dos pacientes com aumento, 11,9% com diminuição e 76,3% que mantiveram os valores de PRA. Para classe II obtivemos 6,8% com aumento, 13,6% com diminuição e 79,7% que mantiveram a PRA, conforme mostrado na tabela 1.

Tabela 1: Comparação do percentual de anticorpos obtidos pelo teste PRA classe I e II nos períodos pré-transplante e após o transplante (6 e 12 meses).

		% PRA Aumentou	% PRA Diminuiu	% PRA Manteve
Pré/Pós 6 meses (n=103)	Classe I	11,6%	19,4%	68,9%
	Classe II	3,9%	15,5%	80,6%
Pré/Pós 12 meses (n=59)	Classe I	11,9%	11,9%	76,3%
	Classe II	6,8%	13,6%	79,7%

Com esses mesmos dados, fizemos ainda uma comparação de porcentagem de anticorpos em dois grupos de pacientes: até 50 anos e maiores de 50 anos, para observarmos se ocorreu aumento, diminuição ou manutenção da presença ou ausência de anticorpos em relação a idade dos pacientes, conforme observado na tabela 2.

Tabela 2: Comparação do percentual de anticorpos obtidos pelo teste PRA classe I e II nos períodos pré-transplante e após o transplante (6 e 12 meses) e faixa etária.

		Aumento do percentual da PRA (%)		Diminuição do percentual da PRA (%)		Manutenção do percentual da PRA (%)		p-valor
		Até 50 anos	Superior a 50 anos	Até 50 anos	Superior a 50 anos	Até 50 anos	Superior a 50 anos	
Pré/Pós 6 meses (n=103)	Classe I	16,7%	4,6%	13,3%	27,9%	70%	67,4%	0,0532
	Classe II	3,3%	4,6%	6,7%	27,9%	90%	67,4%	0,0113
Pré/Pós 12 meses (n=59)	Classe I	21,9%	0%	9,4%	14,8%	68,7%	85,2%	0,0335
	Classe II	6,2%	7,4%	9,4%	18,5%	84,4%	74,1%	0,5692

DISCUSSÃO

Foi evidenciado em vários estudos que a presença de aloanticorpos HLA pré-existentes ou formados após o transplante renal está associada a processos de rejeição e menor sobrevida do enxerto, por isso a importância do monitoramento desses anticorpos no pós-transplante [9, 10, 11, 12].

Observamos que no último mês pós-transplante analisado, 59,3% dos pacientes tinham anticorpos anti-HLA contra 38,8% no pré-transplante. Essa incidência foi bem maior que em outros estudos, o que pode ser explicado pela época do pós-transplante em que as amostras foram coletadas, pela sensibilidade da técnica utilizada em cada um dos estudos e pela não adesão ou redução dos medicamentos imunossupressores a fim de evitar os efeitos colaterais causados pelo seu uso [17, 13, 14, 15].

Alguns autores acreditam que os anticorpos classe II têm influência na rejeição a longo prazo muito mais que os anticorpos de classe I. Em nosso estudo, do total de pacientes que tinham anticorpos no 12º mês pós-transplante, 47% tinham classe I, 29,4% tinham classe II e 23,6% tinham ambas as classes. Esse resultado foi discrepante de outros trabalhos, como por exemplo, o de Campos et al, 2006 [14], onde foram encontrados 3,9% para classe I, 10,7% para classe II e 3,1% para classe I e II. Fato que dificulta o entendimento da importância clínica dos anticorpos anti-HLA classe II no processo de rejeição [16, 17].

No nosso estudo de monitoramento, foi possível observar que no período de 6 meses pós-transplante que é o crucial para desenvolvimento de rejeição mediada por anticorpos, a maior parte dos pacientes teve uma diminuição na porcentagem de PRA (19,42% para classe I e 15,53% para classe II), ou seja, ocorreu uma diminuição na resposta contra antígenos do doador, com menor produção de anticorpos e isso pode ter sido induzido pela imunossupressão, como também descrito no trabalho de Souza, 2008 [18].

De acordo com os resultados encontrados no 6º mês, os pacientes que tiveram aumento na porcentagem de PRA (11,65% para classe I e 3,88% para classe II) são os que merecem maior atenção e maior acompanhamento no período pós-transplante, pois conforme estudo de Lee et al., 2004 [19] são os mais susceptíveis a desenvolver rejeição aguda e perder o enxerto, visto que altos níveis de PRA estão associados a processos de rejeição, quando não feito o uso correto da imunossupressão ou associados ao não funcionamento do órgão transplantado devido a uma resposta imediata dos anticorpos [20].

Observamos que no período de 12 meses pós-transplante não houve grande diferença para pacientes que aumentaram a PRA (classe I – 11,86% e classe II – 6,78%) ou diminuíram (classe I – 11,86% e classe II – 13,56%), isso talvez possa ser justificado pelo fato de que para

44 pacientes não foram obtidos dados para esse período ou devido ao fato dos pacientes já virem sendo monitorados durante todos esses meses, o que pode ter causado um alerta nos médicos que fizeram alterações na terapia imunossupressora, evitando que ocorressem mudanças nos percentuais de PRA.

Quando relacionamos a idade dos pacientes com a resposta imune contra as moléculas HLA (%PRA) observamos que entre aumentar ou diminuir o painel, a grande maioria dos pacientes maiores de 50 anos diminuíram o percentual de PRA. De acordo com Agondi, Rizzo, Kalil, Barros, 2012 [21] isso pode ser explicado pelo fato de que com o passar do tempo, com o aumento da idade, vai ocorrendo um inadequado funcionamento do sistema imunológico, onde ocorre baixa produção de anticorpos em geral, processo conhecido como imunossenescência.

Observando os resultados, podemos concluir que o monitoramento de aloanticorpos HLA, em pacientes renais, poderá ser útil na prevenção e tratamento da rejeição do enxerto.

REFERÊNCIAS

- [1] Lima C, Romão MAF, Marques IDB, Saleh CMR, Yagyu EM, Grassi MF. Melhora da qualidade de vida após o transplante renal em comparação com o período dialítico: um estudo exploratório. *J Bras Transpl.* 2011; 14: 1541-1588.

- [2] Ravagnani LMB, Domingos NAM, Miyazaki MCOS. Qualidade de vida e estratégias de enfrentamento em pacientes submetidos a transplante renal. *Estud. Psicol.* 2007; 12: 177-184.

- [3] ABTO – Associação Brasileira de Transplante de Órgãos. Registro Brasileiro de Transplantes – XXII; 2016.

- [4] Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia Celular e Molecular.* 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2015.

- [5] Saito PK, Yamakawa RH, Aparecida EP, Junior WVS, Borelli SD. Evaluation of the Humoral Immune Response to Human Leukocyte Antigens in Brazilian Renal Transplant Candidates. *Plos One.* 2014; 9: 1-8.

- [6] Vongwiwatana A, Tasanarong A, Hidalgo LG, Halloran PF. The role of B cells and alloantibody in the host response to human organ allografts. *Immunol. Rev.* 2003; 196: 197-218.
- [7] Pei R, Lee J, Shih N, Chen M, Terasaki PI. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Transplantation.* 2003; 75: 43-49.
- [8] Caro-Oleas JL, Gonzalez-Escribano MF, Gonzalez-Roncero FM, Acevedo-Calado MJ, Cabello-Chaves V, Gentil-Govantes MA, Nunez-Roldan A. Clinical relevance of HLA donor-specific antibodies detected by single antigen assay in kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2011; 27: 1231-1238.
- [9] Terasaki PI, Ozawa M, Castro R. Four-year Follow-up of a Prospective Trial of HLA and MICA Antibodies on Kidney Graft Survival. *Am J Transplant.* 2007; 7: 408–415.
- [10] Terasaki PI, Ozawa M. Predicting Kidney Graft Failure by HLA Antibodies: a Prospective Trial. *Am J Transplant.* 2004; 4: 438–443.
- [11] Morath C, Opelz G, Zeier M, Süsal C. Clinical Relevance of HLA Antibody Monitoring after Kidney Transplantation. *J Immunol Res.* 2014; 2014: 1-5.
- [12] Morales-Buenrostro LE, Buzo-Romero JM, Leo C, López M, Ortiz-Arroyo VM, Pérez-Garrido J, Herrera-Garcia C, Granados J, Alberú J. Prevalence of HLA Antibodies and Its Impact on Graft Function in a Group of Kidney Transplant Recipients: A Cross-Sectional Study. *Transplant. Proc.* 2006; 38: 899–902.
- [13] Terasaki PI, Ozawa M. Predicting Kidney Graft Failure by HLA Antibodies: a Prospective Trial. *Am. J. Transplant.* 2004; 4: 438–443.
- [14] Campos EF, Tedesco-Silva H, Machado PG, Franco M, Medina-Pestana JO, Gerbase-DeLima M. Post-Transplant Anti-HLA Class II Antibodies as Risk Factor for Late Kidney Allograft Failure. *Am. J. Transplant.* 2006; 6: 2316–2320.

- [15] Mehra NK, Baranwal AK. Clinical and immunological relevance of antibodies in solid organ transplantation. *Int. J. Immunogenet.* 2016; 43: 351-368.
- [16] Phayphet M, Alamartine E, Mariat C, Absi L, Berthoux F. Harmful Effect of Anti-Class II Antibodies in Kidney Transplant Patients who Experienced an Acute Rejection Episode. *Tx. Med.* 2006; 18: 78-82.
- [17] Seyhun Y, Ozdilli K, Oguz F, Karahan G, Onal E, Turkmen A, Eldegez U, Nane I, Çaliskan Y, Bakkaloglu H, Carin M. Human Leukocyte Antigen and Major Histocompatibility Complex Class I-Related Chain A Antibodies After Kidney Transplantation in Turkish Renal Transplant Recipients. *Transplant.Proc.* 2012; 44: 1660-1666.
- [18] Souza PS. Relevância da monitorização dos anticorpos anti-HLA após o transplante renal: estudo clínico e anatomopatológico [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2008.
- [19] Lee KW, Kim SJ, Lee DS, Lee HH, Joh JW, Lee SK, Oh HY, Kim DJ, Kim YG, Huh WS, Oh WI, Lee BB. Effect of Panel-Reactive Antibody Positivity on Graft Rejection Before or After Kidney Transplantation. *Transplant. Proc.* 2004; 36: 2009-2010.
- [20] Parajuli S, Redfield RR, Astor BC, Djamali A, Kaufman D, Mandelbrot DA. Outcomes in the highest panel reactive antibody recipients of deceased donor kidneys under the new kidney allocation system. *Clin. Transplant.* 2017; 31: e12895.
- [21] Agondi RC, Rizzo LV, Kalil J, Barros, MT. Imunossenescência. *Rev. Bras. Alerg. Imunopatol.* 2012; 35: 169-176.

CAPITULO III

3.1. CONCLUSÕES

- Doadores e receptores tiveram suas tipificações HLA determinadas;
- Aloanticorpos HLA classe I apresentaram um percentual maior de positividade nas fases pré e pós-transplante;
- Em todos os pacientes tipificados foi possível determinar a presença de aloanticorpos doador-específico (DSA), não doador-específico ou grupo CREG nos períodos pré e pós-transplante;
- O percentual de Painel Reativo de Anticorpos foi mantido na maioria dos pacientes monitorados após o 6º e 12º mês pós-transplante;
- O percentual de Painel Reativo de Anticorpos diminuiu entre os pacientes com até 50 anos e também nos acima de 50 anos;
- O monitoramento de aloanticorpos foi realizado em todos os pacientes no pré e no pós-transplante renal.

3.2. PERSPECTIVAS FUTURAS

O monitoramento de anticorpos anti-HLA em pacientes transplantados renais, poderá ser útil para o desenvolvimento de terapias imunossupressoras individualizadas, diminuindo assim a ação tóxica do medicamento utilizado de forma generalizada bem como prevenindo rejeições indesejadas mediante a detecção de aloanticorpos doador-específico.

De acordo com a frequência dos aloanticorpos encontrados, em diferentes populações, novas metodologias poderão ser desenvolvidas para sua detecção precoce, melhorando a evolução do transplante de um modo geral e, principalmente para os indivíduos hipersensibilizados.