

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
NEFROLOGIA

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-
HLA NO PRIMEIRO ANO DO TRANSPLANTE RENAL**

REALDETE TORESAN

PORTO ALEGRE, 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
NEFROLOGIA

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PRIMEIRO ANO
DO TRANSPLANTE RENAL**

REALDETE TORESAN

Dissertação apresentada como
requisito parcial para a obtenção
do título de Mestre em Ciências
Médicas: Nefrologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Job Jobim
Co-Orientador: Prof. Dr. Roberto Ceratti Manfro

PORTO ALEGRE, 2007

À minha família, pelo amor, respeito e cuidado em todos os momentos, estímulo para a realização dos meus sonhos.

Aos pacientes que participaram deste estudo, toda minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial a todas as pessoas que me acompanharam nessa etapa, colaborando das mais variadas formas para a realização deste trabalho.

- **Ao Prof. Dr. Luiz Fernando Jobim**, por ter me dado a oportunidade de concretizar mais um sonho em minha vida. Agradeço também pelas horas de revisão do estudo e por suas inestimáveis sugestões.

- **Ao Prof. Dr. Roberto Ceratti Manfro**, valioso co-orientador dessa dissertação.

- **À mestranda Patrícia S. Salim**, pelo auxílio incessante na parte prática do trabalho, pelas horas de estudo e pelo agradável convívio, mas principalmente pela amizade. Obrigada!

- **À enfermeira Maria Conceição Proença**, pela disponibilidade, pelo incentivo permanente, por sua ajuda despretensiosa e, principalmente pelo seu exemplo de honestidade, de humanidade. Nunca poderei agradecer o suficiente.

- **À Fernanda de Paris**, amiga de todas as horas, pelo seu apoio incondicional, pela ajuda nas tarefas de computador, mas principalmente pela vontade de passar adiante seus conhecimentos.

- **À amiga Adriane S. Kulzer**, pelo coleguismo e carinho nos momentos difíceis.

- **À amiga Simone Maltz**, pelo seu interesse nos meus projetos e pelo seu apoio constante.

- **Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia**, em especial à Rute, por seu auxílio.

- **Aos professores do Programa de Pós-Graduação**, pela transmissão do saber.
- **Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE)**, pelo apoio financeiro que permitiu a realização da pesquisa.
- **Aos funcionários do GPPG, e em especial à Ceres**, pela análise estatística deste trabalho.
- **Ao Dr. Francisco Veronese**, por seu auxílio na realização das biópsias.
- **Ao Dr. Daniel M. da Silva**, por toda sua ajuda, apoio e, principalmente, pelo seu exemplo profissional.
- **Às secretárias do Serviço de Nefrologia**, em especial à Jussara e Jaqueline, por toda atenção e auxílio.
- **À Central de Transplantes, especialmente à Denise M. Sarti de Oliveira, à Maria Marta Leiria e ao Rafael Xavier**, pelas tipagens HLA dos doadores.
- **À Dra Maria Edelweiss e à Dra Karla Pêgas**, pela revisão das lâminas das biópsias.
- **À Dra Adriana R. Ribeiro**, pela revisão das pastas dos pacientes e pela ajuda com minhas dúvidas.
- **Aos residentes do Serviço de Nefrologia**, pela ajuda nas conversas com os pacientes do ambulatório.
- **À Fernanda Lindhal**, pela ajuda na realização dos testes para a detecção de anticorpos.
- **À Mônica Kruger**, pelo apoio e ajuda com a rotina e os plantões.
- **À Maria Fernanda Oliveira**, pela dedicação e competência na ajuda da revisão da Introdução e do Abstract.
- **À Maria Regina Jobim**, pelo carinho e pelos conselhos.

- À **amiga Joice Zuckermann**, pelo encorajamento e pela indicação do profissional de Estatística.
- À **Gisele Ewald**, pela leitura preliminar e pela demonstração de amizade.
- Ao **amigo Luis Everaldo Freitas**, por sempre estar presente e disposto a ajudar.
- A **todos os colegas de trabalho e estagiários do Serviço de Imunologia do HCPA**.
- À **Dra Noili Demaman**, pela revisão da língua Portuguesa.
- À **Dra Rosália Neumann Garcia e à Dra Glória De Bastiani de Carvalho**, pela tradução do Resumo para a língua Inglesa.
- Ao **Fabiano Vieira Moreira**, pela instalação do software End Note.

**Para ser grande, sê inteiro: nada teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa.
Põe quanto és no mínimo que fazes.**

Fernando Pessoa

RESUMO

Introdução: A relevância clínica da presença de anticorpos anti-HLA após o transplante renal tem sido foco de recente atenção para os estudiosos da histocompatibilidade. Pacientes que possuem anticorpos anti-HLA no pós-transplante apresentam maior incidência de rejeição aguda (RA) e de nefropatia crônica do enxerto (NCE). Como conseqüência, alguns perdem o órgão transplantado ou sofrem com as reações imunopatológicas correspondentes. Entretanto, existem algumas controvérsias sobre o grau de valorização da presença desses anticorpos na etiopatogenia da RA e da NCE, pois nem todos os pacientes com anticorpos evoluem mal. **Objetivo:** Avaliar a presença de anticorpos anti-HLA no primeiro ano do transplante renal e verificar sua associação com a ocorrência de RA e NCE. **Pacientes e Método:** Este estudo incluiu consecutivamente 88 pacientes submetidos a transplante renal no Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, entre outubro de 2002 a outubro de 2004. Amostras de sangue foram colhidas no 1º, 3º, 6º e 12º meses pós-transplante renal, visando à pesquisa de anticorpos IgG anti-HLA de classes I e II. Nos pacientes que consentiram, biópsias renais de protocolo foram realizadas entre o 2º e o 3º mês e no 12º mês pós-transplante. A detecção dos anticorpos foi realizada através de ensaio ELISA (LAT-M e LAT-1240, One Lambda Inc., USA). Rejeição aguda e a NCE foram diagnosticadas por critérios clínicos, laboratoriais e histopatológicos. **Resultados:** Oitenta e oito pacientes foram avaliados, sendo 40 (45,5%) do sexo feminino e setenta e dois (81,8%) de etnia caucasóide. Setenta e um (80,6%) receberam rins de doador falecido. Foi detectada a presença de anticorpos anti-HLA em vinte pacientes (22,7%). Desses, somente 3 (4,4%) desenvolveram anticorpos anti-HLA (classe I) no período pós-transplante; os demais (17) já os apresentavam no período pré-transplante. No seguimento até um ano, 23 pacientes (26,1%) apresentaram RA e 43 (51,2%) desenvolveram NCE. Nove (45%) pacientes com anticorpos no pós-transplante desenvolveram RA contra 14 (20,6%) dos sem anticorpos ($P=0,058$). Entre os pacientes com anticorpos no pós-transplante, 11 (64,7%) desenvolveram NCE contra 32 (47,8%) dos sem anticorpos ($P=0,329$). Na análise histológica, os anticorpos anti-HLA foram associados à RA IIA ($P=0,001$) e à NCE grau II ($P=0,012$). As variáveis preditoras para a RA e NCE foram, respectivamente, presença de anticorpos anti-HLA de classe I no 1º mês pós-transplante ($OR= 4,30$; $IC\ 95\%= 1,32-14,1$; $P= 0,016$) e transplante com órgão de doador-limítrofe ($OR= 4,81$; $IC\ 95\%= 1,18-20,3$; $P= 0,028$). Setenta por cento (70%) dos pacientes com RA desenvolveram NCE, contra 45,3% dos pacientes sem RA ($P= 0,054$). **Conclusão:** Os anticorpos anti-HLA presentes no primeiro ano do transplante renal foram associados a RA e NCE. A pesquisa de anticorpos anti-HLA no pós-transplante renal realizada por outros pesquisadores e aqui também avaliada, se adotada como rotina, possibilitaria a identificação de casos de mau prognóstico e a escolha de planos terapêuticos mais adequados. A correlação entre anticorpos anti-HLA e

rejeição deverá se tornar mais evidente com o passar dos anos, sendo que nossos resultados fortalecem a convicção da necessidade de continuidade desses estudos.

Palavras-chave: Anticorpos anti-HLA. PRA ELISA. Transplante renal. Rejeição aguda. Nefropatia crônica do enxerto.

ABSTRACT

Introduction: The clinical relevance of the presence of anti-HLA antibodies following kidney transplant has been the recent focus of attention of histocompatibility researchers. Patients who present anti-HLA antibodies in the post-transplant period have shown higher incidence of acute rejection (AR) and of chronic allograft nephropathy (CAN). As a result, some lose the transplanted organ or suffer from the corresponding immunopathological reactions. However, there has been some controversy as to the importance of the presence of these antibodies in the ethiopathology of AR and CAN, since not all patients who have these antibodies present the same outcome. **Objective:** To evaluate the presence of anti-HLA antibodies during the first year of kidney transplantation and to check its association with the occurrence of AR and CAN. **Patients and Method:** This research included consecutively 88 patients who had undergone kidney transplants in the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Nephrology Service between October 2002 and October 2004. Blood samples were taken during the 1st, 3rd, 6th and 12th months post kidney transplant, aiming at researching for Class I and II IgG anti-HLA antibodies. In consenting patients, protocol kidney biopsies were carried out between the 2nd and 3rd months and in the 12th month after the transplant. Detection of antibodies was done through ELISA test (LAT-M and LAT-1240, One Lambda Inc., USA). Acute rejection and CAN were diagnosed through clinical, laboratorial and histopathological criteria. **Results:** Eighty-eight patients were evaluated, among which 40 (45.5%) were female and seventy-two (81.8%) were Caucasian. Seventy-one (80.6%) received kidneys from deceased donors. The presence of anti-HLA antibodies was found in 20 patients (22.7%). Among these, only 3 (4.4%) developed anti-HLA antibodies (class I) during the post-transplant period; the remaining (17) already presented these antibodies during the pre-transplant period. In the follow-up up to one year, 23 patients (26.1%) presented AR and 43 (51.2%) developed CAN. Nine patients (45%) with antibodies in the post-transplant period developed AR as opposed to 14 (20.6%) patients without antibodies ($P=0.058$). Among the patients with antibodies in the post-transplant period, 11 (64.7%) developed CAN as opposed to 32 (47.8%) of those without antibodies ($P=0.329$). In the histological analysis, the anti-HLA antibodies were associated to AR IIA ($P=0.001$) and to CAN degree II ($P=0.012$). The predictive variables for AR and CAN were, respectively, the presence of Class I anti-HLA antibodies in the first month post-transplant ($OR=4.30$; $IC\ 95\%=1.32-14.1$; $P=0.016$) and transplant with expanded criteria donors ($OR=4.81$; $IC\ 95\%=1.18-20.3$; $P=0.028$). Seventy per cent of the patients presenting AR developed CAN, as opposed to 45.3% of the patients without AR ($P=0.054$). **Conclusion:** The anti-HLA antibodies present in the first year of the kidney transplant were associated to AR and CAN. The research of anti-HLA antibodies in the kidney post-transplant period carried by other researchers, as well as in this study, if done routinely, would allow the identification of cases with a poor prognosis and the choice

of more adequate treatments. The correlation of anti-HLA antibodies and rejection will become more evident with time, and our results reinforce the certainty that these studies must continue.

Key words: Anti-HLA antibodies. PRA ELISA. Kidney transplantation. Acute rejection. Chronic allograft nephropathy.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| Figura 1 - Mapa simplificado do CPH humano..... | 27 |
| Figura 2 - Distribuição de anticorpos IgG anti-HLA no pós-transplante, segundo sua classe..... | 81 |
| Figura 3 - Rejeição aguda em relação à presença de anticorpos IgG anti-HLA no pós-transplante | 92 |
| Figura 4 - Variáveis associadas ao desenvolvimento de NCE no primeiro ano do transplante renal | 99 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----------|
| Tabela 1 - Características das moléculas HLA de classe I e II..... | 30 |
| Tabela 2 - Características relacionadas ao pré-transplante | 80 |
| Tabela 3 - Características relacionadas ao pós-transplante..... | 83 |
| Tabela 4 - Achados histológicos das biópsias protocolares conforme o momento da avaliação | 84 |
| Tabela 5 - Caracterização demográfica e pré-transplante de acordo com a presença de anticorpos IgG anti-HLA no primeiro ano pós-transplante | 85 |
| Tabela 6 - Avaliação dos parâmetros relacionados ao transplante e ao pós-transplante conforme a presença de anticorpos IgG anti-HLA no primeiro ano pós-transplante..... | 88 |
| Tabela 7 - Achados histológicos das biópsias protocolares e não protocolares em relação à presença de anticorpos IgG anti-HLA no primeiro ano pós-transplante | 89 |
| Tabela 8 - Caracterização demográfica e pré-transplante de acordo com a presença de rejeição aguda no primeiro ano pós-transplante..... | 91 |
| Tabela 9 - Avaliação dos parâmetros relacionados ao transplante e ao pós-transplante conforme a presença de rejeição aguda no primeiro ano pós-transplante..... | 94 |
| Tabela 10 - Análise das variáveis preditoras de rejeição aguda, através da Regressão Logística Múltipla | 95 |
| Tabela 11 - Caracterização demográfica e pré-transplante de acordo com a presença de nefropatia crônica do enxerto no primeiro ano pós-transplante | 96 |
| Tabela 12 - Avaliação dos parâmetros relacionados ao transplante e ao pós-transplante conforme a presença de nefropatia crônica do enxerto no primeiro ano pós-transplante..... | 98 |

| | |
|--|------------|
| Tabela 13 - Análise das variáveis preditoras de nefropatia crônica do enxerto, através da Regressão Logística Múltipla..... | 100 |
| Tabela 14 - Avaliação da concordância entre os métodos diagnósticos da nefropatia crônica do enxerto, através do coeficiente Kappa | 100 |
| Tabela 15 - Avaliação dos anticorpos anti-HLA de classe I ou II em cada momento de colheita pós-transplante conforme a presença de nefropatia crônica do enxerto e rejeição aguda | 102 |
| Tabela 16 - Variáveis avaliadas no 1º, 3º, 6º e 12º mês pós-transplante conforme a presença de nefropatia crônica do enxerto e rejeição aguda | 104 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABH: Associação Brasileira de Histocompatibilidade

ABO: sistema de grupos sangüíneos

AGH: antiglobulina humana

ALG: globulina anti-linfocitária

APCs: células apresentadoras de antígenos

BK: vírus BK

C4d: sub-produto do componente C4 do complemento

CD19: marcador de superfície do linfócito B

CD20: marcador de superfície do linfócito B

CD25: subunidade alfa do receptor de IL-2

CD3: marcador de superfície do linfócito T

CD35: receptor para o fragmento C3b do complemento

CD52: marcador de superfície de timócitos, linfócitos T e B

CDC: citotoxicidade dependente de complemento

CF: citometria de fluxo

CMV: citomegalovírus

CN: controle negativo

CONEP: Comitê Nacional de Ética em Pesquisa

CP: controle positivo

CPH: Complexo Principal de Histocompatibilidade

CTS: Collaborative Transplant Study

DCE: depuração da creatinina endógena

DCEc: DCE calculada

DM: diabetes mellitus

DNA: ácido desoxirribonucléico

DO: densidade óptica

DTT : dithiothreitol

ELISA: ensaio imunoenzimático (“enzyme-linked immunosorbent assay”)

FCXM: prova cruzada por citometria de fluxo

FK 506: tacrolimus

H-2: histocompatibilidade H-2

HAS: hipertensão arterial sistêmica

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HDL: fração do colesterol total

HLA: antígeno leucocitário humano (“Human Leucocyte Antigen”)

IgA: imunoglobulina de classe A

IgG: imunoglobulina de classe G

IgM: imunoglobulina de classe M

IL: interleucina

IL-1: interleucina 1

IL-2: interleucina-2

IL-2R: receptor de interleucina-2

IPC: índice proteína na urina/creatinina na urina

IRC: insuficiência renal crônica

IVIG: imunoglobulina intravenosa

LAT: Lambda Antigen Tray

LB:linfócito B

LT: linfócito T

MICA: molécula de cadeia A relacionada ao CPH de Classe I (“Major Histocompatibility class-I-related chain A”)

MMF: micofenolato mofetil

NCE: nefropatia crônica do enxerto

NK: célula “natural killer “

NTA: necrose tubular aguda

OKT3[®]: anticorpo monoclonal anti-CD3

OR: razão de chances (“odds ratio”)

PCR: reação em cadeia da polimerase (“polimerase chain reaction”)

PRA: reatividade contra painel ou prova cruzada contra painel (“panel-reactive antibodies”)

PRA ELISA: reatividade contra painel através de ELISA

RA: rejeição aguda

RC: rejeição crônica

SBN: Sociedade Brasileira de Nefrologia

SSO: oligonucleotídeo seqüência específica (“sequence-specific oligonucleotide”)

SSP: primer seqüência específica (“sequence-specific primer”)

T CD4+: linfócito T CD4 positivo

T CD8+: linfócito T CD8 positivo

TCR : receptor de membrana da célula T

TAP: transportador associado ao processamento de antígenos

TNF: fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 20 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 24 |
| 2.1 COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE (CPH)..... | 24 |
| 2.1.1 Região de Classe I | 25 |
| 2.1.2 Região de Classe II | 26 |
| 2.1.3 Região de Classe III..... | 26 |
| 2.2 PRODUTOS DOS GENES DO CPH: MOLÉCULAS OU ANTÍGENOS HLA..... | 28 |
| 2.2.1 Antígenos HLA de classe I | 29 |
| 2.2.2 Antígenos HLA de Classe II | 29 |
| 2.2.3 Distribuição dos Antígenos HLA de Classe I e II..... | 30 |
| 2.3 IMUNOLOGIA DOS TRANSPLANTES..... | 31 |
| 2.3.1 Reconhecimento de Aloantígenos..... | 31 |
| 2.3.2 Rejeição de Aloenxertos | 32 |
| 2.3.2.1 Rejeição Hiperaguda | 32 |
| 2.3.2.2 Rejeição Aguda | 33 |
| 2.3.2.3 Rejeição Subclínica..... | 34 |
| 2.3.2.4 Rejeição Crônica..... | 35 |
| 2.3.3 Nefropatia Crônica do Enxerto (NCE) | 36 |
| 2.3.4 Classificação Histopatológica das Rejeições (Critério Banff) | 38 |
| 2.3.5 Prevenção e Tratamento das Rejeições..... | 41 |
| 2.3.5.1 Imunossupressão | 41 |
| 2.3.5.2 Testes de Histocompatibilidade | 44 |
| 2.3.5.2.1 Tipagem ABO | 44 |
| 2.3.5.2.2 Tipagem HLA | 44 |
| 2.3.5.2.3 Prova Cruzada por Linfocitotoxicidade..... | 45 |
| 2.3.5.2.4 Prova Cruzada por Citometria de Fluxo | 47 |
| 2.3.5.2.5 Avaliação da Reatividade contra Pannel (PRA)..... | 48 |
| 2.4 PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PRÉ-TRANSPLANTE RENAL | 49 |
| 2.5 PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PÓS-TRANSPLANTE RENAL | 50 |
| 2.5.1 Resposta Humoral aos Aloenxertos – Papel dos Anticorpos anti-HLA..... | 51 |
| 2.5.1.1 Anticorpos anti-HLA e a Rejeição Aguda | 56 |
| 2.5.1.2 Anticorpos anti-HLA e a Nefropatia Crônica do Enxerto (NCE) | 59 |
| 2.5.1.3 Anticorpos Anti-HLA e a Rejeição Crônica | 61 |
| 2.6 ANTICORPOS DIRIGIDOS A OUTROS ANTÍGENOS | 64 |

| | |
|--|-----------|
| 3 JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO | 67 |
| 4 OBJETIVOS | 69 |
| 4.1 PRINCIPAL..... | 69 |
| 4.2 SECUNDÁRIOS..... | 69 |
| 5 PACIENTES E MÉTODO | 70 |
| 5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO | 70 |
| 5.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO | 70 |
| 5.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO..... | 70 |
| 5.4 POPULAÇÃO DE ESTUDO E AMOSTRA | 70 |
| 5.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS | 71 |
| 5.6 ACOMPANHAMENTO PÓS-TRANSPLANTE..... | 71 |
| 5.7 FATOR EM ESTUDO | 71 |
| 5.8 DESFECHOS..... | 71 |
| 5.8.1 Rejeição Aguda..... | 72 |
| 5.8.2 Nefropatia Crônica do Enxerto..... | 72 |
| 5.9 SUSPEITA DE REJEIÇÃO CRÔNICA | 72 |
| 5.10 PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-HLA POR ELISA (PRA) | 73 |
| 5.11 BIÓPSIAS PROTOCOLARES | 75 |
| 5.12 COLETA DE DADOS..... | 75 |
| 5.13 IMUNOSSUPRESSÃO | 76 |
| 5.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 77 |
| 6 RESULTADOS | 79 |
| 6.1 CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS AO PRÉ-TRANSPLANTE | 79 |
| 6.2 CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS AO PÓS-TRANSPLANTE..... | 81 |
| 6.2.1 Achados histológicos das biópsias renais protocolares..... | 83 |
| 6.3 ANÁLISE DA PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PRIMEIRO ANO PÓS- TRANSPLANTE | 84 |
| 6.3.1 Anticorpos anti-HLA e as características do pré-transplante..... | 84 |
| 6.3.2 Anticorpos anti-HLA em relação às características do transplante e do pós-transplante..... | 86 |
| 6.3.3 Anticorpos anti-HLA em relação aos achados histológicos..... | 89 |
| 6.4 ANÁLISE DA PRESENÇA DE REJEIÇÃO AGUDA NO PRIMEIRO ANO PÓS-TRANSPLANTE | 90 |
| 6.4.1 Rejeição aguda em relação às características do pré-transplante..... | 90 |
| 6.4.2 Rejeição aguda em relação às características do transplante e do pós-transplante | 91 |
| 6.4.3 Variáveis preditoras de Rejeição aguda..... | 95 |

| | |
|--|------------|
| 6.5 ANÁLISE DA PRESENÇA DA NEFROPATIA CRÔNICA DO ENXERTO NO PRIMEIRO ANO PÓS-TRANSPLANTE | 95 |
| 6.5.1 Nefropatia crônica do enxerto em relação às características pré-transplante..... | 95 |
| 6.5.2 Nefropatia crônica do enxerto em relação às características do transplante e do pós-transplante | 97 |
| 6.5.3 Variáveis preditoras para a nefropatia crônica do enxerto | 99 |
| 6.5.4 Concordância entre os métodos diagnósticos da nefropatia crônica do enxerto | 100 |
| 6.6 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA DE CLASSE I E II EM CADA MOMENTO DE COLHEITA PÓS-TRANSPLANTE | 100 |
| 6.7 AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS OBSERVADAS NOS MOMENTOS DE COLHEITA PÓS-TRANSPLANTE EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE REJEIÇÃO AGUDA E NEFROPATIA CRÔNICA DO ENXERTO | 103 |
| 7 DISCUSSÃO | 105 |
| 8 CONCLUSÕES | 112 |
| REFERÊNCIAS..... | 114 |
| ANEXO 1 - Modelo Para a Revisão das Biópsias Protocolares..... | 120 |
| APÊNDICE A - Termo de Consentimento Informado..... | 122 |
| APÊNDICE B - Protocolo de Coleta Dados..... | 125 |
| APÊNDICE C - Tabela de Coleta de Dados..... | 127 |
| APÊNDICE D - Legenda da Tabela de Coleta de Dados e Resultados de Exames..... | 128 |
| APÊNDICE E - Protocolo de Desfechos | 130 |

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o número de pacientes com insuficiência renal crônica (IRC) tem crescido de forma preocupante. No Brasil, estima-se que um milhão de pessoas tenham problemas renais, embora 70% não tenham conhecimento do fato⁽¹⁾.

Quando ocorre a perda significativa da função renal, o paciente inicia hemodiálise ou a diálise peritoneal como forma de substituir a filtração sanguínea realizada pelos rins. Esses tratamentos não são destituídos de risco e diminuem a qualidade de vida⁽²⁾; a taxa de mortalidade dos pacientes em diálise no país, em 2005, foi de 13%⁽³⁾.

No Brasil, cerca de 70.000 pessoas estão em tratamento dialítico, sendo a distribuição por região assim constituída: 53% na região sudeste, 20% na região nordeste, 16% na região sul, 7% na região centro-oeste e 4% na região norte⁽³⁾.

Segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), a incidência de pacientes em diálise em 2005, na região sul, foi de 5256 pacientes e a prevalência passou de 160 pacientes em diálise por milhão de habitantes (ppm) em 1994, para 383 no ano de 2005⁽³⁾.

O transplante renal é a terapia considerada mais eficiente para pacientes com insuficiência renal crônica (IRC) terminal. Oitenta por cento dos pacientes a ele submetidos têm condições de retornar às suas atividades profissionais após três meses da cirurgia. O mesmo não ocorre com os que se encontram em tratamento dialítico, pois, somente 30% retornam ao trabalho nesse mesmo período⁽²⁾.

Atualmente, a lista de espera para transplante renal no país tem mais de 30.000 pacientes e o tempo médio de espera por um doador é de 2,8 anos ^(2, 3). A meia-vida dos enxertos renais é de doze a catorze anos, sendo maior nos que receberam órgãos de doador vivo ⁽⁴⁾.

No início do século XX, Emmerich Ullmann, em Viena, fez a primeira tentativa de transplante experimental animal utilizando tubos protéticos para a anastomose vascular. Removeu o rim de um cão e o manteve funcionando por poucos dias em outro cão receptor. No mesmo período, em Lyon, Aléxis Carrel (prêmio Nobel de 1912), pioneiro no desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas de sutura para a anastomose vascular - ainda hoje adotadas - começou a transplantar rins em modelos experimentais caninos ⁽⁵⁻⁷⁾.

Poucos anos mais tarde, em 1906, Mathieu Jaboulay, realizou transplante de rim em humanos, suturando os vasos renais de uma cabra e de um porco nos vasos do braço de dois pacientes ⁽⁷⁾. Já em meados de 1930, um cirurgião russo, Yu Yu Voronoy, realizou sem sucesso, os primeiros transplantes de rins entre humanos, em seis pacientes envenenados por cloreto de mercúrio ^(6, 7).

Essas experiências mostraram a necessidade de alguma semelhança genética entre o doador e o receptor para o sucesso dos transplantes. No final dos anos 40, Peter Medawar (prêmio Nobel de 1960), trabalhando para o National Institute for Medical Research (Inglaterra), melhorou o entendimento da rejeição através do resultado de pesquisa sobre Imunologia dos Transplantes, identificando a importância da imunidade celular no mecanismo de rejeição dos enxertos. Isso permitiu o desenvolvimento de protocolos de imunossupressão e a conseqüente redução de rejeição aguda do enxerto. A cortisona tinha sido recém-descoberta e a azatioprina foi

identificada em 1959; ambas utilizadas para a imunossupressão básica nas duas décadas subseqüentes ⁽⁶⁾.

O primeiro transplante renal bem-sucedido aconteceu entre gêmeos idênticos, em 1954 ^(6, 8). Realizado por Joseph Murray, no hospital Peter Bent Brigham, em Boston, teve um paciente cuja sobrevida foi de nove anos com função renal satisfatória ^(6, 7). Oito anos após (1962), aconteceu o primeiro transplante renal bem-sucedido, utilizando doador falecido, também realizado por Joseph Murray ⁽⁵⁾.

No Brasil, o primeiro transplante renal com doador vivo foi realizado em 1965, pela equipe do professor Emil Sabbaga, no Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) ⁽⁵⁾.

Em 1966, foi realizado o primeiro transplante simultâneo de rim e pâncreas ⁽⁸⁾, na Universidade de Minnesota, nos Estados Unidos da América (USA). Foi realizado por Richard Lilehei e Willian Kelly ⁽⁵⁾.

Foi com a descoberta da ciclosporina - em 1972 - que o transplante renal, alcançou sucesso significativo. Em 1983, os resultados de vários estudos multicêntricos confirmaram um aumento de 20% na sobrevida do enxerto renal, no primeiro ano de transplante, dos pacientes tratados com ciclosporina. Os imunossupressores mais modernos, introduzidos na década de noventa, tais como tacrolimus e o micofenolato mofetil (MMF), aumentaram ainda mais a sobrevida do enxerto, alcançando 85 a 90% no final do primeiro ano de transplante ⁽⁶⁾.

O transplante renal é um tratamento bem-estabelecido, principalmente devido à evolução da histocompatibilidade, aos avanços na preservação de órgãos, às drogas imunossupressoras mais efetivas e ao melhor monitoramento do paciente ⁽⁹⁾. No entanto, muitas questões permanecem problemáticas, entre elas o insuficiente número de doadores, os efeitos adversos da imunossupressão (infecções e tumores) e a

disfunção crônica do enxerto: rejeição crônica (RC) e nefropatia crônica do enxerto (NCE).

Diversos estudos sobre a sensibilização aos antígenos do sistema HLA (“Human Leucocyte Antigen”) no pós-transplante renal têm indicado que esta via pode ser importante na detecção dos pacientes com maior risco de rejeição e perda do enxerto ⁽¹⁰⁻²²⁾.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE (CPH)

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) foi, inicialmente, descoberto como uma região cromossômica cujos produtos eram responsáveis pela rápida rejeição dos enxertos de tecidos transplantados entre linhagens diferentes de camundongos. Essa região, identificada por George Snell em 1940, estava ligada a um gene no cromossomo 17 que reconhecia o antígeno II, e por isso foi chamada de Histocompatibilidade-2 ou, simplesmente, H-2⁽²³⁾.

Os genes do Complexo Principal de Histocompatibilidade, estão presentes em todas as espécies de mamíferos e são homólogos aos genes do complexo H-2, identificados em camundongos^(23, 24). Só mais tarde, na década de sessenta, foi descoberto que esses genes são de importância fundamental para a resposta imunológica a outros antígenos protéicos e não somente em casos de transplantes⁽²³⁾.

Jean Dausset, Van Rood e seus colegas observaram que pacientes que desenvolviam reações transfusionais ou rejeitavam transplantes, muitas vezes, tinham anticorpos circulantes que reagiam com os antígenos presentes nos leucócitos, ou nas células do órgão do doador. Eles presumiram que esses antígenos fossem produtos de genes polimórficos que distinguiam os tecidos próprios dos não-próprios. Assim, foram os primeiros a descrever anticorpos no soro humano contra antígenos HLA^(23, 24).

Na espécie humana, o CPH é a região genética localizada no braço curto do cromossomo 6, ocupando um grande segmento do DNA, com aproximadamente 3500 Kb. O CPH humano está dividido tradicionalmente em três regiões: região de classe I, II e III. Cada região está dividida em diversos locos, os quais contêm os genes que codificam as glicoproteínas do sistema HLA. Os genes HLA são os mais polimórficos do genoma humano, contendo cerca de 475 alelos HLA de classe I e 444 alelos HLA de classe II e são expressos de forma mendeliana codominante ^(23, 25). A frequência dos alelos HLA varia entre grupos étnicos e raciais ⁽²⁵⁾.

O conjunto de alelos HLA presente em cada cromossomo é chamado de haplótipo, o qual é transmitido de uma geração a outra em bloco. Todo indivíduo herda dois haplótipos: um de origem materna, outro de origem paterna ⁽²³⁾.

Com base no princípio de segregação independente, 25% dos irmãos deveriam compartilhar os mesmos haplótipos (HLA idênticos), 50% compartilhariam apenas um haplótipo (haploidênticos) e 25% não apresentariam identidade no sistema HLA ⁽²⁵⁾.

2.1.1 Região de Classe I

A região de classe I é constituída pelos locos HLA-A, B e C. Esses locos apresentam diversos alelos HLA, os quais se expressam em forma de glicoproteínas na membrana de todas as células nucleadas. Nesta região, também se encontram outros genes, distribuídos nos locos X, E, J, H, G e F; semelhantes aos demais, porém possuindo pouco ou nenhum polimorfismo, baixa expressão na superfície celular e limitada distribuição tissular. A função da maioria desses últimos genes não é totalmente conhecida, mas postula-se que o HLA-G possa ter alguma participação no reconhecimento dos antígenos pelas células NK (natural killer) e que o HLA-H possa

estar envolvido no metabolismo do ferro. Nessa região, existem também pseudogenes (23, 25).

2.1.2 Região de Classe II

A região de classe II está dividida nos locos HLA-DR, DP e DQ, e seus genes são expressos em forma de glicoproteínas na membrana das células apresentadoras de antígenos aos linfócitos T CD4 positivos (T CD4+) (23).

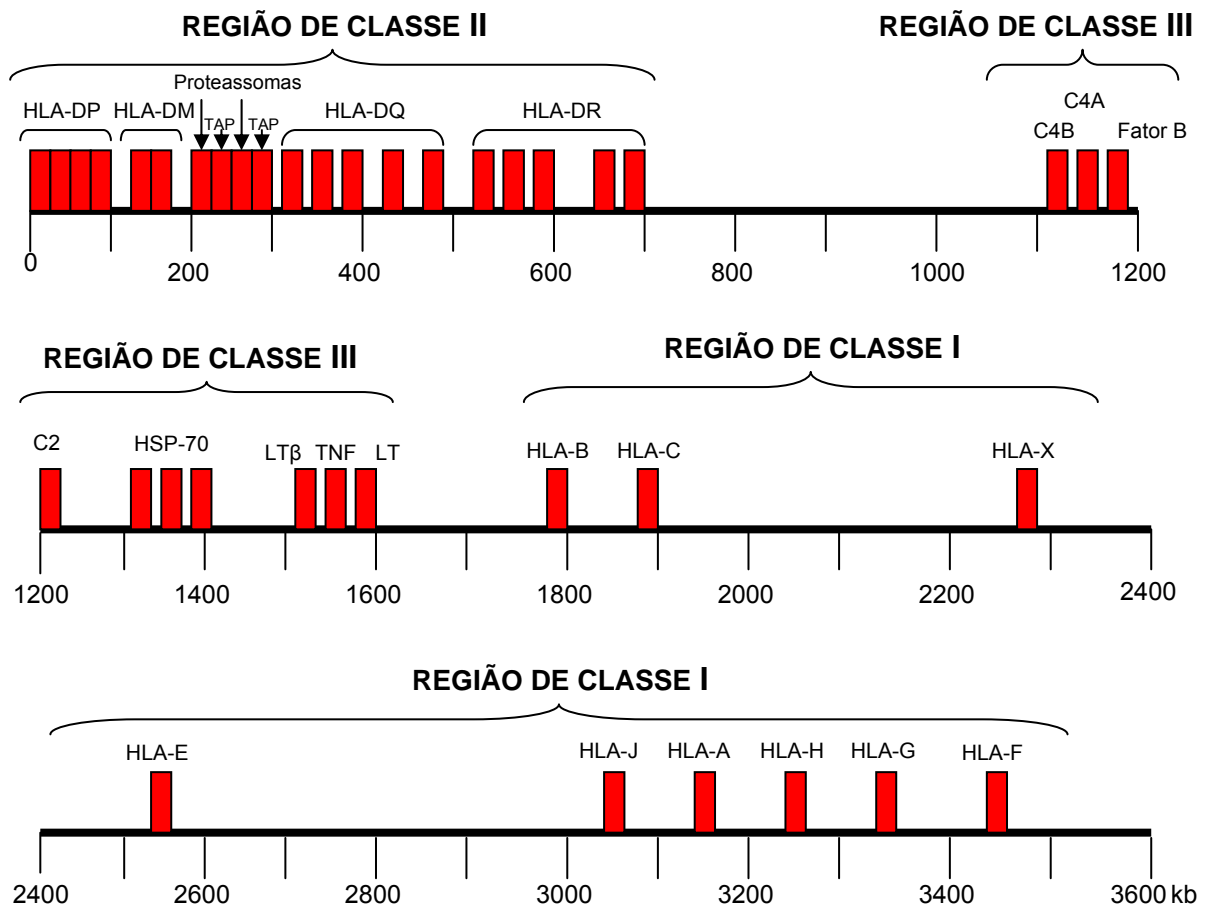
Nessa região, também são encontrados genes que se expressam na forma de várias proteínas importantes no processamento dos antígenos como TAP (transportador associado ao processamento de antígenos); proteassomas e os genes HLA-DM, que participam na ligação dos peptídeos às moléculas de classe II (23, 25).

2.1.3 Região de Classe III

A região de classe III situa-se entre as duas anteriores. Seu genes codificam para vários componentes do sistema do complemento, para o fator de necrose tumoral (TNF), para a linfotóxina, a linfotóxina- β e para algumas proteínas do choque térmico (23).

Os genes de Classe I estão mais próximos do telômero, enquanto os genes de classe II estão mais próximos do centrômero do cromossomo 6 (23).

O mapa simplificado do CPH humano pode ser visualizado na figura 1.



Legenda: C4,C2,B: proteínas do complemento; DM, TAP, proteassomas: proteínas envolvidas no processamento dos antígenos; HSP: proteína de choque térmico; LT: linfotóxinas; TNF: fator de necrose tumoral.

Adaptado de: Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Imunologia Celular e Molecular. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.

Figura 1 - Mapa simplificado do CPH humano.

2.2 PRODUTOS DOS GENES DO CPH: MOLÉCULAS OU ANTÍGENOS HLA

Pelo fato de terem sido reconhecidas primeiramente nos leucócitos, essas moléculas foram chamadas de Antígenos Leucocitários Humanos (do inglês Human Leucocyte Antigens – HLA); controlam a resposta imune apresentando peptídeos “próprios” e “não-próprios” aos linfócitos T. Podem também - devido ao seu extremo polimorfismo - funcionar como aloantígenos, servindo, neste caso, como células-alvo na rejeição de enxertos. Atualmente, sabemos que a função fisiológica das moléculas HLA é a apresentação de peptídeos antigênicos às células T ⁽²³⁾.

Os antígenos HLA estão ancorados à célula por meio dos seus domínios transmembrana e citoplasmático. Seus resíduos polimórficos (aminoácidos que variam entre seus diferentes alelos) estão localizados na fenda ou no sulco extracelular de ligação do peptídeo antigênico. Também possuem domínios não-polimórficos os quais contêm os sítios de ligação para os linfócitos T CD4+, ou para os linfócitos T CD8 positivos (T CD8+) ⁽²³⁾.

Os linfócitos T CD8+ só reconhecem peptídeos quando esses estão associados às moléculas HLA de classe I. Os linfócitos T CD4+ só reconhecem peptídeos quando esses estão associados às moléculas HLA de classe II. Este fenômeno é chamado de “restrição ao CPH”, no qual os peptídeos antigênicos só serão reconhecidos se estiverem associados às moléculas HLA ^(23, 26).

A associação peptídeo-HLA pode requerer de quinze a trinta minutos e sua dissociação é muito lenta: o complexo peptídeo-HLA pode permanecer associado durante horas, até muitos dias, permitindo tempo suficiente para assegurar interações produtivas com as células T ⁽²³⁾.

2.2.1 Antígenos HLA de classe I

As moléculas HLA de classe I são compostas de duas cadeias polipeptídicas ligadas não-covalentemente: uma cadeia alfa, codificada no cromossomo 6 e uma subunidade codificada no cromossomo 15, denominada β 2-microglobulina ^(23, 25).

A cadeia alfa é altamente polimórfica e consiste de um segmento extracelular dividido em três domínios: alfa1 (α 1), alfa 2 (α 2) e alfa 3 (α 3); uma porção transmembrana hidrofóbica e de uma porção curta citoplasmática. São os domínios α 1 e α 2 que contêm os resíduos polimórficos, onde os peptídeos serão ligados. Esta fenda acomoda peptídeos de oito a onze aminoácidos. O domínio α 3 possui uma alça que serve como sítio de ligação ao linfócito T CD8+ e possui uma seqüência de aminoácidos conservada ^(23, 25).

A β 2-microglobulina é similar à região externa α 3, mas não contém domínio transmembrana, sendo invariável em todas as moléculas do CPH de classe I. Na ausência da β 2-microglobulina, as cadeias alfa não são expressas na superfície da célula ^(23, 25).

2.2.2 Antígenos HLA de Classe II

As moléculas HLA de Classe II consistem de duas cadeias polipeptídicas associadas não covalentemente: uma cadeia alfa e uma cadeia beta, ambas codificadas por genes do cromossomo 6 ^(23, 25).

A cadeia α divide-se em domínios α 1 e α 2 e a cadeia beta se divide em domínios beta1 (β 1) e beta 2 (β 2). São os domínios α 1 e β 1 que interagem para formar a fenda de ligação dos peptídeos, a qual acomoda peptídeos de dez a trinta aminoácidos ou mais. Os resíduos polimórficos da molécula HLA de classe II também

ficam sobre e em volta da fenda, sendo que a maior parte do polimorfismo está na cadeia β ⁽²³⁾.

Os domínios $\alpha 2$ e $\beta 2$ não são polimórficos. É no domínio $\beta 2$ que se encontra a alça que serve de ligação para o linfócito T CD4+ ^(23, 25).

Tabela 1 - Características das Moléculas HLA de Classe I e II

| Características das Moléculas HLA de Classe I e II | | | |
|--|---|--|--|
| Característica | HLA de classe I | | HLA de classe II |
| Cadeias polipeptídicas | $\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3$ $\beta 2$ -microglobulina | | $\alpha 1, \alpha 2$ $\beta 1, \beta 2$ |
| Localização dos resíduos polimórficos | Domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$ | | Domínios $\alpha 1$ e $\beta 1$ |
| Sítio de ligação para o co-receptor de célula T | Região $\alpha 3$ liga CD8 | | Região $\beta 2$ liga CD4 |
| Tamanho da fenda de ligação do peptídeo | Acomoda peptídeos de 8-11 aminoácidos | | Acomoda peptídeos de 10-30 aminoácidos ou mais |
| Nomenclatura | HLA-A, HLA-B, HLA-C | | HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP |

Adaptado de Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Imunologia Celular e Molecular*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.

2.2.3 Distribuição dos Antígenos HLA de Classe I e II

As moléculas do CPH de Classe I são expressas em todas as células nucleadas e, em maior densidade, nos linfócitos T, linfócitos B, macrófagos e em células epiteliais do timo. As moléculas de Classe II são expressas em linfócitos B, células dendríticas, células endoteliais, monócitos e macrófagos. Contudo, muitos outros tipos celulares podem ser induzidos a expressar proteínas de classe II quando estimulados por interferon gama, liberado durante a ativação do linfócito T, como as células endócrinas e as células endoteliais ^(23, 25).

2.3 IMUNOLOGIA DOS TRANSPLANTES

Uma grande limitação para o êxito do transplante é a resposta imune do receptor ao tecido do doador. Isso foi inicialmente observado durante as tentativas mal-sucedidas de transplante de pele em pacientes com queimaduras, a partir de doadores não-familiares. O fracasso de tais enxertos levou Peter Medawar e outros pesquisadores a estudarem o transplante de pele em modelos animais. A reação inflamatória encontrada nos enxertos foi chamada de “rejeição” ⁽²³⁾.

Os transplantes podem falhar devido a outros fatores que não a rejeição, tornando-se importante distinguir rejeição de outras causas de perda do enxerto ⁽²³⁾.

2.3.1 Reconhecimento de Aloantígenos

O prefixo *alo* deriva de *állos*, do grego, e significa outro ⁽²⁷⁾; portanto, alorreconhecimento significa: o reconhecimento do outro. As moléculas reconhecidas como estranhas nos aloenxertos, são chamadas de aloantígenos ⁽²³⁾.

Um enxerto transplantado entre indivíduos da mesma espécie, porém geneticamente diferentes, é chamado de enxerto alogênico, ou aloenxerto. Quando o enxerto é transplantado entre indivíduos geneticamente idênticos, temos um enxerto singênico; se o transplante for realizado entre espécies diferentes, chamamos de enxerto xenogênico, ou xenoenxerto. Se o enxerto for transplantado de um indivíduo para si mesmo, denominamos de enxerto autólogo, ou auto-enxerto ⁽²³⁾.

O reconhecimento das células transplantadas é realizado pelo linfócito T. Esse identifica os antígenos HLA presentes no enxerto como próprios ou estranhos, através de seu receptor de membrana, chamado de receptor de célula T (TCR) ⁽⁹⁾. Este

reconhecimento pode ser realizado por apresentação direta ou indireta de aloantígenos ^(23, 28).

A apresentação direta envolve o reconhecimento pelo linfócito T do receptor, de moléculas HLA intactas exibidas por células apresentadoras de antígenos (APCs) do doador, presentes no enxerto ⁽²³⁾.

A apresentação indireta envolve o processamento de moléculas HLA do doador pelas células apresentadoras de antígenos do receptor com posterior apresentação aos linfócitos T ⁽²³⁾.

Tanto os linfócitos T CD4+ quanto os linfócitos T CD8+ são capazes de mediar a rejeição, induzindo-a através de mecanismos distintos ⁽²³⁾. Os linfócitos T CD4 auxiliares se diferenciam em células efectoras produtoras de citocinas que irão lesar o enxerto e também ativar os linfócitos B a produzirem anticorpos anti-HLA. Os linfócitos T CD8+ se diferenciam em linfócitos T citotóxicos com potencialidade de destruir as células do enxerto que expressam moléculas HLA de Classe I ^(9, 23).

As vias direta e indireta de reconhecimento podem estar envolvidas no processo de rejeição simultaneamente ou em tempos diferentes após o transplante ⁽²³⁾.

2.3.2 Rejeição de Aloenxertos

A rejeição dos enxertos é classificada com base nas características histopatológicas ou no curso temporal da rejeição ⁽¹⁸⁾.

2.3.2.1 Rejeição Hiperaguda

A rejeição hiperaguda se caracteriza pela oclusão trombótica vascular do enxerto; inicia minutos ou horas após a anastomose entre os vasos sanguíneos do

hospedeiro e do enxerto. É mediada por anticorpos pré-existentes na circulação do receptor que se ligam aos antígenos endoteliais das células do órgão do doador. A ligação dos anticorpos ao endotélio vascular ativa o sistema do complemento, promovendo a quimiotaxia de polimorfonucleares e trombose intravascular^(18, 29).

Atualmente, episódios de rejeição hiperaguda são raros, não ocorrendo em mais do que 0,5% dos transplantes; quando ocorrem, são em geral mediados por anticorpos do tipo IgG dirigidos contra as moléculas HLA do doador, presentes no endotélio vascular do órgão transplantado⁽²³⁾. Tais anticorpos, geralmente, surgem como resultado de uma exposição prévia a aloantígenos, mediante transfusões sanguíneas, transplantes prévios ou gestações^(30, 31).

Se os anticorpos pré-formados tiverem baixo título, ou não fixarem complemento, a rejeição hiperaguda pode se desenvolver lentamente, caracterizando a chamada “Rejeição Acelerada do Enxerto”⁽²³⁾. Esse tipo de rejeição ocorre geralmente entre dois e cinco dias pós-transplante, produzindo ruptura vascular e hemorragia intersticial⁽²⁸⁾.

2.3.2.2 Rejeição Aguda

A rejeição aguda (RA) é um processo de lesão vascular e parenquimatosa mediada por células T e anticorpos, iniciando-se geralmente após a primeira semana do transplante^(23, 28). Sua incidência varia de acordo com o protocolo de imunossupressão adotado, podendo ocorrer em até cinquenta a 60% dos pacientes⁽²⁸⁾, embora a sua incidência com os protocolos de imunossupressão atualmente utilizados fique entre dez e 20%⁽³²⁾.

Células T efetoras e anticorpos se desenvolvem durante poucos dias ou semanas, em resposta aos antígenos HLA presentes no endotélio vascular e nas células parenquimatosas do enxerto ⁽²³⁾.

Dois tipos de lesões vasculares distintas podem ser encontradas nas biópsias renais, durante a RA: endotelite e vasculite necrotizante. A endotelite é, geralmente, associada com boa resposta do enxerto ao aumento da imunossupressão; a arterite necrotizante, freqüentemente, é presságio de perda do enxerto. Esses dois termos descritivos são utilizados para denotar a etiologia da RA: endotelite sendo associada à rejeição celular e arterite necrotizante com rejeição humoral, mediada por anticorpos ⁽³³⁾.

2.3.2.3 Rejeição Subclínica

A rejeição subclínica é definida quando há presença de lesões histológicas de rejeição, em enxertos que estão funcionando bem ⁽³⁴⁾. Ela é distinta clinicamente da rejeição aguda, que, por sua vez, é caracterizada pela deterioração da função renal, medida pela elevação no valor da creatinina sérica ⁽³⁵⁾. Sua incidência é variável entre os centros transplantadores, sendo influenciada pelo momento em que a biópsia protocolar foi realizada, pela presença de um episódio de RA anterior à biópsia protocolar e pelo tratamento imunossupressor ⁽³⁴⁾.

Em um estudo realizado por Nankivell e colaboradores, foi identificada rejeição subclínica em 34,3% das biópsias ⁽³⁵⁾.

2.3.2.4 Rejeição Crônica

Conforme a terapia para o controle da RA foi sendo aperfeiçoada, a rejeição crônica (RC) emergiu como a principal causa de rejeição de aloenxertos ⁽²³⁾. É caracterizada por alterações nos três principais compartimentos renais: fibrose e atrofia do interstício, fibrose e obliteração glomerular e alterações vasculares, com perda da função do enxerto ocorrendo de forma lenta e progressiva, manifestando-se de meses a anos após o transplante ⁽²⁸⁾.

A patogênese da rejeição crônica é bem menos compreendida que a da rejeição aguda. Talvez, a principal causa de RC seja a oclusão arterial, como resultado da proliferação de células musculares lisas da íntima. Este processo é conhecido como arterioesclerose do enxerto e pode se desenvolver em qualquer transplante vascularizado no período de alguns meses a anos após o transplante ⁽²³⁾.

Classicamente, na RC, a membrana basal glomerular está duplicada e essa característica, conhecida como glomerulopatia crônica do enxerto, é a lesão mais específica da RC. Contudo, pode ser vista em outras condições, tais como doença glomerular recorrente ou microangiopatia trombótica. O glomérulo, na RC, pode também mostrar um aumento das células mesangiais e da matriz, mas esse achado é menos específico ⁽³⁶⁾.

As mudanças vasculares crônicas “sugestivas” de rejeição crônica são: ruptura da lâmina elástica interna e presença de células inflamatórias na íntima fibrótica. O espessamento fibro-intimal nos vasos, sem os achados anteriores, não é considerado específico de rejeição crônica. São considerados achados úteis a proliferação de miofibroblastos na íntima expandida e formação de uma segunda “neo-íntima” ^(4, 36).

O tratamento da RC permanece como um dos mais importantes desafios no transplante de órgãos. Não há regime terapêutico para controlar a resposta humoral existente na RC. Portanto, a prevenção é a melhor medida para essa condição ⁽²³⁾.

Atualmente, devido a fatores não-imunológicos poderem causar mudanças funcionais e histopatológicas similares às da RC, essa está inserida em um contexto mais abrangente, chamado de Nefropatia Crônica do Enxerto (NCE) ⁽⁹⁾.

2.3.3 Nefropatia Crônica do Enxerto (NCE)

A NCE é definida como a deterioração morfológica e funcional do enxerto renal, de forma progressiva e irreversível, evoluindo durante meses a anos após o transplante. Achados histológicos incluem atrofia tubular, fibrose intersticial, hiperplasia da íntima e uma variedade de lesões glomerulares caracterizada mais frequentemente por glomeruloesclerose ⁽³⁷⁻³⁹⁾.

Essas mudanças podem resultar em hipertensão, proteinúria e declínio da função renal ^(9, 37).

A NCE é abrangente e multifatorial ^(37, 40); introduzida nos padrões de achados histológicos (classificação Banff) como um termo que engloba vários processos patológicos, nem sempre distinguíveis histologicamente ^(4, 40). A classificação de Banff agrupou, sob o termo Nefropatia Crônica do Enxerto, pelo menos quatro formas difíceis de serem distinguidas na biópsia: a rejeição crônica, a nefrotoxicidade por ciclosporina ou tacrolimus, a doença vascular hipertensiva e a infecção crônica e/ou refluxo ⁽⁴¹⁾.

Deste modo, a NCE nem sempre é sinônimo de rejeição crônica, que implica atividade imunológica, e nem de disfunção crônica do enxerto (definição funcional

independente, sem levar em conta a histologia)⁽³⁹⁾. Representa a seqüela histológica de uma série de interações celulares que resultam no dano cumulativo e aumentado aos néfrons⁽³⁸⁾. Estudos têm demonstrado que pacientes com RA, no primeiro ano pós-transplante, possuem risco aumentado de desenvolvimento futuro de NCE^(9, 37).

A patogênese da NCE permanece pobremente entendida^(38, 42); envolve mecanismos imunológicos e não-imunológicos^(37, 40, 42). Os imunológicos levam ao que se denomina rejeição crônica (RC). Existem achados histológicos que são sugestivos de dano mediado por anticorpos, mas deveriam ser distinguidos, por exemplo, daqueles achados devidos à hipertensão ou à toxicidade crônica por ciclosporina. Essa é uma das principais dificuldades na determinação da causa específica da NCE. A possibilidade de os achados histológicos citados anteriormente poderem coexistir no mesmo paciente, dificulta ainda mais o diagnóstico diferencial⁽³⁹⁾.

Dentre os fatores imunológicos importantes para o desenvolvimento da NCE, destacam-se a baixa compatibilidade no sistema HLA, a sensibilização prévia do receptor, os anticorpos específicos contra o doador, a disfunção inicial do enxerto, a rejeição aguda, a má aderência ao tratamento e a imunossupressão insuficiente^(9, 37, 40). Diferenças nos antígenos HLA entre doador e receptor, particularmente no loco DR, confere risco aumentado de desenvolvimento de NCE⁽³⁷⁾.

Causas não-imunológicas são também importantes e incluem nefrotoxicidade crônica por inibidores da calcineurina, infecções virais (citomegalovírus, vírus BK), hipertensão, lesão de isquemia/reperfusão, dislipidemias, reativação da doença renal primária, causa mortis do doador, idade do receptor e do doador, peso, hiperfiltração glomerular e receptores de raça negra^(37, 40).

A presença de NCE em biópsias protocolares tem sido associada com um decréscimo da sobrevida do enxerto a longo prazo⁽³⁴⁾.

2.3.4 Classificação Histopatológica das Rejeições (Critério Banff)

A classificação de Banff para biópsias renais é um método útil para avaliar a rejeição do enxerto e guiar seu tratamento. Foi proposta em 1991 por um grupo de patologistas renais, nefrologistas e cirurgiões de transplante, reunidos em Banff, no Canadá. Eles desenvolveram um esquema para padronização internacional de nomenclatura e critérios para o diagnóstico histológico da rejeição do enxerto renal ^(41, 43).

Esse sistema utiliza uma escala semiquantitativa para classificação e graduação de mudanças a curto e a longo prazo que ocorrem nos glomérulos, nos túbulos, no interstício, nas artérias e nas arteríolas do enxerto renal. Essas mudanças foram codificadas por letras, conforme descrito a seguir: g, para mudanças glomerulares; i, para mudanças intersticiais; t, para mudanças tubulares; v, para mudanças vasculares e ah, para achados de hialinose arteriolar ^(38, 41, 43). Para mudanças crônicas, foi indicado o uso da letra c em frente aos códigos: cg, ci, ct e cv ⁽⁴¹⁾.

Essa codificação é acompanhada de um escore numérico, colocado após os códigos de letras, em uma faixa de zero a três (normal, leve, moderado, severo), na dependência da severidade ou extensão da alteração histológica ^(38, 41, 43).

As categorias principais de diagnóstico, propostas por esta classificação são:

- normal
- mudanças “borderline”
- rejeição hiperaguda
- três graus de rejeição aguda (I a III)

- três graus de NCE (I a III)

- outras (não representam rejeição), como exemplos, infecção viral, toxicidade aguda ou crônica por ciclosporina ou tacrolimus, necrose tubular aguda (NTA), nefrite aguda intersticial, glomerulonefrite, trombose venosa ou arterial ⁽⁴¹⁾.

A tubulite, caracterizada pela presença de células mononucleares no epitélio do túbulo renal e a arterite da íntima são lesões indicativas de rejeição aguda. A hialinose arteriolar é indicativa de toxicidade por ciclosporina ou por tacrolimus ^(36, 41).

Mudanças crônicas podem ser vistas no glomérulo, vasos, túbulos e interstício ^(36, 40). Espessamento fibroso da íntima, de início recente, é sugestivo de rejeição crônica caso a hipertensão do paciente seja excluída como causa ⁽⁴¹⁾.

A classificação tem sido revisada de dois em dois anos. Em março de 1997, foi efetuada uma importante revisão do sistema Banff. A classificação de Banff 97 é, atualmente, a padronização utilizada internacionalmente para escore e classificação da rejeição em biópsias de transplante renal. Nela foi adicionada a categoria “rejeição mediada por anticorpos”, que foi dividida em imediata (hiperaguda) e retardada (aguda acelerada). A rejeição aguda (rejeição ativa/aguda) foi subdividida em IA, IB, IIA, IIB, III ^(36, 43).

A rejeição do tipo I é a rejeição tubulointersticial, sem presença de arterite. Se a tubulite é moderada (t2), temos a rejeição aguda IA; se é severa (t3), temos a rejeição aguda IB. A rejeição do tipo II é a rejeição vascular (arterite intimal). Se a arterite é de leve a moderada (v1), temos a rejeição IIA, se severa (v2), temos a rejeição IIB. A rejeição do tipo III é uma rejeição severa (v3), com arterite transmural com ou sem necrose fibrinóide do músculo liso ^(36, 43, 44).

Algumas das principais mudanças da classificação Banff 97, em relação ao Banff 93/95, estão citadas a seguir: a) a rejeição com vasculite foi separada de

rejeição túbulo intersticial; b) a rejeição severa requer alteração transmural nas artérias; c) na categoria “nefropatia crônica/esclerosante do enxerto”, o duplo contorno da membrana basal e o aumento das células mesangiais e da matriz foram graduados separadamente, ficando o código cg para o duplo contorno e o código mm para mudanças na matriz. A colocação da letra “a” nos graus NCE I, II e III, significa que os achados não são sugestivos de RC e a colocação da letra “b” significa que os achados são fortemente sugestivos de RC; d) a rejeição “borderline” deve ser interpretada somente em um contexto clínico⁽³⁶⁾.

Os critérios para a amostragem adequada do fragmento retirado também foram modificados: a biópsia deve ter dez ou mais glomérulos (no mínimo sete) e ao menos duas artérias (no mínimo uma). O córtex deve estar presente, de forma apropriada, na amostra⁽³⁶⁾.

Em 2001, na 6ª conferência Banff, critérios para rejeição mediada por anticorpos foram adicionados à Classificação Banff 97. A categoria rejeição ativa/aguda foi renomeada para rejeição celular ativa/aguda e na categoria rejeição mediada por anticorpo, os seguintes critérios foram propostos: evidência morfológica de dano tissular agudo; evidência imunopatológica de ação de anticorpos (deposição do sub-produto do componente C4 do complemento (C4d) nos capilares peritubulares) e evidência sorológica de anticorpos circulantes contra os antígenos HLA ou contra outros antígenos endoteliais do doador⁽⁴⁵⁾.

No estudo de Aragão e colaboradores⁽⁴⁶⁾, a maioria dos pacientes com RA tipo IIB e III e que possuíam anticorpos anti-HLA IgG no pós-transplante perderam seus enxertos ($P < 0,0001$).

2.3.5 Prevenção e Tratamento das Rejeições

Se o receptor de um aloenxerto possuir um sistema imune plenamente funcional, o transplante apresentará - quase invariavelmente - alguma forma de rejeição. As estratégias atualmente utilizadas para evitar ou retardar a rejeição são: a imunossupressão geral e a minimização da força da reação alogênica específica, buscando-se a alocação dos órgãos nos receptores com melhor compatibilidade, por meio dos testes de histocompatibilidade ⁽²³⁾ .

2.3.5.1 Imunossupressão

A imunossupressão é a principal estratégia para a prevenção e o tratamento das rejeições em transplantes de órgãos ⁽²⁸⁾ .

A azatioprina e a cortisona começaram a ser utilizadas em transplantes a partir da década de 60, constituindo-se na imunossupressão básica até o início da década de 80. A ciclosporina começou a ser utilizada em 1983; os imunossupressores mais modernos, como MMF e tacrolimus, foram introduzidos na década de 90 ⁽⁶⁾ .

A combinação de corticosteróides, azatioprina e ciclosporina foi utilizada pela maioria dos centros transplantadores por quase duas décadas. Atualmente, a azatioprina vem sendo substituída pelo uso de MMF ⁽²⁸⁾ .

Várias estratégias são utilizadas para tratar ou prevenir as rejeições; uma delas é o uso de toxinas metabólicas que destroem os linfócitos T em proliferação, por inibir a síntese de ácido desoxirribonucléico (DNA) nas células em divisão ^(23, 47) . A primeira dessas drogas a ser desenvolvida foi a azatioprina, porém revelou-se tóxica para os precursores de leucócitos na medula óssea. A droga mais nova - amplamente utilizada nesta classe - é o micofenolato mofetil (MMF). Ele é - atualmente - usado em

combinação com a ciclosporina ou tacrolimus para prevenir RA em aloenxertos ⁽²³⁾. Observações clínicas demonstraram que protocolos de imunossupressão utilizando MMF inibiram a produção de anticorpos, reduzindo os episódios de rejeição do enxerto ⁽⁴⁷⁾.

Os agentes antiinflamatórios são utilizados rotineiramente, tanto para a prevenção como para o tratamento da rejeição de enxertos. Os mais potentes disponíveis no mercado são os corticosteróides. Eles bloqueiam a síntese de citocinas (TNF, IL-1) pelos macrófagos, reduzindo a ativação celular endotelial do enxerto e o recrutamento de leucócitos inflamatórios ⁽²³⁾.

O marco que inaugurou a era moderna dos transplantes foi a introdução da ciclosporina na prática clínica. A ciclosporina é um peptídeo cíclico produzido por uma espécie de fungo, o *Tolypocladium inflatum*. Sua principal ação nos linfócitos T é a de inibir a transcrição de certos genes, principalmente aqueles que codificam a interleucina 2 (IL-2) e – indiretamente - inibir a proliferação de linfócitos B ⁽³⁷⁾. Entretanto, os níveis da droga necessários para a imunossupressão podem torná-la nefrotóxica e causar lesões renais ⁽²³⁾.

Outra droga imunossupressora potente denominada de tacrolimus (FK-506) foi introduzida na rotina clínica. Seu mecanismo de ação é similar ao da ciclosporina ^(23, 28, 47) e tem sido progressivamente utilizado em substituição à ciclosporina ⁽²³⁾.

O agente imunossupressor rapamicina é um antibiótico macrolídeo, cujo principal efeito é inibir a proliferação dos linfócitos T. Seu mecanismo de ação resulta no bloqueio da habilidade de resposta às citocinas, tais como IL-2 ^(23, 28). O uso da rapamicina promete melhorar ainda mais a sobrevida precoce do enxerto ⁽²³⁾.

Para o tratamento de episódios de RA, são usadas doses elevadas de corticosteróides e na dependência da resposta ou gravidade da rejeição, são

utilizados anticorpos policlonais ou monoclonais, que reconhecem estruturas de superfície nos linfócitos T. O anticorpo mais amplamente utilizado como imunossupressor é o OKT3[®], específico para a molécula CD3 humana, um marcador de superfície do linfócito T ⁽³⁷⁾. O OKT3[®] identifica o linfócito T, ativa o sistema do complemento, lisando ou opsonizando a célula para a fagocitose. Ele também inibe indiretamente a proliferação de linfócitos B ^(23, 47).

Outro anticorpo monoclonal utilizado é o anticorpo específico para o CD25 (subunidade alfa do receptor de IL-2). Este medicamento, que é geralmente administrado no momento do transplante, pode prevenir a ativação de linfócitos T bloqueando a ligação de IL-2 às células ativadas ou pode depletar o linfócito T ativado que expressa CD25 ⁽²³⁾.

A maior limitação para o uso destes anticorpos monoclonais obtidos de camundongos é a de que humanos produzem anticorpos anticamundongo, neutralizando o efeito imunossupressor. Por essa razão, foram desenvolvidos anticorpos quiméricos (“humanizados”) contra CD3 e CD25 ⁽²³⁾.

Os protocolos de imunossupressão atuais melhoraram consideravelmente a sobrevida dos enxertos. Antes do uso da ciclosporina, a sobrevida no primeiro ano, de enxertos de doadores falecidos, sem levar em conta a compatibilidade no sistema HLA, ficava entre cinquenta a 60%. Após a introdução da ciclosporina, do MMF e de melhor histocompatibilidade entre receptor e doador, este índice aumentou para 90% ⁽²³⁾.

A RA é tratada com a intensificação rápida da terapia imunossupressora. A RC é mais insidiosa que a RA e é provável que a prevenção da RC seja a melhor abordagem para esse problema ⁽²³⁾.

2.3.5.2 Testes de Histocompatibilidade

Diversos testes laboratoriais são rotineiramente realizados para reduzir o risco de rejeição em transplantes. Dentre eles, destaca-se a tipagem sanguínea ABO, a tipagem HLA do receptor e do doador, a prova cruzada pré-transplante e a pesquisa de anticorpos pré-formados contra um painel de antígenos HLA (Panel Reactive Antibodies ou PRA) ⁽²³⁾.

2.3.5.2.1 Tipagem ABO

Minimizar as diferenças aloantigênicas entre doador e receptor, mediante a seleção de doadores com a maior compatibilidade possível, tem sido a principal estratégia para reduzir a imunogenicidade dos enxertos ⁽²³⁾.

A compatibilidade no sistema ABO é a primeira medida a ser observada para evitar a rejeição do enxerto em transplantes de órgãos. Esse teste é obrigatório e amplamente utilizado em transplantes de órgãos sólidos ⁽²³⁾.

2.3.5.2.2 Tipagem HLA

A procura da compatibilidade no sistema HLA entre o receptor e o doador é muito importante, pois quanto maior o número de semelhanças entre os antígenos ou alelos HLA do doador e do receptor, maior será a sobrevivência do enxerto ⁽⁴⁸⁾.

É possível haver entre zero e seis incompatibilidades (mismatches) de HLA entre doador e receptor, considerando que a tipagem rotineira do HLA envolva apenas alelos dos locos HLA-A, HLA-B e HLA-DR ^(23, 25).

Até poucos anos atrás, a maioria das tipagens HLA era realizada por métodos sorológicos. Recentemente, passou a ser realizada através da reação em cadeia da

polimerase (PCR) por SSP (sequence-specific primers) ou SSO (sequence-specific oligonucleotide) ^(23, 49). Essa nova tecnologia permitiu uma tipagem mais segura e completa dos genes dos locos HLA de classe I e II e eliminou as reações cruzadas existentes nos métodos sorológicos ⁽²³⁾.

A importância da compatibilidade é demonstrada pela melhor sobrevida do enxerto, a curto e a longo prazo, em transplantes com doador HLA idêntico, comparado aos transplantes com doador HLA haploidêntico. Esses últimos possuem maior êxito quando comparados aos transplantes com irmãos HLA distintos e/ou com doadores falecidos ⁽⁵⁰⁾.

Dados recentes, provenientes do CTS (Collaborative Transplant Study-Heidelberg, Alemanha), mostraram um significativo benefício da compatibilidade, especialmente a longo prazo. As análises dos transplantes realizados de 1985 a 2004 reportaram a uma projeção de sobrevida do enxerto aos vinte anos de 40%, em transplantes com zero incompatibilidades HLA-A, B e DR, decrescendo para 26% nos pacientes com seis incompatibilidades HLA ⁽⁵¹⁾.

Rins de doador falecido com zero incompatibilidades HLA possuem uma meia-vida de treze anos e dois meses, comparada com os sete anos observados em enxertos com seis incompatibilidades HLA ⁽⁹⁾.

2.3.5.2.3 Prova Cruzada por Linfocitotoxicidade

Anticorpos pré-formados dirigidos contra os antígenos HLA do enxerto são a principal e mais conhecida causa de rejeição hiperaguda ^(31, 52, 53). Esses anticorpos podem também estar envolvidos em rejeições agudas e crônicas ^(17, 23).

A prova cruzada realizada por citotoxicidade dependente de complemento (CDC) tem sido a metodologia clássica utilizada há mais de trinta anos para a detecção de anticorpos anti-HLA. Foi descrita por Terasaki e McLelland em 1964^(33, 52).

Essa metodologia consiste na incubação de células mononucleares (linfócitos), coletadas do sangue periférico do doador, com o soro do receptor. Após essa incubação, é acrescentado soro de coelho como fonte de complemento. Caso tenha havido reação antígeno-anticorpo na superfície das células do doador, o complemento será ativado, provocando a lise da célula. O resultado da reação é evidenciado pela adição de um corante vital, geralmente a eosina, que penetra nas células mortas, mas é incapaz de penetrar nas células com membrana íntegra. A leitura ao microscópio nos permite quantificar a proporção de células mortas, entre zero e 100% ⁽²³⁾. Qualquer quantidade de células mortas, acima de 10% do controle negativo, é considerada positiva ⁽²¹⁾. Esse teste também pode ser realizado utilizando-se linfócitos originários do baço ou de linfonodos de doadores falecidos ⁽²³⁾.

A vantagem desse ensaio é o fato de ser o único que, devido à leitura ser feita em relação à morte das células, pode melhor mimetizar a realidade *in vivo*. A grande desvantagem da técnica por CDC é que ela também detecta autoanticorpos e requer a fixação do complemento para medir a reatividade dos anticorpos ⁽³³⁾. A morte espontânea de células (principalmente linfócitos B) pode causar um resultado falso-positivo ⁽¹⁸⁾.

Somente na metade dos anos setenta, foi introduzida a prova cruzada contra linfócitos T, o que permitiu excluir a participação de anticorpos dirigidos contra antígenos HLA de classe II, ausentes nos linfócitos T em repouso. Mais tarde, foi introduzida a prova cruzada contra linfócitos T com a adição de antiglobulina humana

(AGH), aumentando a sensibilidade do teste. Além disso, o uso da AGH pode revelar a presença de anticorpos não-fixadores de complemento ^(23, 52).

Outro importante avanço das técnicas de prova cruzada por CDC foi a introdução do DTT (dithiothreitol), que permite identificar a qual isotipo o anticorpo presente pertence: IgM, IgG ou ambos ⁽⁵²⁾.

2.3.5.2.4 Prova Cruzada por Citometria de Fluxo

A prova cruzada por citometria de fluxo (FCXM) utiliza imunofluorescência indireta para detectar os aloanticorpos que se ligaram aos linfócitos do doador. Nessa metodologia, não é necessária a fixação do complemento. Feixes de um laser detectam os linfócitos T e/ou B e a presença - ou não - de anticorpos, através de marcadores fluorescentes ^(33, 54). O isotipo do anticorpo pode ser determinado pela escolha do anticorpo secundário ⁽³³⁾.

Para distinguir entre células T e B, utilizam-se anticorpos monoclonais conjugados a moléculas fluorescentes, dirigidos contra marcadores de membrana de células T (CD3) e contra marcadores de membrana de células B (CD20 ou CD19). Um anticorpo secundário, também marcado por uma molécula fluorescente, detecta os anticorpos ligados à célula do doador. A interpretação da FCXM é feita pela comparação da intensidade da fluorescência da população de células do doador tratada com o soro do paciente, com a intensidade da fluorescência da mesma população celular tratada com um soro controle negativo para anticorpos anti-HLA ⁽⁵⁵⁾.

A FCXM tem-se tornado um método útil para detectar baixos níveis de anticorpos antidoador, sendo que anticorpos - não-aparentes na prova cruzada por CDC, mas detectados por FCXM - são frequentemente associados ao aumento de episódios de rejeição e falha precoce do enxerto ^(33, 54). Como não há métodos para

confirmar se o anticorpo detectado pela FCXM é dirigido contra os antígenos HLA de classe I e/ou II, nem se os anticorpos ligados possuem qualquer efeito patológico nas células-alvo, a interpretação da FCXM é um pouco delicada e deve levar em conta a história clínica de cada paciente. Portanto, uma FCXM positiva nem sempre se constitui em uma contra-indicação ao transplante ^(18, 55).

2.3.2.5.5 Avaliação da Reatividade contra Painel (PRA)

A avaliação da presença de anticorpos contra um painel de células ou antígenos HLA (“panel-reactive antibodies” ou PRA) é a forma rotineira de investigar a sensibilização prévia aos antígenos HLA. O resultado informa o grau de aloimunização dos candidatos ao transplante, sendo expresso como um valor percentual. As causas mais comuns de sensibilização aos antígenos HLA são as gestações, transfusões e transplantes prévios ^(30, 52).

A metodologia consiste em testar o soro do paciente com o maior número possível de antígenos HLA ⁽⁵²⁾. A fonte desses antígenos pode ser: linfócitos obtidos de pessoas saudáveis; moléculas HLA de classe I e II purificadas e aderidas a microplacas (PRA por ensaio imunoenzimático ELISA) ou moléculas HLA de classe I e II ligadas a micro-esferas (PRA por citometria de fluxo) ⁽³³⁾. O soro que reage com a maioria dos antígenos do painel possui um alto valor de PRA, indicando que o paciente apresenta um alto nível de pré-sensibilização aos antígenos HLA ^(31, 52). Mesmo a prova cruzada sendo negativa, pacientes com alto PRA pré-transplante possuem risco aumentado de rejeição, que pode ser explicado pelo sistema imune mais reativo do receptor ou por anticorpos específicos ao doador que não foram detectados pelo método CDC ⁽³¹⁾.

Os pacientes são classificados - de acordo com a percentagem da PRA - em não-sensibilizados, sensibilizados e altamente sensibilizados, expresso como PRA <10%; PRA 11-50%; PRA > 50%, respectivamente ⁽³⁰⁾. O desenvolvimento de testes utilizando ELISA e citometria de fluxo aumentou a sensibilidade e especificidade do teste PRA ⁽³⁰⁾.

A PRA por ELISA, assim como a PRA por citometria de fluxo, identifica anticorpos não fixadores de complemento; portanto é mais sensível que o CDC. A PRA ELISA permite distinguir entre anticorpos anti-HLA de classe I e II ^(33, 52).

2.4 PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PRÉ-TRANSPLANTE RENAL

Os anticorpos anti-HLA desempenham um papel importante na sobrevida do enxerto, principalmente em transplante de rim. A existência de anticorpos anti-doador no pré-transplante está diretamente envolvida com a patogênese da rejeição hiperaguda e acelerada do enxerto. Portanto, a presença desses anticorpos pré-formados é sempre avaliada antes do transplante, através da realização da prova cruzada, utilizando-se amostras de soro atual (sessenta a noventa dias precedentes ao transplante) e histórico (soro mais antigo disponível dentro de um período de seis a dezoito meses pré-transplante) do provável receptor. A detecção de aloanticorpos pela técnica PRA é usada para monitorar a sensibilização dos pacientes em lista de espera para um transplante ^(52, 53).

Foi observado em vários estudos que pacientes sensibilizados antes do transplante possuem menor taxa de sobrevida do enxerto quando comparados a

pacientes não-sensibilizados. A taxa de perda dos enxertos está relacionada ao valor em porcentagem do PRA pré-transplante ^(14, 15, 33, 56, 57).

Monteiro e cols ⁽⁵⁸⁾, utilizando PRA ELISA, observaram que 12% dos pacientes com valores de PRA pré-transplante inferiores a 10% perderam seus enxertos. Esse índice aumentou para 33% nos pacientes com PRA acima de 10% e para 63% nos pacientes com PRA maior do que 50%.

Os valores da PRA ELISA pré-transplante também se correlacionaram com a necessidade de diálise no pós-transplante, ou seja, 88% nos pacientes com PRA acima de 50%, 56% nos pacientes com PRA entre 10-50% e 25% nos pacientes com PRA abaixo de 10% ⁽³³⁾.

No estudo de Susal e Opelz ⁽⁵⁹⁾, a sobrevida do enxerto aos dois anos foi de 77% nos pacientes com anticorpos anti-HLA de classe I e de 79% nos pacientes com anti-HLA de classe II pré-transplante, comparada a uma sobrevida de 84% nos pacientes sem anticorpos ($P < 0,001$). A sobrevida decresceu para 60% naqueles pacientes com anticorpos para ambas as classes HLA e com três incompatibilidades HLA. Porém, ficou em $84 \pm 4\%$ nos pacientes com 0 ou 1 incompatibilidades HLA-A, B e DR.

2.5 PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PÓS-TRANSPLANTE RENAL

Anticorpos anti-HLA não são rotineiramente monitorados no soro de pacientes transplantados ⁽³³⁾. O que existem são estudos associando a presença de tais anticorpos a eventos prejudiciais ao enxerto e à sobrevida do mesmo, que poderão contribuir para que, no futuro, o monitoramento de anticorpos anti-HLA no pós-transplante se incorpore à rotina dos centros transplantadores.

2.5.1 Resposta Humoral aos Aloenxertos – Papel dos Anticorpos anti-HLA

A resposta humoral (mediada por anticorpos) aos aloantígenos desempenha um papel importante na indução tanto de rejeição aguda quanto de rejeição crônica^(17, 20, 33). No trabalho de Costa e cols⁽²⁰⁾ foi demonstrada correlação significativa entre a presença de anticorpos anti-HLA do tipo IgG (ELISA) no pós-transplante e a ocorrência de RA que não respondeu à terapia imunossupressora padrão ($P < 0,0001$) e a ocorrência de RC ($P < 0,001$).

Por mais de trinta anos, o foco de atenção foi o mecanismo celular de rejeição aguda e crônica do enxerto. Os mecanismos humorais eram, principalmente, considerados como indutores de rejeição hiperaguda e acelerada, quando anticorpos HLA anti-doador estavam presentes antes do transplante^(17, 29).

Embora o papel principal no reconhecimento de aloantígenos e a indução da cascata de eventos que levam à destruição do órgão sejam exercidos pela imunidade mediada por célula (linfócitos T), não devemos esquecer da cooperação entre linfócitos T e B. A resposta do linfócito T também resulta em ativação do linfócito B e conseqüentemente na produção de anticorpos⁽¹⁷⁾.

Evidências acumuladas sugerem associação entre anticorpos anti-HLA e uma evolução negativa pós-transplante renal, ocorrendo desde rejeição hiperaguda, RA humoral e NCE até perda precoce e diminuição da sobrevida do enxerto⁽⁵⁶⁾. Esses dados estão de acordo com duas publicações de Terasaki e cols (2003 e 2005)^(14, 60). Contudo, no estudo de Morales-Buenorostro e cols⁽⁶¹⁾, a presença de anticorpos anti-HLA no pós-transplante não foi associada com um impacto negativo na função renal, em contraste com vários estudos.

Um artigo recente de Terasaki e cols ⁽¹⁴⁾ , sugeriu a “Teoria Humoral do Transplante”, na qual os anticorpos causariam diretamente a rejeição dos enxertos, sem ação de células. Nele seu autor apresenta a hipótese de que os anticorpos se ligariam ao endotélio do enxerto, causando um ciclo de dano e reparo podendo levar de meses a anos, resultando no espessamento lento e gradual da camada da íntima dos vasos. Esse processo contribuiria como um fator imunológico, influenciando negativamente a sobrevida do enxerto a longo prazo.

Segundo revisão de McKenna e cols ⁽³³⁾ , baseada em doze estudos, anticorpos anti-HLA pós-transplante foram detectados em doze a 60% dos pacientes, na dependência da metodologia utilizada. Se no estudo analisado, a metodologia utilizada foi a prova cruzada doador-específico por CDC, anticorpos foram detectados em vinte a 30% dos transplantados; se foi utilizada a prova cruzada por citometria de fluxo, foram detectados em doze a 60%. Quando foi utilizada a prova cruzada contra painel (PRA) por CDC ou ELISA, anticorpos anti-HLA foram encontrados em 25 a 50% e dezoito a 31% dos pacientes, respectivamente.

No estudo de Hourmant e cols ⁽⁶²⁾ , dos 1229 transplantados, 16,8% dos pacientes tinham anticorpos anti-HLA no pós-transplante. Desses, 5,5% eram anticorpos específicos ao doador e 11,3% sem especificidade contra o doador. A compatibilidade HLA-DR, a imunização pré-transplante (PRA>10%) e um ou mais episódios de RA foram fatores independentes associados à presença de anticorpos.

Em sete estudos utilizados para correlacionar RA com a presença de anticorpos anti-HLA no pós-transplante, os pacientes com anticorpos tiveram duas a dez vezes mais incidência de RA. Nessa mesma revisão, foi relatado que, nos pacientes sem anticorpos anti-HLA, a RC foi menos freqüente, e a sobrevida foi maior do que nos pacientes que apresentavam anticorpos anti-HLA ⁽³³⁾ .

A taxa de sobrevida do enxerto aos cinco anos nos pacientes que produziram anticorpos, quando utilizada a metodologia CDC, foi de 12%, comparada a 76% naqueles pacientes sem anticorpos. Quando foi utilizada a citometria de fluxo, a taxa de sobrevida foi de 34% nos pacientes com anticorpos e 76% nos pacientes sem anticorpos. Dos pacientes que produziram anticorpos no pós-transplante, catorze a 45% tinham enxerto funcionando aos cinco anos do transplante ⁽³³⁾.

Quando avaliado o isotipo de anticorpo formado, alguns anticorpos relacionados ao transplante de órgãos parecem exercer um papel prejudicial à sobrevida do enxerto, outros parecem não ter efeito aparente e um terceiro grupo pode mesmo estar correlacionado a um efeito benéfico ⁽¹⁷⁾.

Anticorpos anti-HLA do tipo IgM são freqüentemente correlacionados a não exercer efeito deletério na sobrevida do enxerto. Ao contrário, anticorpos do tipo IgG, se encontrados em uma prova cruzada pré-transplante, contra-indicam a realização do transplante ^(17, 33). Contudo, devemos considerar que, em alguns casos, foi encontrado anticorpo anti-HLA prejudicial ao enxerto, pertencente à classe IgM ⁽¹⁷⁾. Anticorpos anti-HLA do isotipo IgA pré-transplante foram associados à melhora na sobrevida do enxerto ^(14, 33).

Anticorpos, tanto para Classe I como para Classe II, mostraram-se prejudiciais ao enxerto ⁽³³⁾, e sua freqüência variou de estudo para estudo. No estudo de Piazza e cols ⁽¹⁰⁾ foram encontrados anticorpos exclusivos para a Classe I no pós-transplante (PRA por citometria de fluxo) em 35% dos pacientes, enquanto anticorpos contra a Classe I e Classe II foram encontrados em 55% dos casos. Somente 10% produziram anticorpos exclusivamente contra a Classe II.

Dos doze pacientes com anticorpos anti-HLA por PRA ELISA no pós-transplante - que eram negativos no pré-transplante - 50% produziram anticorpos

contra classe I, 42% contra classe II e 8% contra classe I e II ⁽⁶³⁾. No trabalho de Harmer e cols ⁽⁶⁴⁾, dos noventa pacientes que perderam o enxerto, 85 (95%) tinham anticorpos anti-HLA pós-perda do enxerto, 76% dirigidos aos antígenos de Classe I e 11% aos antígenos de classe II. Dos 85 pacientes, somente dez tinham anticorpos no período pré-transplante.

No estudo de Martin e cols ⁽²¹⁾, 50% dos pacientes produziram anticorpos no pós-transplante somente para Classe I, 36% para Classe I e II e 11% somente para Classe II. Nos pacientes com o enxerto funcionando, os anticorpos foram detectados transitoriamente (de uma a oito semanas pós-transplante). Nos pacientes que perderam o enxerto, os anticorpos foram persistentes, sendo que, em 71% destes pacientes, os anticorpos estavam presentes pelo menos uma semana antes da perda do enxerto.

Uma importante contribuição para a valorização das pesquisas com anticorpos anti-HLA foi o estudo multicêntrico prospectivo (23 centros transplantadores renais) realizado por Terasaki e Osawa ^(16, 65). No primeiro ano do “13º Workshop Internacional de Histocompatibilidade” ⁽¹⁶⁾, em 2278 transplantados renais com enxerto funcionando há pelo menos seis meses, foi comparada a função do mesmo com a presença - ou não - de anticorpos anti-HLA no pós-transplante. Esses dados mostraram que a percentagem de perda do enxerto em um ano foi, significativamente, maior nos pacientes com anticorpos do que nos sem anticorpos; respectivamente 6,6% contra 3,3%, (P= 0,0007). Quando foi comparada a perda do enxerto entre os pacientes que produziram anticorpos no pós-transplante e os pacientes sem anticorpos, a percentagem de perda foi maior ainda, respectivamente 8,6% contra 3,0%, (P= 0,00003). No segundo ano da avaliação, a percentagem de perda do enxerto nos pacientes com anticorpos foi 15,1% comparado a 6,8% nos pacientes

sem anticorpos anti-HLA no pós-transplante ($P= 0,00000002$). Nos pacientes que desenvolveram anticorpos no pós-transplante, a percentagem de perda foi de 16,7% comparado a 6,5% nos pacientes sem anticorpos ($P= 0,0000001$). A sobrevida do enxerto aos dois anos foi menor nos pacientes com anticorpos (80%) do que naqueles sem anticorpos (90%) ⁽⁶⁵⁾.

Na metade da década de oitenta, a atenção foi focada nos anticorpos anti-HLA (IgG) pós-transplante específicos ao doador ⁽²¹⁾. A conclusão de vários estudos foi semelhante: o aparecimento de anticorpos anti-HLA doador-específico está relacionado à redução da sobrevida do enxerto e ao aumento da RC, quando comparado aos controles sem anticorpos ^(10, 12, 56, 66).

Worthington e cols ⁽¹³⁾, utilizando a técnica ELISA para detecção de anticorpos anti HLA doador-específico, acompanharam uma coorte, por mais de cinco anos, de 235 transplantados renais não-sensibilizados ao doador no pré-transplante. Como resultado da pesquisa, foi observado que anticorpos anti-HLA específicos ao doador foram produzidos por 50,9% dos pacientes que tiveram perda do enxerto contra 1,6% dos pacientes com enxerto funcionante ($P<0,0000001$, $OR= 64,98$). Estes anticorpos apareceram antes da ocorrência da perda do enxerto em 60% dos pacientes ($P<0,0000001$), em concordância com outros estudos ^(11, 63).

Alguns estudos encontraram associação da RA e da RC tanto com anticorpos específicos ao doador como para anticorpos não-específicos ao doador, enquanto outros demonstraram essa associação somente com anticorpos específicos ao doador, tudo isto na dependência da técnica utilizada para detectar o anticorpo ⁽³³⁾.

Em alguns casos, os anticorpos circulantes foram detectados somente após a falha do enxerto; noutros, somente após a remoção do mesmo. Isso sugeriu que os anticorpos doador-específico pudessem ficar aderidos ao enxerto, ficando então sub-

avaliados no soro do paciente e – consequentemente - tornando a percentagem de rejeição associada aos anticorpos circulantes subestimada ⁽¹⁷⁾ .

Gerard Rife e cols ⁽¹⁷⁾ mostraram ser possível eluir anticorpos anti-HLA de rins transplantados e rejeitados, através do uso de biópsias percutâneas, identificando assim os anticorpos dentro do próprio enxerto.

Em 20 rins removidos devido à NCE, Laurent Martin e cols ⁽⁶⁷⁾ demonstraram, por citometria de fluxo, que os anticorpos anti-HLA foram identificados em mais de 70% dos rins removidos, enquanto foram encontrados em menos de 45% das amostras de soros coletadas regularmente durante o período de acompanhamento pós-transplante. Nas amostras de soro coletadas durante as quatro semanas após a retirada do órgão, os anticorpos aderidos ao enxerto apareceram na circulação.

2.5.1.1 Anticorpos anti-HLA e a Rejeição Aguda

Estudos mostram que 20-40% dos pacientes com RA possuem anticorpos anti-HLA específicos ao doador e que este grupo tem a sobrevida do enxerto diminuída ^(22, 68) .

No início dos anos noventa, Halloran e colaboradores foram os primeiros a identificar RA de transplantes renais associada com a produção de anticorpos anti-HLA específico ao doador, como um achado de prognóstico ruim ⁽⁶⁹⁾ .

Um marcador recente de RA humoral é a deposição de C4d nos capilares peritubulares. O C4d é um subproduto estável do componente C4 que indica que houve ativação da via clássica do complemento. Devido a permanecer covalentemente ligado ao endotélio, fornece evidência patológica “in situ” de resposta humoral ⁽⁷⁰⁾ .

Aproximadamente 25 a 50% de todos os episódios de RA confirmados por biópsia têm um componente de RA humoral, tomando como base para esse dado a presença de deposição de C4d nos capilares peritubulares, representando, assim, 9% dos pacientes transplantados ^(29, 68). Outros trabalhos têm demonstrado a incidência de RA humoral de zero a 8% ^(69, 70), na dependência do tipo de população estudada (pacientes com risco imunológico baixo versus alto) e do tipo de indução de imunossupressão ⁽⁶⁹⁾.

A perda do enxerto, em um ano, foi consideravelmente maior após episódios de RA humoral do que após episódios de RA celular, respectivamente (30% vs 4%) ⁽⁶⁸⁾, (27-40% vs 3,7%) ⁽¹⁴⁾. No estudo de Crespo e cols ⁽⁷⁰⁾, mais de um terço dos pacientes com RA insensível ao tratamento com esteróides, tinham evidência de RA humoral.

O diagnóstico da RA humoral em transplante renal inclui três achados importantes propostos pela classificação Banff 97, publicada em 2003 por Racusen e cols ⁽⁴⁵⁾ tais como: (1) evidência morfológica de dano tecidual; (2) evidência imunopatológica de ação mediada por anticorpo, isto é, deposição de C4d nos capilares peritubulares; (3) evidência sorológica de anticorpos circulantes contra os antígenos HLA do doador ou a outros antígenos endoteliais do doador.

Um estudo retrospectivo do Departamento de Patologia e Cirurgia da Universidade de Columbia, New York, com oitenta receptores de rins de doadores falecidos, demonstrou que, embora todos os pacientes tivessem prova cruzada CDC negativa contra linfócitos T e B no pré-transplante, alguns desses pacientes tiveram anticorpos doador-específico detectados por citometria de fluxo (CF). Esses anticorpos, contudo, nem sempre foram deletérios, e a sobrevida do enxerto em um ano foi de 98%. Dos dezessete pacientes que tiveram prova cruzada por citometria de fluxo positiva, seis necessitaram de plasmaferese e imunoglobulina intravenosa (IVIG)

para tratar episódios de RA. Este dado sugere que a citometria de fluxo pode limitar o transplante de órgãos de doadores falecidos por identificar anticorpos doador específico que nem sempre são deletérios para o enxerto ⁽⁷¹⁾.

Convém lembrar que a RA humoral pode coexistir com a RA celular ^(17, 36, 69). O início da RA humoral é, geralmente, de uma a três semanas após o transplante, coincidindo com o da RA celular. Contudo, elas podem aparecer meses ou anos após o transplante devido à diminuição na imunossupressão por não aderência do paciente ao tratamento ou pelo aumento do catabolismo das drogas imunossupressoras. A RA humoral ocorre mais freqüentemente em pacientes sensibilizados ou com história de transplantes prévios ^(29, 69, 70). Crespo e cols ⁽⁷⁰⁾ observaram que os anticorpos na RA humoral foram mais comuns para Classe I (60%) do que para classe II (30%) e que, em 37% dos casos de RA refratária ao tratamento com esteróides, havia a presença de anticorpo anti-doador no pós-transplante.

Na revisão de Mauiyyedi e cols foram citados como fatores de risco para RA humoral: a) PRA com percentual elevado; b) transplantes prévios; c) prova cruzada histórica positiva; todos associados com sensibilizações prévias. Em alguns casos, o sexo feminino foi um fator de risco, provavelmente devido às gestações. RA humoral não se correlacionou com compatibilidade HLA, tempo de isquemia e idade do doador. Na RA humoral, a creatinina mostrou-se mais elevada do que na RA celular, sendo a primeira resistente ao tratamento com esteróides e com anticorpos anticélula T. A frequência de RA humoral em função da imunossupressão ainda não foi estabelecida ⁽⁶⁸⁾.

Estratégias terapêuticas incluindo combinações de plasmaferese, tacrolimus, MMF e/ou imunoglobulina intravenosa (IVIG) foram utilizadas com sucesso para tratar

RA humoral refratária ao tratamento com esteróides e terapia antilinfócito (globulina antilinfócito: ALG) ⁽⁶⁹⁾ .

Terapia utilizando anti-CD20 (marcador de linfócito B), a qual depleta os linfócitos B e, portanto, possivelmente suprime a produção de aloanticorpo, pode ser uma opção interessante em alguns casos isolados. Essa terapia necessita de maiores investigações antes de ser utilizada como terapia padrão para RA humoral, devido ao seu custo e ao potencial excesso de imunossupressão oferecido ao paciente ⁽⁶⁹⁾ . Terapia com anti-CD52 (marcador de superfície de timócitos, linfócitos T e linfócitos B), o qual depleta linfócitos B diretamente, também se torna uma estratégia interessante⁽⁴⁷⁾ .

Encontra-se atualmente em estudos clínicos preliminares o uso de inibidores do complemento, por exemplo, o CD35 solúvel. Esse bloqueia as conseqüências deletérias pró-inflamatórias da ativação do complemento pelo aloanticorpo anti-doador ⁽⁶⁹⁾ .

Plasmaferese e IVIG também foram utilizadas para dessensibilizar pacientes no pré-transplante, tais como pacientes que apresentavam prova cruzada positiva contra seu potencial doador vivo, ou pacientes que, há muito tempo, estavam na lista de espera para um transplante com doador falecido ^(69, 72) .

2.5.1.2 Anticorpos anti-HLA e a Nefropatia Crônica do Enxerto (NCE)

Embora a sobrevida do aloenxerto renal tenha aumentado nos últimos anos (80-90% no primeiro ano pós-transplante) ⁽⁷³⁾ , em decorrência da melhor prevenção e do tratamento da rejeição aguda, a nefropatia crônica do enxerto (NCE) permanece como a principal barreira para a sobrevida do órgão transplantado ⁽³⁷⁾ a longo prazo ⁽³⁹⁾ .

⁴⁰⁾. Ela é responsável, juntamente com a morte do paciente com o enxerto funcionando, por uma taxa anual de perda do enxerto em torno de três a 5% ⁽¹⁹⁾.

A NCE representa a principal razão para os pacientes voltarem para a lista de espera por um transplante ⁽⁴²⁾.

Em torno de 27 a 40 % de todas as perdas do enxerto entre o 1º e 3º ano são causadas pela NCE ⁽³⁷⁾. No estudo de Krieger e cols ⁽³⁷⁾, os autores demonstraram que a presença da NCE aumentou em 10,5 vezes o risco de perda do enxerto. Sua prevalência em biópsias protocolares é de sessenta a 70% ⁽⁴⁰⁾.

O número de publicações a respeito deste assunto vem aumentando consideravelmente a cada ano, tendo passado de seis em 1996, para noventa e três em 2003 ⁽⁴⁰⁾, denotando o interesse da comunidade científica em compreender melhor os fatores que contribuem para a NCE, encontrar diagnósticos diferenciais entre suas causas e definir melhor sua patogênese, na tentativa de indicar preditores e/ou desenvolver tratamentos para preveni-la.

Dentre todas as variáveis que contribuem para a NCE, os fatores imunológicos são claramente demonstrados pela baixa incidência de NCE em enxertos de doadores vivos HLA idênticos ⁽¹⁹⁾.

Vários estudos retrospectivos ou transversais têm mostrado associação entre a presença de anticorpos anti-HLA no pós-transplante e a NCE, ou a perda do enxerto. Na maioria destes estudos, foi utilizado a PRA para detectar tais anticorpos ⁽¹⁹⁾.

Um estudo conduzido pelo Hospital do Rim e Hipertensão e pela Escola Paulista de Medicina concluiu que a presença de anticorpos anti-HLA de classe II no pós-transplante foi um fator de risco para perda do enxerto renal devido à NCE. Esse estudo foi prospectivo; baseado em um grande número de pacientes (n=512) de um único centro, sob condições similares de terapia imunossupressora. Os papéis dos

anticorpos anti-HLA de Classe I e de Classe II foram avaliados separadamente. Sexo feminino, gestações e transfusões foram associados com a presença de anti-HLA de Classe I ($P < 0,05$). Idade ou raça do paciente, tipo e idade do doador, tempo de isquemia fria, ocorrência de necrose tubular aguda (NTA), RC ou infecção por citomegalovírus (CMV) não diferiram entre os grupos com e sem anticorpos. A deterioração do enxerto foi associada com anticorpos anti-HLA de Classe II isoladamente ou acompanhados de anticorpos anti-HLA de Classe I. Durante o primeiro ano de acompanhamento, 12,1% dos pacientes com anticorpos perderam seus enxertos devido à NCE, enquanto isso ocorreu em somente 5,5% dos pacientes sem anticorpos no pós-transplante. ($P = 0,03$, $RR = 2,34$). As seguintes variáveis foram independentemente associadas com a perda do enxerto devido à NCE: anticorpos anti-HLA de Classe II, sexo do paciente, ocorrência prévia de RA e a variação da creatinina ⁽¹⁹⁾.

2.5.1.3 Anticorpos Anti-HLA e a Rejeição Crônica

O termo “rejeição crônica” deveria ser usado naqueles casos de disfunção tardia do enxerto devido à NCE somente quando for possível identificar mecanismo aloimune de dano (componente celular ou humoral) ^(9, 69).

Os achados morfológicos clássicos associados aos mecanismos de dano aloimune incluem: fibrose da íntima com a presença de células mononucleares (arteriopatia crônica do enxerto), duplicação da membrana basal glomerular (glomerulopatia do transplante) e laminação da membrana basal dos capilares peritubulares. Contudo, nem sempre todos esses achados estão presentes em uma determinada biópsia ^(69, 74).

Um estudo realizado pela Universidade da Califórnia em Los Angeles, verificou *in vitro*, que a ligação dos anticorpos anti-HLA Classe I às células endoteliais promoveu a rejeição crônica ⁽⁷⁵⁾. Em modelos experimentais foi estabelecido que linfócitos B e anticorpos eram necessários para o completo desenvolvimento da arteriosclerose, a principal expressão da rejeição crônica. Nestes experimentos, feitos com animais, anticorpos foram necessários e suficientes para o desenvolvimento de RC ^(17, 74).

Vários estudos têm mostrado que a ocorrência de episódios de rejeição aguda precoce e o aparecimento de anticorpos doador-específico são os mais importantes fatores de risco para o desenvolvimento de disfunção crônica do enxerto, constituindo-se em fator prognóstico negativo para a sobrevida no primeiro ano ⁽¹⁰⁾.

A forte correlação entre anticorpos anti-HLA dirigidos ao doador e a rejeição crônica vascular foi demonstrado no trabalho de Piazza e cols ⁽¹⁰⁾. Em 120 transplantados renais, sem sensibilização prévia ao doador, foi investigado o papel dos anticorpos anti-HLA no pós-transplante na ocorrência de RC e na sobrevida do enxerto. Os pacientes foram monitorados durante o primeiro ano pós-transplante através da FCXM e acompanhados por - pelo menos - dois anos, ou até a remoção do enxerto. Os pacientes com FCXM positivos para o isotipo IgG foram, posteriormente, investigados pela prova cruzada contra painel (PRA) por citometria de fluxo para HLA Classe I e II. Vinte e nove (24,2%) dos pacientes produziram anticorpos específicos aos linfócitos T e/ou B do doador. Uma incidência significativamente maior de perda do enxerto determinada imunologicamente foi observada nos pacientes FCXM positivos quando comparados com aqueles FCXM negativos, respectivamente 34% e 1% ($P < 0,00001$).

O estudo de O'Malley e cols ⁽⁷⁶⁾ sugeriu que o monitoramento de anticorpos por FCXM, no período inicial pós-transplante, pode ser útil na identificação de pacientes de alto risco para dano imunológico a longo prazo. Os autores estudaram cinquenta pacientes com RC confirmada por biópsia e 219 pacientes com função do enxerto estável e viram que 75% dos pacientes com RC tiveram uma FCXM positiva dentro do primeiro mês pós-transplante, comparado com apenas 16% dos pacientes com função estável.

Kerman e cols ⁽⁷⁷⁾ demonstraram que 63% dos pacientes com diagnóstico de RC tinham valores de PRA por ELISA no pós-transplante maiores ou iguais a 10% de positividade, comparado com somente 16% dos pacientes com função estável, sem rejeição ($P < 0,001$). Esta correlação significativa não foi encontrada quando utilizada a técnica PRA por CDC (AGH).

Lee e cols ⁽¹¹⁾ verificaram que todas as perdas crônicas dos enxertos foram precedidas pelo desenvolvimento de anticorpos anti-HLA de meses a anos (seis meses a oito anos) antes da ocorrência da perda do enxerto. Dos catorze pacientes com RC, sete formaram anticorpos no 1º ano pós-transplante. Desses, três perderam o enxerto no 1º ano; dois no 2º ano; um no 3º ano e um no 6º ano pós-transplante. Cem por cento (100%) dos pacientes que tiveram RC tinham anticorpos (100% para antígenos HLA de Classe I e 83% para Classe II) após o transplante, comparado a 27% dos pacientes com função renal estável ($P < 0,001$). Do grupo com RC, 58% tinham anticorpos no pré-transplante e 48% os formaram no pós-transplante.

Recentes estudos indicaram que a RC estava associada com anticorpos anti-HLA doador específico e com a deposição de C4d nos capilares peritubulares. Essa última foi um achado típico nos pacientes com RA e RC humoral ^(70, 74). Em torno de

60% dos pacientes com achados de RC apresentaram C4d nos capilares peritubulares ⁽⁷⁴⁾.

De acordo com o diagnóstico atual, as seguintes evidências são requeridas para o diagnóstico de RC mediada por anticorpos: (1) aumento progressivo no nível de creatinina sérica por um período de tempo; (2) mudança fibrótica no enxerto; (3) deposição de C4d nos capilares peritubulares; (4) anticorpos anti-HLA doador específico *in situ* ou no sangue periférico ⁽¹⁸⁾.

O objetivo do estudo de Theruvath e colaboradores ⁽⁷⁴⁾ foi o de determinar se o regime imunossupressor com FK-506 e MMF poderia ser efetivo nos pacientes com RC humoral. Após diagnosticar a rejeição crônica humoral em quatro pacientes, a imunossupressão de manutenção (ciclosporina e azatioprina) foi trocada por FK-506 e MMF, mantendo-se a prednisona; então os títulos de anticorpos anti-HLA decresceram. Em duas pacientes, os anticorpos tornaram-se indetectáveis após nove a doze meses. Em um paciente, a biópsia - após doze meses - revelou um decréscimo na deposição de C4d nos capilares peritubulares. A RC humoral esteve presente em 13% dos pacientes com disfunção crônica do enxerto.

A prevenção e tratamento da RC constitui-se, hoje, o maior desafio no manejo não só do transplante renal, mas também do transplante de coração e pulmão ⁽⁷⁴⁾.

2.6 ANTICORPOS DIRIGIDOS A OUTROS ANTÍGENOS

Devido ao alto polimorfismo do CPH ⁽¹⁸⁾, a maioria dos aloanticorpos é dirigida contra os antígenos HLA ⁽⁶⁹⁾. Contudo, numerosos outros anticorpos são secretados em resposta ao órgão transplantado. Esses anticorpos não-HLA também desempenham um papel deletério ao resultado do transplante, particularmente o

grupo de anticorpos contra células endoteliais, anticorpos anti-MICA (Major Histocompatibility class-I-related chain A - MICA) e alguns outros com alvos ainda não identificados ^(17, 78).

O desenvolvimento desses anticorpos pós-transplante pode estar relacionado à rejeição e à pior sobrevida do enxerto. Um exemplo são os aloanticorpos que possuem como alvo as moléculas de cadeia A relacionadas ao CPH de classe I (MICA). Essas glicoproteínas são expressas nas células endoteliais e nos monócitos, mas não em linfócitos. O desenvolvimento pós-transplante de aloanticorpos específicos à MICA foi correlacionado à rejeição crônica e à diminuição da sobrevida do enxerto, mesmo na presença de compatibilidade aos antígenos HLA ^(14, 17, 79).

No estudo de Mizutani e cols ⁽⁷⁹⁾, dentre os pacientes que perderam seus enxertos, 52% tinham anticorpos anti-MICA contra 21% dos pacientes que tinham seus enxertos funcionantes ($P < 0,001$).

Anticorpos endoteliais não-HLA têm sido encontrados em alguns episódios de rejeição humoral ⁽⁶⁹⁾. Em transplantes de rim com doadores vivo HLA idênticos, 78% dos episódios de rejeição podem ser atribuídos a anticorpos pré-formados contra células endoteliais vasculares ⁽⁷⁸⁾.

O surgimento de anticorpos anti-idiotipo (anticorpos que podem bloquear a ligação do anticorpo ao seu respectivo antígeno) dirigidos contra os anticorpos anti-HLA específico ao doador estão relacionados ao aumento da sobrevida do enxerto ^(14, 17), embora existam achados recentes sugerindo que os anticorpos anti-idiotipo poderiam estimular os linfócitos B a produzirem anticorpos anti-HLA ^(17, 80).

Um estudo cinético mostrou que os anticorpos IgG dirigidos contra linfócitos T e B do doador aumentaram no 14º dia após o transplante, diminuindo em torno do 28º dia. Esse desaparecimento poderia ser explicado pelo surgimento de anticorpos anti-

idiotipo. Estudos preliminares revelaram que a ligação de alguns anticorpos do 14º dia foram bloqueadas pelo soro do 28º dia ⁽⁶⁶⁾.

3 JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO

Não existem dúvidas sobre a importância da imunidade celular no desencadeamento de reações prejudiciais ao enxerto, mas esses mecanismos não explicam todos os achados de forma clara e isoladamente. O papel da imunidade humoral tem ocupado espaço nessa área de conhecimento.

Alguns fatos devem ser considerados de importância para a renovação do interesse em relação à presença de anticorpos anti-HLA. Entre eles, devemos citar a facilidade de pesquisa de anticorpos anti-HLA por intermédio de testes rápidos e sensíveis por ELISA ou citometria de fluxo, em contraste aos testes de linfocitotoxicidade anteriormente utilizados. O interesse dos efeitos dos anticorpos anti-HLA no período pós-transplante ficou evidente após os primeiros resultados de pesquisas realizadas por diversos estudiosos da área. O desenvolvimento de novas e mais efetivas drogas imunossupressoras (farmacológicas e biológicas) proporcionou controle mais apropriado da resposta imune-celular e trouxe novo apelo para o estudo dos anticorpos anti-HLA formados no período pré e pós-transplante, especialmente com a possibilidade de possuírem efeito lento, discreto e permanente na disfunção do enxerto.

A preocupação atual está focada em avaliar os efeitos dos anticorpos anti-HLA em relação à disfunção do enxerto renal após o transplante. Existem estudos multicêntricos internacionais ^(16, 65), sendo que esses possuem a vantagem de contar

com um grande número de casos, mas com amostras extremamente variáveis. Estudos individuais de um único centro possuem a vantagem de analisar uma amostra da mesma população, assim como utilização do mesmo laboratório, do mesmo tipo de conduta clínica e da análise de biópsias com o mesmo grupo de patologistas.

Devido ao exposto acima, planejou-se um estudo tendo como base a população de transplantados renais do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, cujo objetivo é avaliar o papel dos anticorpos anti-HLA no primeiro ano pós-transplante em relação aos desfechos rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto.

4 OBJETIVOS

4.1 PRINCIPAL

Verificar a prevalência e a incidência de anticorpos **anti-HLA** em pacientes transplantados renais.

4.2 SECUNDÁRIOS

4.2.1 Correlacionar a presença de anticorpos anti-HLA no pós-transplante renal com os desfechos rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto.

4.2.2 Correlacionar a presença de anticorpos anti-HLA no pós-transplante, rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto com os dados demográficos e clínico-patológicos dos pacientes transplantados.

4.2.3 Correlacionar a suspeita de rejeição crônica, obtida através dos achados em biópsias renais de protocolo, com a presença de anticorpos anti-HLA, rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto.

4.2.4 Verificar a concordância entre os métodos diagnósticos (clínico-laboratorial e histológico) para a nefropatia crônica do enxerto.

5 PACIENTES E MÉTODO

5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional, prospectivo, de coorte. Tem como fator de estudo anticorpos anti-HLA e como desfechos a Rejeição Aguda e a Nefropatia Crônica do Enxerto.

5.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Todos aqueles transplantados renais que concordaram em participar do estudo, assinando o termo de Consentimento Informado (Apêndice A).

5.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos deste estudo aqueles pacientes que, a qualquer momento, desistiram da pesquisa.

5.4 POPULAÇÃO DE ESTUDO E AMOSTRA

Neste estudo foram incluídos, consecutivamente, 88 pacientes submetidos a transplante renal no Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no período de outubro de 2002 a outubro de 2004.

5.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, acreditado pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), do Ministério da Saúde, Brasil.

Todos os pacientes receberam informações sobre o objetivo e os riscos do estudo e após assinaram o Termo de Consentimento Informado.

5.6 ACOMPANHAMENTO PÓS-TRANSPLANTE

Cada paciente foi acompanhado durante seu primeiro ano pós-transplante, no qual foram realizadas quatro colheitas de sangue: no 1º, 3º, 6º e 12º mês. Naqueles pacientes que consentiram, biópsias renais de protocolo foram realizadas entre o 2º e o 3º e no 12º mês pós-transplante.

5.7 FATOR EM ESTUDO

Foi considerada - como fator em estudo - a presença de anticorpos anti-HLA no período pós-transplante, detectados através da Reatividade contra Painel (PRA) por ELISA.

5.8 DESFECHOS

O diagnóstico de rejeição aguda (RA) e nefropatia crônica do enxerto (NCE) foi baseado em critérios clínicos, laboratoriais e/ou histopatológicos. Os critérios para os desfechos estão descritos abaixo:

5.8.1 Rejeição Aguda

- a) aumento confirmado da creatinina sérica para valores $\geq 0,3$ mg/dL, na ausência de obstrução vascular ou urinária, nefrotoxicidade e infecções;
- b) biópsias renais de protocolo ou por indicação clínica, compatíveis com RA;
- c) resposta ao tratamento específico para a RA.

5.8.2 Nefropatia Crônica do Enxerto

- a) creatinina sérica $\geq 2,0$ mg/dL e/ou depuração da creatinina endógena (DCE) ≤ 50 ml/minuto;
- b) proteinúria ≥ 500 mg/24h e/ou índice proteína/creatinina (IPC) $> 0,5$;
- c) hipertensão arterial sistêmica (HAS) $\geq 140/90$ mmHg ou controlada por medicamentos anti-hipertensivos;
- d) biópsias renais de protocolo, ou por indicação clínica.

Os achados histológicos das biópsias renais foram graduados de acordo com a classificação de Banff 97.

5.9 SUSPEITA DE REJEIÇÃO CRÔNICA

Considerou-se como suspeita de RC achados em biópsias renais de protocolo que pudessem ser indicativos do componente imunológico da Nefropatia Crônica do Enxerto. Os critérios utilizados no estudo para definir “Suspeita de Rejeição Crônica” foram: redução do calibre vascular, presença de alterações na lâmina elástica interna (ruptura, reduplicação e fibrose) e presença de células inflamatórias na íntima fibrótica. A procura desses achados foi realizada através de uma revisão criteriosa das

lâminas das biópsias, utilizando o “Modelo para biópsias de transplantes renais”, disponível no Transplant Pathology Internet Services (<http://tpis.upmc.edu>) (Anexo 1). Para tanto, estiveram envolvidas duas patologistas, sem qualquer conhecimento sobre a clínica dos pacientes.

5.10 PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-HLA POR ELISA (PRA)

Para detectar os anticorpos anti-HLA de classe I e II foi utilizado um ensaio baseado na metodologia ELISA (ELISA LAT-M™ e ELISA LAT™ 1240, One Lambda Inc, CA, USA).

O LAT ELISA utilizado detecta somente anticorpos anti-HLA do isotipo IgG e identifica separadamente anticorpos anti-HLA de classe I e II.

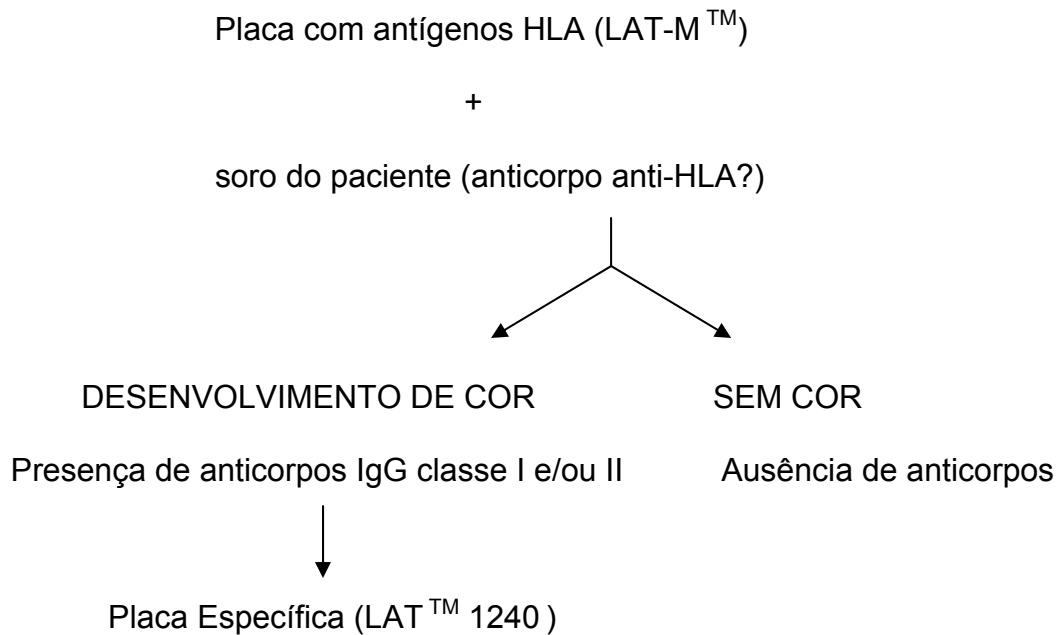
Resumo do teste:

Antígenos HLA purificados estão aderidos aos orifícios de uma microplaca de 96 poços. Esses antígenos funcionam como o alvo da ligação dos anticorpos presentes no soro dos pacientes.

O soro do paciente, na diluição apropriada, é adicionado a cada orifício da placa. A ligação específica do anticorpo ao antígeno HLA é detectada por uma subsequente incubação com a enzima fosfatase alcalina que está conjugada a um anticorpo secundário de cadeia gama que reconhece somente IgG. Um substrato colorimétrico para a enzima é adicionado, permitindo então, que a extensão da reação seja medida quantitativamente através da intensidade da cor produzida, determinada por espectrofotometria. A densidade óptica (DO) foi medida a 630 nm, utilizando uma

leitora ELISA ELX 800 (Bio-Tec, Instruments Inc, USA). As placas foram analisadas utilizando o software LAT™ (One Lambda Inc., CA, USA).

Visão esquemática do teste:



O valor de corte (cut-off) para os resultados foi calculado da seguinte maneira:

[(média das leituras da DO do soro controle positivo – média das leituras da DO dos controles dos diluentes (blank)) x 0,2]

Amostras que tiveram valores de DO maiores do que 20% do valor do cut-off, foram consideradas positivas.

Amostras que tiveram valores de DOs menores do valor do cut-off, foram consideradas negativas.

Os testes somente foram aceitos se a média do controle positivo (CP) dividida pela média do controle negativo (CN) deu > 10 e se a média do CP deu > 1000.

Esta metodologia foi realizada de acordo com as instruções do fabricante.

Kits comerciais utilizados:

LAT™ M: pré-screening utilizado para identificar amostras positivas para anticorpos anti-HLA do tipo IgG.

LAT™ 1240: utilizada para determinar a % da PRA (0-100%).

$$\text{Cálculo \% PRA: } \frac{\text{n}^\circ \text{ total de orifícios positivos (DO} > 20\% \text{ do cut-off)}}{\text{n}^\circ \text{ total de orifícios do teste}} \times 100$$

5.11 BIÓPSIAS PROTOCOLARES

As biópsias foram realizadas com pistola Bard (C. R. Bard Inc, Corington, GA, USA) e agulha de calibre 16, guiadas por ultrassom.

Foi retirado um fragmento para a microscopia óptica, sendo utilizadas as colorações convencionais.

A interpretação da histopatologia foi realizada por patologista renal, de acordo com a classificação Banff 1997⁽³⁶⁾, na ausência de qualquer informação clínica.

5.12 COLETA DE DADOS

Utilizou-se o software HLA-SYS (software de gerenciamento laboratorial do Serviço de Imunologia do HCPA) e as pastas de acompanhamento pós-transplante do Serviço de Nefrologia para a coleta de dados clínicos como: sexo, idade, raça, número de transfusões, número de gestações, doença renal primária, PRA pré-transplante, tipo e parentesco do doador, tipagem HLA doador e receptor, transplantes prévios,

imunossupressão inicial e nos momentos de colheita, medicações prescritas (antihipertensivos, anti-colesterolêmicos), presença de IgM ou IgG para CMV, presença de IgM ou IgG para hepatites B e C, creatinina sérica, nível de ciclosporina sérica, nível de tacrolimus sérico, glicemia e DCE.

Os seguintes exames foram solicitados nos quatro momentos de colheita: IPC, proteinúria de 24h, colesterol total e HDL, triglicerídeos. (Apêndices B e C).

Para a variável doador-limítrofe, foram considerados critérios tais como: idade do doador maior do que sessenta anos ou, entre cinqüenta-59 anos, se houver história de hipertensão, doença renal, morte por AVC e creatinina > 1,5mg/dL. Idade maior do que quarenta anos para aqueles doadores com história de diabetes mellitus^(81, 82).

Para o cálculo da variável DCE calculada, foi utilizada a fórmula de Cockcroft e Gault⁽⁸³⁾:

$$DCEc = \frac{(140 - \text{idade}) \times \text{peso}}{72 \times \text{creatinina}} \times 0,85 \text{ (se sexo feminino).}$$

Para a caracterização dos desfechos, foi utilizado o protocolo constante no Apêndice E.

5.13 IMUNOSSUPRESSÃO

A imunossupressão administrada aos pacientes seguiu o protocolo padronizado do Serviço de Nefrologia do HCPA, obedecendo a critérios clínicos tais como: tipo de doador, número de transplantes prévios, PRA pré-transplante e compatibilidade HLA.

A imunossupressão de base foi constituída da associação de corticosteróides (prednisona) com inibidores da calcineurina (ciclosporina ou tacrolimus) e de um agente antiproliferativo (micofenolato mofetil ou sódico, sirolimus ou azatioprina). Nos pacientes considerados de alto risco imunológico, foi feita indução com globulina anti-

timocitária; naqueles que apresentaram disfunção inicial do enxerto foi feita indução com anticorpos contra o receptor da interleucina-2 (basiliximab). As doses de manutenção foram decrescentes e seguiram o protocolo do Serviço de Nefrologia.

Os pacientes que apresentaram episódios de rejeição aguda foram, inicialmente, tratados com metilprednisolona intravenosa (250-500 mg por três a cinco dias). Episódios de RA resistente aos esteróides foram tratados com anticorpos monoclonais anti-CD3 (OKT3®). Rejeições humorais foram tratadas, de acordo com protocolo vigente, com sessões de plasmaferese e imunoglobulinas policlonais endovenosas.

5.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para detectar uma diferença de quarenta pontos percentuais de nefropatia crônica do enxerto entre os pacientes com e sem anticorpos anti-HLA, o tamanho amostral (n) estimado foi de 72 pacientes, considerando um $p \leq 0,05$ e um poder estatístico de 80% ($\beta=0,20$).

Os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) para Windows, versão 14.0.

As variáveis quantitativas com distribuição simétrica foram descritas através de média e desvio-padrão; as variáveis com distribuição assimétrica foram descritas através de mediana e percentis 25-75, exceto as variáveis proteinúria, IPC e incompatibilidades HLA, que apresentaram distribuição assimétrica, mas foram apresentadas como média e desvio-padrão para fins de comparação com a literatura. Já as variáveis qualitativas foram descritas através de freqüências absolutas e relativas.

Para comparar a presença de anticorpos anti-HLA, nefropatia crônica do enxerto e rejeição aguda em relação às variáveis quantitativas com distribuição simétrica e assimétrica, foram utilizados - respectivamente, os teste t-Student e Mann-Whitney. Os testes qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher foram aplicados na avaliação das variáveis qualitativas.

Para avaliar os preditores de desfechos em estudo e controlar possíveis variáveis de confusão, o modelo de regressão logística múltiplo foi aplicado. Como medida de efeito, foi obtida a razão de chances (*odds ratio*) ajustada e seu respectivo intervalo de confiança para cada preditor que entrou no modelo.

A concordância entre as avaliações das biópsias, e os critérios clínicos para o diagnóstico da Nefropatia Crônica do Enxerto foi avaliada pelo coeficiente Kappa, cujos valores abaixo de 0,4 foram considerados fracos, de 0,4 a 0,6 moderados e acima de 0,6 fortes.

O nível de significância estatística foi estabelecido em $P < 0,05$.

6 RESULTADOS

No período de outubro de 2002 a outubro de 2004, 95 pacientes foram elegíveis para o estudo. Desses, quatro (4,21%) não aceitaram participar do estudo. Dos 91 pacientes que concordaram, três (3,16%) desistiram, restando 88 pacientes como amostra definitiva.

6.1 CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS AO PRÉ-TRANSPLANTE

Dos 88 pacientes avaliados neste estudo, quarenta e oito (54,5%) eram do sexo masculino e setenta e dois (81,8%) de etnia caucasóide. A média de idade dos pacientes foi de $43,0 \pm 10,9$ anos. Quarenta e quatro pacientes (50,0%) haviam realizado transfusões; trinta e seis (40,9%) tiveram gestações no pré-transplante. Doze (13,6%) tinham transplantes prévios, sendo que somente um paciente havia realizado mais de um transplante.

Setenta e um pacientes (80,6%) receberam rins de doadores falecidos e dezessete (19,4%), de doadores vivos (4 idênticos; 7 haploidênticos e 6 distintos). Desses, dois foram não-aparentados.

A etiologia da insuficiência renal crônica (IRC) não foi determinada em 33% dos pacientes, seguida por hipertensão arterial sistêmica (HAS) em 26,1% dos pacientes. Em dez pacientes (11,4%) foi encontrada glomerulonefrite crônica (GNC)

e em cinco (5,7%), diabetes mellitus (DM). As seguintes doenças foram incluídas na categoria “outras”: pielonefrite crônica (PNC), doença renal policística (DRP), lúpus eritematoso sistêmico (LES), glomeruloesclerose segmentar e focal (GESF), nefrite hereditária (NH), doença de Fabry, IRC pós-parto, uropatia obstrutiva, refluxo vesico-uretral (RVU), mieloma múltiplo (MM) e glomerulopatia IgA.

Esses dados estão dispostos na tabela 2.

Tabela 2 – Características relacionadas ao pré-transplante

| Características demográficas e pré-transplante | (n=88) |
|---|--------------------|
| Idade * | 43,0 ± 10,9 |
| Sexo ** | |
| Masculino | 48 (54,5) |
| Feminino | 40 (45,5) |
| Etnia ** | |
| Caucasóide | 72 (81,8) |
| Não-caucasóide | 16 (18,2) |
| Nº de transfusões *** | 0,5 (0,0 – 3,0) |
| Nº de gestações *** | 2,0 (1,0 – 3,0) |
| Doença que levou à perda da função renal ** | |
| Indeterminada | 29 (33,0) |
| Hipertensão arterial sistêmica | 23 (26,1) |
| Glomerulonefrite crônica | 10 (11,4) |
| Diabetes mellitus | 5 (5,7) |
| Outras **** | 21 (23,9) |
| Transplantes prévios ** | 12 (13,6) |
| Tempo de hemodiálise (em anos) *** | 4 (2-5,5) |
| Incompatibilidades HLA * | |
| A | 1,08 ± 0,71 |
| B | 1,13 ± 0,71 |
| DR | 0,72 ± 0,68 |
| ABDR | 3,10 ± 1,24 |
| Tipo de doador ** | |
| Vivo | 17(19,4) |
| Falecido | 71(80,6) |

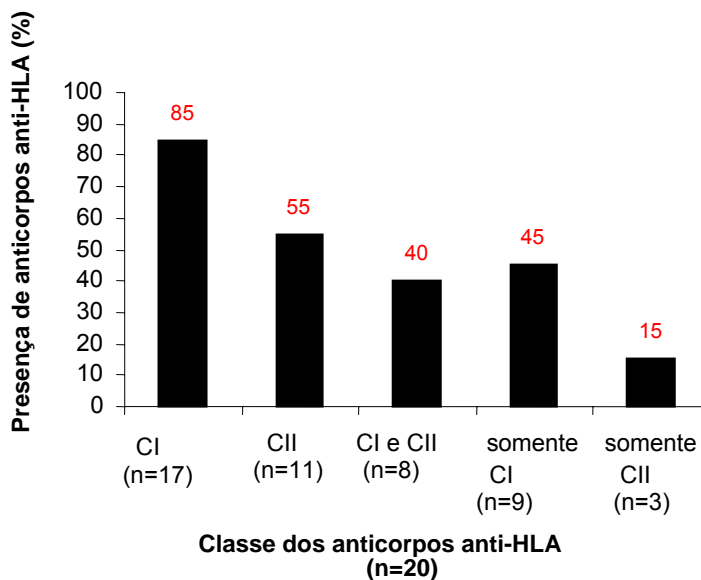
* média ± desvio padrão; ** n(%); *** mediana (percentis 25 – 75); **** PNC (n=1); NH (n=2); GESF (n=3); Doença de Fabry (n=1); IRC pós-parto (n=1); LES (n=4); Uropatia Obstrutiva (n=1), Doença Renal Policística (n=5); Mieloma múltiplo (n=1); RVU (n=1); Glomerulopatia IgA (n=1)

Em relação às incompatibilidades HLA, 49 (69,0%) pacientes tinham três ou mais incompatibilidades nos locos A, B, DR. Trinta e seis (40,9%) tinham mais de duas incompatibilidades nos locos A e B e 29 (40,8%) tinham uma ou menos incompatibilidades no loco DR.

O tempo de diálise pré-transplante, em mediana, foi de 48 meses.

6.2 CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS AO PÓS-TRANSPLANTE

Dos 88 pacientes pós-transplante, foi detectada a presença de anticorpos IgG anti-HLA em vinte (22,7%). Desses, dezessete (85%) eram de classe I, 11 (55%) eram de classe II e oito (40%) eram de classe I e II. Anticorpos foram exclusivos de classe I em nove pacientes e exclusivos de classe II em três pacientes (figura 2).



Legenda: CI= Classe I; CII= Classe II

Figura 2 - Distribuição de anticorpos IgG anti-HLA no pós-transplante, segundo sua classe .

Dos 68 pacientes que não apresentavam anticorpos anti-HLA no pré-transplante, somente três formaram anticorpos (Classe I) no pós-transplante, revelando uma incidência de 4,4%. Dos três pacientes que formaram anticorpos, nenhum desenvolveu RA, e dois apresentaram NCE no seguimento.

Dos vinte pacientes com anticorpos no pré-transplante, nove os negativaram, em momentos diferentes no primeiro ano pós-transplante. Desses, seis desenvolveram NCE e três deles apresentaram RA. Somente um paciente voltou a formar anticorpos.

A presença de rejeição aguda foi registrada em 23 pacientes (26,1%), e a NCE por critérios clínico-laboratoriais e/ou histológicos foi encontrada em 43 pacientes (51,2%).

Vinte e nove pacientes (33%) realizaram a biópsia protocolar entre o 2º e o 3º mês pós-transplante e dezoito (21,4%) realizaram a biópsia protocolar no 12º mês pós-transplante. A prevalência de Nefropatia Crônica do Enxerto (NCE) – nas biópsias protocolares - foi de 68,8% e nas biópsias não-protocolares foi de 25%.

A rejeição aguda foi encontrada em 9,4% das biópsias protocolares.

A perda do enxerto renal, detectada no primeiro ano após o transplante, ocorreu em 5,7% (n=5) dos pacientes. Dessas perdas, duas (2,3%) foram devidas a óbito com o enxerto funcionando e três (3,4%) por disfunção do enxerto.

Os achados acima encontram-se sumarizados na tabela 3.

Tabela 3 - Características relacionadas ao pós-transplante

| Achados pós-transplante | n=88 |
|---|-------------|
| Prevalência de anticorpos anti-HLA | 20 (22,7) |
| Classe I | 17 (19,3) |
| Classe II | 11 (12,5) |
| Classe I e II | 8 (9,1) |
| Somente CI | 9 (10,2) |
| Somente CII | 3 (3,4) |
| Incidência de anticorpos anti-HLA | 3 (4,4) |
| Incidência de RA | 23 (26,1) |
| Episódios RA/paciente* | 1,35 ± 0,71 |
| Presença de NCE (n=84) | 43 (51,2) |
| Biópsias protocolares entre 2º e 3º mês | 29 (33,0) |
| Biópsias protocolares no 12º mês | 18 (21,4) |
| NCE em biópsias protocolares (n=32) | 22 (68,8) |
| NCE em biópsias não-protocolares (n=40) | 10 (25,0) |
| RA em biópsias protocolares (n=32) | 3 (9,4) |
| Perdas do enxerto no 1º ano pós-transplante | 5 (5,7) |
| Óbito com enxerto funcionante | 2 (2,3) |
| Disfunção do enxerto | 3 (3,4) |

Os dados são apresentados como contagem e percentual: n° (%).

*: média ± desvio padrão

CI: classe I; CII: Classe II; NCE: nefropatia crônica do enxerto; RA: rejeição aguda.

6.2.1 Achados histológicos das biópsias renais protocolares

A maioria (79,3%) dos achados das biópsias do 2º-3º mês pós-transplante foi considerada normal. A percentagem de necrose tubular foi maior na biópsia protocolar realizada entre o 2º e o 3º mês, do que na biópsia realizada no 12º mês. Não houve achado de RA na biópsia do 12º mês. Achados de NCE e alterações associadas à nefrotoxicidade por inibidores da calcineurina foram maiores na biópsia do 12º mês.

Uma descrição mais detalhada dos achados histopatológicos encontra-se na tabela 4.

Tabela 4 – Achados histológicos das biópsias protocolares conforme o momento da avaliação

| Diagnóstico | biópsias 2 ^o -3 ^o mês | biópsias 12 ^o mês |
|--|---|------------------------------|
| | (n=29) n (%) | (n=18) n (%) |
| Normal (sem rejeição) | 23 (79,3) | 6 (33,3) |
| Suspeita de rejeição aguda | 1 (3,4) | 1 (5,6) |
| Rejeição aguda | | |
| IIA | 3 (10,3) | 0 (0,0) |
| Nefropatia crônica do enxerto | | |
| Grau I | 11 (37,9) | 10 (55,6) |
| Grau II | 0 (0,0) | 4 (22,2) |
| Alterações associadas à inibidores da calcineurina | 3 (10,3) | 5 (27,7) |
| Necrose tubular | 16 (55,2) | 3 (16,7) |
| Não representativa | 1 (3,4) | - |

Das biópsias protocolares que evidenciaram NCE, 41% tiveram achados sugestivos de rejeição crônica.

6.3 ANÁLISE DA PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PRIMEIRO ANO PÓS-TRANSPLANTE

6.3.1 Anticorpos anti-HLA e as características do pré-transplante

O número de transplantes prévios se correlacionou, significativamente, com a presença de anticorpos anti-HLA no período pós-transplante ($P=0,025$).

O número de transfusões foi maior nos pacientes com anticorpos anti-HLA do que nos pacientes sem anticorpos no pós-transplante, porém sem significância estatística ($P=0,057$).

Pacientes com anticorpos anti-HLA apresentaram número menor de casos de infecção por CMV do que os pacientes sem anticorpos.

Não houve diferença significativa entre os grupos com anticorpos e sem anticorpos anti-HLA no pós-transplante, quando foram avaliadas as variáveis: etnia do receptor, gestações, idade e sexo do receptor, doença renal primária, hepatites B e C do receptor e tempo de hemodiálise. Estes dados podem ser observados na tabela 5.

Tabela 5 – Caracterização demográfica e pré-transplante de acordo com a presença de anticorpos IgG anti-HLA no primeiro ano pós-transplante

| Características demográficas e pré-tx | Total (n=88) | Presença de anticorpos anti-HLA no 1º ano pós-tx | | P |
|---|--------------------|--|--------------------|---------------------------|
| | | Sim (n=20) | Não (n=68) | |
| Idade * | 43,0 ± 10,9 | 42,1 ± 11,6 | 43,3 ± 10,7 | 0,667 ^a |
| Sexo ** | | | | |
| Masculino | 48 (54,5) | 9 (45,0) | 39 (57,4) | 0,472 ^b |
| Feminino | 40 (45,5) | 11 (55,0) | 29 (42,6) | |
| Etnia ** | | | | |
| Caucasóide | 72 (81,8) | 16 (80,0) | 56 (82,4) | 0,753 ^b |
| Não-caucasóide | 16 (18,2) | 4 (20,0) | 12 (17,6) | |
| Nº de transfusões *** | 0,5 (0,0 – 3,0) | 1,5 (0,0 – 6,0) | 0,0 (0,0 – 2,0) | 0,057 ^c |
| Nº de gestações *** (n=40) | 2,0 (1,0 – 3,0) | 3,0 (2,0 – 5,0) | 2,0 (1,0 – 3,0) | 0,241 ^c |
| Doença que levou à perda da função renal ** | | | | |
| Indeterminada | 29 (33,0) | 7 (35,0) | 22 (32,4) | 0,971 ^b |
| HAS | 23 (26,1) | 5 (25,0) | 18 (26,5) | |
| Glomerulonefrite Crônica | 10 (11,4) | 3 (15,0) | 7 (10,3) | |
| DM | 5 (5,7) | 1 (5,0) | 4 (5,9) | |
| Outras **** | 21 (23,9) | 4 (20,0) | 17 (25,0) | |
| Hepatite B pré-tx (receptor) ** | 5 (5,7) | 1 (5,0) | 4 (5,9) | |
| Hepatite C pré-tx (receptor) ** | 14 (15,9) | 4 (20,0) | 10 (14,7) | 0,728 ^b |
| Infecção por CMV IgG ** | | | | |
| Receptor (n=82) | 79 (96,3) | 16 (84,2) n=19 | 63 (100,0) n=63 | 0,011 ^b |
| Doador (n=86) | 81 (94,2) | 17 (89,5) n=19 | 64 (95,5) n=67 | 0,305 ^b |
| Transplantes prévios ** | 12 (13,6) | 6 (30,0) | 6 (8,8) | 0,025 ^b |
| Tempo de diálise (anos)*** | 4 (2-5,5) | 4,3 (3-6) | 4 (2-5,5) | 0,436 ^c |

* média ± desvio padrão; ** n(%); *** mediana (percentis 25 – 75); **** PNC (n=1); NH (n=2); GESF (n=3); Doença de Fabry (n=1); IRC pós-parto (n=1); LES (n=4); Uropatia Obstrutiva (n=1), Doença Renal Policística (n=5); Mieloma múltiplo (n=1); RVU (n=1); Glomerulopatia IgA (n=1) ^a teste t-Student; ^b teste qui-quadrado de Pearson; ^c teste de Mann-Whitney

6.3.2 Anticorpos anti-HLA em relação às características do transplante e do pós-transplante

Quarenta e cinco por cento (45%) dos pacientes com anticorpos no pós-transplante apresentaram RA contra 20,6% dos pacientes sem anticorpos. (P=0,058). Não houve diferença - estatisticamente significativa - quando foi avaliado se os pacientes com anticorpos tinham mais NCE do que os pacientes sem anticorpos, sendo as percentagens 64,7% e 47,8%, respectivamente (P=0,329).

Não houve diferença significativa no tempo decorrido entre o transplante e o primeiro episódio de RA entre os grupos com e sem anticorpos anti-HLA (P=0,688).

O número de episódios de rejeição aguda foi maior nos pacientes com anticorpos anti-HLA (P= 0,024) e 20% dos pacientes com anticorpos anti-HLA no pós-transplante realizaram plasmaferese, devido à ocorrência de rejeição humoral, contrastando com 1,5% dos pacientes sem anticorpos anti-HLA (P=0,009).

A comparação entre a presença e a ausência de anticorpos anti-HLA no pós-transplante não mostrou diferença significativa em relação ao tipo de doador, ao grau de parentesco do doador-vivo, à compatibilidade HLA nos transplantes com doador-vivo, em relação à suspeita de rejeição crônica, ao uso de órgãos de doador-limítrofe, ao uso de inibidores dos receptores da interleucina-2 (IL-2R) e à antigenemia positiva para o CMV no pós-transplante.

Quando comparada a imunossupressão inicial farmacológica associada à biológica, houve maior uso da imunossupressão constituída de prednisona, MMF e ciclosporina no grupo sem anticorpos. No grupo com anticorpos, houve maior uso de prednisona, MMF e tacrolimus.

Não houve diferença - estatisticamente significativa - entre os pacientes com e sem anticorpos quando avaliada se a imunossupressão inicial era somente farmacológica ou farmacológica associada à biológica ($P=0,075$).

Trinta e cinco por cento dos pacientes com anticorpos no pós-transplante usaram OKT3[®] como terapia de indução ou para resgate de rejeição córtico-resistente ($P < 0,001$).

Quando analisadas as incompatibilidades HLA-A, B, e DR em relação à presença de anticorpos anti-HLA no pós-transplante, observou-se nos pacientes com anticorpos, maior número de incompatibilidades no loco B, comparando-se aos pacientes sem anticorpos ($P=0,025$). Dezesete pacientes (25%) do grupo sem anticorpos não tiveram incompatibilidades no loco B. Enquanto nenhum paciente do grupo com anticorpos foi idêntico ao doador, no loco B.

Os dados acima podem ser mais bem visualizados na tabela 6.

Tabela 6 – Avaliação dos parâmetros relacionados ao transplante e ao pós-transplante conforme a presença de anticorpos IgG anti-HLA no primeiro ano pós-transplante

| Variáveis | Presença de anticorpos anti-HLA no 1º ano pós-tx | | P |
|---|--|-------------------|-------------------------------|
| | Sim (n=20) | Não (n=68) | |
| Tipo de doador ** | | | |
| Vivo | 1 (5,0) | 16 (23,5) | 0,104 ^b |
| Falecido | 19 (95,0) | 52 (76,5) | |
| Grau de parentesco do doador-vivo ** (n=17) | | | |
| Aparentado | 1 (100,0) | 14 (87,5) | 1,000 ^d |
| Não-aparentado | 0 (0,0) | 2 (12,5) | |
| Doador-límitrofe ** (n=65) | 6 (33,3) n=18 | 11 (23,4) n=47 | 0,530 ^d |
| Incompatibilidades HLA | | | |
| A (0/1/2) | 3/10/7 | 16/33/19 | 0,674 ^b |
| B (0/1/2) | 0/14/6 | 17/29/22 | 0,025 ^b |
| AB (0/1/2/3/4) | 0/2/9/6/3 | 9/9/23/19/8 | 0,484 ^b |
| DR (0/1/2) (n=71) | 9/9/1 | 20/24/8 | 0,497 ^b |
| ABDR (0/1/2/3/4/5/6) (n=71) | 0/0/5/9/3/2/0 | 2/3/12/15/13/5/2 | 0,600 ^b |
| Imunossupressão Inicial ** | | | |
| Farmacológica | 6 (30,0) | 38 (55,9) | 0,075 ^b |
| Farmacológica e Biológica | 14 (70,0) | 30 (44,1) | |
| IS Farmacológica ** | | | |
| P+A+C | 0 (0,0) | 1 (2,7) | 0,496 ^b |
| P+MMF+C | 4 (66,7) | 31 (83,8) | |
| P+MMF+T | 2 (33,3) | 4 (10,8) | |
| P+S+C | 0 (0,0) | 1 (2,7) | |
| IS Farmacológica e Biológica ** | | | |
| P+C | 3 (15,0) | 2 (3,0) | <0,001 ^b |
| P+A+C | 0 (0,0) | 1 (1,5) | |
| P+MMF+C | 6 (30,0) | 54 (80,6) | |
| P+MMF+T | 10 (50,0) | 6 (9,0) | |
| P+MMF | 1 (5,0) | 0 (0,0) | |
| P+S+C | 0 (0,0) | 4 (6,0) | |
| OKT3® ** | 7 (35,0) | 0 (0,0) | <0,001 ^b |
| IL-2R ** | 7 (35,0) | 30 (44,1) | 0,639 ^b |
| Realizou Plasmaferese ** | 4 (20,0) | 1 (1,5) | 0,009 ^b |
| Antigenemia Positiva ** | 3 (15,0) | 4 (5,9) | 0,190 ^b |
| Rejeição Aguda | 9(45,0) | 14(20,6) | 0,058 ^b |
| Episódios de Rejeição Aguda | 2,0 ± 1,4 | 1,0 ± 0,0 | 0,024 ^c |
| NCE (n=84) ** | 11(64,7) n=17 | 32 (47,8) n=67 | 0,329 ^b |
| Suspeita de RC (n=25) ** | 2 (40,0%) n=5 | 7 (35%) n=20 | 1,000 ^b |

* média ± desvio padrão; ** n(%); *** mediana (percentis 25 – 75); ;^b teste qui-quadrado de Pearson; ^c teste de Mann-Whitney; ^d teste exato de Fisher

IS: imunossupressão; P: prednisona; A: azatioprina; C: ciclosporina; MMF: micofenolato mofetil; T: tacrolimus; S: sirolimus; OKT3®: anticorpo monoclonal anti-CD3; IL-2R: anticorpos monoclonal anti-receptor de IL-2; NCE: nefropatia crônica do enxerto; RC: rejeição crônica.

6.3.3 Anticorpos anti-HLA em relação aos achados histológicos

A tabela abaixo apresenta os achados histológicos das biópsias protocolares e das não-protocolares, comparando-os à presença ou ausência de anticorpos anti-HLA no pós-transplante.

Tabela 7 – Achados histológicos das biópsias protocolares e não-protocolares em relação à presença de anticorpos IgG anti-HLA no primeiro ano pós-transplante

| Diagnóstico | Presença de anticorpos anti-HLA | | P |
|---|---------------------------------|---------------|---------------------------|
| | Sim (n=13) | Não (n=46) | |
| | n (%) | n (%) | |
| Normal (sem rejeição) | 7 (53,8) | 36 (78,3) | 0,080 ^b |
| RA | | | |
| IIA | 8 (61,5) | 6 (13,0) | 0,001 ^b |
| IIB | 2 (15,4) | 0 (0,0) | 0,066 ^d |
| III | 2(15,4) | 0 (0,0) | 0,066 ^d |
| NCE | | | |
| Grau I | 5 (38,5) | 20 (43,5) | 0,996 ^b |
| Grau II | 5 (38,5) | 3 (6,5) | 0,012 ^d |
| Alterações por inibidores da calcineurina | 2 (15,4) | 8 (17,4) | 1,000 ^d |
| Necrose tubular | 12 (92,3) | 35 (76,1) | 0,372 ^b |
| Suspeita de RA | 3 (23,1) | 4 (8,7) | 0,352 ^d |

RA: rejeição aguda; NCE: nefropatia crônica do enxerto; ;

^b teste qui-quadrado de Pearson; ^d teste exato de Fisher

Duas biópsias não foram representativas, isto é, estavam inadequadas para a avaliação, sendo excluídas da análise.

A presença de rejeição aguda IIA e de NCE grau II mostrou-se significativamente aumentada nos pacientes com anticorpos anti-HLA.

Nenhum dos pacientes sem anticorpos anti-HLA apresentou RA IIB e III.

Alterações associadas à nefrotoxicidade por inibidores da calcineurina não foram associadas à presença de anticorpos (P=1,000).

A necrose tubular e a suspeita de RA foram maiores no grupo com anticorpos, porém sem diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo sem anticorpos.

6.4 ANÁLISE DA PRESENÇA DE REJEIÇÃO AGUDA NO PRIMEIRO ANO PÓS-TRANSPLANTE

6.4.1 Rejeição aguda em relação às características do pré-transplante

Na tabela 8, encontram-se os dados demográficos e de pré-transplante relacionados à rejeição aguda.

A presença de anticorpos anti-HLA de classe I e de classe II foi mais elevada nos pacientes com rejeição aguda: trinta e quatro por cento dos pacientes com rejeição aguda tinham anticorpos anti-HLA de classe I no período pré-transplante, comparado a 15,6% dos pacientes que não desenvolveram rejeição aguda. Porém, esta diferença não alcançou significância estatística. De modo semelhante, 26,1% dos pacientes com rejeição aguda tinham anticorpos anti-HLA de classe II no pré-transplante, comparado a 10,9% dos pacientes sem rejeição aguda.

Não houve diferença - estatisticamente significativa - em relação à idade, ao sexo e à etnia do receptor, ao número de transfusões e às gestações pré-transplante, à presença de transplantes prévios, à doença renal primária e à presença de IgG para hepatites B, C e para CMV.

Tabela 8 – Caracterização demográfica e pré-transplante de acordo a presença de rejeição aguda no primeiro ano pós-transplante

| Características demográficas e pré-transplante | Rejeição Aguda | | P |
|---|----------------|---------------|--------------------|
| | Sim (n=23) | Não (n=65) | |
| Idade * | 43,6 ± 11,2 | 42,8 ± 10,8 | 0,765 ^a |
| Sexo ** | | | |
| Masculino | 13 (56,5) | 35 (53,8) | 1,000 ^b |
| Feminino | 10 (43,5) | 30 (46,2) | |
| Etnia ** | | | |
| Caucasóide | 20 (87,0) | 52 (80,0) | 0,546 ^b |
| Não-caucasóide | 3 (13,0) | 13 (20,0) | |
| Nº de transfusões *** | 0 (0-2) | 1 (0-3) | 0,695 ^c |
| Nº de gestações *** | 2 (1,8-3) | 2,5 (1-4,3) | 0,379 ^c |
| Doença que levou à perda da função renal ** | | | |
| Indeterminada | 10 (43,5) | 19 (29,2) | 0,424 ^b |
| HAS | 4 (17,4) | 19 (29,2) | |
| Glomerulonefrite crônica | 3 (13,0) | 7 (10,8) | |
| DM | 0 (0,0) | 5 (7,7) | |
| Outras **** | 6 (26,1) | 15 (23,1) | |
| Hepatite B pré-tx ** | 0 (0,0) | 5 (7,7) | 0,320 ^b |
| Hepatite C pré-tx ** | 6 (26,1) | 8 (12,3) | 0,181 ^b |
| Infecção por CMV IgG ** | | | |
| Receptor | 18 (94,7) | 61 (96,8) | 0,552 ^b |
| Doador | 20 (90,9) | 61 (95,3) | 0,599 ^b |
| Transplantes prévios ** | 4 (17,4) | 8 (12,3) | 0,504 ^b |
| Presença de Anticorpos anti-HLA ** | 9 (39,1) | 11 (17,2) | 0,063 ^b |
| Presença de Anticorpos anti-HLA de Classe I ** | 8(34,8) | 10 (15,6) | 0,072 ^b |
| Presença de Anticorpos anti-HLA de classe II ** | 6 (26,1) | 7(10,9) | 0,096 ^b |

Abreviações: HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus; CMV: citomegalovírus

* média ± desvio padrão; ** n(%); *** mediana (percentis 25 – 75); **** PNC (n=1); NH (n=2); GESF (n=3); Doença de Fabry (n=1); IRC pós- parto (n=1); LES (n=4); Uropatia Obstrutiva (n=1), Doença Renal Policística (n=5); Mieloma múltiplo (n=1); RVU (n=1); Glomerulopatia IgA (n=1); ^a teste t-Student; ^b teste qui-quadrado de Pearson; ^c teste de Mann-Whitney

6.4.2 Rejeição aguda em relação às características do transplante e do pós-transplante

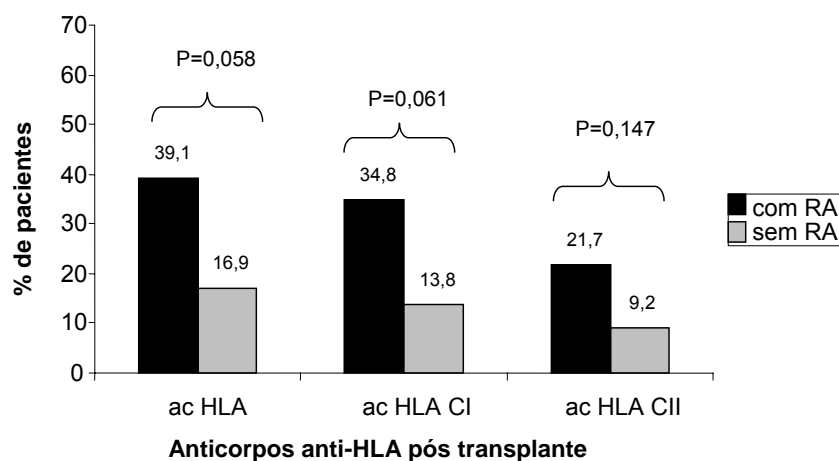
Os dados do transplante e do pós-transplante em relação ao desfecho rejeição aguda estão dispostos na tabela 9.

O tipo de doador, o grau de parentesco do doador-vivo, o uso de órgãos de doador-limítrofe, o uso de inibidores dos receptores da interleucina-2 (IL-2R), as incompatibilidades HLA, a imunossupressão inicial, o uso de OKT3[®], o uso de inibidores dos receptores da interleucina-2 (IL-2R), a presença de anticorpos anti-

HLA de Classe II e a suspeita de rejeição crônica não se correlacionaram significativamente com a presença de rejeição aguda.

Houve correlação estatisticamente significativa quando comparada a compatibilidade nos antígenos HLA (idênticos, haploidênticos e distintos) entre receptor e doador-vivo com a presença ou ausência de RA. Oitenta por cento dos pacientes com RA foram considerados distintos em relação à compatibilidade HLA, contra 16,7% dos pacientes sem RA ($P=0,031$).

O valor P (0,058) foi limítrofe na análise da associação entre anticorpos anti-HLA e a presença de RA. Parece haver uma tendência destes anticorpos serem de classe I ($P= 0,061$) (Figura 3).



Legenda: ac HLA: anticorpos anti-HLA; ac HLA CI= anticorpos anti-HLA de classe I; ac HLA CII= anticorpos anti-HLA de classe II

Figura 3 – Rejeição aguda em relação à presença de anticorpos IgG anti-HLA no pós-transplante.

Foi encontrado valor limítrofe para o P na avaliação da rejeição aguda com a variável NCE. Setenta por cento dos pacientes com RA desenvolveram NCE, contra 45,3% dos pacientes sem RA ($P=0,054$).

A realização de plasmaferese ocorreu com maior frequência nos pacientes com rejeição aguda do que no grupo sem RA ($P=0,016$). No paciente sem RA submetido à plasmaferese, a indicação da mesma foi devido à recorrência de glomeruloesclerose segmentar e focal.

Ocorrência de infecção por CMV no pós-transplante foi maior nos pacientes com rejeição aguda do que nos pacientes sem rejeição aguda ($P= 0,012$).

Tabela 9 – Avaliação dos parâmetros relacionados ao transplante e ao pós-transplante conforme a presença de rejeição aguda no primeiro pós-transplante

| Variáveis | Rejeição Aguda | | P |
|---|------------------|-------------------|---------------------------|
| | Sim (n=23) | Não (n=65) | |
| Tipo de doador ** | | | |
| Vivo | 5 (21,7) | 12 (18,5) | 0,763 ^b |
| Falecido | 18 (78,3) | 53 (81,5) | |
| Grau de parentesco do doador-vivo ** (n=17) | | | |
| Aparentado | 3 (60,0) | 12 (100,0) | 0,074 ^d |
| Não-aparentado | 2 (40,0) | 0 (0,0) | |
| Doador-limítrofe ** (n=65) | 4 (25,0) n=16 | 13 (26,5) n=49 | 1,000 ^d |
| Compatibilidade HLA com doador-vivo** (n=17) | | | |
| Idêntico | 1 (20,0) | 3 (25,0) | 0,031 ^b |
| Haploidêntico | 0 (0,0) | 7 (58,3) | |
| Distinto | 4 (80,0) | 2 (16,7) | |
| Incompatibilidades HLA | | | |
| A (0/1/2) | 4/9/10 | 15/34/16 | 0,234 ^b |
| B (0/1/2) | 3/10/10 | 14/33/18 | 0,341 ^b |
| AB (0/1/2/3/4) | 2/1/6/10/4 | 7/10/26/15/7 | 0,221 ^b |
| DR (0/1/2) n=71 | 8/8/2 | 21/25/7 | 0,930 ^b |
| ABDR (0/1/2/3/4/5/6) (n=71) | 0/1/4/6/4/2/1 | 2/2/13/18/12/5/1 | 0,960 ^b |
| Imunossupressão Inicial ** | | | |
| Farmacológica | 11 (47,8) | 33 (50,8) | 1,000 ^b |
| Farmacológica e Biológica | 12 (52,2) | 32 (49,2) | |
| IS Farmacológica ** | | | |
| P+A+C | 0 (0,0) | 1 (3,1) | 0,777 ^b |
| P+MMF+C | 10 (90,9) | 25 (78,1) | |
| P+MMF+T | 1 (9,1) | 5 (15,6) | |
| P+S+C | 0 (0,0) | 1 (3,1) | |
| IS Farmacológica e Biológica ** | | | |
| P+C | 0 (0,0) | 5 (7,8) | 0,619 ^b |
| P+A+C | 0 (0,0) | 1 (1,6) | |
| P+MMF+C | 16 (69,6) | 44 (68,8) | |
| P+MMF+T | 6 (26,1) | 10 (15,6) | |
| P+MMF | 0 (0,0) | 1 (1,6) | |
| P+S+C | 1 (4,3) | 3 (4,7) | |
| OKT3 [®] ** | 4 (17,4) | 3 (4,6) | 0,073 ^b |
| IL-2R ** | 8 (34,8) | 29 (44,6) | 0,565 ^b |
| Realizou Plasmaferese ** | 4 (17,4) | 1 (1,5) | 0,016 ^b |
| Antigenemia Positiva ** | 5 (21,7) | 2 (3,1) | 0,012 ^b |
| Presença de anticorpos anti-HLA ** | 9 (39,1) | 11 (16,9) | 0,058 ^b |
| Presença de anticorpos anti-HLA de classe I ** | 8 (34,8) | 9 (13,8) | 0,061 ^b |
| Presença de anticorpos anti-HLA de classe II ** | 5 (21,7) | 6 (9,2) | 0,147 ^b |
| Suspeita de rejeição crônica ** (n=25) | 2 (33,3) n=6 | 7 (36,8) n=19 | 1,000 ^b |
| NCE (n=84) ** | 14 (70%) | 29 (45,3%) | 0,054 ^b |

média ± desvio padrão; ** n(%); *** mediana (percentis 25 – 75); ^b teste qui-quadrado de Pearson; ^d teste exato de Fisher

IS: imunossupressão; P: prednisona; A: azatioprina; C: ciclosporina; MMF: micofenolato mofetil; T: tacrolimus; S: sirolimus; OKT3[®]: anticorpo monoclonal anti-CD3; IL-2R: anticorpos monoclonal anti-receptor de IL-2; NCE: nefropatia crônica do enxerto; RC: rejeição crônica.

6.4.3 Variáveis preditoras de Rejeição aguda

A análise por regressão logística múltipla incluiu as seguintes variáveis independentes para o desfecho rejeição aguda: idade do receptor, incompatibilidades HLA no loco B e nos locos AB e a presença de anticorpos anti-HLA de classe I no primeiro mês pós-transplante.

Das quatro variáveis analisadas, a única variável que se mostrou preditora para a rejeição aguda, foi a presença de anticorpos anti-HLA de classe I no primeiro mês pós-transplante. Vide tabela 10.

Tabela 10 – Análise das variáveis preditoras de rejeição aguda, através da Regressão Logística Múltipla

| Variáveis | OR ajustado | IC 95% | P |
|--|-------------|----------------------|--------------|
| Idade | 1,00 | (0,96 – 1,05) | 0,898 |
| Incompatibilidades no loco B | 0,96 | (0,30 – 3,12) | 0,948 |
| Incompatibilidades nos locos AB | 1,54 | (0,72 – 3,26) | 0,262 |
| Presença de anticorpos anti-HLA Classe I no 1º mês pós-tx | 4,30 | (1,32 – 14,1) | 0,016 |

OR: razão de chances ("odds ratio"); IC: intervalo de confiança

6.5 ANÁLISE DA PRESENÇA DA NEFROPATIA CRÔNICA DO ENXERTO NO PRIMEIRO ANO PÓS-TRANSPLANTE

6.5.1 Nefropatia crônica do enxerto em relação às características pré-transplante

Não houve nenhuma diferença - estatisticamente significativa - entre a presença de NCE detectada durante o primeiro ano pós-transplante e as variáveis do pré-transplante listadas a seguir: idade, sexo e etnia do receptor, número de transfusões e gestações, presença de transplantes prévios, etiologia da insuficiência renal

crônica, hepatite B e C, presença de IgG para o citomegalovírus (CMV) e presença de anticorpos anti-HLA. Estes dados podem ser observados na tabela 11.

Tabela 11 – Caracterização demográfica e pré-transplante de acordo com a presença de nefropatia crônica do enxerto no primeiro ano pós-transplante

| Características demográficas e Pré-Tx | Nefropatia crônica do enxerto | | P |
|---|-------------------------------|---------------|--------------------|
| | Sim (n=43) | Não (n=41) | |
| Idade * | 44,5 ± 11,04 | 41,9 ± 10,7 | 0,266 ^a |
| Sexo ** | | | |
| Masculino | 24 (55,8) | 22 (53,7) | 1,000 ^b |
| Feminino | 19 (44,2) | 19 (46,3) | |
| Etnia ** | | | |
| Caucasóide | 34 (79,1) | 35 (85,4) | 0,640 ^b |
| Não-caucasóide | 9 (20,9) | 6 (14,6) | |
| Nº de transfusões *** | 1 (0-3) | 0 (0-3) | 0,599 ^c |
| Nº de gestações *** | 2 (2-5) | 2 (1-3) | 0,370 ^c |
| Indeterminada | 14 (32,6) | 14 (34,1) | 0,627 ^b |
| Hipertensão arterial sistêmica | 12 (27,9) | 11 (26,8) | |
| Glomerulonefrite Crônica | 4 (9,3) | 4 (9,8) | |
| Diabetes mellitus | 1 (2,3) | 4 (9,8) | |
| Outras **** | 12 (27,9) | 8 (19,5) | |
| Hepatite B pré-tx ** | 1 (2,3) | 4 (9,8) | 0,197 ^b |
| Hepatite C pré-tx ** | 6 (14,0) | 7 (17,1) | 0,926 ^b |
| Infecção por CMV IgG ** | | | |
| Receptor | 36 (92,3) | 40 (100,0) | 0,116 ^b |
| Doador | 40 (95,2) | 39 (95,1) | 1,000 ^b |
| Transplantes prévios ** | 5 (11,6) | 7 (17,1) | 0,688 ^b |
| Presença de Anticorpos anti-HLA ** | 11 (26,2) | 6 (14,6) | 0,302 ^b |
| Presença de Anticorpos anti-HLA de CI ** | 9(21,4) | 6 (14,6) | 0,604 ^b |
| Presença de Anticorpos anti-HLA de classe II ** | 7 (16,7) | 5(12,2) | 0,789 ^b |

* média ± desvio padrão; ** n(%); *** mediana (percentis 25 – 75); **** PNC (n=1); NH (n=2); GESF (n=3); Doença de Fabry (n=1); IRC pós-parto (n=1); LES (n=4); Uropatia Obstrutiva (n=1), Doença Renal Policística (n=5); Mieloma múltiplo (n=1); RVU (n=1); Glomerulopatia IgA (n=1);); CMV: citomegalovírus
^a teste t-Student; ^b teste qui-quadrado de Pearson; ^c teste de Mann-Whitney

6.5.2 Nefropatia crônica do enxerto em relação às características do transplante e do pós-transplante

O tipo de doador, as incompatibilidades HLA, o grau de parentesco do doador-vivo, a compatibilidade HLA nos transplantes com doador-vivo, a presença de anticorpos anti-HLA, episódios de rejeição aguda, uso de OKT3[®], uso de inibidores da interleucina-2 (IL-2R), a realização de plasmaferese e a antigenemia positiva não se correlacionaram significativamente com a presença de NCE durante o primeiro ano pós-transplante.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os pacientes com e sem nefropatia crônica do enxerto quando avaliada se a imunossupressão inicial era somente farmacológica ou farmacológica associada à biológica ($P=0,029$). Sessenta e dois por cento dos pacientes com NCE utilizaram imunossupressão farmacológica e biológica contra 36,6% dos pacientes sem NCE.

Embora a presença de RA tenha sido mais elevada nos pacientes com nefropatia crônica do enxerto, este valor não alcançou significância estatística quando comparado ao grupo sem NCE ($P=0,054$).

Dos pacientes que desenvolveram NCE, 39,4% haviam realizado transplante com doador-limítrofe, comparado a 10,7% dos pacientes do grupo sem NCE ($P=0,018$). Estes dados estão dispostos na tabela 12.

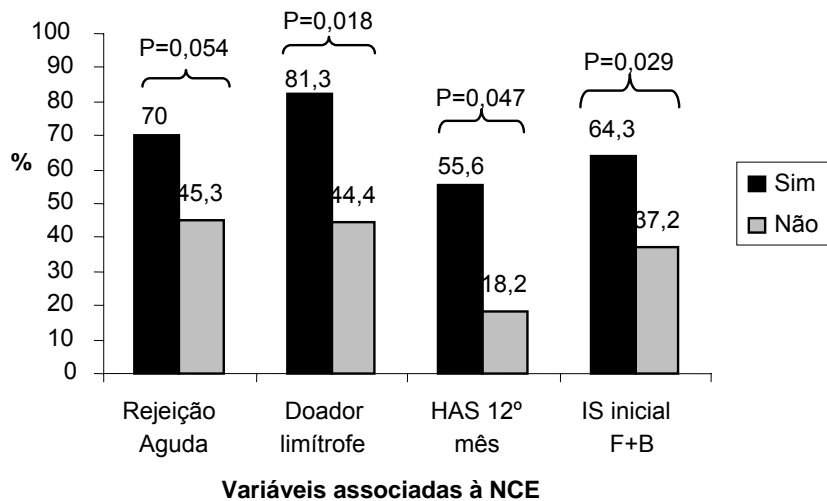
Tabela 12 – Avaliação dos parâmetros relacionados ao transplante e ao pós-transplante conforme a presença de nefropatia crônica do enxerto no primeiro ano pós-transplante

| Variáveis | Nefropatia crônica do enxerto | | P |
|--|-------------------------------|------------------|---------------------------|
| | Sim (n=43) | Não (n=41) | |
| Tipo de doador ** | | | |
| Vivo | 7 (16,3) | 10 (24,4) | 0,514 ^b |
| Falecido | 36 (83,7) | 31 (75,6) | |
| Grau de parentesco do doador-vivo ** (n=17) | | | |
| Aparentado | 6 (85,7) | 9 (90,0) | 1,000 ^d |
| Não-aparentado | 1 (14,3) | 1 (10,0) | |
| Doador-limítrofe ** (n=65) | 13 (39,4) n=33 | 3 (10,7) n=28 | 0,018 ^d |
| Incompatibilidades HLA | | | |
| A (0/1/2) | 8/22/13 | 10/18/13 | 0,750 ^b |
| B (0/1/2) | 8/21/14 | 9/20/12 | 0,910 ^b |
| AB (0/1/2/3/4) | 4/5/15/14/5 | 5/5/16/9/6 | 0,866 ^b |
| DR (0/1/2) (n=71) | 14/19/3 | 12/13/6 | 0,384 ^b |
| ABDR (0/1/2/3/4/5/6) (n=71) | 0/2/8/13/9/4/0 | 2/1/7/9/7/3/2 | 0,521 ^b |
| Imunossupressão Inicial ** | | | |
| Farmacológica pura | 16 (37,2) | 26 (63,4) | 0,029 ^b |
| Farmacológica + Biológica | 27 (62,8) | 15 (36,6) | |
| IS Farmacológica ** | | | |
| P+A+C | 1 (6,3) | 0 (0,0) | 0,069 ^b |
| P+MMF+C | 14 (87,5) | 20 (76,9) | |
| P+MMF+T | 0 (0,0) | 6 (23,1) | |
| P+S+C | 1 (6,3) | 0 (0,0) | |
| IS Farmacológica + Biológica ** | | | |
| P+C | 3 (7,0) | 2 (4,9) | 0,261 ^b |
| P+A+C | 1 (2,3) | 0 (0,0) | |
| P+MMF+C | 27 (62,8) | 31 (75,6) | |
| P+MMF+T | 7 (16,3) | 8 (19,5) | |
| P+MMF | 1 (2,3) | 0 (0,0) | |
| P+S+C | 4 (9,3) | 0 (0,0) | |
| OKT3 [®] ** | 4 (9,3) | 2 (4,9) | 0,676 ^b |
| IL-2R ** | 23 (53,5) | 13 (31,7) | 0,073 ^b |
| Realizou Plasmaferese ** | 3 (7,0) | 1 (2,4) | 0,616 ^b |
| Presença de anticorpo anti-HLA no 1º ano ** | 11 (25,2) | 6 (14,6) | 0,329 ^b |
| Presença de anticorpo anti-HLA de classe I ** | 9 (20,9) | 5 (12,2) | 0,435 ^b |
| Presença de anticorpo anti-HLA de classe II ** | 6 (14,0) | 4 (9,8) | 0,739 ^b |
| Antigenemia positiva ** | 2 (4,7) | 2 (4,9) | 1,000 ^b |
| Rejeição Aguda ** | 14 (32,6) | 6 (14,6) | 0,054 ^b |
| Episódios RA* | 1,29± 0,61 | 1,00 ±0,00 | 0,104 ^c |
| Suspeita de rejeição crônica ** (n=25) | 9 (45,0) n=20 | 0 (0,0) n=5 | 0,123 ^b |

* média ± desvio padrão; ** n(%); *** mediana (percentis 25 – 75); ^b teste qui-quadrado de Pearson; ^c teste de Mann-Whitney; ^d teste exato de Fisher

IS: imunossupressão; P: prednisona; A: azatioprina; C: ciclosporina; MMF: micofenolato mofetil; T: tacrolimus; S: sirolimus; OKT3[®]: anticorpo monoclonal anti-CD3; IL-2R: anticorpos monoclonal anti-receptor de IL-2.

As variáveis consideradas com maior associação em relação ao desenvolvimento de NCE estão descritas na figura abaixo.



Legenda: NCE: nefropatia crônica do enxerto; HAS: hipertensão arterial sistêmica; IS: imunossupressão; F+B: farmacológica e biológica

Figura 4 : Variáveis associadas ao desenvolvimento de NCE no primeiro ano do transplante renal.

6.5.3 Variáveis preditoras para a nefropatia crônica do enxerto

Foi realizada análise multivariada através da regressão logística, tendo como desfecho a NCE e incluindo as seguintes variáveis independentes: rejeição aguda, utilização de órgãos de doador-limítrofe e imunossupressão inicial combinada: farmacológica e biológica. Nessa análise, a única variável com influência - estatisticamente significativa em relação à ocorrência de NCE - foi a utilização de órgãos de doador-limítrofe. Esses dados estão apresentados na tabela 13.

Tabela 13 – Análise das variáveis preditoras de nefropatia crônica do enxerto, através da Regressão Logística Múltipla

| Variáveis | OR ajustado | IC 95% | P |
|--|-------------|----------------------|--------------|
| Rejeição Aguda | 1,90 | (0,66 – 10,42) | 0,168 |
| Doador-limítrofe | 4,81 | (1,18 – 20,3) | 0,028 |
| Imunossupressão inicial (Farmacológica e Biológica) | 1,94 | (0,71 – 7,50) | 0,164 |

OR: razão de chances ("odds ratio"); IC: intervalo de confiança.

6.5.4 Concordância entre os métodos diagnósticos da nefropatia crônica do enxerto

Nos pacientes que realizaram biópsia renal, foi avaliada a concordância entre o método diagnóstico de NCE através de critérios clínico-laboratoriais com o método histológico. Nessa comparação, houve concordância em 72,2% dos casos, demonstrado na tabela 14. Oito (25,8%) dos pacientes que apresentaram NCE na biópsia, não preencheram os critérios para o diagnóstico clínico-laboratorial.

Tabela 14 – Avaliação da concordância entre os métodos diagnósticos da NCE, através do coeficiente Kappa

| Comparação | Concordância n (%) | Kappa | IC 95% | P |
|-----------------|-----------------------|-------|---------------|--------------|
| BP x CCL (n=32) | 22 (68,8) | 0,375 | (0,08 a 0,67) | 0,022 |
| BT x CCL (n=54) | 39 (72,2) | 0,435 | (0,19 a 0,68) | 0,001 |

Legenda: BP=Biópsia protocolar; CCL=Critérios clínicos-laboratoriais; BT= biópsias protocolar + não protocolar.

6.6 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA DE CLASSE I E II EM CADA MOMENTO DE COLHEITA PÓS-TRANSPLANTE

Na tabela 15 encontram-se os achados da avaliação dos anticorpos identificados em cada momento de colheita pós-transplante, detectados através da

metodologia PRA-ELISA, em relação aos desfechos rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto.

Quando avaliada a presença dos anticorpos anti-HLA de classe I e II em cada momento de colheita, sem categorizá-los, foi encontrada diferença estatisticamente significativa somente nos anticorpos do 1º mês pós-transplante e em relação à presença de rejeição aguda. Aproximadamente 35% dos pacientes com RA tinham anticorpos anti-HLA de classe I, comparado a 10,8% dos pacientes sem RA (P=0,020).

Quando os resultados do PRA de cada colheita foram divididos em três categorias, conforme a percentagem da prova cruzada contra painel (PRA 0-10%; PRA 11-50% ; PRA 51-100%), nenhuma significância estatística foi encontrada na comparação com os desfechos rejeição aguda e NCE.

Tabela 15 – Avaliação dos anticorpos anti-HLA de classe I ou II em cada momento de colheita pós-transplante conforme a presença de nefropatia crônica do enxerto e rejeição aguda

| Anticorpos anti-HLA (PRA-ELISA) pós-tx | Nefropatia crônica do enxerto | | P ^b | Rejeição aguda | | P ^b |
|---|----------------------------------|---------------|----------------|----------------|---------------|----------------|
| | Sim (n=43) | Não (n=41) | | Sim (n=23) | Não (n=65) | |
| | n (%) | n (%) | | n (%) | n (%) | |
| PRA Classe I no 1º mês | 7 (16,3) | 5 (12,2) | 0,824 | 8 (34,8) | 7 (10,8) | 0,020 |
| PRA Classe II no 1º mês | 6 (14,0) | 4 (9,8) | 0,739 | 5 (21,7) | 6 (9,2) | 0,147 |
| PRA Classe I no 3º mês | 5 (11,9) | 4 (9,8) | 1,000 | 4 (18,2) | 7 (11,1) | 0,464 |
| PRA Classe II no 3º mês | 5 (11,9) | 4 (9,8) | 1,000 | 4 (18,2) | 6 (9,5) | 0,275 |
| PRA Classe I no 6º mês | 4 (9,5) | 3 (7,3) | 1,000 | 3 (14,3) | 5 (7,9) | 0,406 |
| PRA Classe II no 6º mês | 6 (14,3) | 4 (9,8) | 0,738 | 4 (20,0) | 6 (9,5) | 0,244 |
| PRA Classe I no 12º mês | 4 (9,5) | 3 (7,3) | 1,000 | 2 (10,0) | 5 (7,9) | 0,673 |
| PRA Classe II no 12º mês | 6 (14,3) | 4 (9,8) | 0,738 | 4 (20,0) | 6 (9,5) | 0,244 |
| PRA Classe I no 1º mês | | | | | | |
| 0-10 % | 38 (90,5) | 36 (90,0) | 0,764 | 17 (89,5) | 58 (90,6) | 0,900 |
| 11-50 % | 3 (7,1) | 2 (5,0) | | 1 (5,3) | 4 (6,3) | |
| >50 % | 1 (2,4) | 2 (5,0) | | 1 (5,3) | 2 (3,1) | |
| PRA Classe II no 1º mês | | | | | | |
| 0-10 % | 38 (88,4) | 37 (90,2) | 0,251 | 19 (86,4) | 59 (90,8) | 0,496 |
| 11-50 % | 4 (9,3) | 1 (2,4) | | 1 (4,5) | 4 (6,2) | |
| >50 % | 1 (2,3) | 3 (7,3) | | 2 (9,1) | 2 (3,1) | |
| PRA Classe I no 3º mês | | | | | | |
| 0-10 % | 39 (90,2) | 38 (92,7) | 0,716 | 18 (90,0) | 59 (93,7) | 0,860 |
| 11-50 % | 2 (4,8) | 1 (2,4) | | 1 (5,0) | 2 (3,2) | |
| >50 % | 1 (2,4) | 2 (4,9) | | 1 (5,0) | 2 (3,2) | |
| PRA Classe II no 3º mês | | | | | | |
| 0-10 % | 38 (90,5) | 37 (90,2) | 0,765 | 19 (90,5) | 57 (90,5) | 0,108 |
| 11-50 % | 3 (7,1) | 2 (4,9) | | 0 (0,0) | 5 (7,9) | |
| >50 % | 1 (2,4) | 2 (4,9) | | 2 (9,5) | 1 (1,6) | |
| PRA Classe I no 6º mês | | | | | | |
| 0-10 % | 39 (92,9) | 38 (92,7) | 0,223 | 18 (90,0) | 59 (93,7) | 0,685 |
| 11-50 % | 3 (7,1) | 1 (2,4) | | 1 (5,0) | 3 (4,8) | |
| >50 % | 0 (0,0) | 2 (4,9) | | 1 (5,0) | 1 (1,6) | |
| PRA Classe II no 6º mês | | | | | | |
| 0-10 % | 38 (90,5) | 37 (90,2) | 0,263 | 17 (85,0) | 58 (92,1) | 0,578 |
| 11-50% | 4 (9,5) | 2 (4,9) | | 2 (10,0) | 4 (6,3) | |
| >50% | 0 (0,0) | 2 (4,9) | | 1 (5,0) | 1 (1,6) | |
| PRA Classe I no 12º mês | | | | | | |
| 0-10 % | 39 (92,9) | 39 (95,1) | 0,083 | 18 (90,0) | 60 (95,2) | 0,632 |
| 11-50 % | 3 (7,1) | 0 (0,0) | | 1 (5,0) | 2 (3,2) | |
| >50 % | 0 (0,0) | 2 (4,9) | | 1 (5,0) | 1 (1,6) | |
| PRA Classe II no 12º mês | | | | | | |
| 0-10 % | 38 (90,5) | 37 (90,2) | 0,263 | 17 (85,0) | 58 (92,1) | 0,578 |
| 11-50 % | 4 (9,5) | 2 (4,9) | | 2 (10,0) | 4 (6,3) | |
| >50 % | 0 (0,0) | 2 (4,9) | | 1 (5,0) | 1 (1,6) | |

PRA: Prova cruzada contra painel; PRA-ELISA: Prova cruzada contra painel por ELISA; ^b teste qui-quadrado de Pearson

6.7 AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS OBSERVADAS NOS MOMENTOS DE COLHEITA PÓS-TRANSPLANTE EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE REJEIÇÃO AGUDA E NEFROPATIA CRÔNICA DO ENXERTO

Na tabela 16 encontram-se os achados das seguintes variáveis em cada momento de colheita pós-transplante: creatinina sérica, DCE calculada, IPC, proteinúria de 24h, colesterol total, hipertensão e diabetes mellitus. Todas avaliadas em relação aos desfechos rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto.

As médias da creatinina, DCE, proteinúria e IPC, em todos os momentos de colheita, foram significativamente maiores nos pacientes com NCE do que nos pacientes sem NCE ($P < 0,001$).

Embora as médias da creatinina sérica e do IPC tenham sido maiores nos pacientes com RA, estes valores não alcançaram significância estatística quando comparados aos pacientes sem rejeição. A DCE alcançou significância estatística, em relação aos pacientes com RA, mas somente até a colheita do 6º mês pós-transplante.

A HAS alcançou significância estatística somente em relação à NCE, e apenas na colheita do 1º e do 12º mês pós-transplante.

Não houve diferença significativa na avaliação do colesterol e da presença de diabetes mellitus em relação à presença ou ausência de RA e NCE.

Tabela 16 – Variáveis avaliadas no 1º, 3º, 6º e 12º mês pós-transplante conforme a presença de nefropatia crônica do enxerto e rejeição aguda

| Variáveis | Pós-tx | NCE | | P | Rejeição Aguda | | P |
|-----------------------------|---------|---------------|---------------|---------|----------------|---------------|--------------------|
| | | Sim (n=43) | Não (n=41) | | Sim (n=23) | Não (n=65) | |
| Creatinina sérica (mg/dL) * | 1º mês | 2,68 ± 1,98 | 1,44 ± 0,48 | < 0,001 | 2,24 ± 1,32 | 2,03 ± 1,66 | 0,574 ^c |
| | 3º mês | 2,01 ± 1,09 | 1,31 ± 0,39 | < 0,001 | 1,96 ± 0,89 | 1,64 ± 0,97 | 0,184 ^c |
| | 6º mês | 1,91 ± 0,57 | 1,38 ± 0,35 | < 0,001 | 2,15 ± 1,42 | 1,58 ± 0,50 | 0,084 ^c |
| | 12º mês | 2,13 ± 0,81 | 1,44 ± 0,30 | < 0,001 | 2,07 ± 0,85 | 1,70 ± 0,63 | 0,087 ^c |
| DCEc (mL/min) * | 1º mês | 38,4 ± 17,7 | 61,0 ± 19,2 | < 0,001 | 40,0 ± 13,7 | 52,3 ± 22,8 | 0,003 ^a |
| | 3º mês | 46,0 ± 16,8 | 67,8 ± 20,4 | < 0,001 | 47,5 ± 15,6 | 59,2 ± 22,7 | 0,028 ^a |
| | 6º mês | 45,1 ± 14,0 | 67,3 ± 22,9 | < 0,001 | 47,7 ± 13,8 | 58,8 ± 23,3 | 0,048 ^a |
| | 12º mês | 43,8 ± 18,9 | 61,4 ± 16,7 | < 0,001 | 46,4 ± 18,4 | 54,4 ± 20,0 | 0,115 ^a |
| IPC* | 1º mês | 0,51 ± 0,34 | 0,24 ± 0,26 | < 0,001 | 0,72 ± 0,96 | 0,41 ± 0,37 | 0,222 ^c |
| | 3º mês | 0,98 ± 1,14 | 0,21 ± 0,13 | < 0,001 | 0,76 ± 0,92 | 0,59 ± 0,96 | 0,508 ^c |
| | 6º mês | 1,06 ± 1,67 | 0,15 ± 0,11 | < 0,001 | 1,45 ± 2,68 | 0,52 ± 1,18 | 0,178 ^c |
| | 12º mês | 1,23 ± 2,31 | 0,14 ± 0,10 | < 0,001 | 1,26 ± 2,05 | 0,60 ± 1,73 | 0,236 ^c |
| Proteinúria (g/24h) * | 1º mês | 530,9±458,2 | 202,6±113,8 | < 0,001 | 526,8±622,0 | 377,1±349,3 | 0,375 ^c |
| | 3º mês | 747,7±681,9 | 215,9±150,5 | < 0,001 | 764,7±955,4 | 457,7±555,5 | 0,201 ^c |
| | 6º mês | 955,7±1555 | 167±91,4 | < 0,001 | 1097±1983 | 409,2±669,6 | 0,178 ^c |
| | 12º mês | 1125±1793 | 160,5±96,1 | < 0,001 | 1054±1784 | 574,9±1265 | 0,245 ^c |
| Colesterol total (mg/dL) * | 1º mês | 229,9±62,4 | 224,5±57,9 | 0,696 | 229,4±61,7 | 225,2±58,1 | 0,779 ^a |
| | 3º mês | 222,3±59,0 | 220,6±54,8 | 0,888 | 222,4±72,2 | 219,2±50,9 | 0,822 ^a |
| | 6º mês | 225,7±53,8 | 232,7±62,1 | 0,586 | 240,1±77,4 | 224,8±49,6 | 0,293 ^a |
| | 12º mês | 212,9±60,8 | 207,6±52,8 | 0,669 | 218,9±69,6 | 207,6±52,3 | 0,441 ^a |
| HAS** | 1º mês | 39 (90,7) | 29 (70,7) | 0,040 | 21 (91,3) | 50 (78,1) | 0,218 ^b |
| | 3º mês | 37 (86,0) | 33 (80,5) | 0,696 | 19 (86,4) | 53 (82,8) | 1,000 ^b |
| | 6º mês | 37 (88,1) | 35 (85,4) | 0,966 | 19 (90,5) | 54 (85,7) | 0,723 ^b |
| | 12º mês | 40 (95,2) | 32 (78,0) | 0,047 | 19 (95,0) | 53 (84,1) | 0,282 ^b |
| DM** | 1º mês | 0 (0,0) | 3 (7,3) | 0,112 | 0 (0,0) | 3 (4,7) | 0,563 ^b |
| | 3º mês | 1 (2,4) | 3 (7,3) | 0,360 | 1 (4,5) | 3 (4,8) | 1,000 ^b |
| | 6º mês | 3 (7,1) | 5 (12,2) | 0,483 | 2 (10,0) | 6 (9,5) | 1,000 ^b |
| | 12º mês | 2 (4,8) | 5 (12,2) | 0,265 | 1 (5,0) | 6 (9,5) | 1,000 ^b |

* média ± DP; ** n (%);^a teste t-Student; ^b teste qui-quadrado de Pearson; ^c teste de Mann-Whitney; DCEc: depuração da creatinina endógena calculada; IPC: índice de proteína na urina/creatinina na urina; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus.

7 DISCUSSÃO

No presente trabalho a coorte de pacientes foi representativa da população de urêmicos do estado do Rio Grande do Sul. Houve predomínio da etiologia indeterminada quando avaliada a causa da insuficiência renal crônica. O segundo fator causal foi a hipertensão arterial sistêmica, seguida por glomerulonefrite crônica.

Em relação à compatibilidade HLA, os pacientes deste estudo tiveram uma compatibilidade doador-receptor considerada razoável, com número de incompatibilidades/paciente de $0,72 \pm 0,68$ em DR e $3,10 \pm 1,24$ em A/B/DR.

Na amostra estudada, observou-se uma frequência maior no número de transfusões, gestações e transplantes prévios no grupo com anticorpos anti-HLA no pós-transplante. Essa diferença pode ser facilmente explicada quando nos reportamos às causas de sensibilização aos antígenos HLA: transfusões sanguíneas, gestações e retransplantes ^(30, 52). A variável gestações apontou tal diferença na frequência, mas não alcançou significância estatística, talvez devido ao número de pacientes analisados ser menor do que o número de pacientes utilizados para analisar as variáveis transfusões e transplantes prévios.

A frequência de pacientes com anticorpos anti-HLA no pós-transplante, nesse estudo, foi de 22,7%, semelhante à de 20,9%, encontrada no estudo multicêntrico de Terasaki e Osawa ⁽¹⁶⁾ e dentro da faixa de 12-60%, citada por McKenna e cols ⁽³³⁾. Diferentemente, a incidência de anticorpos anti-HLA, dentre aqueles que não possuíam anticorpos no pré-transplante, foi bem inferior (4,4%) àquela relatada no estudo multicêntrico citado acima: 14,7% e àquela relatada no

trabalho de Worthington e cols ⁽⁶³⁾, que foi de 16% . Uma possibilidade para essa diferença poderia ser o fato da identificação dos anticorpos ter sido realizada em momentos diferentes: no estudo multicêntrico foi realizada em pacientes com no mínimo seis meses de transplante, incluindo pacientes com mais de dez anos de transplante, no nosso estudo foi apenas no primeiro ano do transplante. No estudo de Lee e cols ⁽¹¹⁾, no qual acompanhou os pacientes por mais de 8 anos, os pacientes formaram anticorpos em um período de meses a até 5 anos após o transplante. Outra possível explicação para este fato poderia ser o regime imunossupressor empregado, eficiente em prevenir o surgimento de tais anticorpos.

Em relação à distribuição de pacientes com anticorpos anti-HLA, segundo sua classe, os achados da literatura diferem ^(10, 61, 63). Na amostra estudada, encontramos um percentual maior de anticorpos de classe I em relação à classe II , semelhante ao estudo de Martin e colaboradores ⁽²¹⁾.

Quando comparada a imunossupressão inicial, houve maior uso da imunossupressão constituída de prednisona, MMF e tacrolimus no grupo com anticorpos do que no grupo sem anticorpos. Este achado era esperado, pois no presente estudo, esta foi a imunossupressão utilizada nos pacientes com risco imunológico, juntamente com o uso de OKT3[®].

A incidência de rejeição aguda foi de 26,1%, semelhante ao achado de 21,0% de Hourmant e cols ⁽⁶²⁾, que analisaram uma coorte de 1229 pacientes que se submeteram a transplante de rim ou de rim e pâncreas. Fernandez-Fresnedo e cols ⁽¹²⁾, encontraram uma incidência de RA revelada por biópsia de 22,5%.

Nesse estudo, todos os pacientes com rejeição aguda IIB e III vieram do grupo com anticorpos anti-HLA. A RA III é fortemente sugestiva de presença de componente mediado por anticorpos no processo da rejeição. A rejeição do tipo IIB

geralmente é manifestação de rejeição mediada por células, mas pode ser vista em rejeições mediadas por anticorpos ⁽³⁶⁾. No estudo de Aragão e cols ⁽⁴⁶⁾, houve maior achado de RA III nos pacientes com anticorpos do que nos pacientes sem anticorpos ($P < 0,001$). A maioria dos pacientes (71,4%) perdeu seus enxertos. Fernandez-Fresnedo e cols ⁽¹²⁾ demonstraram em seu trabalho que em sete dos oito pacientes que perderam seus enxertos secundariamente à RA, existiam anticorpos anti-HLA de classe I contra o doador, enquanto nos pacientes sem anticorpos, apenas um - de nove - perdeu seu enxerto. Todos os pacientes do presente estudo que apresentaram RA IIB e III, tinham anticorpos anti-HLA de classe I. Setenta e cinco por cento tinham anticorpos de classe II. Um dos pacientes perdeu o enxerto cinco meses após o transplante.

A rejeição aguda é considerada importante fator de risco para o desenvolvimento da nefropatia crônica do enxerto ^(9, 37). No presente estudo, 70% dos pacientes com RA desenvolveram NCE, contra 45,3% dos pacientes sem RA.

A percentagem dos pacientes com anticorpos anti-HLA no pós-transplante foi maior nos pacientes com RA (39,1%) do que nos pacientes sem essa condição (16,9%), concordando com os achados da literatura, em que vinte a 40% dos pacientes com RA possuem anticorpos circulantes contra o doador ⁽⁶⁸⁾. Mesmo os anticorpos que não são específicos ao doador aumentam o risco de episódios de RA ⁽⁵⁷⁾.

No presente estudo, encontramos associação entre rejeição aguda e a presença de anticorpos anti-HLA de classe I no 1º mês pós-transplante. Este achado também foi demonstrado na análise das variáveis preditoras de RA através da regressão logística múltipla, onde foi encontrado uma razão de chances de 4,30. Os

anticorpos na RA foram mais comuns para Classe I (60%) do que para classe II (30%) no estudo de Crespo e cols ⁽⁷⁰⁾.

A realização de plasmaferese ocorreu com maior frequência nos pacientes com rejeição aguda do que no grupo sem RA. A plasmaferese é utilizada para tratar casos de RA humoral e como vinte a 40% das rejeições agudas são devidas à presença de anticorpos ^(22, 68), justifica este dado.

Ocorrência de infecção por CMV no pós-transplante foi maior nos pacientes com rejeição aguda do que nos pacientes sem essa manifestação. Os pacientes com RA receberam imunossupressão mais intensa, sendo essa possivelmente a razão para a maior ocorrência de infecção por CMV.

A nefropatia crônica do enxerto tem sido apontada como a principal causa de perda de enxertos a longo prazo ^(39, 40). A prevalência de NCE (68,8%) em biópsias protocolares, neste trabalho, foi superior à encontrada por Veronese e cols ⁽⁸⁴⁾ na biópsia de doze meses pós-transplante (22%), mas semelhante à encontrada no estudo de Cornell e cols ⁽⁴⁰⁾ (60-70%), em biópsias protocolares aos dois anos.

Os pacientes com NCE tiveram mais casos e episódios de RA do que os pacientes sem NCE, confirmando uma revisão da literatura ⁽⁹⁾, que indica episódios de rejeição aguda como fator de risco para a disfunção crônica do enxerto.

A análise multivariada para as variáveis preditoras de NCE mostrou associação independente somente com a variável uso de órgãos de doadores limítrofes, demonstrando ter sido, no nosso estudo, um fator importante para o desenvolvimento de NCE.

Os pacientes que desenvolveram NCE usaram mais imunossupressão farmacológica associada à biológica do que os pacientes sem NCE. Uma possível

explicação é que estes pacientes foram considerados de “risco imunológico” por apresentarem-se previamente sensibilizados.

A NCE é multifatorial e envolve mecanismos imunológicos e não-imunológicos⁽³⁷⁾. O imunológico é associado à rejeição crônica. Em nossa pesquisa, dentre as biópsias protocolares diagnosticadas para NCE, 41% tinham achados sugestivos de rejeição crônica. Esta percentagem pode estar associada à estimativa feita por Terasaki e Osawa⁽⁶⁵⁾ de que das perdas crônicas dos enxertos, em torno de 40% podem ser atribuídas a anticorpos e 60% a causas não imunológicas. Porém, não houve significância estatística, quando avaliado os achados sugestivos de rejeição crônica em relação à presença de anticorpos anti-HLA no pós-transplante e à presença de rejeição aguda.

Em relação aos achados histológicos das biópsias protocolares, a NCE graus I e II foram os achados predominantes na biópsia dos doze meses e a necrose tubular foi o achado predominante na biópsia realizada entre o 2º e 3º mês pós-transplante.

As percentagens de biópsias aos doze meses com os achados: normal (sem rejeição), com suspeita de rejeição e com mudanças associadas a inibidores da calcineurina, foram similares às encontradas no trabalho de Veronese e cols⁽⁸⁴⁾. As percentagens de NCE graus I e II na biópsia dos doze meses e, e a percentagem dos achados sem rejeição, RA IIA e NCE grau I na biópsia dos dois meses, foram bem mais elevados no nosso estudo, comparado ao estudo citado acima, possivelmente em decorrência de diferenças nos critérios de interpretação das biópsias nos diferentes períodos.

Na comparação entre a presença de anticorpos anti-HLA e ausência dos mesmos em relação aos achados das biópsias renais protocolares e não-

protocolares, houve diferença estatisticamente significativa quanto à RA IIA e à NCE grau II. Sabe-se que vinte a 30 % das rejeições agudas possuem um componente humoral ⁽²²⁾. A RA tipo II está geralmente associada aos mecanismos celulares, mas também pode ser encontrada em rejeições com componente humoral ^(36, 69). A NCE pode ser provocada por fatores imunológicos, como a sensibilização prévia do paciente aos antígenos HLA ^(37, 40). No estudo de Aragão e cols ⁽⁴⁶⁾, houve maior achado histológico de NCE nos pacientes com anticorpos do que nos pacientes sem anticorpos anti-HLA no pós-transplante ($P < 0,001$).

A concordância entre os métodos diagnósticos clínico-laboratoriais e histológicos para a detecção da NCE foi de 72,2%. É uma concordância moderada, mas clinicamente satisfatória.

Nos pacientes com NCE, as médias de creatinina, DCE calculada, proteinúria de 24h e do IPC foram – significativamente – maiores em todos os momentos de colheita, quando comparadas às médias dos pacientes sem NCE. Este achado era esperado, pois as mudanças provocadas pela NCE podem resultar em hipertensão, proteinúria e declínio da função renal ^(9, 37), alterando assim os exames laboratoriais que as identificam.

Quando os pacientes foram divididos em categorias, segundo sua percentagem de PRA (0-10%; 11-50%; 51-100%) e comparados à presença ou ausência dos desfechos rejeição aguda e NCE, nenhuma significância estatística foi encontrada, possivelmente devido à diminuição do número amostral.

A taxa anual de perda do enxerto, em nosso estudo, foi de 5,7%, sendo 2,3% devido a óbitos com enxerto funcionante e 3,4% às disfunções do enxerto. A taxa de perda por NCE e óbitos após o primeiro ano pós-transplante, descrita na literatura, varia de 3 a 5% ⁽⁸⁵⁾. Terasaki e cols ⁽¹⁶⁾ observaram 5,5% de perda de enxertos em

um ano em 2278 pacientes que tinham enxertos funcionantes há pelo menos seis meses. Quatro por cento foi devido à disfunção do enxerto e 1,5% relacionado ao óbito do paciente. Campos e cols ⁽¹⁹⁾ observaram 3,5% de óbitos com enxerto funcionando em um período médio de dezessete meses pós-transplante e 8,5% de perdas do enxerto devido ao retorno à hemodiálise.

Este trabalho focalizou apenas o primeiro ano pós-transplante, procurando identificar as alterações precoces na deterioração do enxerto pelos anticorpos. Certamente observaríamos maiores prejuízos se prolongássemos a avaliação clínico-laboratorial até os cinco anos pós-transplante ⁽¹³⁾, pois a ação imunopatológica é lenta e progressiva.

Como suporte para nosso estudo está o fato de termos encontrado diferenças estatisticamente significantes entre a presença de anticorpos anti-HLA em relação à RA IIA e à NCE grau II no primeiro ano pós-transplante. Além disso, houve associação da RA com a presença de anticorpos anti-HLA de classe I no primeiro mês pós-transplante.

8 CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos da amostra estudada, concluímos que:

- ✓ A prevalência de anticorpos anti-HLA no pós-transplante (22,7%) está de acordo com os achados da literatura;
- ✓ A incidência de anticorpos anti-HLA (4,4%) foi inferior à relatada em outros estudos;
- ✓ A incidência de RA e de NCE por critérios clínico-laboratoriais e/ou histológicos foi de 26,1% e 51,2%, respectivamente;
- ✓ A presença de RA associou-se com anticorpos anti-HLA de Classe I no 1º mês pós-transplante;
- ✓ RA IIA e NCE grau II correlacionaram-se significativamente com a presença de anticorpos anti-HLA;
- ✓ Todos os pacientes que apresentaram RA IIB e III vieram do grupo com anticorpos;
- ✓ A variável preditora para a NCE foi o uso de órgãos de doador-limítrofe;
- ✓ Quarenta e um por cento das biópsias protocolares com NCE tiveram achados sugestivos de RC, porém sem correlação significativa com a presença de anticorpos anti-HLA, RA e NCE;
- ✓ A concordância entre os métodos diagnósticos clínicos e histológicos para a NCE foi considerada clinicamente satisfatória: 72,2%;

- ✓ A ocorrência de infecção por CMV no pós-transplante foi maior nos pacientes com RA quando comparada aos pacientes sem esta condição;
- ✓ As perdas do enxerto dentro do primeiro ano do transplante (5,7%) foram similares às citadas na literatura.

REFERÊNCIAS

1. Sociedade Brasileira de Urologia (SBU). Campanha Nacional de Prevenção de Doença Renal 2004-2005. Disponível em: <http://www.sbu.org.br/noticias01.php?noticia=85>. Acesso em 29 ago 2006.
2. Ferraz P. No tempo ideal. Nefrologia. Saúde Paulista. Jan-mar/2004. Ano 4 (12). Disponível em: <http://www.unifesp.br/comunicacao/sp/ed12/nefrologia.htm>. Acesso em 29 ago 2006.
3. Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN). Censo SBN - Jan/2006. Disponível em: <http://www.sbn.org.br/censo/2006/2>. Acesso em 01 set 2006.
4. Racusen LC, Solez K, Colvin R. Fibrosis and atrophy in the renal allograft: interim report and new directions. *Am J Transplant*. 2002;2(3):203-6.
5. Aliança Brasileira pela doação de órgãos e tecidos. Breve História dos Transplantes. Disponível em: <http://www.adote.org.br/slide/slide.htm>. Acesso em 03 set 2006.
6. Tilney NL. Transplantation and its biology: from fantasy to routine. *J Appl Physiol*. 2000;89(5):1681-9.
7. Morris PJ. Transplantation--a medical miracle of the 20th century. *N Engl J Med*. 2004;351(26):2678-80.
8. United Network for Organ Sharing (UNOS). Timeline of key events in U.S. Transplantation and UNOS history. Disponível em: <http://www.unos.org/whoWeAre/history.asp>. Acesso em 04 set 2006.
9. Kouwenhoven EA, JN IJ, de Bruin RW. Etiology and pathophysiology of chronic transplant dysfunction. *Transpl Int*. 2000;13(6):385-401.
10. Piazza A, Poggi E, Borrelli L, Servetti S, Monaco PI, Buonomo O, et al. Impact of donor-specific antibodies on chronic rejection occurrence and graft loss in renal transplantation: posttransplant analysis using flow cytometric techniques. *Transplantation*. 2001;71(8):1106-12.
11. Lee PC, Terasaki PI, Takemoto SK, Lee PH, Hung CJ, Chen YL, et al. All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. *Transplantation*. 2002;74(8):1192-4.
12. Fernandez-Fresnedo G, Pastor JM, Lopez-Hoyos M, Ruiz JC, Zubimendi JA, Gonzalez-Cotorruelo J, et al. Relationship of donor-specific class-I anti-HLA antibodies detected by ELISA after kidney transplantation on the development of acute rejection and graft survival. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(5):990-5.

13. Worthington JE, Martin S, Al-Husseini DM, Dyer PA, Johnson RW. Posttransplantation production of donor HLA-specific antibodies as a predictor of renal transplant outcome. *Transplantation*. 2003;75(7):1034-40.
14. Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant*. 2003;3(6):665-73.
15. Lee KW, Kim SJ, Lee DS, Lee HH, Joh JW, Lee SK, et al. Effect of panel-reactive antibody positivity on graft rejection before or after kidney transplantation. *Transplant Proc*. 2004;36(7):2009-10.
16. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant*. 2004;4(3):438-43.
17. Rifle G, Mousson C, Martin L, Guignier F, Hajji K. Donor-specific antibodies in allograft rejection: clinical and experimental data. *Transplantation*. 2005;79(3 Suppl):S14-8.
18. Cai J, Terasaki PI. Human leukocyte antigen antibodies for monitoring transplant patients. *Surg Today*. 2005;35(8):605-12.
19. 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(10):2316-20.
20. Costa AN, Scolari MP, Iannelli S, Buscaroli A, D'Arcangelo GL, Brando B, et al. The presence of posttransplant HLA-specific IgG antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay correlates with specific rejection pathologies. *Transplantation*. 1997;63(1):167-9.
21. Martin S, Dyer PA, Mallick NP, Gokal R, Harris R, Johnson RW. Posttransplant antidonor lymphocytotoxic antibody production in relation to graft outcome. *Transplantation*. 1987;44(1):50-3.
22. Zhang Q, Liang LW, Gjertson DW, Lassman C, Wilkinson AH, Kendrick E, et al. Development of posttransplant antidonor HLA antibodies is associated with acute humoral rejection and early graft dysfunction. *Transplantation*. 2005;79(5):591-8.
23. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Imunologia Celular e Molecular*. 5ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. 544p.
24. Halloran PF. The clinical importance of alloantibody-mediated rejection. *Am J Transplant*. 2003;3(6):639-40.
25. Acton RT. The Major Histocompatibility Complex. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder HW, editors. *Clinical Immunology Principles and Practice* v1. 2 ed. London: Mosby; 2001. p. 6.1-6.13.
26. Rodgers JR, Rich RR. Antigens and antigen presentation. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder HW, editors. *Clinical Immunology Principles and Practice* v1. 2 ed. London: Mosby; 2001. p. 7.1-7.17.
27. Língua grega. Enciclopédia Wikipédia. Dicionário grego-inglês. Disponível em: <http://www.kypros.org/cgi-bin/lexicon/>. Acesso em 22 nov 2006.
28. Kahan BD. Concepts and challenges in solid organ transplantation. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder HW, editors. *Clinical Immunology Principles and Practice* v2. 2 ed. London: Mosby; 2001. p. 89.1-15.

29. Michaels PJ, Fishbein MC, Colvin RB. Humoral rejection of human organ transplants. *Springer Semin Immunopathol.* 2003;25(2):119-40.
30. Mansour I, Messaed C, Azoury M, Klayme S, Naaman R. Panel-reactive antibodies using complement-dependent cytotoxicity, flow cytometry, and ELISA in patients awaiting renal transplantation or transplanted patients: a comparative study. *Transplant Proc.* 2001;33(5):2844-7.
31. Susal C, Pelzl S, Simon T, Opelz G. Advances in pre- and posttransplant immunologic testing in kidney transplantation. *Transplant Proc.* 2004;36(1):29-34.
32. Furian L, Baldan N, Margani G, Eksler B, Silvestre C, Marchini F, et al. Calcineurin inhibitor-free immunosuppression in dual kidney transplantation from elderly donors. *Clin Transplant.* 2007;21(1):57-62.
33. McKenna RM, Takemoto SK, Terasaki PI. Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation. *Transplantation.* 2000;69(3):319-26.
34. Moreso F, Ibernón M, Goma M, Carrera M, Fulladosa X, Hueso M, et al. Subclinical rejection associated with chronic allograft nephropathy in protocol biopsies as a risk factor for late graft loss. *Am J Transplant.* 2006;6(4):747-52.
35. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation.* 2004;78(2):242-9.
36. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* 1999;55(2):713-23.
37. Krieger NR, Becker BN, Heisey DM, Voss BJ, D'Alessandro AM, Becker YT, et al. Chronic allograft nephropathy uniformly affects recipients of cadaveric, nonidentical living-related, and living-unrelated grafts. *Transplantation.* 2003;75(10):1677-82.
38. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med.* 2003;349(24):2326-33.
39. Nankivell BJ, Chapman JR. Chronic allograft nephropathy: current concepts and future directions. *Transplantation.* 2006;81(5):643-54.
40. Cornell LD, Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2005;14(3):229-34.
41. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int.* 1993;44(2):411-22.
42. Poggio ED, Clemente M, Riley J, Roddy M, Greenspan NS, DeJelo C, et al. Alloreactivity in renal transplant recipients with and without chronic allograft nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(7):1952-60.
43. Santoro D, Bellinghieri G, Mallamace A, Savica V. [Evolution of the classification of acute and chronic transplant rejection]. *G Ital Nefrol.* 2005;22 Suppl 33:S65-70.
44. Racusen LC. The Banff schema and differential diagnosis of allograft dysfunction. *Transplant Proc.* 2004;36(3):753-4.

45. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloran PF, Campbell PM, et al. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant*. 2003;3(6):708-14.
46. Aragao E, Moura LA, Pacheco-Silva A. Monitoring anti-HLA Class I IgG antibodies in renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2004;36(4):836-7.
47. Cai J, Terasaki PI. Humoral theory of transplantation: mechanism, prevention, and treatment. *Hum Immunol*. 2005;66(4):334-42.
48. University of Heidelberg (Germany). Collaborative Transplant Study (CTS). Standard CTS Data Analysis (K21101-0806). Disponível em: <http://www.cts.transplant.org/public/data/allResults.htm>. Acesso em 12 set 2006.
49. Sheldon S, Poulton K. HLA typing and its influence on organ transplantation. *Methods Mol Biol*. 2006;333:157-74.
50. University of Heidelberg (Germany). Collaborative Transplant Study (CTS). Standard CTS Data Analysis (K15101-0806). Disponível em: <http://www.cts.transplant.org/public/data/allResults.htm>. Acesso em 12 set 2006.
51. University of Heidelberg (Germany). Collaborative Transplant Study (CTS). Standard CTS Data Analysis (K21103-0806). Disponível em: <http://www.cts.transplant.org/public/data/allResults.htm>. Acesso em 12 set 2006.
52. Dubois V, Perrat G, Assaqa A, Carrie J, Primard Y, Gebuhrer L. Benefits of new methods for detection of anti-HLA class I antibodies. *Transplant Proc*. 2002;34(3):847-9.
53. Maccarone D, Cervelli C, Parzanese I, Pisani F, Caniglia L, Rascente M, et al. Anti-HLA antibodies in kidney transplanted patients. *Transplant Proc*. 2005;37(6):2459-60.
54. Bray RA, Lebeck LK, Gebel HM. The flow cytometric crossmatch. Dual-color analysis of T cell and B cell reactivities. *Transplantation*. 1989;48(5):834-40.
55. Bray RA. Flow cytometry crossmatching for solid organ transplantation. *Methods Cell Biol*. 1994;41:103-19.
56. Schonemann C, Groth J, Leverenz S, May G. HLA class I and class II antibodies: monitoring before and after kidney transplantation and their clinical relevance. *Transplantation*. 1998;65(11):1519-23.
57. Vareesangthip K, Assavisaraporn W, Bintaprasit W, Vejbaesya S. Effect of posttransplant anti-HLA antibody on outcome of renal transplantation. *Transplant Proc*. 2004;36(7):2048-50.
58. Monteiro F, Buelow R, Mineiro C, Rodrigues H, Kalil J. Identification of patients at high risk of graft loss by pre- and posttransplant monitoring of anti-HLA class I IgG antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. *Transplantation*. 1997;63(4):542-6.
59. Susal C, Opelz G. Kidney graft failure and presensitization against HLA class I and class II antigens. *Transplantation*. 2002;73(8):1269-73.

60. Terasaki PI, Cai J. Humoral theory of transplantation: further evidence. *Curr Opin Immunol.* 2005;17(5):541-5.
61. Morales-Buenrostro LE, Buzo-Romero JM, de Leo C, Lopez M, Ortiz-Arroyo VM, Perez-Garrido J, et al. 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(3):899-902.
62. Hourmant M, Cesbron-Gautier A, Terasaki PI, Mizutani K, Moreau A, Meurette A, et al. Frequency and clinical implications of development of donor-specific and non-donor-specific HLA antibodies after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(9):2804-12.
63. Worthington JE, Martin S, Dyer PA, Johnson RW. An association between posttransplant antibody production and renal transplant rejection. *Transplant Proc.* 2001;33(1-2):475-6.
64. Harmer AW, Koffman CG, Heads AJ, Vaughan RW. Sensitization to HLA antigens occurs in 95% of primary renal transplant rejections. *Transplant Proc.* 1995;27(1):666-7.
65. Terasaki PI, Ozawa M. Predictive value of HLA antibodies and serum creatinine in chronic rejection: results of a 2-year prospective trial. *Transplantation.* 2005;80(9):1194-7.
66. Abe M, Kawai T, Futatsuyama K, Tanabe K, Fuchinoue S, Teraoka S, et al. Postoperative production of anti-donor antibody and chronic rejection in renal transplantation. *Transplantation.* 1997;63(11):1616-9.
67. Martin L, Guignier F, Mousson C, Rageot D, Justrabo E, Rifle G. Detection of donor-specific anti-HLA antibodies with flow cytometry in eluates and sera from renal transplant recipients with chronic allograft nephropathy. *Transplantation.* 2003;76(2):395-400.
68. Mauiyyedi S, Colvin RB. Humoral rejection in kidney transplantation: new concepts in diagnosis and treatment. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2002;11(6):609-18.
69. Moll S, Pascual M. Humoral rejection of organ allografts. *Am J Transplant.* 2005;5(11):2611-8.
70. Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Mauiyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, et al. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation.* 2001;71(5):652-8.
71. Vasilescu ER, Ho EK, Colovai AI, Vlad G, Foca-Rodi A, Markowitz GS, et al. Alloantibodies and the outcome of cadaver kidney allografts. *Hum Immunol.* 2006;67(8):597-604.
72. Glotz D, Antoine C, Julia P, Suberbielle-Boissel C, Boudjeltia S, Fraoui R, et al. Desensitization and subsequent kidney transplantation of patients using intravenous immunoglobulins (IVIg). *Am J Transplant.* 2002;2(8):758-60.
73. Salomão A. Atualização em transplante renal. *J Bras Nefrol.* 2000;22(4):244-8.
74. Theruvath TP, Saidman SL, Mauiyyedi S, Delmonico FL, Williams WW, Tolkoff-Rubin N, et al. Control of antidonor antibody production with tacrolimus and mycophenolate mofetil in renal allograft recipients with chronic rejection. *Transplantation.* 2001;72(1):77-83.

75. Jin YP, Jindra PT, Gong KW, Lepin EJ, Reed EF. Anti-HLA class I antibodies activate endothelial cells and promote chronic rejection. *Transplantation*. 2005;79(3 Suppl):S19-21.
76. O'Malley KJ, Cook DJ, Flechner SM, McCarthy JF, Thorne NA, Boparai N, et al. The development of chronic renal allograft rejection may be predicted early following transplantation. *Transplant Proc*. 1999;31(1-2):1352-3.
77. Kerman RH, Susskind B, Kerman DH, Lam M, Gerolami K, Williams J, et al. Anti-HLA antibodies detected in posttransplant renal allograft recipient sera correlate with chronic rejection. *Transplant Proc*. 1997;29(1-2):1515-6.
78. Nakagawa Y, Saito K, Morioka T, Tomita Y, Takahashi K, Oite T. The clinical significance of antibody to vascular endothelial cells after renal transplantation. *Clin Transplant*. 2002;16 Suppl 8:51-7.
79. Mizutani K, Terasaki P, Bignon JD, Hourmant M, Cesbron-Gautier A, Shih RN, et al. Association of kidney transplant failure and antibodies against MICA. *Hum Immunol*. 2006;67(9):683-91.
80. Hack N, Angra S, Friedman E, McKnight T, Cardella CJ. Anti-idiotypic antibodies from highly sensitized patients stimulate B cells to produce anti-HLA antibodies. *Transplantation*. 2002;73(12):1853-8.
81. Carter JT, Chan S, Roberts JP, Feng S. Expanded criteria donor kidney allocation: marked decrease in cold ischemia and delayed graft function at a single center. *Am J Transplant*. 2005;5(11):2745-53.
82. Danovitch GM, Cecka JM. Allocation of deceased donor kidneys: past, present, and future. *Am J Kidney Dis*. 2003;42(5):882-90.
83. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31-41.
84. Veronese FV, Goncalves LF, Edelweiss MI, Manfro RC. Interpretation of surveillance kidney allograft biopsies according to the Banff criteria. *Transplant Proc*. 1999;31(7):3019-20.
85. Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolkoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med*. 2002;346(8):580-90.

ANEXOS

ANEXO 1 - Modelo para a revisão das biópsias protocolares

MODELO PADRÃO PARA BIÓPSIAS DO ENXERTO RENAL

(2 H&E, 1 PAS 1 MST, 1 Trichrome)

1. Glomeruloesclerose
 - 1.1 Número de glomérulos (#)
 - 1.2 Número de glomérulos totalmente esclerosados . . (#)
 - 1.3 Esclerose segmentar ()SIM ()NÃO
2. Glomerulite(g) ()0 ()1 ()2 ()3
3. Inflamação intersticial(i) . . . ()0 ()1 ()2 ()3
(Verificar se presente) ()Neutrófilos ()Eosinófilos
4. Arterite intimal(v) ()0 ()1 ()2 ()3
()Não avaliada
5. Tubulite(t) ()0 ()1 ()2 ()3
6. Hialinose arteriolar(ah) ()0 ()1 ()2 ()3
()Não avaliada
Forma nodular ()SIM ()NÃO
7. Mudança glomerular crônica(cg) . . . ()0 ()1 ()2 ()3
- 7b. Aumento da matriz mesangial(mm) . . ()0 ()1 ()2 ()3
8. Fibrose intersticial(ci) ()0 ()1 ()2 ()3
9. Atrofia tubular(ct) ()0 ()1 ()2 ()3
10. Esclerose da íntima vascular(cv) . . ()0 ()1 ()2 ()3
()Não avaliada
- 10b. Número de artérias com lâmina elástica interna: (#)
11. Outros achados:
12. Categorias de diagnóstico (*Marque tantas categorias quanto achar necessário*)
 - ()KDARO: Normal
 - ()KDAB: Rejeição mediada por anticorpos
 - ()KDARB: Mudanças “borderline” (i0-2, t0-2, v0)
 - () Rejeição aguda (especifique os graus g, i, t, v):
 - ()KDAR1A: Banff Tipo 1A (i1-3, t2, v0)
 - ()KDAR1B: Banff Tipo 1B (i2-3, t3, v0)
 - ()KDAR2A: Banff Tipo IIA (i1-3, t0-3, v1)
 - ()KDAR2B: Tipo 2B (i1-3, t0-3, v2)
 - ()KDAR3: Tipo III (i1-3, t0-3, v3)
 - () Nefropatia crônica do enxerto (especifique os graus cg, ci, ct, cv):
 - ()KDCR1a: Leve, sem mudanças específicas sugestivas de rejeição crônica
 - ()KDCR1b: Leve, com mudanças específicas sugestivas de rejeição crônica
 - ()KDCR2a: Moderada, sem mudanças específicas sugestivas de rejeição crônica
 - ()KDCR2b: Moderada, com mudanças específicas sugestivas de rejeição crônica

- KDCR3a: Severa, sem mudanças específicas sugestivas de rejeição crônica
- KDCR3b: Severa, com mudanças específicas sugestivas de rejeição crônica
- KDDR: Vacuolização tubular e/ou miócitos com ou sem mudanças associadas à drogas.
- KDAT: Necrose tubular aguda. KDDO: Doença do doador.
- Outras:
- Doença recorrente (especificar)
- Danos Subcapsular Pielonefrite Poliomavirus
- CMV PTLD (Doença linfoproliferativa do transplante)
- Obstrução Refluxo
- Trombose vascular (especificar)
- Outras alterações

13. Alteração de membrana basal glomerular vista às colorações PAS ou MST Sim Não

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Informado

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Título da pesquisa: “**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PRIMEIRO ANO DO TRANSPLANTE RENAL**”.

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Luiz Fernando Jobim (F: (51) 21018020)

Co-orientador: Dr. Roberto Manfro

Pesquisador Executor: Realdete Toresan

Número do Protocolo: 02201

O Sr (a) está sendo convidado a participar da pesquisa “**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PRIMEIRO ANO DO TRANSPLANTE RENAL**”, conduzida pela Bioquímica Realdete Toresan (F: (51) 99517654), pelo pesquisador responsável Prof. Dr. Luiz Fernando Jobim (F: (51) 21018020) e pelo Dr. Roberto Manfro (F: (51) 21018295). Esta pesquisa tem por objetivo identificar anticorpos anti-HLA no pós-transplante de pacientes renais e correlacionar este achado com rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto.

Se o Sr (a) aceitar participar do estudo serão realizadas quatro coletas de sangue de aproximadamente 5 ml (aos 30 dias, 3 meses, 6 meses e 12 meses após o transplante). Caso o Sr (a) concordar, serão realizadas biópsias no 3º e 12º mês pós-transplante.

Os dados coletados serão utilizados apenas para esta pesquisa e o seu nome não será revelado na apresentação dos dados. A sua participação é voluntária. A qualquer momento o Sr(a) poderá retirar sua autorização para participar deste estudo sem qualquer comprometimento do seu atendimento. A participação neste estudo não lhe trará nenhum custo.

Procedimento para a realização da biópsia:

Caso autorizar, o Sr(a) será submetido à uma biópsia do rim transplantado, no 3º e no 12º meses do transplante. Normalmente esta biópsia só é realizada quando o rim transplantado não está funcionando bem, mas para fins desta pesquisa este

procedimento será realizado duas vezes, se não houver rejeição aparente e se o rim estiver funcionando normalmente nas últimas duas semanas antes da biópsia.

A biópsia é feita da seguinte maneira: 1) limpeza da pele com álcool e colocação de panos esterilizados, para diminuir o risco de infecção; 2) injeção de remédio para tirar a dor no local onde será feita a biópsia; 3) corte pequeno (2 a 3 mm) na pele com bisturi; 4) colocação da agulha no rim para retirar um pedacinho do mesmo, com cerca de 10 mm de comprimento por 1,5 mm de largura. A biópsia será então enviada ao laboratório.

Após a biópsia você ficará em repouso absoluto (deitado de costas) por 6 a 12 horas, com um peso de 1 kg na altura do rim nas primeiras 2 horas, para evitar que sangre. Durante 6 a 12 horas, será feita verificação freqüente da pressão arterial e do pulso; também controle da cor e quantidade da urina.

1. Objetivo da realização da biópsia:

Pesquisar se existe rejeição no rim transplantado que está funcionando bem, e pelo estudo de médicos especialistas em biópsias tentar estabelecer qual o tipo e gravidade da rejeição.

2. Benefícios:

A sua participação será muito importante para o conhecimento médico sobre a rejeição do rim transplantado. As biópsias renais de protocolo podem revelar condições para as quais seja necessário tratamento específico, o que não seria possível sem a realização das mesmas.

3. Riscos e desconfortos:

Os problemas que podem surgir pela biópsia do rim são sangramento, choque (pressão arterial baixa) e infecção. Mas esses problemas ocorrem com muito pouca freqüência, em menos de sete em mil pacientes que são biopsiados.

4. Procedimentos Alternativos:

Existe outra técnica para pesquisar a rejeição no rim transplantado, a aspiração do rim com uma agulha muito fina. Os riscos desta aspiração do rim são menores do que os da biópsia, mas a aspiração só mostra alguns tipos de problemas, nem sempre permitindo que se possa diferenciar qual a complicação que está afetando o rim transplantado, principalmente quando já se passaram alguns meses do transplante. Assim a biópsia permite um diagnóstico mais preciso e definitivo.

Pelo presente termo de Consentimento Informado, declaro que fui informado, de forma clara e detalhada, dos objetivos, da justificativa, dos procedimentos a que serei submetido, dos riscos, desconfortos, e benefícios da presente pesquisa, assim como dos procedimentos alternativos aos quais poderia ser submetido, todos acima listados.

Fui igualmente informado:

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;

- do compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a minha vontade em continuar participando;
- da disponibilidade de tratamento médico e de indenização, conforme estabelece a legislação, caso existam danos à minha saúde, diretamente causados por esta pesquisa;
- de que se existirem gastos adicionais, estes serão por conta do orçamento da pesquisa.

O pesquisador executor deste Projeto de Pesquisa é a Bioq. Realdete Toresan, cujo telefone é (51) 99517654, tendo este documento sido revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição de atenção à saúde em 30/09/02.

Data: ____/____/____

Nome e Assinatura do Paciente ou Voluntário

Nome e Assinatura do Responsável Legal, quando for o caso.

Assinatura do Pesquisador

Autorização para a realização das biópsias (aos 3 e 12 meses pós-transplante):

- autorizo a realização
- não autorizo a realização

Assinatura do Paciente ou Responsável Legal

APÊNDICE B - Protocolo de Coleta Dados

I- Protocolo de coleta dados

Projeto: “AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-HLA NO PRIMEIRO ANO DO TRANSPLANTE RENAL ”

1.Nome : _____

Prontuário: _____ Nº Mestrado: _____

2.Idade: _____ Data Nascimento: ____/____/____

3.Sexo: _____

4.Raça: _____

5.Transfusões pré-transplante (#): _____ Última (data): ____/____/____

6.Gestações pré-transplante (#): _____ Última (data): ____/____/____

7.Painéis do período pré-transplante (incluir os painéis dos últimos 2 anos e se houver um de pico).

Met= S/DTT,C/DTT(CDC); CI,CII(ELISA)

| Met. | Painel | Data | Painel | Data |
|------|--------|-------------------|--------|------------------|
| Met. | Met. | | | |
| 7.1 | _____ | - ____/____/____; | _____ | - ____/____/____ |
| 7.2 | _____ | - ____/____/____; | _____ | - ____/____/____ |
| 7.3 | _____ | - ____/____/____; | _____ | - ____/____/____ |
| 7.4 | _____ | - ____/____/____; | _____ | - ____/____/____ |
| 7.5 | _____ | - ____/____/____; | _____ | - ____/____/____ |
| 7.6 | _____ | - ____/____/____; | _____ | - ____/____/____ |

Painel de pico: _____ - ____/____/____

8.HLA: _____

9.Doença Renal Primária: _____

10.Co-morbidades significativas (assinale se presente)

DM HAS CI Dislipidemia Tabagismo
 Hep C Hep B D. vascular _____ _____
 _____ _____ _____

APÊNDICE D - Legenda da Tabela de Coleta de Dados e Resultados de Exames

Data: data da coleta da amostra de soro

Creatinina: creatinina sérica.

IPC: índice proteína/creatinina.

Proteinúria 24h: proteinúria de 24h.

Cya ser : ciclosporina sérica.

Tacro ser : tacrolimus sérico.

HAS: hipertensão arterial sistêmica, sim ou não.

Glicose: glicose sérica.

Colesterol : colesterol total

HDL : colesterol fração HDL

Trig : triglicerídios

DM S/N : diabetes mellitus, sim ou não.

Esta S/N : estatina sim ou não.

Bloq Ca S/N : bloqueador de cálcio, sim ou não.

IECA S/N : IECA sim ou não.

Taba S/N : tabagismo sim ou não.

CMV pré R/D : sorologia para CMV no pré-tx para o receptor e o doador (se reagente ou não).

CMV perio : infecção por CMV no período sim ou não

IS catalog : imunossupressão catalogada

P: prednisona

A: azatioprina

MP: metilprednisolona

MMF: micofenolato mofedil

T: tacrolimus

C: ciclosporina

S: sirolimus

1. P + A
2. P + C
3. P + MMF
4. P + A + C
5. P + MMF + C
6. P + MMF + T
7. P + MMF + S
8. P + MMF + MP
9. P + A + T

10. P + S + C

11. Indução com anti IL2- R

12. Indução com OKT3

Anti IL2-R: anticorpos contra receptor da IL-2

OKT3: anticorpo anti- CD3

Data ult transf: data da última transfusão

Screen CI/CII : PRA LAT-M (negativo ou positivo para anticorpos HLA classe I e II)

PRA (%) : painel em percentagem por ELISA

APÊNDICE E - Protocolo de Desfechos

PROCOLO DE DESFECHOS

Nome Paciente: _____

Nº : _____

Data do TX: _____

CRITÉRIOS PARA REJEIÇÃO AGUDA

Aumento confirmado da creatinina ($\geq 0,3\text{mg/dL}$): () SIM, valores: _____ () NÃO

Ausência de obstrução vascular: () SIM () NÃO

Ausência de obstrução urinária: () SIM () NÃO

Ausência de nefrotoxicidade: () SIM () NÃO

Ausência de infecção: () SIM () NÃO

Se não, qual? _____

Biópsia com RA (Banff 97): () SIM data: _____ protocolar () () não prot.

() SIM data: _____ protocolar () () não prot.

() SIM data: _____ protocolar () () não prot.

() SIM data: _____ protocolar () () não prot.

() NÃO

() não possui biópsia

Tratamento da RA: () pulsoterapia com corticosteroides

() OKT3

() gamaglobulina IV

() plasmaferese

mudança no esquema imunossupressor

Resposta ao tratamento para RA: SIM, com _____ NÃO

Rejeição Aguda SIM NÃO

CRITÉRIOS PARA NEFROPATIA CRÔNICA DO ENXERTO (NCE):

- 1) Cr \geq 2,0 mg/dL e/ou DCE \leq 50
- 2) Proteinúria \geq 500 mg/24h e/ou IPC $>$ 0,5
- 3) HAS \geq 140/90 ou uso de drogas antihipertensivas e/ou
- 4) Biópsias renais de protocolo ou por indicação clínica

NCE por biópsia:

| | | |
|--|-------------|-----------|
| <input type="checkbox"/> SIM, protocolar | data: _____ | NCE _____ |
| <input type="checkbox"/> SIM, protocolar | data: _____ | NCE _____ |
| <input type="checkbox"/> SIM, não protocolar | data: _____ | NCE _____ |
| <input type="checkbox"/> SIM, não protocolar | data: _____ | NCE _____ |

Critérios clínico-laboratoriais associados: 1+2+3
 1+2
 1+3
 2+3
 somente 1
 somente 2

NÃO,

NCE somente através dos critérios clínico-laboratoriais: 1+2+3
 1+2
 1+3
 2+3
 somente 1
 somente 2

NCE SIM, com biópsia
 SIM, sem biópsia
 NÃO