

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Cynthia Keitel da Silva

**Impacto dos Anticorpos Anti-HLA
Pré-formados no Desfecho do
Transplante Renal**

UFCSPA

Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

**Porto Alegre
2016**

Cynthia Keitel da Silva

Impacto dos Anticorpos Anti-HLA Pré-formados no Desfecho do Transplante Renal

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre

Orientador: Dra. Elizete Keitel

**Porto Alegre
2016**

Catálogo na Publicação

Keitel da Silva, Cynthia

Impacto dos anticorpos anti-HLA pré-formados no desfecho do transplante renal / Cynthia Keitel da Silva.

-- 2016.

63 p. : graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2016.

Orientador(a): Elizete Keitel.

1. transplante renal. 2. imunologia. I. Título.

Agradecimentos

À minha paciente orientadora, tia e amiga Elizete Keitel, meu exemplo de médica e de ser humano.

À minha amiga e companheira de jornada dentro da nefrologia, Gisele Meinerz, que foi essencial para execução desta dissertação. Muito obrigada pela ajuda, apoio e incentivo.

À minha família, que esteve ao meu lado durante esta caminhada me oferecendo todo o amor e amparo que precisei. Ao meu amor, Diogo, que me deu forças, carinho e incentivo nos momentos de fraqueza.

Aos acadêmicos Mikaela e André que me auxiliaram na coleta de dados, aos colegas da nefrologia e do laboratório de imunologia.

À minha querida Universidade, responsável por toda a minha formação médica.

Dedico este trabalho aos pacientes, que são a razão de tudo.

Lista de abreviaturas utilizadas

AECA: anticorpo antiendotélio

ATG: anticorpos antilinfócitos

CDC: citotoxicidade dependente de complemento

CYP3A4: citocromo P450 3A4

CYP3A5: citocromo P450 3A5

DNA: ácido desoxirribonucleico

DRC: doença renal crônica

DSA: anticorpo específico contra o doador

DTT: dithiothreitol

FKBP12: proteína ligadora do FK506

HLA: antígeno leucocitário humano

IgG: imunoglobulina G

IgM: imunoglobulina M

IL-1: interleucina 1

IL-2: interleucina 2

IL-5: interleucina 5

IVIg: imunoglobulina humana intravenosa

MFI: imunofluorescência média

mTOR: alvo da rapamicina de mamíferos

OKT3: anticorpos monoclonais

PCR: reação em cadeia da polimerase

PRA: painel de reatividade de anticorpos

RAMA: rejeição aguda mediada por anticorpos

RNA: ácido ribonucleico

TFG: taxa de filtração glomerular

Th1: linfócitos T helper tipo 1

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

TRS: terapia renal substitutiva

UNOS: United Network for Organ Sharing

Resumo da dissertação

Introdução:

O transplante renal é o tratamento de escolha para a maioria dos pacientes com doença renal crônica terminal. Um dos fatores determinantes para a sobrevida do enxerto é a presença de anticorpos anti-HLA pré-formados contra o doador (*DSA*). A análise por citometria de fluxo e Luminex são métodos muito sensíveis e que melhoraram consideravelmente a detecção de *DSA*, porém ainda não está clara a relevância da detecção destes anticorpos em níveis baixos e os estudos demonstraram resultados controversos.

Objetivo:

Comparar a sobrevida do enxerto renal em receptores que apresentam *DSA* pré-formados com pacientes sem estes anticorpos.

Materias e métodos:

Coorte retrospectiva que incluiu pacientes adultos que receberam transplante renal no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2012.

Resultados:

Foram analisados 634 receptores de transplante de rim, sendo 4 conjugados rim e pâncreas. Foram 465 (73,3%) transplantes com doadores falecidos, sendo que 28,1% destes eram considerados doadores com critérios expandidos (UNOS). 68,7% dos receptores tinham painel de reatividade de anticorpos diferente de zero e 14,3%

apresentavam pelo menos 1 *DSA*. Os pacientes com *DSA* apresentaram menor sobrevida do enxerto em 5 anos (73,2 x 89,4%; $p<0.01$). A presença de *DSA* teve maior impacto na sobrevida do enxerto de receptores de doadores com critérios expandidos (60,9% com *DSA* x 84,3% sem *DSA*; $p=0.028$), mas também impactou na sobrevida de enxertos provenientes de doadores falecidos ideais (80,7% com *DSA* x 90,3% sem *DSA*; $p=0.046$). Não houve diferença na sobrevida do receptor.

Conclusões:

Estes dados sugerem um impacto negativo do *DSA* pré-formado na sobrevida do enxerto renal e nos alerta para o risco de submeter estes pacientes ao transplante renal, especialmente com doadores com critérios expandidos.

Palavras-chave: transplante renal, imunologia, anticorpo antidoador

1. Introdução

1.1. Doença Renal Crônica (DRC)

A doença renal crônica é definida como a anormalidade da estrutura ou função dos rins, presente por no mínimo 3 meses. Pode ser consequência de inúmeras doenças sistêmicas que podem afetar os rins ou de doenças intrínsecas dos rins, que resultam na perda progressiva do número e função dos néfrons (KDIGO, 2012).

Os pacientes que sofrem de doenças crônicas como diabetes, hipertensão arterial sistêmica, e doença cardiovascular, além dos tabagistas, obesos e dislipidêmicos encontram-se no grupo de maior risco para o desenvolvimento de DRC (Mitch, 2012).

Uma taxa de filtração glomerular (TFG) abaixo de $60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ e albuminúria elevada são fatores de risco para insuficiência renal aguda, insuficiência renal crônica progressiva e doença renal terminal. Também são preditores independentes de risco de mortalidade por todas as causas e de mortalidade cardiovascular (Gansevoort e cols., 2011). A redução da taxa de filtração glomerular também está associada a um aumento do risco de complicações como toxicidade a drogas, alterações metabólicas e

endocrinológicas, susceptibilidade aumentada a infecções, alterações gastrointestinais e dermatológicas (Meyer e Hostetter, 2012).

A piora progressiva da função renal leva ao estágio final caracterizado pela uremia, a qual resulta do acúmulo de resíduos do metabolismo proteico e das alterações metabólicas e endócrinas renais que causam anemia, desnutrição, comprometimento do metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas e doenças ósseas metabólicas, além de distúrbios hidroeletrólíticos e do equilíbrio ácido-básico (Mitch, 2012).

Nos estágios finais da DRC o paciente deve receber orientação sobre o manejo da doença renal e opções de terapia renal substitutiva (TRS), incluindo transplante, hemodiálise, diálise peritoneal ou manejo conservador quando for do desejo do paciente. O KDOQI 2015 recomenda que estas orientações sejam iniciadas quando o paciente atingir uma TFG inferior $30\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$. Além disso, deve-se facilitar a confecção uma via de acesso para hemodiálise ou diálise peritoneal, como fístula arteriovenosa ou cateter peritoneal (KDOQI, 2015).

A TRS deve ser iniciada quando houver o desenvolvimento de sinais ou sintomas de uremia, desnutrição energético-proteica, sobrecarga de volume ou distúrbio eletrólítico e ácido-básico refratários ao tratamento conservador (KDOQI, 2015). Esses sintomas geralmente desenvolvem-se quando a TFG se encontra entre 5 e $10\text{ mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$.

1.2. Transplante Renal

Quando comparados aos pacientes em diálise, os receptores de transplante renal apresentam uma maior sobrevida e melhor qualidade de vida, independentemente da idade, gênero, raça ou causa da doença renal, incluindo diabéticos. Por esta razão, o transplante é o tratamento de escolha para a maioria dos pacientes com DRC em estágio final (Wolfe e cols., 1999; Tolkoff-Rubin, 2012; Wong e cols., 2012).

Um transplante renal bem-sucedido oferece aos pacientes, além de uma melhor qualidade de vida, menos restrições dietéticas e de ingestão de líquidos, maior liberdade para viajar e trabalhar e correção da anemia e de anormalidades metabólicas (Wong e cols., 2012).

O transplante renal preemptivo com doador vivo deve ser considerado nos pacientes com TFG $<20\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$, com evidência de doença renal progressiva e irreversível (KDIGO, 2012). O estudo de Mange e cols. (2001) demonstrou que o transplante renal com doador vivo realizado antes do início da diálise é associado com maior sobrevida do enxerto, quando comparado com o transplante realizado após o início da diálise. Kasiske e cols. (2002) observaram esse ganho de sobrevida inclusive nos casos de transplante preemptivo com doador falecido. Já o estudo de Goldfarb-Rumyantzev e cols. (2005) observou o impacto negativo da diálise apenas

quando o tempo em hemodiálise ou diálise peritoneal excedeu 6 meses antes do transplante.

Atualmente discute-se o transplante com doador vivo imunologicamente não compatível, ou seja, em que o receptor apresenta anticorpo específico contra o doador (em inglês, *donor specific antigen, DSA*) pré-formado ou com prova cruzada positiva, após dessensibilização. Um estudo realizado por Orandi e cols. (2014), mostrou que, quando comparado com transplante com doador vivo compatível, o transplante com doador incompatível oferece maior risco de perda do enxerto e morte no primeiro ano nos grupos em que a prova cruzada foi positiva (citometria de fluxo e CDC). Já o estudo de 2016 do mesmo autor comparou o grupo de pacientes submetidos a transplante com doador vivo não compatível com grupos de pacientes que permaneceram na lista de transplante ou receberam rim de doador falecido e concluiu que há aumento na sobrevida dos receptores transplantados com doador vivo não compatível nas análises após 1, 3, 5 e 8 anos do transplante, mesmo nos casos de prova cruzada positiva (Orandi e cols., 2016). Esse dado é relevante, especialmente nos casos de pacientes hipersensibilizados, ou seja, com um grande número de anticorpos pré-formados, que tem menor chance de receber um transplante com doador falecido, apresentando maior risco de permanecer na lista de espera por um longo período.

Diversos avanços ocorreram nos últimos anos na preservação de órgãos, técnica cirúrgica, imunossupressão, identificação e manejo de rejeição e infecção (Tolkoff-Rubin, 2012). Ainda assim, a mortalidade entre estes pacientes é muito maior que a população em geral de mesma faixa etária. Um estudo europeu demonstrou que no primeiro ano após o transplante a mortalidade é quatorze vezes maior do que na população de mesma idade e quatro vezes maior após o primeiro ano de transplante (Arend e cols., 1997).

A sobrevida dos pacientes transplantados é maior naqueles que mantêm a função do enxerto a longo prazo. Este dado ficou bem demonstrado num estudo com mais de 86.000 pacientes, em que a sobrevida dos mesmos após 10 anos com enxerto funcionante foi superior a 85% (Ojo e cols., 2000).

Embora a melhora na sobrevida do enxerto renal tenha sido significativa no primeiro ano após o transplante, a nefropatia crônica e a perda da função do enxerto a longo prazo não mudaram significativamente na última década. Entretanto, a taxa de declínio da função renal tem sido menor, sugerindo que possam haver intervenções a serem feitas (Kasiske e cols., 2005).

Mesmo que seja uma classificação arbitrária, tradicionalmente se avalia a sobrevida do enxerto a curto e longo prazo, embora alguns fatores

que contribuam para uma também possam influenciar na outra, como por exemplo a função retardada do enxerto.

Entre os fatores com maior impacto na sobrevida do enxerto a curto prazo temos, além da função retardada do enxerto (Troppmann e cols., 1995), a presença de anticorpos anti-HLA (Terasaki e Ozawa, 2004), o tipo de doador (Chavalitdhamrong e cols., 2008) e as comorbidades do mesmo (Ojo e cols., 2000), a experiência do centro (Kim e cols., 2004), entre outros.

Na sobrevida a longo prazo, se destacam os episódios de rejeição aguda (Meier-Kriesche e cols., 2000; Mateu e cols., 2004), a função renal no final do primeiro ano (Hariharan e cols., 2002; Salvadori e cols., 2006; Resende e cols., 2009), a compatibilidade HLA (Opelz, 1988), a presença de anticorpos anti-HLA específicos contra o doador (Lefaucheur e cols., 2008), o tempo de isquemia fria (Giblin e cols., 2005; Quiroga e cols., 2006; Debout e cols., 2015), a presença de proteinúria (Fellström e cols., 2005; Halimi e cols., 2007), fatores de agressão ao tecido renal como lesão de isquemia/reperfusão (Lu e cols., 1999; Debout e cols., 2015), massa renal relativamente escassa com doadores limítrofes (Brenner e Milford, 1993), hipertensão após o transplante (Kasiske e cols., 2004; Fellström e cols., 2005), má adesão aos imunossupressores (Butler e cols., 2004), entre outros.

1.2.1. Imunologia do Transplante

O sistema imune permanece como a barreira mais importante ao pleno sucesso de um transplante de órgão. O sistema imune foi desenvolvido para reconhecer e combater elementos estranhos ao corpo humano. Estes mecanismos estão envolvidos na rejeição a um órgão transplantado que é reconhecido pelo sistema imune como um elemento não-próprio (Sayegh e Chandraker, 2012).

O sistema HLA (antígeno leucocitário humano) é o mais envolvido na resposta imune no transplante de órgãos. Na década de 60 houve a identificação de novos antígenos HLA e a evolução dos métodos de tipagem tecidual, criando condições para o pareamento de doador e receptor por compatibilidade HLA desse sistema (Terasaki e cols., 1965).

Os candidatos a transplante renal podem apresentar anticorpos contra o sistema HLA. Os principais fatores que podem induzir a formação destes anticorpos são a transfusão sanguínea, gestação e transplante prévio (Patel e Terasaki, 1969; El-Awar e cols., 2002; Vilches e Nieto, 2015). Cerca de 30% dos pacientes em lista de espera para transplante são sensibilizados, ou seja, possuem anticorpos anti-HLA pré-formados (Lucas e cols., 2011).

Em 1969, Terasaki e cols. mostraram que a realização de transplante com prova cruzada por citotoxicidade dependente de complemento (CDC) positiva levava a falência imediata do órgão em 80% casos. Concluíram,

então, que a prova cruzada deve ser rotineiramente realizada antes do transplante e, caso seja positiva, o procedimento não deve ser realizado com o doador em questão. Este estudo também mostrou que receptores com painel de reatividade de anticorpos (PRA) acima de 20% teriam maior probabilidade de apresentar prova cruzada positiva quando o candidato a doador era não-relacionado (doador falecido ou doador vivo não parente) (Patel e Terasaki, 1969).

A partir da década de 70 houve o aperfeiçoamento da técnica para a realização da prova cruzada com a adição de dithiothreitol (DTT) para identificar anticorpos IgM e uso da citometria de fluxo (Tait e cols., 2013). Mais recentemente iniciou-se o uso de ensaios com fase sólida para identificação precisa de anticorpos específicos. (Pei e cols., 2003; El-Awar e cols., 2005).

Atualmente a avaliação imunológica pré-transplante inclui a tipagem HLA por biologia molecular (reação da polimerase em cadeia-PCR) e a análise do painel de reatividade de anticorpos por citometria de fluxo.

Através de seus estudos, Terasaki confirmou a importância da avaliação imunológica pré-transplante e, a partir dos anos 90, dedicou-se aos estudos que relacionaram o desenvolvimento de anticorpos anti-HLA pós-transplante com pior desfecho do enxerto. (Rachel e cols., 2000; Terasaki e Ozawa, 2004).

Em 2003, Terasaki escreveu um artigo intitulado “Humoral Theory of Transplantation”, onde, compilando as evidências disponíveis até então, afirmou que os anticorpos anti-HLA são os responsáveis pela rejeição de órgãos transplantados. Ele citou estudos que mostraram que os anticorpos pré-formados contra o doador causam rejeição hiperaguda em minutos, pacientes hipersensibilizados apresentam menor sobrevida do enxerto, anticorpos causam rejeição aguda precoce e estão associados a rejeição crônica. Além disso, os anticorpos estão presentes em quase todos os pacientes que tiveram falência de enxerto renal, sendo que existem evidências mostrando que estes anticorpos estavam em circulação antes da perda do enxerto (Lee e cols., 2002; Worthington e cols., 2003).

A rejeição humoral é uma forma de dano ao órgão mediada por anticorpo que pode ocorrer precoce e rapidamente após o transplante (Zhang e cols., 2005), levando a disfunção aguda do enxerto e também de maneira crônica, determinando rejeição crônica no longo prazo (Terasaki e Ozawa, 2005; Tinckam e Chandraker, 2006; Lachmann e cols., 2009).

Estes anticorpos podem ser pré-formados ou representar *DSA* que se desenvolvem após o transplante (*de novo*). Mesmo níveis muito baixos de *DSA* pré-formados, que não são detectados por prova cruzada de citotoxicidade dependente de complemento ou citometria de fluxo foram associados com sobrevida inferior do enxerto renal (Willicombe e cols., 2011). Com o advento da análise por citometria de fluxo e ensaios com fase

sólida como Luminex (microesferas cobertas com um antígeno único) a detecção de anticorpos específicos contra o doador melhorou consideravelmente, porém estes métodos são muito sensíveis e ainda há controvérsia sobre a relevância da detecção dos mesmos em níveis baixos.

O estudo de Süsal e cols. (2011) analisou 3148 receptores de rim de doador falecido entre os quais 118 perderam o enxerto. Estes pacientes foram pareados para um estudo de caso-controle, e não se encontrou maior incidência de anticorpos específicos contra o doador avaliados por Luminex.

Alguns estudos demonstraram que *DSA* pré-formados estão associados a maior risco de rejeição aguda mediada por anticorpo e menor sobrevida do enxerto renal e do paciente, especialmente quando em níveis altos (Gloor e cols., 2010; Fidler e cols., 2013), assim como o desenvolvimento de *DSA de novo* está relacionado com o risco de rejeição aguda e crônica mediadas por anticorpo (Cooper e cols., 2011; Wiebe e cols., 2012; Banasik e cols., 2013; Dieplinger e cols., 2014; Tang e cols., 2015).

Estudo prospectivo realizado na Universidade de São Paulo acompanhou 111 receptores de transplante de rim durante o primeiro ano após o procedimento com realização de biópsias e avaliação do PRA e concluiu que os pacientes que desenvolveram rejeição aguda, principalmente com depósito de C4d e *DSA de novo* apresentaram pior sobrevida do enxerto. Este estudo sugere que a pesquisa seriada de anticorpos anti-HLA

no primeiro ano após o transplante pode identificar pacientes sob risco de desenvolver rejeição mediada por anticorpos e consequente perda do enxerto (Souza e cols., 2014).

Um estudo mostrou que a duração e a intensidade do DSA influenciam na função renal (Hoshino e cols., 2014), já o estudo de Aubert e cols. (2009) não encontrou relevância clínica nos anticorpos com baixos níveis detectados por ensaios de fase sólida.

O uso de doadores com critérios expandidos (idade >60 anos ou entre 50-59 anos com comorbidade cardiovascular) tem se tornado mais comum nos últimos anos devido ao envelhecimento da população associado a falta de doadores ideais para uma lista de espera progressivamente maior. O estudo de Aubert e cols. (2015) mostrou que os transplantes realizados com esses doadores podem apresentar sobrevida semelhante ao grupo de transplantes com doador ideal, desde que não haja *DSA* pré-transplante. O transplante com doadores com critérios expandidos associado a presença de *DSA* pré-transplante pode aumentar em 5,6 vezes o risco de perda do enxerto em 7 anos, mostrando que o risco imunológico tem mais relevância na sobrevida do enxerto do que o tipo de doador.

A ativação do complemento induzida por *DSA* é a via mais importante de dano renal e a detecção do seu produto de divisão C4d é uma marca para o diagnóstico de rejeição mediada por anticorpo nas biópsias renais. A

capacidade do *DSA* de ativação do sistema complemento pode determinar sua relevância clínica (Loupy e cols., 2013).

Foi observado que a capacidade do *DSA* em nível baixo em ativar C4d não está relacionada com um risco aumentado de rejeição mediada por anticorpo ou depósito de C4d nos capilares peritubulares *in vivo* (Hönger e cols., 2010).

Por outro lado, já há estudos demonstrando que anticorpos não-HLA podem estar envolvidos na rejeição. Estudo recente explorou a presença de anticorpos antiendotélio (AECA) formados após o transplante, isto é, *de novo* em 22 receptores entre 226 transplantes renais e neste grupo o número de rejeições foi maior e mais grave e interessantemente com C4d negativo na maioria dos casos (Sun e cols., 2011).

Um novo método para detectar a capacidade do anticorpo em se ligar ao primeiro componente do sistema complemento, C1q, foi desenvolvida (Chen e cols., 2011). Alguns estudos não relacionaram a capacidade do *DSA* pré-transplante de fixar C1q com perda do enxerto (Otten e cols., 2012; Crespo e cols., 2013), mas outros relacionaram o desenvolvimento de *DSA de novo*, associado a identificação do C1q, com o risco maior de depósito de C4d nos capilares peritubulares, rejeição aguda e perda do enxerto (Sutherland e cols., 2012).

O estudo de Loupy e cols. (2013) acompanhou 1016 pacientes e avaliou episódios de rejeição aguda no primeiro ano após o transplante

verificando que a capacidade do *DSA de novo* em ativar o sistema complemento através da fixação de C1q é um preditor independente de risco de perda do enxerto 5 anos após o transplante, quando comparado com os grupos sem *DSA* e com *DSA*, mas sem ativação de complemento identificada. Outros estudos associaram a capacidade do *DSA* em fixar C1q com o desenvolvimento de glomerulopatia do transplante, sugerindo o monitoramento dos pacientes através deste método (Yabu e cols., 2011; e Thammanichanond e cols., 2014).

A importância da presença dos anticorpos anti-HLA está relacionada ao alto risco de desenvolvimento de rejeição mediada por anticorpos, a qual é menos responsiva à terapia convencional e tem um prognóstico pior que a rejeição celular.

Nos últimos anos foram introduzidas na prática clínica medicações imunossupressoras mais potentes reduzindo o efeito das incompatibilidades HLA no transplante renal, com diminuição nas taxas de rejeição e melhor sobrevida do enxerto (Johnson e cols., 2000), sendo que pacientes recebendo terapia tríplice apresentam melhores resultados (Cai e cols., 2002). Ainda assim, a significância dessas incompatibilidades imunológicas permanece (Sayegh e Chandraker, 2012).

1.2.2. Imunossupressão no Transplante

A terapia imunossupressora tem três bases: indução (imunossupressão agressiva nos primeiros dias após o transplante), manutenção (uso de doses variáveis e progressivamente menores dos imunossupressores) e tratamento de rejeição estabelecida.

1.2.2.1. Indução

Na indução se utiliza anticorpos antilinfócitos (ATG) se o paciente apresentar alto risco imunológico ou antagonista do receptor de interleucina-2 (Basiliximab), caso esse risco seja baixo (KDIGO, 2009).

O ATG é um anticorpo policlonal produzido através da imunização de cavalos ou coelhos com células linfóides humanas, separação de IgG e absorção de anticorpos tóxicos. Geralmente se administra nos primeiros 3 a 10 dias de transplante, ocasionando depleção de linfócitos que pode durar mais de 1 ano. Os efeitos adversos mais comuns são relacionados a liberação de citocinas (febre, calafrios, hipotensão e edema pulmonar). Essa droga também está associada a um maior risco de desenvolver infecções e doença linfoproliferativa pós-transplante (Halloran, 2004).

O Basiliximab é um anticorpo monoclonal anti-CD25 (receptores de interleucina 2) que causa pouca depleção de linfócitos T, por isso é usado

em pacientes com baixo a moderado risco imunológico e tem efeitos tóxicos mínimos (Halloran, 2004).

1.2.2.2. Manutenção

Até o início da década de 80 a imunossupressão consistia de azatioprina e esteróides com a sobrevida do enxerto em torno de 50% em 1 ano. A associação da ciclosporina ao esquema nos anos 1980 permitiu o aumento da sobrevida do enxerto para 80% no primeiro ano (Ponticelli e cols., 1988; The Canadian Multicentre Transplant Study Group, 1990).

Nos anos 1990 outro inibidor da calcineurina, o tacrolimo, entrou em cena com estudos mostrando superioridade em relação a ciclosporina principalmente com redução na incidência de rejeição aguda (Pirsch e cols., 1997; Mayer e cols., 1997; Knoll e Bell, 1999). Também na década de 90 os precursores do ácido micofenólico começaram a substituir o azatioprina como droga antimetabólica, com estudos mostrando superioridade do micofenolato com menores taxas de rejeição (The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group, 1996; Meier-Kriesche e cols., 2003; Lang e cols., 2005), entretanto maior incidência de infecção invasiva causada por citomegalovírus, *Aspergillus spp* e murcormicose (US Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group, 1999).

Os inibidores da mTOR (do inglês, *mammalian target of rapamycin*) (sirolimo e everolimo) surgiram no final dos anos 1990 como uma nova classe imunossupressora carregando a promessa de substituir os inibidores da calcineurina, eliminando o risco de nefrotoxicidade associado a esses. Seus efeitos adversos limitam o uso, mas ainda permanecem como uma boa alternativa, principalmente em situações clínicas específicas (Bradley e Watson, 2014).

O tratamento de manutenção é realizado com três drogas (terapia tríplice). O inibidor de calcineurina é a droga chave (tacrolimo ou ciclosporina) associada a um antimetabólito (ácido micofenólico ou azatioprina) e corticóide (prednisona), sendo este o esquema mais utilizado. Outros protocolos de imunossupressão utilizam inibidor da mTOR (sirolimo ou everolimo) em substituição ao inibidor de calcineurina ou ao antiproliferativo.

1.2.2.2.1. Corticosteroides

Se ligam ao receptor de glicocorticoide intracelular. Os efeitos no sistema imune estão relacionados a inibição da transcrição das citocinas através do bloqueio dos fatores de transcrição. Esse bloqueio causa depleção de linfócitos T (por inibição da IL-2, inibição da diferenciação Th1 e indução de apoptose), apoptose de eosinófilos (diretamente ou por inibição

da IL-5), disfunção de macrófagos (por inibição de IL-1 e TNF- α) (Wiseman, 2016).

O uso crônico de corticoide expõe os pacientes ao risco de catarata, necrose óssea avascular, osteoporose, ganho de peso, diabetes, hipertensão e dislipidemia. Por isso, vem se estudando protocolos imunossupressores com redução da dose ou mesmo suspensão da droga após poucos meses do transplante (KDIGO, 2009).

1.2.2.2.2. Inibidores da calcineurina

A ciclosporina foi a droga que mudou a história dos transplantes na década de 80. Ela age bloqueando a ativação dos linfócitos T através da ligação com a ciclofilina (uma imunofilina intracelular) que acaba por inibir a calcineurina. A toxicidade da ciclosporina está relacionada a concentração da droga e inclui hipertensão, hiperlipidemia, hiperplasia gengival, hirsutismo, tremor e diabetes pós-transplante. Também está relacionada com a indução de síndrome hemolítico-urêmica e nefrotoxicidade. O monitoramento da concentração vale ou pico da droga duas horas após sua ingestão pode ajudar no ajuste da dose evitando efeitos adversos (Halloran, 2004; Watson e Dark, 2012).

O tacrolimo inibe a calcineurina através da ligação com outra imunofilina, a FKBP12. Tem perfil de toxicidade semelhante ao da

ciclosporina, porém provoca mais diabetes e neurotoxicidade e menos hiperlipidemia e hipertricose (Halloran, 2004; Watson e Dark, 2012; Wiseman, 2016). O KDIGO, 2009 recomenda o tacrolimo como inibidor de calcineurina de primeira linha. O monitoramento é realizado através de coleta de sangue total imediatamente antes da administração da droga.

Os inibidores da calcineurina são metabolizados pelo CYP3A4 e CYP3A5 e drogas indutoras ou inibidoras dessas enzimas podem alterar o nível de ciclosporina e tacrolimo no sangue. A absorção do tacrolimo é reduzida na presença de alimentos (Mejia e cols., 2014).

1.2.2.2.3. Drogas Antiproliferativas

A azatioprina é um análogo da 6-mercaptopurina. Seus metabólitos agem como análogos da purina (interferindo na síntese de DNA e RNA) e como agentes imunomoduladores. Pode provocar sintomas gastrointestinais e supressão da medula óssea. Por ser não teratogênica pode ser utilizada na gestação (Wiseman, 2016).

O ácido micofenólico é o componente ativo do micofenolato mofetil e do micofenolato sódico e age bloqueando a inosina monofosfato desidrogenase, impedindo a síntese de DNA e, assim, a proliferação de linfócitos (Watson e Dark, 2012). O micofenolato produz mais sintomas

gastrointestinais (especialmente diarreia) e menos toxicidade hematológica quando comparado a azatioprina (Wiseman, 2016).

1.2.2.2.4. Inibidores da mTOR

O sirolimo e o everolimo se ligam a imunofilina FKBP12 formando um complexo que se liga e inibe o alvo da rapamicina de mamíferos (*mammalian target of rapamycin*), inibindo a proliferação celular. São drogas menos nefrotóxicas que os inibidores da calcineurina, mas em combinação com eles aumentam o risco de nefrotoxicidade. Os inibidores da mTOR tem efeito glomerular, podendo causar proteinúria maciça, especialmente nos protocolos de conversão. Além disso, estão associados com o desenvolvimento de dislipidemia, trombocitopenia, dificuldade de cicatrização de feridas, linfocele, retardo na função do enxerto, pneumonite e úlceras orais e de pele (Halloran, 2004; Watson e Dark, 2012; Wiseman, 2016). O KDIGO, 2009 recomenda o início destas drogas apenas após recuperação da função do enxerto e plena cicatrização cirúrgica, sendo pouco utilizados como parte do esquema imunossupressor inicial.

Por outro lado, os inibidores da mTOR tem efeito antiviral, reduzindo o risco de infecção por citomegalovírus, especialmente em regimes com redução da dose de tacrolimo (Tedesco-Silva e cols., 2015) e antineoplásico,

sendo associados a redução do risco de câncer pós-transplante (Knoll e cols., 2014).

A dose pode ser ajustada conforme o nível da droga em sangue total coletado imediatamente antes da administração da medicação.

1.2.2.3. Tratamento de Rejeição Aguda

A rejeição aguda é definida como deterioração aguda da função do enxerto associada a alteração patológicas específicas. Há duas principais formas histológicas de rejeição aguda: rejeição celular e rejeição mediada por anticorpos (Chon e Brennan, 2016).

Pode cursar com sintomas como febre, mal-estar, oligúria, dor no enxerto e aumento da creatinina, ou não apresentar sinal ou sintoma algum (rejeição subclínica). A maioria dos episódios ocorre nos primeiros seis meses de transplante.

Houve queda na incidência de rejeição aguda na era moderna da imunossupressão, mas, quando ocorre, constitui um importante problema clínico. Episódios que ocorrem precocemente tem maior impacto na sobrevida do enxerto renal, sendo associado com o desenvolvimento de nefropatia crônica do enxerto, principalmente quando não há retorno da creatinina aos níveis basais após o tratamento (Meier-Kriesche e cols., 2000; Mateu e cols., 2004).

1.2.2.3.1. Rejeição Aguda Celular

É caracterizada histologicamente por infiltrado de linfócitos e outras células inflamatórias.

O consenso de Banff de 2007 classifica a rejeição aguda celular em três tipos (I, II e III), divididos em subtipos (A e B): tipo IA – inflamação intersticial significativa (> 25% do parênquima afetado, i2 ou i3) e focos de tubulite moderada (t2); tipo IB – inflamação intersticial significativa (> 25% do parênquima afetado, i2 ou i3) e tubulite severa (t3); tipo IIA – arterite leve a moderada (v1); tipo IIB – arterite severa, que é associada a >25% de comprometimento da área luminal (v2); tipo III – arterite transmural e/ou alterações fibrinóides arteriais e necrose das células musculares mediais ocorrendo em associação com inflamação linfocítica do vaso (v3) (Solez e cols., 2008). Ainda classifica como alteração borderline quando há suspeita para rejeição aguda celular (ausência de arterite intimal, mas com infiltrado intersticial leve e tubulite, menos de 25% do parênquima).

A maioria dos casos de rejeição aguda celular responde ao tratamento com corticosteroides (250-500mg de metilprednisolona endovenosa por 3-5 dias). A resistência a esteróides é definida como ausência de melhora do débito urinário e da creatinina em 5 a 7 dias. Nos casos não responsivos ou recorrentes, utiliza-se anticorpos antilinfócitos (ATG) ou anticorpos monoclonais (OKT3). O aumento da dose dos imunossupressores pode

reduzir o risco de episódios de rejeição futuros (Halloran, 2004; KDIGO, 2009).

1.2.2.3.2. Rejeição Aguda Mediada por Anticorpos (RAMA)

O diagnóstico de RAMA requer a evidência de dano tecidual agudo, presença de *DSA*, evidência imunológica de processo mediado por anticorpos (depósito de C4d nos capilares peritubulares, infiltrado microvascular no mínimo moderado ou aumento na expressão gênica indicativa de dano endotelial). Pode ou não haver infiltrado celular (Chon e Brennan, 2016).

A conferência de Banff em 2013 estabeleceu novo consenso para o diagnóstico da RAMA com o reconhecimento da RAMA sem depósito de C4d nos capilares peritubulares ou com mínimo depósito. Entretanto, na ausência de C4d, deve haver evidência adicional de interação do anticorpo com o endotélio vascular (infiltrado microvascular no mínimo moderado ou aumento na expressão gênica indicativa de dano endotelial) (Haas e cols., 2014).

O tratamento da RAMA tem como alvo a remoção dos anticorpos circulantes, o bloqueio do efeito desses anticorpos e a redução da produção. Não existem evidências científicas que comprovem a eficácia dos tratamentos atualmente utilizados (Roberts e cols., 2012).

Atualmente o tratamento para rejeição mediada por anticorpo mais utilizado é a plasmaferese (remoção de anticorpos) com ou sem imunoglobulina humana (IVIg, efeito imunomodulador) associada, mas não há estudos com desenhos adequados comprovando seus benefícios. Medicamentos como rituximab (anticorpo monoclonal anti-CD20), bortezomib (inibidor do proteassoma), alemtuzumab (anticorpo anti-CD52) e eculizumab (anticorpo anti-C5) tem sido utilizadas associadas ou não plasmaferese e IVIg, mas estudos mais consistentes são necessários para comprovação de eficácia (Roberts e cols., 2012; Kim e cols., 2014).

A taxa de perda do enxerto após um ano de uma rejeição mediada por anticorpo varia de 15 a 20%, apesar de terapia imunossupressora intensiva (Lucas e cols., 2011).

1.3. Experiência Local

A partir de agosto de 2008 o Laboratório de Imunologia da Santa Casa de Porto Alegre introduziu na rotina de avaliação imunológica pré-transplante renal a detecção de anticorpos anti-HLA por citometria de fluxo.

Na avaliação inicial de dados previamente coletados, de 234 transplantes realizados na Santa Casa de Porto Alegre no período de junho de 2009 e novembro de 2010, 12% dos pacientes apresentavam *DSA*. O grupo com *DSA* tinha mais mulheres e a sobrevida do enxerto foi

significativamente menor em 2 anos (69% x 85%) com HR=2 para perda do enxerto e aumento do risco de rejeição aguda mediada por anticorpo (HR=6,61). Observou-se sobrevida do enxerto ainda menor nos pacientes com mais de um *DSA* ($p=0,006$) ou quando a soma da fluorescência dos *DSA* foi maior que 5000 ($p=0,037$). Não houve diferença na sobrevida do receptor, função retardada do enxerto ou rejeição celular aguda e crônica entre os grupos com e sem *DSA*. Estes dados sugerem um papel relevante do *DSA* pré-formados na patogênese da falência do enxerto e nos alerta para o risco de submeter estes pacientes ao transplante renal, especialmente aqueles com mais de um *DSA*. A partir desses dados a política da Instituição mudou e os candidatos a transplante renal com *DSA* acima de 5000 passaram a ser considerados com prova cruzada virtual positiva e evitado o transplante com o doador portador do antígeno específico, exceto os pacientes em lista em caráter de urgência que são testados independente de *DSA* com todos os doadores com identidade no grupo sanguíneo ABO.

Ainda não se encontra claro na literatura a relevância de níveis baixos de anticorpos detectados nesta metodologia altamente sensível. Por isto é importante conhecermos a população atendida pela Instituição e avaliar a presença de *DSA* nos diferentes níveis com a sobrevida do enxerto e do paciente, bem como com a função renal após o transplante.

1.4. Referências Bibliográficas

Arend SM, Mallat MJ, Westendorp RJ, van der Woude FJ, van Es LA. Patient survival after renal transplantation; more than 25 years follow-up. *Nephrol Dial Transplant*. 1997;12(8):1672-9.

Aubert O, Kamar N, Vernerey D, Viglietti D, Martinez F, Duong-Van-Huyen JP *et al*. Long term outcomes of transplantation using kidneys from expanded criteria donors: prospective, population based cohort study. *BMJ*. 2015;351:h3557.

Aubert V, Venetz JP, Pantaleo G, Pascual M. Low levels of human leukocyte antigen donor-specific antibodies detected by solid phase assay before transplantation are frequently clinically irrelevant. *Hum Immunol*. 2009;70:580-3.

Banasik M, Boratyńska M, Kościelska-Kasprzak K, Mazanowska O, Krajewska M, Zabińska M *et al*. The impact of de novo donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies on 5-year renal transplant outcome. *Transplant Proc*. 2013;45:1449-52.

Bradley JA, Watson CJE. mTOR Inhibitors - Sirolimus and Everolimus. In: Morris P, Knechtle S, editors. *Kidney Transplantation - Principles and Practice*. 7th ed. Saunders, 2014. p. 267-286.

Brenner BM, Milford EL. Nephron underdosing: a programmed cause of chronic renal allograft failure. *Am J Kidney Dis*. 1993;21(5 Suppl 2):66-72.
Kasiske BL, Anjum S, Shah R, Skogen J, Kandaswamy C, Danielson B *et al*. Hypertension after kidney transplantation. *Am J Kidney Dis*. 2004;43(6):1071-81.

Butler JA, Roderick P, Mullee M, Mason JC, Peveler RC. Frequency and impact of nonadherence to immunosuppressants after renal transplantation: a systematic review. *Transplantation*. 2004;77(5):769-76.

Cai J, Gjertson DW, Terasaki PI. Maintenance immunosuppressive treatment and graft half-life. *Clin Transpl*. 2002;359-66.

Chavalitdhamrong D, Gill J, Takemoto S, Madhira BR, Cho YW, Shah T *et al*. Patient and graft outcomes from deceased kidney donors age 70 years and older: an analysis of the Organ Procurement Transplant Network/United Network of Organ Sharing database. *Transplantation*. 2008;85:1573-9.

Chen G, Sequeira F, Tyan DB. Novel C1q assay reveals a clinically relevant subset of human leukocyte antigen antibodies independent of immunoglobulin G strength on single antigen beads. *Hum immunol.* 2011; 72:849-58.

Chon WJ, Brennan DC . Clinical manifestations and diagnosis of acute renal allograft rejection. In: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accessado em 03 de Maio, 2016).

Cooper JE, Gralla J, Cagle L, Goldberg R, Chan L, Wiseman AC. Inferior kidney allograft outcomes in patients with de novo donor-specific antibodies are due to acute rejection episodes. *Transplantation.* 2011;91:1103-9.

Crespo M, Torio A, Mas V, Redondo D, Pérez-Sáez MJ, Mir M *et al.* Clinical relevance of pretransplant anti-HLA donor-specific antibodies: Does C1q-fixation matter? *Transpl Immunol.* 2013;29:28-33.

Debout A, Foucher Y, Trébern-Launay K, Legendre C, Kreis H, Mourad G *et al.* Each additional hour of cold ischemia time significantly increases the risk of graft failure and mortality following renal transplantation. *Kidney Int.* 2015 Feb;87(2):343-9.

Dieplinger G, Ditt V, Arns W, Huppertz A, Kisner T, Hellmich M *et al.* Impact of de novo donor-specific HLA antibodies detected by Luminex solid-phase assay after transplantation in a group of 88 consecutive living-donor renal transplantations. *Transpl Int.* 2014;27:60-8.

El-Awar N, Lee J, Terasaki PI. HLA antibody identification with single antigen beads compared to conventional methods. *Hum Immunol.* 2005;66:989-97.

El-Awar N, Terasaki PI, Lazda V, Nikaein A, Manning C, Arnold AN. Almost all patients who are waiting for a regraft of a kidney transplant have anti-HLA antibodies. *Transplant Proc.* 2002;34:2531-2.

Fellström B, Holdaas H, Jardine AG, Nyberg G, Grönhagen-Riska C, Madsen S *et al.* Risk factors for reaching renal endpoints in the assessment of Lescol in renal transplantation (ALERT) trial. *Transplantation.* 2005;79(2):205-12.

Fidler SJ, Irish AB, Lim W, Ferrari P, Witt CS, Christiansen FT. Pre-transplant donor specific anti-HLA antibody is associated with antibody-mediated rejection, progressive graft dysfunction and patient death. *Transplant Immunol.* 2013;28:148-153.

Gansevoort RT, Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS *et al.* and the CKD prognosis consortium. Lower estimated GFR and higher albuminuria are associated with adverse kidney outcomes. A collaborative meta-analysis of general and high-risk population cohorts. *Kidney Int.* 2011;80:93-104.

Giblin L, O'Kelly P, Little D, Hickey D, Donohue J, Walshe JJ *et al.* A comparison of long-term graft survival rates between the first and second donor kidney transplanted--the effect of a longer cold ischaemic time for the second kidney. *Am J Transplant.* 2005;5:1071-5.

Gloor JM, Winters JL, Cornell LD, Fix LA, DeGoey SR, Knauer RM *et al.* Baseline donor-specific antibody levels and outcomes in positive crossmatch kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2010;10:582-9.

Goldfarb-Rumyantzev A, Hurdle JF, Scandling J, Wang Z, Baird B, Barenbaum L *et al.* Duration of end-stage renal disease and kidney transplant outcome. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20:167-75.

Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB *et al.* Banff 2013 Meeting Report: Inclusion of C4d-Negative Antibody-Mediated Rejection and Antibody-Associated Arterial Lesions. *Am J Transplant.* 2014;14:272-83.

Halimi JM, Buchler M, Al-Najjar A, Laouad I, Chatelet V, Marlière JF *et al.* Urinary albumin excretion and the risk of graft loss and death in proteinuric and non-proteinuric renal transplant recipients. *Am J Transplant.* 2007;7(3):618-25.

Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med.* 2004;351(26):2715-29.

Hariharan S, McBride MA, Cherikh WS, Tolleris CB, Bresnahan BA, Johnson CP. Post-transplant renal function in the first year predicts long-term kidney transplant survival. *Kidney Int.* 2002;62:311-8.

Hönger G, Wahrmann M, Amico P, Hopfer H, Böhmig GA, Schaub S. C4d-fixing capability of low-level donor-specific HLA antibodies is not predictive for early antibody-mediated rejection. *Transplantation.* 2010;89:1471-5.

Hoshino J, Everly MJ, Kaneku H, Ubara Y, Takaichi K, Terasaki PI. Impact of the presence and duration of donor-specific antibodies on renal function. *Transplant Proc.* 2014;46:75-80.

Johnson C, Ahsan N, Gonwa T, Halloran P, Stegall M, Hardy M *et al.* Randomized trial of tacrolimus (PROGRAF) in combination with azathioprine or mycophenolate mofetil versus cyclosporine (Neoral) With mycophenolate mofetil after cadaveric kidney transplantation. *Transplantation*. 2000;69:834-41.

Kasiske BL, Gaston RS, Gourishankar S, Halloran PF, Matas AJ, Jeffery J *et al.* Long-term deterioration of kidney allograft function. *Am J Transplant*. 2005;5:1405-14.

Kasiske BL, Snyder JJ, Matas AJ, Ellison MD, Gill JS, Kausz AT. Preemptive kidney transplantation: the advantage and the advantaged. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:1358-64.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2013;Suppl.;3:1-150.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2009;9(Suppl 3):S1–S157.

Kim M, Martin ST, Townsend KR, Gabardi S. Antibody-mediated rejection in kidney transplantation: a review of pathophysiology, diagnosis, and treatment options. *Pharmacotherapy*. 2014;34:733-44.

Kim SJ, Schaubel DE, Jeffery JR, Fenton SS. Centre-specific variation in renal transplant outcomes in Canada. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19:1856-61.

Knoll GA, Bell RC. Tacrolimus versus cyclosporin for immunosuppression in renal transplantation: meta-analysis of randomised trials. *BMJ*. 1999;318:1104-7.

Knoll GA, Kokolo MB, Mallick R, Beck A, Buenaventura CD, Ducharme R *et al.* Effect of sirolimus on malignancy and survival after kidney transplantation: systematic review and meta-analysis of individual patient data. *BMJ*. 2014;349:g6679.

Lachmann N, Terasaki PI, Budde K, Liefeldt L, Kahl A, Reinke P *et al.* Anti-human leukocyte antigen and donor-specific antibodies detected by Luminex posttransplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal allografts. *Transplantation*. 2009;87:1505-13.

Lang P, Pardon A, Audard V. Long-term benefit of mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Transplantation*. 2005;79(3 Suppl):S47.

Lee PC, Terasaki PI, Takemoto SK, Lee PH, Hung CJ, Chen YL *et al*. All chronic rejection failures of kidney transplants preceded by development of HLA antibodies. *Transplantation*. 2002;74:1192-4.

Lefaucheur C, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, Nochy D, Andrade J, Antoine C *et al*. Clinical relevance of preformed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2008;8:324-31.

Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, van Huyen JPD, Mooney N *et al*. Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med*. 2013;369:1215-26.

Lu CY, Penfield JG, Kielar ML, Vazquez MA, Jeyarajah DR. Hypothesis: is renal allograft rejection initiated by the response to injury sustained during the transplant process? *Kidney Int*. 1999;55:2157-68.

Lucas JL, Co JP, Nwagwugwu T, Dosani I, Sureshkumar KK. Antibody mediated rejection in kidney transplantation: an update. *Expert Opin on Pharmacother*. 2011;12:579-92.

Mange KC, Joffe MM, Feldman HI. Effect of the use or nonuse of long-term dialysis on the subsequent survival of renal transplants from living donors. *N Engl J Med*. 2001;344:726-31.

Mateu LMP, Calabuig AS, Plaza LC, Esteve AF. Acute rejection and late renal transplant failure: risk factors and prognosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19 Suppl 3:iii38.

Mayer AD, Dmitrewski J, Squifflet JP, Besse T, Grabensee B, Klein B *et al*. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. *Transplantation*. 1997;64:436-43.

McKenna RM, Takemoto SK, Terasaki PI. Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation. *Transplantation*. 2000;69:319-26.

Meier-Kriesche HU, Ojo AO, Hanson JA, Cibrik DM, Punch JD, Leichtman AB *et al*. Increased impact of acute rejection on chronic allograft failure in recent era. *Transplantation*. 2000;70:1098-100.

Meier-Kriesche HU, Steffen BJ, Hochberg AM, Gordon RD, Liebman MN, Morris JA *et al.* Long-term use of mycophenolate mofetil is associated with a reduction in the incidence and risk of late rejection. *Am J Transplant.* 2003;3:68-73

Mejia JC, Basu A, Shapiro R. Calcineurin Inhibitors. In: Morris P, Knechtle S, editors. *Kidney Transplantation - Principles and Practice.* 7th ed. Saunders, 2014. p. 231-249.

Meyer TW, Hostetter TH. Pathophysiology of uremia. In: Brenner and Rector's: *The Kidney.* 9th ed. Philadelphia: Saunders, 2012. p. 2000-2020.

Mitch WE. Chronic kidney disease. In: Goldman: *Cecil Medicine.* 24th ed. Philadelphia: Saunders, 2012. p. 810-817.

National Kidney Foundation. KDOQI clinical practice guideline for hemodialysis adequacy: 2015 update. *Am J Kidney Dis.* 2015;66(5):884-930.

Ojo AO, Hanson JA, Wolfe RA, Leichtman AB, Agodoa LY, Port FK. Long-term survival in renal transplant recipients with graft function. *Kidney Int.* 2000;57:307-13.

Ojo AO, Leichtman AB, Punch JD, Hanson JA, Dickinson DM, Wolfe RA *et al.* Impact of pre-existing donor hypertension and diabetes mellitus on cadaveric renal transplant outcomes. *Am J Kidney Dis.* 2000;36(1):153-9.

Opelz G. The benefit of exchanging donor kidneys among transplant centers. *N Engl J Med.* 1988;318:1289-92.

Orandi BJ, Garonzik-Wang JM, Massie AB, Zachary AA, Montgomery JR, Van Arendonk KJ *et al.* Quantifying the Risk of Incompatible Kidney Transplantation: A Multicenter Study. *Am J Transplant.* 2014;14:1573-80.

Orandi BJ, Luo X, Massie AB, Garonzik-Wang JM, Lonze BE, Ahmed R *et al.* Survival Benefit with Kidney Transplants from HLA-Incompatible Live Donors. *N Engl J Med.* 2016;374:940-50.

Otten HG, Verhaar MC, Borst HP, Hené RJ, van Zuilen AD. Pretransplant donor-specific HLA class-I and -II antibodies are associated with an increased risk for kidney graft failure. *Am J Transplant.* 2012;12:1618-23.

- Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Eng J Med*. 1969;280:735-39.
- Pei R, Lee JH, Shih NJ, Chen M, Terasaki PI. Single HLA antigen flow cytometry beads for accurate identification of HLA antibody specificities. *Transplantation*. 2003;75:43-9.
- Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation*. 1997;63:977-83.
- Ponticelli C, Minetti L, Di Palo FQ, Vegeto A, Belli L, Corbetta G *et al*. The Milan clinical trial with cyclosporine in cadaveric renal transplantation. A three-year follow-up. *Transplantation*. 1988;45:908-13.
- Quiroga I, McShane P, Koo DD, Gray D, Friend PJ, Fuggle S *et al*. Major effects of delayed graft function and cold ischaemia time on renal allograft survival. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21:1689-96.
- Resende L, Guerra J, Santana A, Mil-Homens C, Abreu F, da Costa AG. First year renal function as a predictor of kidney allograft outcome. *Transplant Proc*. 2009;41:846-8.
- Roberts DM, Jiang SH, Chadban SJ. The Treatment of Acute Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplant Recipients - A Systematic Review. *Transplantation*. 2012;94:775-83.
- Salvadori M, Rosati A, Bock A, Chapman J, Dussol B, Fritsche L *et al*. Estimated one-year glomerular filtration rate is the best predictor of long-term graft function following renal transplant. *Transplantation*. 2006; 81:202-6.
- Sayegh MH, Chandraker A. Transplantation immunobiology In: Brenner and Rector's: The Kidney. 9th ed. Philadelphia: Saunders, 2012. p 2468-2494.
- Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M *et al*. Banff 07 *Am J Transplant*. 2008;8:753-60.
- Souza PS, David-Neto E, Panajotopolous N, Agena F, Rodrigues H, Ronda C *et al*. Dynamics of anti-human leukocyte antigen antibodies after renal transplantation and their impact on graft outcome. *Clin Transplant*. 2014;28:1234-43.

Sun Q, Cheng Z, Cheng D, Chen J, Ji S, Wen J *et al.* De novo development of circulating anti-endothelial cell antibodies rather than pre-existing antibodies is associated with post-transplant allograft rejection. *Kidney Int.* 2011;79:655-62.

Süsal C, Ovens J, Mahmoud K, Döhler B, Scherer S, Ruhenstroth A *et al.* No association of kidney graft loss with human leukocyte antigen antibodies detected exclusively by sensitive Luminex single-antigen testing: a collaborative transplant study report. *Transplantation.* 2011;91:883-7.

Sutherland SM, Chen G, Sequeira FA, Lou CD, Alexander SR, Tyan DB. Complement-fixing donor-specific antibodies identified by a novel C1q assay are associated with allograft loss. *Pediatr Transplant.* 2012;16:12-7.

Tait BD, Süsal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary AA, Claas FH *et al.* Consensus Guidelines on the Testing and Clinical Management Issues Associated With HLA and Non-HLA Antibodies in Transplantation. *Transplantation.* 2013;95:19-47.

Tang MY, Wang QH, Wang J, Gao X, Wu L, Tan JM. Strength of donor-specific antibodies with the use of Luminex single-antigen beads is a reliable predictor of acute rejection in living-relative kidney recipients. *Transplant Proc.* 2015;47:309-12.

Tedesco-Silva H, Felipe C, Ferreira A, Cristelli M, Oliveira N, Sandes-Freitas T *et al.* Reduced Incidence of Cytomegalovirus Infection in Kidney Transplant Recipients Receiving Everolimus and Reduced Tacrolimus Doses. *Am J Transplant.* 2015;15:2655-64.

Terasaki, PI. Humoral Theory of Transplantation. *Am J Transplant.* 2003;3: 665-673.

Terasaki, PI, Marchioro TL, Starzl, TE. Sero-typing of human lymphocyte antigens: preliminary trials on long-term kidney homograft survivors. In: Russel PS and Winn HJ, editors. *Histocompatibility Testing. Conference on Histocompatibility Testing; 1964 June 7-12; Washington.* Washington: National Academy of Sciences; 1965. p 83-96.

Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant.* 2004;4:438-43.

Terasaki PI, Ozawa M. Predictive value of HLA antibodies and serum creatinine in chronic rejection: results of a 2-year prospective trial. *Transplantation*. 2005;80:1194-7.

Thammanichanond D, Mongkolsuk T, Rattanasiri S, Kantachuvesiri S, Worawichawong S, Jirasiritham S *et al*. Significance of C1q-fixing donor-specific antibodies after kidney transplantation. *Transplant Proc*. 2014;46:368-71.

The Canadian Multicentre Transplant Study Group. A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. Analysis at three years. *N Engl J Med*. 1986;314(19):1219-25.

The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. *Transplantation*. 1996;61:1029-37.

Tinckam KJ, Chandraker A. Mechanisms and role of HLA and non-HLA alloantibodies. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006;1:404-14.

Tolkoff-Rubin N. Treatment of irreversible renal failure. In: Goldman: Cecil Medicine. 24th ed. Philadelphia: Saunders, 2012. p. 818-826.

Troppmann C, Gillingham KJ, Benedetti E, Almond PS, Gruessner RW, Najarian JS *et al*. Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaver renal transplantation. The multivariate analysis. *Transplantation*. 1995;59:962-8.

UNOS Policy 3.5.1. Expanded Criteria Donor Definition and Point System. Richmond, VA: United Network for Organ Sharing; 2002: 1–26.

US Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. Mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. *Am J Kidney Dis*. 1999;34:296-303. Vilches M, Nieto A. Analysis of pregnancy-induced anti-HLA antibodies using Luminex platform. *Transplant Proc*. 2015;47:2608-10.

Yabu JM, Higgins JP, Chen G, Sequeira F, Busque S, Tyan DB. C1q-fixing human leukocyte antigen antibodies are specific for predicting transplant glomerulopathy and late graft failure after kidney transplantation. *Transplantation*. 2011;91:342-7.

Watson CJE, Dark JH. Organ transplantation: historical perspective and current practice. *Br J Anaesth*. 2012;108(S1):i29–i42.

Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ *et al*. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant*. 2012;12:1157-67.

Willicombe M, Brookes P, Santos-Nunez E, Galliford J, Ballow A, Mclean A *et al*. Outcome of patients with preformed donor-specific antibodies following alemtuzumab induction and tacrolimus monotherapy. *Am J Transplant*. 2011;11:470-7.

Wiseman AC. Immunosuppressive Medications. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016 Feb 5;11:332-43.

Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LYC *et al*. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med*. 1999;341:1725-30.

Wong G, Howard K, Chapman JR, Chadban S, Cross N *et al*. Comparative survival and economic benefits of deceased donor kidney transplantation and dialysis in people with varying ages and co-morbidities. *PLoS ONE*. 2012;7:e29591.

Worthington JE, Martin S, Al-Husseini DM, Dyer PA, Johnson RWG. Post-transplant production of donor HLA specific antibodies as a predictor of renal transplant outcome. *Transplantation*. 2003;75:1034-40.

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;79:591-8.

2. Objetivos

2.1. Objetivo primário

Comparar a sobrevida do enxerto renal em receptores que apresentam anticorpos anti-HLA pré-formados específicos contra o doador (DSA) com receptores sem estes anticorpos em uma amostra de pacientes submetidos a transplante renal na Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA) no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2012, com acompanhamento até junho de 2016.

2.2. Objetivos secundários

Determinar a sobrevida do enxerto e do paciente receptor de rim com e sem anticorpo anti-HLA pré-formado específico contra o doador.

Avaliar a influência do somatório da intensidade da fluorescência média (MFI) dos anticorpos na sobrevida do enxerto.

Comparar a incidência cumulativa de episódios de rejeição celular e humoral entre os receptores com e sem anticorpos no primeiro ano após o transplante e durante o tempo total de acompanhamento.

3. Artigo científico redigido em inglês

IMPACT OF PREFORMED ANTI-HLA ANTIBODIES ON KIDNEY TRANSPLANTATION OUTCOME

Cynthia Keitel da Silva^{1,2}, Gisele Meinerz^{1,2}, Rosana Mussoi Bruno^{2,3}, Jamile Abud⁴, Juliana Montagner⁴, Damaris Mikaela Balin Dorsdt³, Andre Kohatsu Coutinho³, Jorge Neumann⁴, Valter Duro Garcia², Elizete Keitel^{1,2,3}

¹ Post Graduation Program in Pathology, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

² Department of Nephrology and Kidney Transplantation, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

³ Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

⁴ Transplant Immunology Laboratory, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

A ser submetido à Transplantation

Abstract

Background: Kidney transplantation is the treatment of choice for most chronic kidney disease patients. The presence of pre-transplant donor specific anti-HLA antibodies (DSA) can be an important factor for the long-term graft survival. Flow cytometry and Luminex Single Antigen Beads are highly sensitive methods for DSA detection, but it is not clear if low titers of antibodies identified through those techniques are clinically relevant. Previous studies have shown conflicting results.

Methods: retrospective analyses of a cohort of adult kidney transplants performed from January 2009 to December 2012, with follow up until June 2016.

Results: 634 kidney transplants were included in the analyses, four of those were combined with pancreas, 465 (73.3%) from deceased donors, 28.1% of those were considered expanded criteria - ECD (UNOS). 68.7% had PRA above zero and 14.3% had, at least, one DSA. Death censored graft survival at 5 years was inferior in the DSA group (73.2% vs. 89.4% in non-DSA group; $p < 0.0001$). DSA impacted significantly in ECD (60.9% with DSA vs. 84.3% without DSA; $p = 0.028$) and standard criteria donors - SCD (80.7% with DSA vs. 90.3% without DSA; $p = 0.046$). There was no difference in patient survival.

Conclusions: these data suggest a negative impact of preformed DSA on the graft survival and aware us for the risks of kidney transplantation in those recipients, especially with expanded criteria donors.

Introduction

Kidney transplantation is the treatment of choice for most chronic kidney disease patients. It is associated with an increased patient survival and better quality of life (1).

There have been advances in organ preservation, surgical techniques, immunosuppressive medications, identification and treatment of rejection and infections in the last decades, improving graft survival (2).

Controlling the immunological response is a key factor for a successful kidney transplant (3). The HLA system is highly involved immune reaction against the kidney graft, and the identification of these antigens was a major step in understanding the importance of donor and recipient compatibility (4, 5).

In the last 40 years there have been advances in the cross match techniques with the development of more sensitive methods, such as flow cytometry (6). Recently, the solid-phase assays have allowed a more precise identification of anti-HLA antibodies (7, 8).

There is a historical discussion over which component of the immune response is more important in the rejection process, cells or antibodies. Although there is not a definite answer, there are growing evidences pointing to the important role of the antibodies on the failing graft (9). A variety of studies have shown controversial results regarding the presence of donor specific antibodies (DSAs) identified through modern techniques and their

association with rejection episodes (10-12). This association is especially questionable when those antibodies are identified at low levels (13, 14).

The aim of this study was to evaluate the impact of preformed DSA in patient and graft survival.

Patients and Methods

We retrospectively evaluated a cohort of adult recipients of kidney or combined kidney and pancreas transplants between January 2009 and December 2012 at our Institution, with follow-up until June 2016. We excluded from the analysis recipients of solid organs transplants, other than pancreas, combined with kidney and those with a follow-up shorter than one month. The study was approved by the local Ethical Committee.

Data collected for the analysis included clinical and demographic characteristics, immunosuppressive treatment, calculated panel reactive antibodies (cPRA), presence of preformed DSA, type of donor, occurrence of rejection episodes.

We evaluated the recipients pre-transplant cPRA and classified them as zero (0%), low (1-49%), intermediate (50-79%) and high (>80%). Pre-transplant anti-HLA antibodies were identified and considered DSA when they were at least 1000 MFI. DSA intensity was divided into 3 levels: 1000-2000, 2001-5000 and above 5000 MFI, considering the higher intensity for each patient. HLA phenotyping did not include subtypes C and DQ for about 38%

of deceased donors, since we receive organs from various centers that do not perform this evaluation.

PRA calculation was based on the HLA profile on over 2,000 real deceased donors in our region and on the antibodies detected on the solid-phase single antigen beads (One Lambda) assay in a Luminex platform. The cPRA was expressed in percentages and the individual antibodies in mean fluorescence intensity (MFI).

Crossmatching was performed by complement-dependent lymphocytotoxicity (CDC) and flow cytometry. Deceased donors were categorized as standard or expanded criteria, according to UNOS classification (15). Delayed graft function (DGF) was defined as need of dialysis in the first postoperative week.

Our immunosuppressive protocol includes induction therapy for all deceased donor recipients. Thymoglobulin is the preferred induction drug in patients with any DSA level or with cPRA >50%, and is also used if cold ischemia time is estimated to be >24h. Basiliximab is the choice in the remaining. Living donor transplants do not receive induction therapy, except in DSA presence or in a donor with more than 3 HLA mismatches. Maintenance immunosuppression generally includes a calcineurin inhibitor, an anti-proliferative and steroids.

Rejection episodes were for-cause biopsy proven and classified according to 2007 Banff criteria (16). Borderline infiltrates were not

considered as rejection episodes for the analyses. Cellular mediated rejection (TCMR) episodes were treated with methylprednisolone or thymoglobulin, according to Banff grade or steroid resistance. Antibody mediated rejection (AMR) episodes were treated with every other day plasmapheresis and subsequent intravenous immunoglobulin completing a total of 10 sessions.

Statistical analysis: non-normal quantitative variables are presented as median and minimum-maximum or interquartile range (IQR) 25-75 and compared using non-parametric tests. Normal quantitative variables are shown as mean and standard deviation and compared by parametric test. Qualitative variables are presented as numbers and percentages and compared using Fisher's exact test. All tests were two sided, and $p < 0.05$ was considered statistically significant. Graft and patient survival were analyzed using Kaplan-Meier method, and significant values were determined by *log rank* test. To estimate the survival difference magnitude we used Cox proportional hazards model, with confidence interval (CI) 95%. The associations of donor, recipient, transplant parameters and immunological factors with graft loss were assessed in univariate regression analyses. The factors identified in these analyses with a $p < 0.25$ were then included in a final multivariate model using backward selection. Graft loss was defined as return to dialysis, censored by death with a functioning graft. All the analyses were made with SPSS® version 20.

Results

During the study period 857 adult kidney transplants were performed. We excluded from the analysis 223 patients: 125 pediatric transplants, 20 recipients of other solid organs except pancreas, 21 never functioning grafts, 28 graft losses within the first month and 29 for insufficient immunological data.

The clinical and demographic characteristics of the 634 patients are presented in Table 1. Preformed DSAs were identified in 91 (14.3%) patients, 42 (46.1%) were against HLA class I (A, B, C) and 64 (70.3%) against class II (DR, DQ, DP). The DSA group had a higher proportion of female patients (60.4% vs. 40.1%, $p < 0.0001$), recipients of a second transplant (20.9% vs. 5.7%, $p < 0.0001$), received more induction therapy (93.4% vs. 64.2%; $p < 0.001$) and had higher incidence of positive flow B cell crossmatching (24.2% vs. 0.7%, $p < 0.0001$).

There were 436 recipients (68.7%) with PRA class I or class II above zero, 11.4% of them with PRA > 80%.

The cumulative incidence of acute rejection episodes in the first year was 24.1% vs. 31.4% in the DSA and non-DSA groups, respectively ($p = 0.19$). There were 230 acute rejection episodes during the total follow-up, 213 (92.6%) TCMR and 17 (7.4%) AMR, without differences between DSA and non-DSA groups (29.7% vs. 34.3% for TCMR and 4.4% vs. 2.4% for AMR, respectively; $p = 0.42$).

Table 2 shows the analysis of potential risk factors for TCMR and AMR. Prolonged ischemia time and delayed graft function were associated with an increased risk of rejection episodes. DGF was associated with rejection episodes within the first month after transplantation (79.2% vs. 59.1% rejection episodes in patients with and without DGF, respectively; $p=0.008$). Flow crossmatch positive recipients were more likely to receive lymphocyte-depleting agents (thymoglobulin) for induction therapy than flow crossmatch negative recipients. All recipients were CDC crossmatch negative.

The univariate analyses of risk factors for acute rejection episodes demonstrated association with ECD (HR 2.05 95%CI 1.45-2.89; $p<0.001$), DGF (HR 2.16 95%CI 1.58-2.90; $p < 0.001$), 4 mismatches in locus A/B (HR 2.38 95%CI 1.28-4.45; $p = 0.006$), one and two mismatches in DR (HR 1.43 95%CI 1.05-1.93; $p=0.02$ and HR 2.10 95%CI 1.42-3.09; $p< 0.001$, respectively), PRA class I 1-49% (HR 1.57 95%CI 1.19-2.08; $p = 0.001$), PRA class II of 1-49% (HR 1.60 95%CI 1.21-2.13; $p=0.001$), positive flow crossmatch (HR 1.89 95%CI 1.02-3.49; $p=0.04$), no induction therapy (HR 0.46 95%CI 0.34-0.62; $p<0.001$) and class I and class II DSA sum above 5000 MFI (sum of all identified DSA) (HR 1.83 95%CI 1.02-3.30; $p=0.04$) (table not shown).

The multivariate analyses associated rejection episodes with one or two mismatches in DR (HR 1.76 95% CI 1.20-2.57; $p=0.004$ and HR 2.14

95% CI 1.36-3.38; $p=0.001$, respectively) and DGF (HR 2.06 95% CI 1.50-2.83; $p<0.001$) (table not shown).

From the 17 cases of AMR, nine (52.9%) occurred after the first year of follow-up. Five cases were from non-adherent patients, and one patient had low levels of immunosuppression due to recurrent vomiting associated with diabetic gastroparesis.

Median post-transplant follow-up was 53 (IQR 42-69) months.

Patient survival was not statistically different between DSA and non-DSA groups at one (93.2% vs. 94.1%), three (93.2% vs. 90.1%) and five years (89.5% vs. 88.8%) post-transplant, respectively ($p=0.5$).

Death censored graft survival at 5 years was inferior in the DSA group (73.2% vs. 89.4% in non-DSA group; $p<0.0001$) (Figure 1). Stratifying by source of donor the presence of DSA impacted significantly in ECD (60.9% with DSA vs. 84.3% without DSA; $p = 0.028$) and SCD (80.7% vs. 90.3%, $p=0.046$). Among living donors it was observed a trend towards a lower survival but did not reach statistical significant difference (71.8% vs. 90.6%, $p=0.051$) (Figure 2).

The univariate analyses of risk factors for graft loss (table 3) demonstrated an association with expanded criteria donor, presence of DSA, class II PRA above 80% and acute rejection episodes (TCMR or AMR).

In the multivariate analyses, presence of DSA and acute rejection episodes were associated with an increased risk of graft failure (table 4).

Patients with DSA MFI sum above 5000 (class I and class II) had significantly inferior graft survival at one year compared with DSA MFI sum between 1000 and 5000 and with patients without DSA (86.3% vs. 90.2% vs. 91.4%, respectively, $p=0.041$).

Analyzing the 26 patients with a positive flow B cell cytometry crossmatch, 17 had DSA sum above 5000, 5 between 1000 and 5000 and 4 had no DSA. Graft loss was observed only in 5 patients, all of them with DSA sum above 5000 and occurring after the first year post transplantation.

When comparing DSA and flow crossmatch we found the negative impact of DSA presence in graft survival despite of flow result. The 5 year graft survival was inferior in recipients with DSA and flow negative crossmatch (DSA: 72.2% vs non-DSA: 89.3%, $p=0.002$). DSA and positive crossmatch the difference did not reach significance (DSA: 74.8%, vs non-DSA: 100%; $p=0.352$), probably due to small number.

There were 20 graft failures in the DSA group (21.9%), 11 (55%) from immunological causes (7 acute rejections and 4 chronic allograft nephropathy), 6 from infections (2 BK virus and 4 recurrent pyelonephritis), one from multiple myeloma. In the non-DSA group, there were 57 (10.4%) graft failures, 24 (42.1%) from immunological causes.

Discussion

In our cohort of 634 kidney transplant recipients, 91 (14.3%) presented preformed DSA, which is similar to other studies (6.7 to 14%) (11, 14, 17-21). The majority of DSA were directed against HLA class II (53.8%). We also found a higher prevalence of sensitized patients, with PRA class I or II above zero (68.7%) compared to other authors, that reported values around 20-25% (18, 21). We did not have all donors HLA C and DQ phenotyping, since we receive organs from different centers in Brazil which do not perform this testing. This could have underestimated our DSA detection.

The association of DSA and rejection episodes is well documented, with some authors finding increased risk of AMR but not for TCMR (17, 19, 22), especially with higher MFI levels (10, 21). One study found higher incidence of both types of rejection (18). In our study, the presence of pre-transplant DSA was not associated with an increased risk of overall acute rejection episodes, probably because of our intensive induction immunosuppressive protocol in recipients with DSA or high PRA, and higher maintenance immunosuppressive levels in patients of elevated immunological risk.

There was also an association of rejection episodes in the first month after transplantation and DGF. It could be argued that there was no difference in rejection episodes overall between DSA and non-DSA groups due to the elevated number of rejection diagnosis in the initial post-transplant period,

possibly representing inflammatory infiltrates related to acute tubular necrosis. We did not include *de novo* DSA formation in our analyses, and it must be noted that the presence of these antibodies could be the unaccounted cause of some rejection episodes.

Acute rejection episodes were associated with DGF and mismatches in HLA DR locus in the multivariate analysis. Our incidence of DGF, as in other Brazilian centers (23), is higher than other Countries (20,24); this may have contributed to the increased overall incidence of acute rejection episodes. Wissing *et al.* demonstrated that DGF increased acute rejection episodes in more than 2-fold, although with borderline significance. They also demonstrated that a higher number of HLA mismatches independently predicted acute rejection episodes (OR 1.65 for each increase in the number of mismatches; 95% CI: 1.15 to 2.38; $p = 0.007$), and that episodes occurring in the first year after transplantation were associated with a significant reduction in death-censored graft survival (63.5% vs. 91.2%; $p < 0.0001$) (24).

We found an elevated rate of late AMR, often associated with non-adherence and low levels of immunosuppression. This is in accordance with the findings of Gupta *et al.*, that evaluated 23 patients with late AMR, 20 of them with reduced immunosuppression before the onset of rejection (17% for nonadherence and 69% for clinical recommendation) (25).

Our study did show the deleterious effects of preformed DSA on graft survival, with marked reduction in 5-years follow-up, which is in accordance to

other studies (10-12, 14), even with low MFI levels (19). Malheiro *et al.* demonstrated a reduction in graft survival only in patients with DSA and AMR (68.8%), compared with patients with DSA and no AMR (96.0%) and those without DSA (94.9%) (21). Graft losses were mainly attributed to immunologic causes and infections that could be consequences of direct antibody effects and adverse events related to the immunosuppression.

Recipients of kidneys from extended criteria donors (ECD) with DSA had even worse graft survival (60.9% in 5 years), showing that the immunological risk can cause more damage to an older graft, as recently discussed by Aubert *et. al*, that found a 4.4-fold increase risk of graft loss compared with recipients of ECD without DSA and a 5.6-fold increase risk compared with all other transplants (20).

We did not discuss HLA matching at the epitope level because this technique was not available at our laboratory during the study. Epitope-based HLA compatibility has been recently studied and promises to be an important approach to identify acceptable mismatches for sensitized patients (26,27).

Although it has the limitations inherent to retrospective analyses, the strengths of this study are the large patient number and long follow up period.

Conclusions

In conclusion our study shows that the presence of pre-transplant DSA can have deleterious effects on the kidney allograft, especially from expanded

deceased donors. The immunosuppression needed to overcome the immunologic damage of those antibodies can increase the risk of infections and toxic effects to the patient and the graft. It is important to identify those antibodies prior to transplantation and balance the risks and benefits of the procedure in an individual basis.

References

1. Wong G, Howard K, Chapman JR, Chadban S, Cross N et al. Comparative survival and economic benefits of deceased donor kidney transplantation and dialysis in people with varying ages and co-morbidities. *PLoS ONE*. 2012;7:e29591.
2. Tolkoff-Rubin N. Treatment of irreversible renal failure. In: Goldman: Cecil Medicine. 24th ed. Philadelphia: Saunders, 2012. p. 818-826.
3. Sayegh MH, Chandraker A. Transplantation immunobiology In: Brenner and Rector's: The Kidney. 9th ed. Philadelphia: Saunders, 2012. p. 2468-2494.
4. Terasaki PI, Marchioro TL, Starzl TE. Sero-typing of human lymphocyte antigens: preliminary trials on long-term kidney homograft survivors. In: Russel PS and Winn HJ, editors. Histocompatibility Testing. Conference on Histocompatibility Testing; 1964 June 7-12; Washington. Washington: National Academy of Sciences; 1965. p. 83-96.
5. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med*. 1969;280(14):735-9.
6. Tait BD, Susal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary AA, Claas FH, et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation*. 2013;95(1):19-47.
7. Pei R, Lee JH, Shih NJ, Chen M, Terasaki PI. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Transplantation*. 2003;75(1):43-9.
8. El-Awar N, Lee J, Terasaki PI. HLA antibody identification with single antigen beads compared to conventional methods. *Hum Immunol*. 2005;66(9):989-97.
9. Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant*. 2003;3:665-73.
10. Gloor JM, Winters JL, Cornell LD, Fix LA, DeGoey SR, Knauer RM, et al. Baseline donor-specific antibody levels and outcomes in positive crossmatch kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2010;10(3):582-9.
11. Fidler SJ, Irish AB, Lim W, Ferrari P, Witt CS, Christiansen FT. Pre-transplant donor specific anti-HLA antibody is associated with antibody-mediated rejection, progressive graft dysfunction and patient death. *Transpl Immunol*. 2013;28(4):148-53.
12. Hoshino J, Everly MJ, Kaneku H, Ubara Y, Takaichi K, Terasaki PI. Impact of the presence and duration of donor-specific antibodies on renal function. *Transplant Proc*. 2014;46(1):75-80.
13. Aubert V, Venetz JP, Pantaleo G, Pascual M. Low levels of human leukocyte antigen donor-specific antibodies detected by solid phase assay

before transplantation are frequently clinically irrelevant. *Hum Immunol.* 2009;70:580-3.

14. Willicombe M, Brookes P, Santos-Nunez E, Galliford J, Ballow A, McLean A, et al. Outcome of patients with preformed donor-specific antibodies following alemtuzumab induction and tacrolimus monotherapy. *Am J Transplant.* 2011;11(3):470-7.

15. Metzger RA, Delmonico FL, Feng S, Port FK, Wynn JJ, Merion RM. Expanded criteria donors for kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2003;3(Suppl. 4):114-25.

16. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant.* 2008;8(4):753-60.

17. Lefaucheur C, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, Nochy D, Andrade J, Antoine C, et al. Clinical relevance of preformed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2008;8(2):324-31.

18. Caro-Oleas JL, Gonzalez-Escribano MF, Gentil-Govantes MA, Acevedo MJ, Gonzalez-Roncero FM, Blanco GB, et al. Clinical relevance of anti-HLA donor-specific antibodies detected by Luminex assay in the development of rejection after renal transplantation. *Transplantation.* 2012;94(4):338-44.

19. Wu P, Jin J, Everly MJ, Lin C, Terasaki PI, Chen J. Impact of alloantibody strength in crossmatch negative DSA positive kidney transplantation. *Clin Biochem.* 2013;46(15):1389-93.

20. Aubert O, Kamar N, Vernerey D, Viglietti D, Martinez F, Duong-Van-Huyen JP, et al. Long term outcomes of transplantation using kidneys from expanded criteria donors: prospective, population based cohort study. *BMJ.* 2015;351:h3557.

21. Malheiro J, Tafulo S, Dias L, Martins LS, Fonseca I, Beirao I, et al. Analysis of preformed donor-specific anti-HLA antibodies characteristics for prediction of antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Transpl Immunol.* 2015;32(2):66-71.

22. Tsapepas DS, Vasilescu R, Tanriover B, Coppleson Y, Rekhman Y, Hardy MA, et al. Preformed Donor-Specific Antibodies and Risk of Antibody-Mediated Rejection in Repeat Renal Transplantation. *Transplantation.* 2013;1.

23. Helfer MS, Vicari AR, Sculdaro F, Gonçalves LF, Manfro RC. Incidence, risk factors, and outcomes of delayed graft function in deceased donor kidney transplantation in a Brazilian center. *Transplant Proc.* 2014;46(6):1727-29.

24. Wissing KM, Fomegne G, Broeders N, Ghisdal L, Hoang AD, Mikhalski D, et al. HLA mismatches remain risk factors for acute kidney allograft rejection in patients receiving quadruple immunosuppression with anti-interleukin-2 receptor antibodies. *Transplantation.* 2008;85(3):411-6.

25. Gupta G, Jawdeh BGA, Racusen LC, Bhasin B, Arend LJ, Trollinger B, et al. Late Antibody-Mediated Rejection in Renal Allografts: Outcome After Conventional and Novel Therapies. *Transplantation*. 2014;97(12):1240-6.
26. Duquesnoy RJ. HLA epitope based matching for transplantation. *Transplant Immunol*. 2014;31:1-6.
27. Liu P, Souma T, Wei AZ, Xie X, Luo X, Jin J. A novel method for anti-HLA antibody detection using personalized peptide arrays. *Transplantation direct*. 2016;2(11):e109.

Table 1. Baseline characteristics and transplant outcomes according to DSA status

| | All patients (n = 634) | DSA group (n = 91) | Non-DSA group (n = 543) | p |
|----------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------------|---------|
| Age, years (min-max) | 47 (18-80) | 46 (18-69) | 48 (18-80) | 0.34 |
| Female Gender (%) | 273 (43.1) | 55 (60.4) | 218 (40.1) | <0.0001 |
| Caucasian (%) | 338/402 (84.1) | 46/59 (78.0) | 292/343 (85.3) | 0.28 |
| Cause of ESRD (%) | | | | 0.36 |
| GN | 76 (11.9) | 9 (9.9) | 67 (12.3) | |
| DM | 88 (13.8) | 14 (15.3) | 74 (13.6) | |
| Hypertension | 102 (16.0) | 10 (10.9) | 92 (16.9) | |
| Other | 368 (58.0) | 58 (63.7) | 310 (57.1) | |
| Transplant number (%) | | | | <0.0001 |
| 1 | 579 (91.3) | 69 (75.8) | 510 (93.9) | |
| 2 | 50 (7.9) | 19 (20.9) | 31 (5.7) | |
| 3 | 3 (0.5) | 2 (2.2) | 1 (0.2) | |
| 4 | 2 (0.3) | 1 (1.1) | 1 (0.2) | |
| Type of donor (%) | | | | 0.77 |
| SCD | 287 (45.3) | 41 (45.1) | 246 (45.3) | |
| ECD | 178 (28.1) | 28 (30.8) | 150 (27.6) | |
| Living | 169 (26.7) | 22 (24.1) | 147 (27.1) | |
| CIT* (%) | | | | 0.002 |
| <12h | 13/450 (2.9) | 1/64 (1.6) | 12/386 (3.1) | |
| 12-24h | 226/450 (50.2) | 20/64 (31.3) | 206/386 (53.4) | |
| >24h | 211/450 (46.9) | 43/64 (67.2) | 168/386 (43.5) | |
| DGF** (%) | 214/336 (63.7) | 38/54 (70.4) | 176/282 (62.4) | 0.28 |
| HLA mismatch, median (IQR) | | | | |
| Class I (A, B) | 2 (2-3) | 2 (1-3) | 2 (2-3) | 0.02 |
| Class II (DR) | 1 (0-1) | 1 (0-1) | 1 (0-1) | 0.07 |
| PRA class I (%) | | | | < |
| 0 | 282 (44.5) | 10 (11.0) | 272 (50.1) | 0.0001 |
| 1-49 | 281 (44.3) | 46 (50.5) | 235 (43.3) | |
| 50-79 | 38 (6.0) | 19 (20.9) | 19 (3.5) | |
| > 80 | 33 (5.2) | 16 (17.6) | 17 (3.1) | |
| PRA class II (%) | | | | < |
| 0 | 314 (49.5) | 10 (11.0) | 304 (56.0) | 0.0001 |
| 1-49 | 265 (41.8) | 42 (46.2) | 223 (41.1) | |
| 50-79 | 31 (4.9) | 20 (22.0) | 11 (2.0) | |
| > 80 | 24 (3.8) | 19 (20.8) | 5 (0.9) | |
| DSA quantity (%) | 91 (14.2) | | | |
| 1 | | 63 (69.2) | | |
| 2 | | 19 (20.9) | | |
| 3 | | 6 (6.6) | | |
| 4 | | 3 (3.3) | | |
| DSA Class (%) | | | | |
| Class I (A ± B ± C) | | 27 (29.7) | | |
| Class II (DR ± DQ) | | 49 (53.8) | | |
| Class I and II | | 15 (16.5) | | |

| | | | | |
|-------------------------------------|----------------|--------------|----------------|--------------|
| DSA class I highest MFI (%) | | | | |
| 1000-2000 | | 21/42 (50.0) | | |
| 2001-5000 | | 16/42 (38.1) | | |
| > 5000 | | 5/42 (11.9) | | |
| DSA class II highest MFI (%) | | | | |
| 1000-2000 | | 28/64 (43.8) | | |
| 2001-5000 | | 18/64 (28.1) | | |
| > 5000 | | 18/64 (28.1) | | |
| Induction Therapy | | | | <0.0001 |
| Anti-CD25 | 280/434 (64.5) | 22/85 (25.9) | 258/349 (73.9) | |
| ATG | 149/434 (34.3) | 58/85 (68.2) | 91/349 (26.1) | |
| R+PP | 1/434 (0.2) | 1/85 (1.2) | 0 | |
| ATG+IVIg+PP | 4/434 (0.9) | 4/85 (4.7) | 0 | |
| Positive crossmatch | 26 (4.1) | 22 (24.2) | 4 (0.7) | < 0.0001 |
| Rejection (%) | | | | |
| No rejection | 404 (63.7) | 60 (65.9) | 344 (63.4) | 0.42 |
| TCMR | 213 (33.6) | 27 (29.7) | 186 (34.3) | |
| AMR | 17 (2.7) | 4 (4.4) | 13 (2.3) | |
| Death (%) | 66 (10.3) | 7 (7.7) | 59 (10.7) | 0.49 |
| Graft loss (%) | 77 (12.1) | 20 (22.0) | 57 (10.5) | 0.005 |
| Median follow-up, mo (IQR) | 53 (42-69) | 48 (30-60) | 54 (43-70) | 0.004 *** |

ESRD: end stage renal disease. GN: glomerulonephritis. DM: diabetes mellitus.

SCD: standard criteria donor. ECD: extended criteria donor.

CTI: cold ischemia time. * Data available from 450 patients (of 465 deceased donors)

DGF: delayed graft function. ** Data available from 336 patients (of 465 deceased donors).

HLA: human leucocyte antigen. DSA: donor specific antibody.

Induction: Anti-CD25=basiliximab or dactilizumab. ATG = antithymocyte globulin.

R+PP = rituximab+plasmapheresis. ATG+IVIg+PP = ATG + Intravenous immunoglobulin + plasmapheresis.

TCMR: T-cell mediated rejection. AMR: antibody mediated rejection

IQR: interquartile range 25-75 *** Mann-Whitney U test

Table 2. Factors associated with rejection

| | No rejection N = 404 | TCMR N = 213 | AMR N = 17 | p |
|----------------------------|-------------------------|-----------------|---------------|-------|
| Female Gender (%) | 182 (45.0) | 82 (38.5) | 9 (52.9) | 0.20 |
| Type of donor (%) | | | | 0.11 |
| SCD | 191 (47.3) | 87 (40.8) | 9 (52.9) | |
| ECD | 101 (25.0) | 74 (34.7) | 3 (17.6) | |
| Living | 112 (27.7) | 52 (24.4) | 5 (29.4) | |
| CIT* | | | | 0.015 |
| <12h | 8/284 (2.8) | 5/156 (3.2) | 0 | |
| 12-24h | 156/284 (54.9) | 69/156 (44.2) | 1/10 (10.0) | |
| >24h | 120/284 (42.3) | 82/156 (52.6) | 9/10 (90.0) | |
| DGF ** | 116/208 (55.8) | 91/119 (76.5) | 7/9 (77.8) | 0.001 |
| PRA class I (%) | | | | 0.02 |
| 0 | 178 (44.1) | 99 (46.5) | 5 (29.4) | |
| 1-49 | 169 (41.8) | 102 (47.9) | 10 (58.8) | |
| 50-79 | 28 (6.9) | 8 (3.8) | 2 (11.8) | |
| > 80 | 29 (7.2) | 4 (1.9) | 0 | |
| PRA class II (%) | | | | 0.98 |
| 0 | 199 (49.3) | 108 (50.7) | 7 (41.1) | |
| 1-49 | 169 (41.8) | 88 (41.3) | 8 (47.1) | |
| 50-79 | 21 (5.2) | 9 (4.2) | 1 (5.9) | |
| > 80 | 15 (3.7) | 8 (3.8) | 1 (5.9) | |
| DSA presence (%) | 60 (14.9) | 27 (12.7) | 4 (23.5) | 0.42 |
| DSA amount (%) | | | | 0.69 |
| 1 | 40 (66.7) | 19 (70.4) | 4 (100) | |
| 2 | 15 (25.0) | 4 (14.8) | 0 | |
| 3 | 3 (5.0) | 3 (11.1) | 0 | |
| 4 | 2 (3.3) | 1 (3.7) | 0 | |
| DSA Class (%) | | | | 0.68 |
| Class I | 18 (30.0) | 8 (29.6) | 1 (25.0) | |
| Class II | 30 (50.0) | 16 (59.3) | 3 (75.0) | |
| Class I and II | 12 (20.0) | 3 (11.1) | 0 | |
| Positive crossmatch | 15 (3.7) | 9 (4.2) | 2 (11.8) | 0.25 |
| Induction | | | | 0.005 |
| Anti-CD25 | 160/273 (58.7) | 117/151 (77.5) | 3/10 (30.0) | |
| ATG | 109/273 (39.8) | 33/151 (21.9) | 7/10 (70.0) | |
| R+PP | 1/273 (0.4) | 0 | 0 | |
| ATG+IVIg+PP | 3/273 (1.1) | 1/151 (0.7) | 0 | |

TCMR: T-cell mediated rejection

AMR: antibody mediated rejection

SCD: standard criteria donor. ECD: extended criteria donor.

CTI: cold ischemia time. * Data available from 450 patients (of 465 deceased donors)

DGF: delayed graft function. ** Data available from 336 patients (of 465 deceased donors).

DSA: donor specific antibody.

Induction: Anti-CD25 = basiliximab or dactulizumab. ATG = antithymocyte globulin. R+PP = rituximab+plasmapheresis. ATG+IVIg+PP = ATG + Intravenous immunoglobulin + plasmapheresis.

Table 3. Factors associated with graft loss in univariate analyses

| | No of patients/ events | Hazard ratio (95% CI) | p |
|---------------------------|------------------------|-----------------------|-------|
| Age | 634/77 | 0.99 (0.98 to 1.01) | 0.70 |
| Gender | | | |
| Female | 273/40 | 1 | |
| Male | 361/37 | 1.49 (0.95 to 2.33) | 0.081 |
| Type of donor | | | |
| Living | 169/19 | 1 | |
| SCD | 287/27 | 0.94 (0.52 to 1.70) | 0.86 |
| ECD | 178/31 | 1.95 (1.10 to 3.46) | 0.022 |
| Cold ischemia time | | | |
| <12h | 13/17 | 1 | |
| 12-24h | 226/20 | 1.42 (0.19 to 10.63) | 0.73 |
| >24h | 211/35 | 3.04 (0.41 to 22.43) | 0.27 |
| DGF | | | |
| No | 122/20 | 1 | |
| Yes | 214/26 | 1.37 (0.67 to 2.80) | 0.38 |
| HLA mismatch | | | |
| Class I (A and B) | | | 0.43 |
| 0 | 41/6 | 1 | |
| 1 | 97/8 | 0.56 (0.19 to 1.63) | |
| 2 | 206/20 | 0.71 (0.28 to 1.72) | |
| 3 | 161/19 | 0.90 (0.35 to 2.26) | |
| 4 | 109/19 | 1.45 (0.57 to 3.67) | |
| Class II (DR) | | | 0.34 |
| 0 | 232/23 | 1 | |
| 1 | 280/35 | 1.25 (0.73 to 2.11) | |
| 2 | 100/12 | 1.39 (0.69 to 2.81) | |
| DSA | | | |
| No | 543/57 | 1 | |
| Yes | 91/20 | 2.41 (1.44 to 4.03) | 0.001 |
| DSA number | | | |
| 0 | 543/57 | 1 | |
| 1 | 63/14 | 2.40 (1.33 to 4.31) | 0.003 |
| ≥2 | 28/6 | 2.45 (1.05 to 5.69) | 0.037 |
| PRA Class I | | | |
| 0 | 282/34 | 1 | |
| 1-49% | 281/31 | 1.02 (0.62 to 1.67) | 0.91 |
| 50-79% | 38/5 | 1.10 (0.43 to 2.83) | 0.83 |
| >80% | 33/7 | 2.22 (0.98 to 5.04) | 0.056 |
| PRA Class II | | | |
| 0 | 314/33 | 1 | |
| 1-49% | 265/35 | 1.47 (0.91 to 2.39) | 0.11 |
| 50-79% | 31/3 | 1.09 (0.33 to 3.57) | 0.88 |
| >80% | 24/6 | 2.94 (1.22 to 7.06) | 0.015 |
| Cross match | | | |
| Negative | 608/72 | 1 | |
| Positive | 26/5 | 1.92 (0.77 to 4.78) | 0.15 |

| Rejection | | | |
|---------------------------|--------|---------------------|-------|
| No rejection | 404/25 | 1 | |
| Cellular rejection | 213/45 | 3.61 (2.21 to 5.89) | <0.01 |
| Humoral rejection | 17/7 | 7.69(3.31 to 17.85) | <0.01 |

SCD: standard criteria donor. ECD: extended criteria donor.

CTI: cold ischemia time. * Data available from 450 patients (of 465 deceased donors)

DGF: delayed graft function, defined as need of dialysis in the first postoperative week. ** Data available from 336 patients (of 465 deceased donors).

HLA: human leucocyte antigen.

DSA: donor specific antibody.

PRA: panel reactive antibodies

Table 4. Factors associated with graft loss in multivariate analyses

| | Hazard ratio (95% CI) | p |
|---------------------|------------------------------|----------|
| PRA Class I | | |
| 0 | 1 | |
| 1-49% | 0.81 (0.48 to 1.36) | 0.42 |
| 50-79% | 0.81 (0.29 to 2.23) | 0.69 |
| ≥80% | 2.44 (0.98 to 6.06) | 0.054 |
| DSA | | |
| No | 1 | |
| Yes | 2.21 (1.24 to 3.95) | 0.007 |
| Rejection | | |
| No rejection | 1 | |
| TCMR | 3.99 (2.41 to 6.59) | <0.001 |
| AMR | 8.41 (3.53 to 20.03) | <0.001 |

SCD: standard criteria donor. ECD: extended criteria donor.

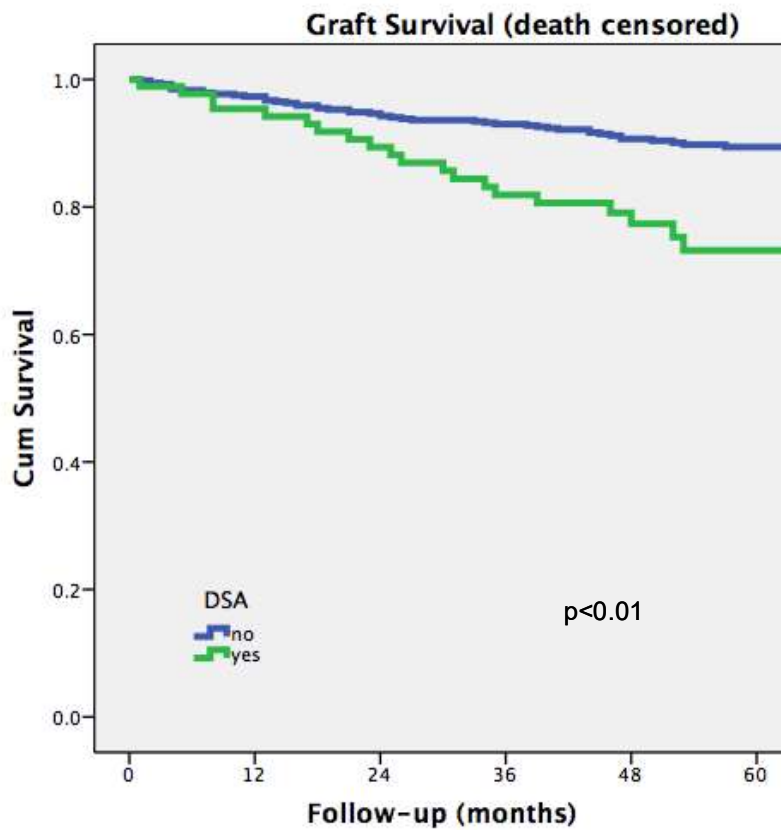
PRA: panel reactive antibodies

DSA: donor specific antibody.

TCMR: T-cell mediated rejection

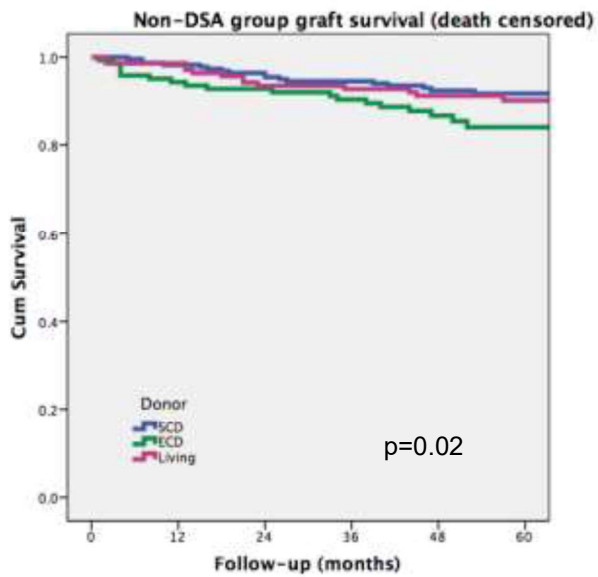
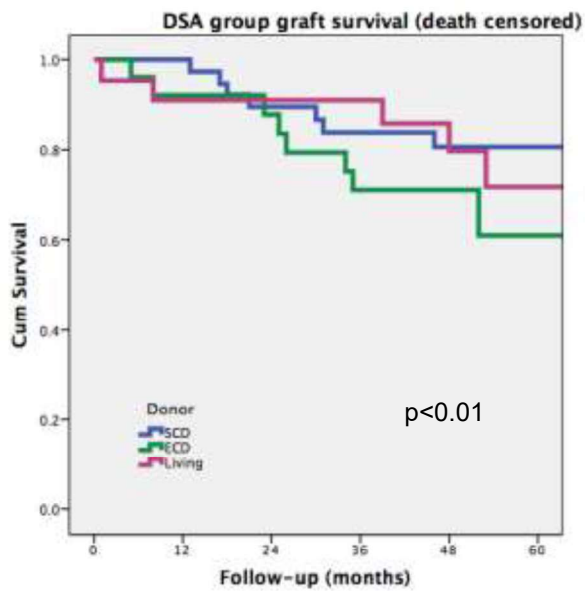
AMR: antibody mediated rejection

Figure 1. Death censored kidney graft survival according to the presence of donor specific antibodies (DSA)



| Time (months) | 12 | 36 | 60 |
|---------------|------|------|------|
| No-DSA group | | | |
| No at risk | 482 | 436 | 209 |
| Survival (%) | 97.3 | 93.0 | 89.4 |
| DSA group | | | |
| No at risk | 80 | 65 | 22 |
| Survival (%) | 95.4 | 81.9 | 73.2 |

Figure 2. Death censored kidney graft survival according to source of donor in DSA group and non-DSA group.



4. Considerações finais

Estudos realizados na última década vem demonstrando a importância dos anticorpos anti-HLA específicos contra o doador na sobrevida do enxerto renal. O avanço nos métodos de identificação desses anticorpos tem sinalizado para a necessidade de estudos que demonstrem qual o impacto desses anticorpos, especialmente aqueles com baixos níveis de fluorescência, já que as técnicas modernas são altamente sensíveis.

Identificar e tentar estabelecer o risco associado a presença desses *DSA* é importante e deve ser individualizado, levando-se em consideração o risco da imunossupressão intensa nesses pacientes.

Esse estudo mostrou o impacto negativo na sobrevida do enxerto renal na presença de *DSA* pré-formado, possibilitando um melhor entendimento dos riscos associados ao transplante nestes receptores, especialmente quando o doador falecido apresenta critérios expandidos.

5. Anexos

5.1. Definição UNOS para doador com critérios expandidos:

Doador falecido com idade superior a 60 anos; ou com idade superior a 50 anos com dois ou mais dos seguintes: história de hipertensão, creatinina mais recente maior ou igual a 1,5mg/dL, ou morte resultante de acidente vascular cerebral (AVC).

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Papel do anticorpo anti-HLA no desfecho do transplante renal

Pesquisador: ELIZETE KEITEL

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 22239813.8.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 512.220

Data da Relatoria: 07/01/2014

Apresentação do Projeto:

Estudo observacional-longitudinal, a ser realizado em 800 pacientes que realizaram transplante renal na Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, no período de agosto de 2008 a dezembro de 2012, para comparar a sobrevida do enxerto renal em receptores que apresentam anticorpos anti-HLA pré-formados e pós-formados contra o doador com pacientes sem estes anticorpos.

Objetivo da Pesquisa:

- Objetivo Primário: Comparar a sobrevida do enxerto renal em receptores que apresentam anticorpos anti-HLA pré-formados e pós-formados contra o doador com pacientes sem estes anticorpos.
- Objetivo Secundário: Determinar a sobrevida do enxerto e do paciente receptor de rim sem anticorpo anti-HLA pré-formado ou pós-formado, específico e não específico, contra o doador; Determinar a sobrevida do enxerto e do paciente receptor de rim com anticorpo anti-HLA pré-formado ou pós-formado, específico e não específico, contra o doador; Avaliar um possível ponto de corte no nível de luminescência na análise de citometria de fluxo onde estes anticorpos determinam piora na sobrevida do enxerto; Determinar a função renal entre os receptores com e sem anticorpos. Avaliar os episódios de rejeição celular e humoral entre os receptores com e sem anticorpos.

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro

CEP: 90.020-090

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571

Fax: (51)3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 512.220

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O pesquisador declara sobre:

- Riscos: Os são riscos são mínimos pela participação pela exposição dos dados dos pacientes.
- Benefícios: Conhecer a população atendida pela Instituição e se possível determinar um ponto de corte no nível de significância destes anticorpos que tenha uma implicação direta com a sobrevivência do enxerto.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O pesquisador declara sobre:

- Critério de Inclusão: Pacientes que realizaram transplante renal na Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA) no período de agosto de 2008 a dezembro de 2012; Idade maior ou igual a 18 anos no momento do transplante renal.
- Critério de Exclusão: Transplante concomitante de outro órgão; Tempo de acompanhamento após o transplante renal inferior a um ano.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram anexados à Plataforma Brasil e estão adequados: Folha de rosto para projetos de pesquisa envolvendo seres humanos, Formulário de inscrição de projetos de pesquisa - CEP da ISCMPA, Orçamento, Termo de compromisso para utilização de dados e prontuários, Declaração de confidencialidade do sujeito no estudo, Declaração de autorização da chefia responsável, Declaração de uso e publicação de dados, Declaração de isenção de ônus à Instituição, Declaração de uso de materiais biológicos e dados coletados, Declaração de riscos e benefícios.

Recomendações:

No documento "Cronograma" anexado em 09/12/2013, a data de início de coleta de dados está definida como 01/03/2013. Adequar este dado para 01/03/2014, conforme está definido na Plataforma Brasil.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não aplicável.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 512.220

Considerações Finais a critério do CEP:

Após avaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 - Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

PORTO ALEGRE, 20 de Janeiro de 2014

Assinador por:
Claudio Teloken
(Coordenador)

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br