



Avaliação da compatibilidade de epítomos HLA e a formação de DSA *de novo* em transplante renal

*Bianca de Oliveira Carvalho*¹

Centro Universitário Academia, Juiz de Fora, MG

*Nathalia Barbosa do Espírito Santo Mendes*²

Centro Universitário Academia, Juiz de Fora, MG

Linha de Pesquisa: Saúde

RESUMO

Acredita-se que os anticorpos anti-HLA específicos contra o doador *de novo* (dnDSA) podem ocorrer devido à presença de determinado número de *mismatches* (MM) de *eplets*. Assim sendo, este estudo teve por objetivo destacar e categorizar a relação entre os *mismatches* de *eplets* (MME), o processo de formação do dnDSA e sua influência na sobrevida do enxerto. Este trabalho foi um estudo de revisão bibliográfica em bases de dados eletrônicos, como SciELO, Science Direct, ResearchGate, PubMed/NCBI, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS/BIREME) e site da ABTO (Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos). Foram avaliados artigos em inglês, português e francês publicados entre os anos de 1999 e 2020. A relação entre os MME e a formação do dnDSA é amplamente discutida e sempre associada ao maior risco de perda do enxerto visto que, em estudo, pacientes sem MME não desenvolveram dnDSA. Acredita-se que, receptores que transplantaram com MM de DQ apresentam 50% mais chances de desenvolverem rejeição, inclusive RMA. Além disso, tem-se destacado que a partir de uma contagem de <7 MM de *eplets* para HLA-DR e 9 para DQ podem ser o suficiente para o desenvolvimento mínimo de dnDSA. A caracterização do HLA do conjunto doador-receptor a partir de seus *eplets* fornece aspectos de incompatibilidade não analisados em exames tradicionais. Por isso, apesar de ainda existirem diversas lacunas de conhecimento que precisam ser abordadas quando se trata da utilização destes métodos, estes têm se mostrado bastante promissores ao que concerne na ampliação da vida-útil dos enxertos renais.

Palavras-chave: Anticorpos Específicos Contra o Doador. *Mismatch* de *Eplet*. Transplante Renal.

¹ Discente do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Academia – UniAcademia. Endereço: Rua Fonseca Hermes, número 72, apart 303, Centro, Juiz de Fora – MG. Celular: (32) 99942-1430. E-mail: bianca6carvalho6@gmail.com

² Docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Academia – UniAcademia. Orientador(a).

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da última década, o transplante renal se firmou como melhor alternativa terapêutica para casos de insuficiência renal crônica terminal (ALVARES, 2011). Isso graças aos progressos da terapia substitutiva associada à terapia imunossupressora que permitiram o aumento considerável da qualidade e sobrevida do enxerto e, por consequência, melhor qualidade de vida dos pacientes (FARIA *et al.*, 2008). Dados da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO), mostram que, entre 2009 a 2019 foram realizados 59.769 transplantes de rim no Brasil. Destes, 44.806 foram realizados com enxerto de doador falecido e, 14.963, com enxerto de doador vivo (aparentado ou não aparentado). Apesar destes números tão expressivos, em dezembro de 2019, havia ainda, no Brasil, 23.630 pacientes ativos na lista de espera para um transplante (ABTO, 2019).

Para que um transplante seja bem sucedido é necessária compatibilidade entre doador e receptor do grupo sanguíneo (Sistema ABO) e dos antígenos leucocitários humanos (HLA, do inglês “human leukocyte antigen”) – grupo de proteínas responsáveis por reconhecer a atividade “não-própria” do organismo e por dar início a diversos tipos de respostas imunológicas, atuando na rejeição do órgão transplantado (LIM *et al.*, 2018, NAKAMURA, 2019).

No entanto, ao contrário de outros transplantes, para o transplante renal, a compatibilidade do HLA não é algo determinante (DUQUESNOY, 2017). Isso ocorre porque o que mais se leva em consideração neste tipo de transplante é a presença de anticorpos anti-HLA específicos contra o doador (DSA, do inglês “donor specific antigen”) (SAPIR-PICHHADZE *et al.*, 2019).

O entendimento assertivo da rejeição mediada por anticorpos (RMA, do inglês “rejection mediated by antibodies”) é, hoje, a maior barreira encontrada pelos grandes centros transplantadores, uma vez que ela é a principal causa de perda de enxerto renal (SAPIR-PICHHADZE *et al.*, 2019). Esse tipo de rejeição (RMA), precoce ou não, acontece devido à presença de DSAs, que podem impedir a realização de um transplante porque, num primeiro momento, aumentam em cerca de 40X o risco de rejeição aguda (ativam o complemento e levam a complicações vasculares e/ou endoteliais), glomerulopatia e perda tardia de enxerto (LIM *et al.*, 2018). Por consequência, pacientes sensibilizados vivenciam maior período de

espera até encontrar doador compatível se comparado com pacientes não-sensibilizados (DUQUESNOY, 2017).

Acredita-se que o aparecimento de DSAs formados após o transplante, chamados DSA *de novo* (dnDSA), podem ocorrer devido à presença de determinado número de *mismatches* de *eplets* (MME), ou seja, com a incompatibilidade de pequenas configurações de resíduos de aminoácidos presentes na molécula de HLA, aspecto este mais específico e menos estudado que a análise de compatibilidade a nível alélico, o mais utilizado até o presente momento (DUQUESNOY, 2017; LIM *et al*, 2017).

Sabendo disso, muito se tem discutido sobre a acuracidade da compatibilidade baseada no antígeno HLA, uma vez que, se for realizada uma análise mais específica – assim como a compatibilidade baseada em epítomos de HLA – os resultados podem ser mais assertivos, o que pode culminar em menor risco de rejeição e consequente perda do enxerto, além da possibilidade de se reduzir a dose medicamentosa de imunossuppressores (DUQUESNOY, 2017; LIM *et al*, 2017; LARKINS *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2020).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho é analisar, com base na literatura, se existe alguma correlação entre o número de *mismatches* de *eplets* e a formação de DSA *de novo* e possível posterior episódio de rejeição ou perda do enxerto renal.

2 METODOLOGIA

Este trabalho consiste em uma pesquisa de revisão bibliográfica, realizada entre Outubro de 2019 e Maio de 2020, através de busca de artigos científicos, monografias, dissertações e teses publicados em português, inglês e francês, entre os anos de 1999 até 2020, nas bases de dados do “Scientific Eletronic Libray Online” (SCieLo), Science Direct, ResearchGate, PubMed/NCBI, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS/BIREME), site da ABTO (Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos).

Utilizando os descritores “anticorpos específicos contra o doador”, “*mismatch* de *eplet*” e “transplante renal” (“donor specific anti-HLA antibodies”, “*eplet mismatch*” e “kidney transplantation”). Após leitura e pré-análise dos textos, chegou-se ao número de 49 que apresentavam informações, dados e experiências relevantes ao tema escolhido, com enfoque nos artigos que trazem informações sobre a possível

correlação do desenvolvimento de DSA *de novo* em pacientes renais transplantados com o número de MME entre o conjunto doador-receptor.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 HLA E O PAPEL NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA

O antígeno leucocitário humano (HLA) desenvolve papel fundamental na regulação da resposta imunológica, quando o organismo se expõe a patógenos e/ou substâncias patogênicas, por meio da apresentação e reconhecimento destes enquanto “próprios” ou “não-próprios” (BUHLER *et al.*, 2012; LIM *et al.*, 2018; LARKINS *et al.*, 2019). O HLA é um complexo gênico localizado no braço curto do cromossomo 6, que possui mais de 200 loci identificados (THE MHC SEQUENCING CONSORTIUM, 1999).

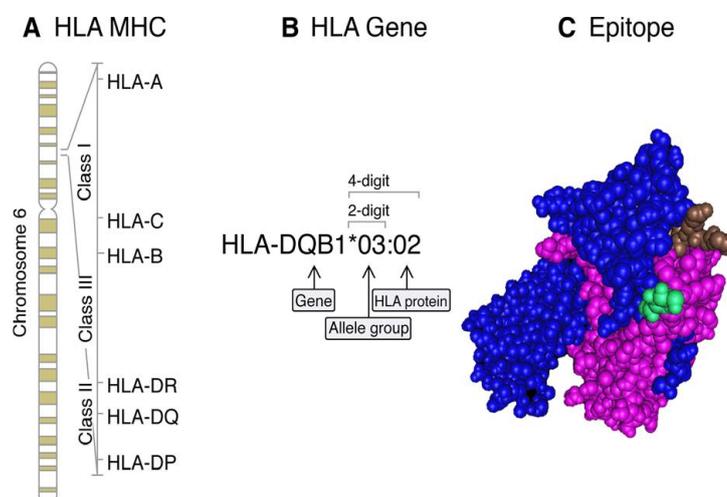
Estes genes codificam um grupo de proteínas de superfícies celulares humanas altamente polimórficas, classificadas como complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês “major histocompatibility complex”) de classe I ou MHC de classe II, apresentando mais de 8.500 alelos publicados (Figura 1) (FABRETI-OLIVEIRA, 2014; DELBOS e CESBRON, 2017; LIM *et al.*, 2018; NILSSON *et al.*, 2019). Se comparada a qualquer outra parte do genoma humano, o MHC é o maior complexo gênico ao qual estão associadas maior número de características fenotípicas e até mesmo doenças (THE MHC SEQUENCING CONSORTIUM, 1999).

Os seres humanos apresentam três proteínas MHC de classe I clássicas (HLA-A, -B e -C), que estão presentes em todas as células nucleadas e cuja função é ligar peptídeos antigênicos processados e apresentá-los aos linfócitos T citotóxicos (ou CD8+), estimulando sua expansão clonal (HOWELL *et al.*, 2010; NEEFJES *et al.*, 2011; BUHLER *et al.*, 2012; LIM *et al.*, 2018, LARKINS *et al.*, 2019). Além destes, temos ainda três antígenos clássicos de classe II (HLA-DR, -DP e -DQ), que estão presentes apenas nas células apresentadoras de antígenos (APC, do inglês “antigen-presenting cell”) – como linfócitos B, macrófagos e células dendríticas, e células endoteliais – cuja função é apresentar peptídeos exógenos para células T auxiliares (ou CD4+), que, por sua vez, também sofrem expansão clonal mediante a

produção de citocinas reguladoras (HOWELL *et al.*, 2010; NEEFJES *et al.*, 2011; BUHLER *et al.*, 2012; LIM *et al.*, 2018, LARKINS *et al.*, 2019).

Além disso, os anticorpos contra antígenos de classe I (A, B e C) apresentam apenas uma cadeia polipeptídica polimórfica α , enquanto a região HLA de classe II possui duas cadeias polimórficas, α e β , e dependendo dos locais, ambas as cadeias podem ser polimórficas (MURPHEY e BINGAMAN, 2012). O lócus HLA -DR é polimórfico apenas na cadeia β , apresentando nomenclatura molecular alélica de DRB1, DRB3/4/5, enquanto o HLA -DQ e -DP são polimórficos nas cadeias α e β , apresentando nomenclatura molecular de DQA1/DQB1 e DPA1/B1 respectivamente (MURPHEY e BINGAMAN, 2012; LIM *et al.*, 2018).

Figura 1: **A** - O complexo HLA presente no braço curto do cromossomo 6, que codifica o MHC de classe I (A, B e C) e classe II (DP, DQ e DR). **B** - A nomenclatura HLA. Cada alelo possui número único, que consiste em sequência de 2 a 4 conjuntos de dígitos separados por dois pontos. Todos os alelos recebem nome com pelo menos 4 dígitos. As letras/números definem o locus/gene, o primeiro campo apresentando o grupo alélico e o segundo a proteína específica de HLA. **C** - Estrutura tridimensional de uma molécula de HLA-DQ em que a porção de aminoácidos rosa compõe a cadeia α -DQ, os aminoácidos azuis cadeia β -DQ, e a marrom representa o peptídeo conectado ao sítio de ligação. O *epit* específico está destacado em azul.



Fonte: NILSSON *et al.*, 2019, p. 2.

Diante do alto nível de polimorfismos e consequente variabilidade do HLA (BUHLER *et al.*, 2012), torna ainda mais difícil a busca por um indivíduo suficientemente compatível para a realização de transplantes de órgãos sólidos e, mais ainda, para transplantes de medula óssea (BUHLER *et al.*, 2012; FABRETI-OLIVEIRA, 2014; FURTUOZO e DIAS, 2019; LARKINS *et al.*, 2019).

No entanto, para o transplante renal a compatibilidade do HLA não é algo determinante, de forma que a tipagem molecular de baixa resolução para antígenos

de classe I é rotineiramente suficiente (MURPHEY e BINGAMAN, 2012; DUQUESNOY, 2017). Isso ocorre porque o fator mais importante a ser considerado é a presença de anticorpos anti-HLA específicos contra o doador (DSA), que é, hoje, a maior barreira encontrada pelos grandes centros transplantadores, representando a principal causa de perda de enxerto renal (DJAMALI *et al.*, 2014; SAPIR-PICHHADZE *et al.*, 2020).

3.2 EPÍTOPOS, *EPLETS* E *MISMATCHES* DE *EPLETS*

Com o avanço da biotecnologia, alguns métodos mais sofisticados foram implementados nas rotinas laboratoriais do transplante, em adição às técnicas de tipagem de HLA, com o objetivo de aumentar a precisão dos exames de compatibilidade, fornecendo resultados mais sensíveis e específicos, reduzindo os riscos de possível rejeição ao enxerto. Um dos métodos mais estudados e empregados para melhor avaliação de compatibilidade HLA é a compatibilidade por correspondência de epítomos (ou “epitope matching”, no inglês) (LARKINS *et al.*, 2019; TAFULO *et al.*, 2019; PHILOGENE *et al.*, 2020).

3.2.1 *Eplets* e a compatibilidade de epítomos no transplante renal

Os anticorpos anti-HLA reconhecem não a molécula íntegra do HLA, mas, sim, regiões específicas dessas moléculas, denominadas epítomos (DUQUESNOY, 2017), que são definidos por resíduos de 20 a 25 aminoácidos polimórficos, cujas estruturas, conformações e posições determinam a acessibilidade, reconhecimento e subsequente reatividade de anticorpos, podendo resultar até na rejeição e perda do enxerto (DUQUESNOY, 2017; LIM *et al.*, 2018; LARKINS *et al.*, 2019; SAPIR-PICHHADZE *et al.*, 2019).

Os epítomos são formados por duas regiões: uma estrutural e outra funcional (também denominada *eplet*), que representa a região na qual o anticorpo se encaixa (CLAAS e HEIDT, 2017; DUQUESNOY, 2017; LARKINS *et al.*, 2019; PHILOGENE *et al.*, 2020). Estas regiões funcionais do epítomo – os *eplets*, têm conformações de até três aminoácidos, localizados em regiões acessíveis da superfície do HLA e são estabelecidas pelo número da sequência polimórfica de resíduos de aminoácidos e

também por um código numérico padrão que nomeia e identifica a sequência (LIM *et al.*, 2018).

Os avanços de técnicas de tipagem possibilitaram a formação de conceitos na compatibilidade HLA ao nível de epítomos, de forma que vários grupos propõem a tipagem HLA de alta resolução a nível alélico, tipagem com 4 dígitos (Ex: A*02:04), para aprimorar a precisão da quantificação do grau de similaridade entre doador e receptor, gerando informações mais assertivas quanto à sua compatibilidade, melhorando, assim, a previsão dos riscos do desenvolvimento de dnDSAs (GATAULT *et al.*, 2017; LARKINS *et al.*, 2019).

3.2.2 Mismatches de eplets

Os *eplets* são epítomos funcionais que podem ser reconhecidos por anticorpos HLA e, ao determinar-se o número de *eplets* que se diferem entre doador e receptor, encontram-se os *mismatches* de *eplets* (MME) (PHILOGENE *et al.*, 2020).

E, neste sentido, a literatura atual apresenta duas classificações para os epítomos (*eplets*): epítomos experimentais (ou anticorpo verificado), entendidos como confirmados e conclusivos e, portanto, os únicos a serem considerados no transplante; e epítomos teóricos (ou provisórios), cujos dados ainda são preliminares (DUQUESNOY, 2017; LIM *et al.*, 2018; PHILOGENE *et al.*, 2020).

A incompatibilidade de *eplets* (MME) pode ser identificada por meio do HLAMatchmaker, programa que conta com uma lista de *eplets* verificados, bem como *eplets* teóricos. O número combinado de todos os *eplets* de anticorpos verificados e não verificados formam a carga total de *eplets*, e quanto maior a porção de *eplets* incompatíveis, maior a incompatibilidade entre doador e receptor, determinando então polimorfismos de aminoácidos das moléculas de HLA que são críticos para o reconhecimento de anticorpos (DUQUESNOY, 2002; KAUSMAN *et al.*, 2016; DELION *et al.*, 2019; EKONG *et al.*, 2019; LARKINS *et al.*, 2019; PHILOGENE *et al.*, 2020). Cabe ressaltar que o programa (HLAMatchmaker) não é capaz de determinar a antigenicidade ou imunogenicidade de um epítomo (DUQUESNOY, 2014; LARKINS *et al.*, 2019).

Ao analisar os genótipos do HLA de doador e receptor, o HLAMatchmaker gera uma lista de *eplets* reativos, convertendo a tipagem sorológica de dois dígitos (A*01) em uma tipologia alélica de quatro dígitos (A*01:01), de acordo com os alelos

mais comuns derivados de várias populações em todo o mundo (NGUYEN *et al.*, 2016). Usando este algoritmo no registro de epítomos HLA, Geffard e colaboradores (2019) encontraram 223 eplets HLA classe I e 292 HLA classe II.

DeVos e colaboradores (2012) destacaram que elevados números de MME estão associados com o aumento do risco de rejeição, em decorrência da formação de dnDSA, enquanto pacientes com zero MME não desenvolveram dnDSA. Posteriormente, outros trabalhos também estabeleceram um número de MME que predis põem o desenvolvimento de dnDSA: uma contagem de mais de dez MME para HLA-DR e 15 para DQ podem ser o suficiente para o desenvolvimento mínimo de DSA pós-transplante (GATAULT *et al.*, 2016; LACHMANN *et al.*, 2017; PHILOGENE *et al.*, 2020). Enquanto Wiebe e colaboradores (2018) identificaram em suas análises uma contagem de mais de sete MME para HLA-DR e mais de nove MME para DQ, associando então, o desenvolvimento de dnDSA à um número ainda menor de MME.

Neste sentido, apesar do alto número do polimorfismo dos loci HLA-A, -B e -DR e sua ampla utilização para alocação de aloenxerto renal, diversos autores salientam a importância da tipagem e análise de compatibilidade de HLA, principalmente do HLA-DQ, para elegibilidade de transplante renal realizada a partir dos MM, a fim de aumentar a vida-útil do enxerto e a qualidade de vida do receptor, reduzindo as chances de rejeição (NGUYEN, *et al.*, 2016; LIM *et al.*, 2018; WALTON *et al.*, 2018; EKONG *et al.*, 2019; SAHIN *et al.*, 2020).

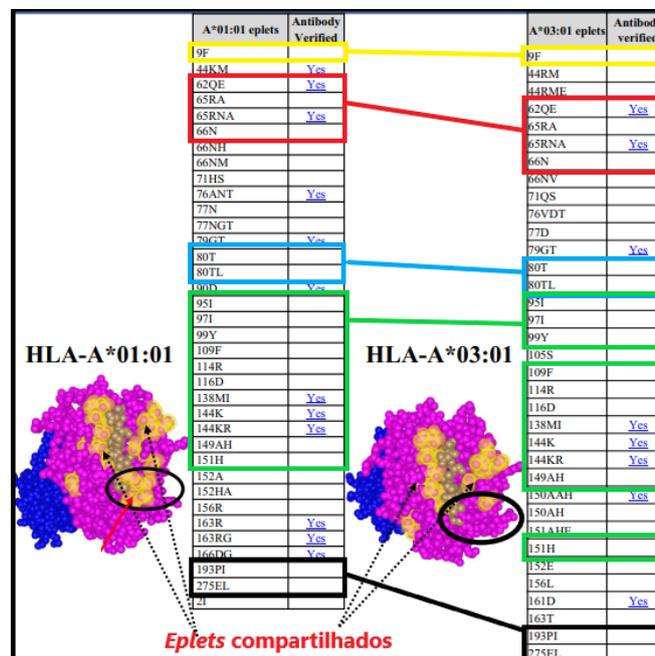
Em estudo realizado por McCaughan e colaboradores (2018) sobre a avaliação de MM de epítomos de risco na formação de dnDSA no transplante cardíaco, os autores identificaram DQA1*05; DQB1*02 / DQB1*03:01 como altamente ativos. Ao prevenir-se a incompatibilidade de epítomos de alto risco, podem-se reduzir os riscos do desenvolvimento de dnDSA em 6 e 12% em pacientes com transplante cardíaco e pulmonar, respectivamente (LARKINS *et al.*, 2019).

Não se sabe ainda o motivo pelo qual os MM de -DQ podem culminar em maiores índices de rejeição, porém sabe-se que alguns epítomos são mais imunogênicos que outros, como é o caso do HLA-DR, que aparenta desencadear resposta imunológica mais intensa do que o HLA-DQ, porém este tópico ainda demanda estudos mais aprofundados (DEVOS *et al.*, 2012; WIEBE *et al.*, 2013; SAPIR-PICHHADZE *et al.*, 2015; EKONG *et al.*, 2019).

DeVos e colaboradores (2012), em estudo com 347 pacientes renais transplantados, mostraram que 33 (~10%) desenvolveram dnDSA somente para DQ, 14 (~4%) desenvolveram dnDSA para -A, -B e/ou -DR e 15 (~4%) desenvolveram dnDSA para DQ além de outro anticorpo, totalizando 48 pacientes (~77%) com anticorpos contra DQ. Os mais encontrados foram DQ7 (25%), DQ2 (19%) e DQ4 (19%), o que corrobora com os achados de Everly *et al.* (2013) e Konvalinka e Tinckam (2015).

Ademais, assim como menciona Philogene e colaboradores (2020), *eplets* podem ser compartilhados por vários antígenos HLA, logo, a compatibilidade baseada em *eplets* pode gerar resultados semelhantes entre antígenos sorologicamente distintos, o que aumenta o número de potenciais doadores (Figura 2).

Figura 2: Comparação entre as estruturas tridimensionais entre o HLA-A*01:01 e HLA-A*03:01 e os *eplets* compartilhados entre os alelos. Os *eplets* não compartilhados estão circulado em preto. Os anticorpos verificados são listados como “yes”. Porção rosa: cadeia alfa; azul: cadeia beta; marrom: peptídeos de ligação; amarelo: *eplets*.



Fonte: Figura adaptada de Philogene *et al.* (2020).

3.3 DSA (Donor Specific Antibodies)

Anticorpos que atuam diretamente contra os antígenos do doador durante um transplante são conhecidos como anticorpos específicos contra o doador (DSA)

(LARKINS *et al.*, 2019) e sua verificação pré-transplante é fundamental para que não ocorra a rejeição e preservando a fisiologia do aloenxerto (DJAMALI *et al.*, 2014).

A detecção da presença de DSA é facilitada pelo intermédio de técnicas como prova cruzada (PC – ou, no inglês, “crossmatching”), onde é feita simulação *in vitro* do transplante, colocando em contato as células do possível doador com o soro do receptor para análise da reatividade estimulada por linfócitos (FURTUOZO e DIAS, 2019). Além da PC, são utilizadas técnicas que apresentam ainda maior sensibilidade e especificidade, como os ensaios de fase sólida, realizados através de citometria com a utilização do Luminex® pela metodologia “Single Antigen Beads” (One Lambda®), que avalia a presença de anticorpos anti-HLA dos pacientes de acordo com a intensidade de fluorescência (GIL *et al.*, 2018; FURTUOZO e DIAS, 2019; TAFULO *et al.*, 2019). A implementação destas análises foi capaz de diminuir consideravelmente os índices de rejeição do transplante renal, principalmente a rejeição hiperaguda (HOWELL *et al.*, 2010; MURPHEY e BINGAMAN, 2012; DAVIS e COOPER, 2016; DUQUESNOY, 2017; KUMAR *et al.*, 2017; LARKINS *et al.*, 2019).

Em estudo de revisão, Mohan e colaboradores (2012) mostraram que a presença de DSA antes do transplante está fortemente associada a um risco duas vezes maior de rejeição aguda e 75% maior de perda do enxerto. No entanto, os autores apontam que também existem inúmeros casos de rejeição não associados ao DSA, além de casos em que pacientes com DSA mantiveram função renal normal e ótimos resultados por anos (MOHAN *et al.*, 2012; LACHMANN *et al.*, 2017). Djamali e colaboradores (2014) demonstraram que, pacientes sensibilizados com DSA anti-HLA (DSA preexistente), apresentam taxas de sobrevida do enxerto de cinco anos, o que é significativamente menor do que se comparado com pacientes não-sensibilizados.

Na primeira manifestação do DSA após o transplante, estudos têm mostrado que os DSAs contra antígenos de classe II são predominantes e, dentre eles, o DSA anti-HLA-DQ foi o tipo mais comum (EVERLY *et al.*, 2013; KONVALINKA e TINCKAM, 2015).

Acredita-se que os DSAs podem ocorrer devido à presença de um determinado número de MME, estando fortemente associados à RMA e consequente perda do enxerto, sendo, por isso, de extrema importância analisar a compatibilidade de HLA ao nível de epítopo e a quantidade “permissível” de MME para melhorar a qualidade e vida útil dos enxertos (NGUYEN *et al.*, 2016;

DUQUESNOY, 2017; LIM *et al.*, 2018), independente do uso de drogas imunossupressoras (DJAMALI *et al.*, 2014; DUQUESNOY, 2017; LIM *et al.*, 2018).

3.3.1 DSA *de novo* (dnDSA)

O dnDSA é evidenciado pelo fato de que pacientes que não apresentaram DSA em análises sensíveis pré-transplante, venham a tê-los tardiamente, após a realização do transplante (WIEBE *et al.*, 2018). Trabalhos publicados mostram que 11% dos pacientes transplantados desenvolvem DSA pós-transplante (dnDSA) e, dentre estes, o risco de falha do enxerto, ao primeiro ano pós-transplante, é de 9% e, nos quatro anos que sucedem o transplante, 24% perdem o enxerto (Figura 3) (EVERLY *et al.*, 2013; ZHANG, 2017).

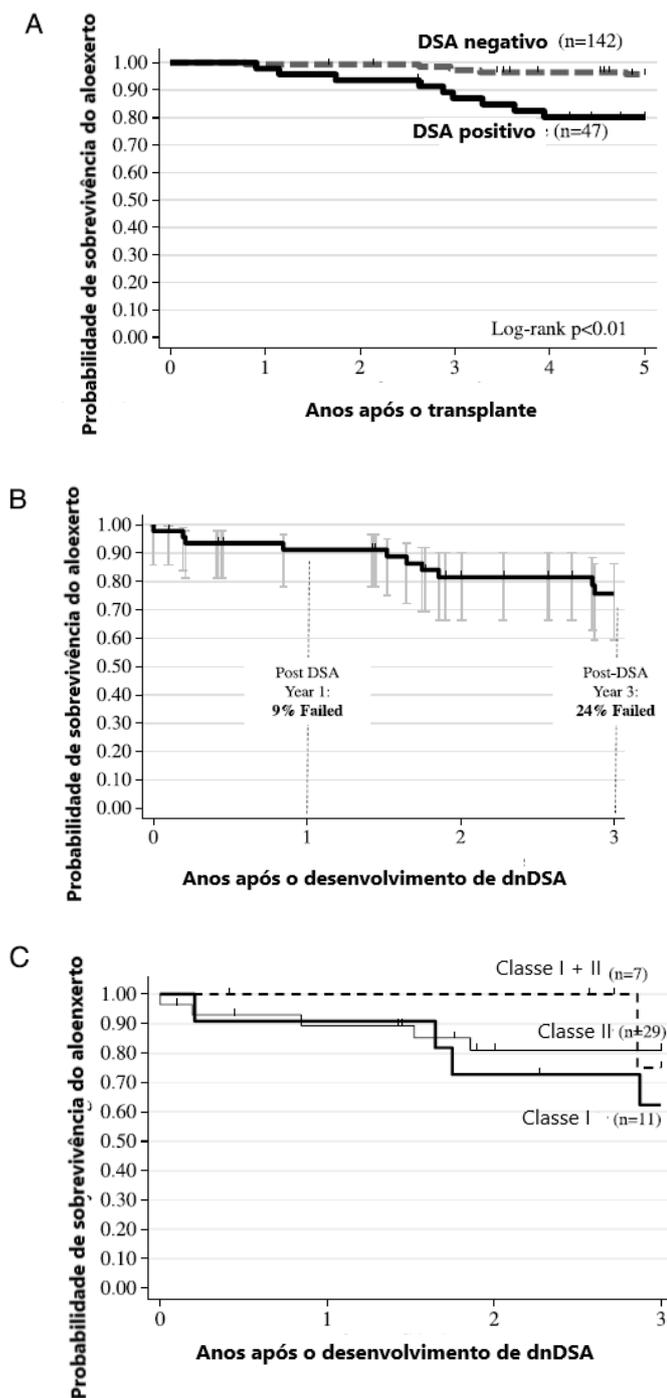
Wiebe e colaboradores (2012) propõem que o desenvolvimento de dnDSA promove a inflamação ao endotélio, com conseqüente glomerulonefrite e disfunção clínica do órgão e perda do enxerto. De acordo com os autores mencionados, dez anos após o aparecimento do dnDSA, 40% dos pacientes transplantados perdem o enxerto.

Em acordo com estes dados, Everly e colaboradores (2013) associaram a perda do enxerto decorrente do aparecimento do dnDSA a um processo de rejeição crônica mediada por anticorpos, com evidências de lesões teciduais e falha após cerca de três anos (EVERLY *et al.*, 2013). Além disso, alguns fatores de risco relacionados ao transplante são elencados para o desenvolvimento de dnDSA: pacientes transplantados com idade entre 18 a 35 anos e transplante a partir de doadores falecidos, má aderência ao tratamento com imunossupressores e tendência a rejeição celular (clínica e sub-clínica) em curto prazo (0 a 6 meses de transplante), além de aspectos imuno-genéticos como MM de HLA - DR β 1 (EVERLY *et al.*, 2013; GATAULT *et al.*, 2016; WIEBE *et al.*, 2018).

Trabalhos mostraram que o dnDSA está diretamente relacionado com o número de MM de HLA de classe II entre o conjunto doador-receptor (EINECK *et al.*, 2009; WIEBE *et al.*, 2012). Acredita-se que anticorpos de classe I estejam associados à rejeição prematura (hiperaguda/aguda), enquanto anticorpos de classe II estejam mais comumente associados à rejeição tardia (crônica) (DJAMALI, 2014). De qualquer modo, categoricamente, pacientes com dnDSA apresentam índices de rejeição nos seis primeiros meses após o transplante, duas vezes maior do que

aqueles que não desenvolvem dnDSA (WIEBE *et al.* 2012; EVERLY *et al.*, 2013; LARKINS *et al.*, 2019).

Figura 3: **A** - índice de sobrevida do enxerto em 5 anos a partir do momento do transplante, demonstrando que pacientes positivos para dnDSA têm maior risco de perda do que pacientes negativos para DSA. **B** - sobrevida do enxerto em três anos à partir do aparecimento do dnDSA. **C** - sobrevida do enxerto de acordo com as classes de DSA.



Fonte: Figura adaptada de Everly *et al.* (2013).

Além disso, a literatura recente revela que a incompatibilidade (MM) de DQ é um importante fator de risco para o aparecimento de dnDSA, mas a razão para este fato ainda precisa de maiores investigações (KONVALINKA e TINCKAM, 2015; LARKINS *et al.*, 2019; PHILOGENE *et al.*, 2020).

Um grande achado na imunologia dos transplantes é o fato de que, à partir do aparecimento do dnDSA, a função do enxerto pode permanecer-se estável por mais um período, que pode variar de acordo com cada caso clínico, até a rejeição do órgão, criando, assim, uma expectativa da equipe para um período de possível intervenção farmacológica (“janela”) para que não ocorra a perda do enxerto (EVERLY, 2013).

Apesar de não ser objeto de discussão neste trabalho, é importante mencionar que além de aspectos clínicos e genéticos, os trabalhos de Everly e colaboradores (2013) e Gatault e colaboradores (2017) mostraram que a minimização da imunossupressão em pacientes renais transplantados resultou em taxas aumentadas de dnDSA, principalmente de classe II.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os crescentes números de pacientes na espera por um transplante renal, a dificuldade de se encontrar doadores com compatibilidade suficiente para realização do transplante e os altos índices de rejeição de aloenxertos, inúmeros estudos e pesquisas são realizados com o intuito de otimizar as análises de compatibilidade, reduzindo o tempo na fila de espera e melhorando a qualidade de vida do receptor. Para tanto, é de grande importância a compreensão dos mecanismos imunológicos envolvidos no transplante de órgãos.

A análise de compatibilidade baseada em *eplets*, ou compatibilidade de epítomos do HLA, uma abordagem simples e elegível na realidade de diversos centros transplantadores, tem sido abordada por diversos pesquisadores da área. A caracterização do HLA do conjunto doador-receptor a partir de seus *eplets* pode fornecer informações importantes sobre aspectos de incompatibilidade (*mismatches*) não acessíveis em exames tradicionais, mas que podem gerar resposta imunológica forte o bastante para que o risco de rejeição ocorra.

E, além disso, considerando que os *eplets* podem ser compartilhados por vários antígenos HLA distintos, a compatibilidade baseada em *eplets* pode gerar

resultados semelhantes entre antígenos sorologicamente distintos, o que aumenta o número de potenciais doadores, diminuindo o tempo de espera pela disponibilidade de órgão para transplante.

Ademais, os trabalhos apresentados confirmam que, quanto maior o número de *mismatches* de *eplets*, principalmente de HLA de classe II, maiores os índices do desenvolvimento de dnDSA e consequentes episódios de rejeição.

Existem ainda diversas lacunas de conhecimento que precisam ser abordadas quando se trata da utilização destas análises, pois não se sabe ainda se estas são clinicamente relevantes. No entanto, todos os resultados indicam que sua utilização é promissora no aumento da vida-útil dos enxertos renais e na qualidade de vida do paciente.

ABSTRACT

It is believed that anti-HLA donor-specific antibodies *de novo* (dnDSA) may occur due to the presence of a certain number of eplet mismatches (MM). Thus, this study aimed to highlight and categorize the relationship between eplet mismatches, the dnDSA formation process and its influence on graft survival. This work was a bibliographic review study with electronic databases, such as SciELO, Science Direct, ResearchGate, PubMed / NCBI, Virtual Health Library (VHL / BIREME) and ABTO (Brazilian Organ Transplant Association) website. Articles in English, Portuguese and French published between 1999 and 2020 were evaluated. The relationship between MM eplets and the formation of dnDSA is widely discussed and always associated with a higher risk of graft loss since, in a study, patients without MM of eplets did not develop dnDSA. It is believed that recipients who transplanted with MM DQ are 50% more likely to develop rejection, including RMA. In addition, it has been highlighted that from a count of <7 MM eplets for HLA-DR and 9 for DQ they may be sufficient for the minimal development of dnDSA. The HLA characterization of the donor-recipient set from its eplets provides incompatibility aspects not analyzed in traditional exams. Therefore, although there are still several knowledge gaps that need to be addressed when it comes to the use of these methods, these have been shown to be quite promising when it comes to extending the life span of kidney grafts.

Keywords: Donor Specific Anti-HLA Antibodies. Eplet mismatch. Kidney Transplantation.

REFERÊNCIAS

ALVARES, J. **Avaliação da qualidade de vida e análise de custo utilidade das Terapias Renais Substitutivas no Brasil**. 2011. 83 f. Tese de Doutorado em Saúde Pública-Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTES DE ÓRGÃOS (ABTO). **Registro Brasileiro de Transplante**: dados numéricos da doação de órgãos e transplantes realizados por estado e instituição no período: janeiro / setembro – 2019. São Paulo: ABTO, 2019. Disponível em: <http://www.abto.org.br/abtov03/Upload/file/RBT/2019/RBT-2019-jan-set-leitura.pdf>. Acesso em: 20 de Abril de 2020.

BUHLER, S. *et al.* The heterogeneous HLA genetic makeup of the swiss population. **Plos One**, v. 7, n. 7, p. 41400-41400, 2012.

CLAAS, F. H. J; HEIDT, S. Epitope-Based HLA Matching: A Useful Strategy With Many Shortcomings to Overcome. **Transplantation**, v. 101, n. 8, p. 1744-1745, 2017.

DAVIS, S.; COOPER, J. E. Acute antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients. **Transplantation Reviews**, v. 31, n. 1, p. 47-54, 2016.

DELBOS, F.; CESBRON, A. Caractérisation de l'allo-immunisation anti-HLA et impact clinique entransfusion et en transplantation d'organe. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 24, n. 3, p. 131-137, 2017.

DELION, A. *et al.* Which is the best predictor of de novo donor-specific antibodies in a cohort of non-sensitized first kidney transplantation: Antigenic, allelic, epitope, or physiochemical HLA mismatches?. **Clinical Transplantation**, v. 33, n. 8, 2019.

DEVOS, J. M. *et al.* Donor-specific HLA-DQ antibodies may contribute to poor graft outcome after renal transplantation. **Kidney International**, v. 82, n. 5, p. 598-604, 2012.

DJAMALI A. *et al.* Diagnosis and Management of Antibody-Mediated Rejection: 14 Current Status and Novel Approaches. **American Journal Of Transplantation**, v. 14, n. 2, p. 255-271, 2014

DUQUESNOY, R. J. HLAMatchmaker: A Molecularly Based Algorithm for Histocompatibility Determination: Description of the Algorithm. **Human Immunology**. 63, n. 5, p. 339-352, 2002.

_____. Human Leukocyte Antigen Epitope Antigenicity and Immunogenicity. **Current Opinion in Organ Transplantation**, v. 19, n. 4, p. 438-435, 2014.

_____. Are We Ready for Epitope-Based HLA Matching in Clinical Organ Transplantation? **Transplantation**, v. 101, n. 8, p. 1755-1765, 2017.

EINECK, G. *et al.* Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. **American Journal of Transplantation**, v. 9, p. 2520-2531, 2009.

EKONG, U. D. *et al.* HLA, Non-HLA Antibodies, and Eplet Mismatches in Pediatric Liver Transplantation: Observations From a Small, Single-Center Cohort. **Experimental and Clinical Transplantation**, v. 17, n. 1, p. 6-17, 2019.

EVERLY, M. J *et al.* Incidence and Impact of De Novo Donor-Specific Alloantibody in Primary Renal Allografts. **Transplantation Journal**, v. 95, n. 3, p. 410-417, 2013.

FABRETI-OLIVEIRA, R. A. *et al.* The heterogeneous HLA genetic composition of the Brazilian population and its relevance to the optimization of hematopoietic stem cell donor recruitment. **Tissue Antigens**, v. 84, n. 2, p.187-197, 2014.

FARIA, B. A. *et al.* Ação dos linfócitos T regulatórios em transplantes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n. 4, p. 309-315, 2008.

FURTUOZO, C. F.; DIAS, S. R. C. **Avaliação da resposta humoral anti-HLA de pacientes transplantados renais em episódios de rejeição**. 2019. 19 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas)-Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2019.

GATAULT, P. *et al.* Reduction of extended-release tacrolimus dose in low immunological risk kidney transplant recipients increases risk of rejection and

appearance of Donor-Specific Antibodies: A randomized study. **American Journal of Transplantation**, v. 17, n. 5, p. 1370-1379, 2017.

GEFFARD, E. *et al.* HLA eplet in Easy-HLA: prediction and compatibility level assessment available in a complete webtool suite. **Immune Response Genetics: Abstracts for the 33rd European Immunogenetics and Histocompatibility Conference**, v. 93, n. 5, p. 290, 2019.

GIL, B. C. *et al.* Comparative analysis of two methods to detect donor-specific anti-HLA antibodies after kidney transplant. **Transplant Immunology**, v. 49, p. 7-11, 2018.

HOWELL, W. M.; CARTER, V.; CLARK, B. The HLA system: immunobiology, HLA typing, antibody screening and crossmatching techniques. **Journal of Clinical Pathology**, v. 63, n. 5, p. 387-390, 2010.

KAUSMAN, J. Y. *et al.* Application of an Epitope-Based Allocation System in Pediatric Kidney Transplantation. **Pediatric Transplantation**, v. 20, n. 7, p. 931-938, 2016.

KONVALINKA, A.; TINCKAM, K. Utility of HLA Antibody Testing in Kidney Transplantation. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 26, n. 7, p. 1489-1502, 2015.

KUMAR, A; MOHIUDDIN, A.; SHARMA A.; EL KOSI, M.; HALAWA, A. An Update on Crossmatch Techniques in Transplantation. **Journal Of Kidney**, v. 3, n. 4, p.1-5, 2017.

LACHMANN, N. *et al.* Donor–Recipient Matching Based on Predicted Indirectly Recognizable HLA Epitopes Independently Predicts the Incidence of De Novo Donor-Specific HLA Antibodies Following Renal Transplantation. **American Journal of Transplantation**, v. 17, n. 12, p. 3076-3086, 2017.

LARKINS, N. G. *et al.* Epitope matching in kidney transplantation: recent advances and current limitations. **Current Opinion in Organ Transplantation**, v. 24, n. 4, p. 370-377, 2019.

LIM, W. H. *et al.* Novel aspects of epitope matching and practical application in kidney transplantation. **Human Immunology**, v. 93, n. 2, p. 314-324, 2018.

MCCAUGHAN, J. A. *et al.* Identification of risk epitope mismatches associated with de novo donor-specific HLA antibody development in cardiothoracic transplantation. **American Journal of Transplantation**, v. 18, n. 12, p. 2924-2933, 2018.

MOHAN, S. *et al.* Donor-specific Antibodies Adversely Affect Kidney Allograft Outcomes. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 23, n. 12, p. 2061-2071, 2012.

MURPHEY, Cathi L.; BINGAMAN, Adam W. Histocompatibility considerations for kidney paired donor exchange programs. **Current Opinion In Organ Transplantation**, v. 17, n. 4, p. 427-432, 2012.

NAKAMURA, T. *et al.* The Role of Major Histocompatibility Complex in Organ Transplantation- Donor Specific Anti-Major Histocompatibility Complex Antibodies Analysis Goes to the Next Stage. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 19, p. 4544, 2019.

NEEFJES, J. *et al.* Towards a Systems Understanding of MHC Class I and MHC Class II Antigen Presentation. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 12, p. 823-836, 2011.

NGUYEN, H. T. D. *et al.* The Association Between Broad Antigen HLA Mismatches, Eplet HLA Mismatches and Acute Rejection After Kidney Transplantation. **Transplantation Direct**, v. 2, n. 12, p. 1489-1502, 2016.

NILSSON, M. D. J. *et al.* Human Leukocyte Antigen-Based Risk Stratification in Heart Transplant Recipients; Implications for Targeted Surveillance. **Journal of the American Heart Association**, v. 8, p. 1-12, 2019.

PHILOGENE, M. C. *et al.* Eplet mismatch analysis and allograft outcome across racially diverse groups in a pediatric transplant cohort: a single-center analysis. **Pediatric Nephrology**, v. 35, n. 1, p. 83-94, 2020.

SAHIN *et al.* Critical evaluation of a possible role of HLA Epitope matching in kidney transplantation. **Transplantation Reviews**, v. 34, n. 2., 2020. Não paginado.

SAPIR-PICHHADZE, R. *et al.* HLA-DR and -DQ Eplet Mismatches and Transplant Glomerulopathy: A Nested Case–Control Study. **American Journal of Transplantation**, v. 15, p. 137-148, 2019.

_____. Epitopes as characterized by antibody-verified eplet mismatches determine risk of kidney transplant loss. **Kidney International**, v. 97, n. 4, p. 778-785, 2019.

SHARMA, A. *et al.* The association between human leukocyte antigen eplet mismatches, de novo donor-specific antibodies, and the risk of acute rejection in pediatric kidney transplant recipients. **Pediatric Nephrology**, v. 35, n. 6, p. 1061-1068, 2020.

TAFULO, S. *et al.* Degree of HLA class II eplet mismatch load improves prediction of antibody-mediated rejection in living donor kidney transplantation. **Human Immunology**, v. 80, n. 12, p. 966-975, 2019.

The MHC Consortium. Complete sequence and genemap of a human major histocompatibility complex. **Nature**, v. 40, p. 921-923, 1999.

WALTON, D. C. *et al.* HLA class II Eplet mismatch predicts De Novo DSA formation post lung transplant. **Transplant Immunology**, v. 51, n. 4, p. 73-75, 2018.

WIEBE, C. *et al.* Evolution and Clinical Pathologic Correlations of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Post Kidney Transplant. **American Journal Of Transplantation**, v. 12, n. 5, p.1157-1167, 2012.

_____. Class II HLA Epitope Matching—A Strategy to Minimize De Novo Donor-Specific Antibody Development and Improve Outcomes. **American Journal of Transplantation**, v. 13, n. 12, p. 3114-3122, 2013.

_____. Class II Eplet Mismatch Modulates Tacrolimus Trough Levels Required to Prevent Donor-Specific Antibody Development. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 28, n. 11, p. 3353-3362, 2017.

_____. A Comparison of HLA Molecular Mismatch Methods to Determine HLA Immunogenicity. **Transplantation**, v. 102, n. 8, p. 1338-1343, 2018.

_____. HLA-DR/DQ molecular mismatch: A prognostic biomarker for primary alloimmunity. **American Journal of Transplantation**, v. 19, n. 6, p. 1708-1719, 2018.

ZHANG, R. Donor-Specific Antibodies in Kidney Transplant Recipients. **Clinical Journal Of The American Society Of Nephrology**, v. 13, n. 1, p.182-192, 2017.