

## REJEIÇÃO HIPERAGUDA COM CROSS-MATCH POR CITOTOXICIDADE NEGATIVO EM UM PROGRAMA DE ALOCAÇÃO DE ÓRGÃOS BASEADO EM HLA – PODEMOS PREVENIR?

*Hyperacute Rejection with negative cytotoxicity crossmatch in an HLA-based kidney allocation Brazilian organ sharing program – can we prevent?*

Luciana Tanajura Santamaria Saber, Eduardo Antonio Donadi, Ana Paula Lucera; Silvio Tucci Jr, Tania Marisa Garcia, Camila Bastos, Cyntia Silveira, MD.

### RESUMO

Desde 1997, o estado de São Paulo tem adotado um programa de alocação de rins baseado nos critérios propostos pelo *United Network for Organ Sharing* (U.N.O.S.). Relatamos o caso de um paciente de sexo masculino submetido a transplante renal com doador falecido, com zero incompatibilidade HLA, que evoluiu com rejeição hiperaguda, apesar de o *crossmatch* por linfocitotoxicidade (CXM) ser negativo para linfócitos T e B. O paciente era do tipo sanguíneo AB, apresentava duas transfusões sanguíneas prévias e atividade de anticorpos contra painel (PRA) negativa para antígenos HLA classe I, classe II e antígenos MIC, tanto em soro recente quanto em soro histórico. A repetição do *crossmatch* com soros históricos também apresentou resultados negativos. Como não havia mais células disponíveis do doador, não foi possível realizar *crossmatch* por citometria de fluxo (FCXCM). Neste trabalho, discutimos as vantagens e desvantagens, assim como a viabilidade de se realizar FCXCM para todos os pacientes.

**Descritores:** Rejeição, Anticorpos, Transplante Renal, Seleção de Pacientes.

### INTRODUÇÃO

Desde 1997, o estado de São Paulo tem adotado um programa de alocação de rins baseado nos critérios do *United Network for Organ Sharing* (U.N.O.S.), no qual a compatibilidade HLA é o critério de seleção mais importante. Nesse sistema, o Estado é dividido em duas listas regionais para alocação, porém sem fronteiras dentro do Estado para os receptores com zero mismatch. Após a seleção, o soro mais recente (os soros dos receptores são estocados no Laboratório de Histocompatibilidade ligado à Central de Distribuição de Órgãos) dos vinte primeiros pacientes selecionados é usado para a realização de *crossmatch* convencional, por citotoxicidade dependente de complemento (CXM). Relatamos o caso de um paciente do sexo masculino receptor de transplante renal com doador falecido com zero mismatch, que evoluiu com rejeição hiperaguda, apesar de *crossmatch* convencional por citotoxicidade dependente de complemento (CXM) negativo para linfócitos T e B.

### RELATO DE CASO

Paciente de 35 anos de idade, sexo masculino, apresentando insuficiência renal crônica de etiologia desconhecida, em hemodiálise há cinco anos foi submetido a transplante renal com doador falecido, com zero incompatibilidade em 9 de setembro de

#### Instituição:

Serviço de Transplante Renal, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, Ribeirão Preto, SP.

#### Correspondência:

Luciana Tanajura Santamaria Saber

Serviço de Transplante Renal do HCFMRP-USP, Campus Universitário, Monte Alegre

CEP 14048-900, Ribeirão Preto/SP

Tel: (16) 3602-2225

FAX: (16) 3633-2189

E-mail: lucianasaber@gmail.com

2009. O tipo sanguíneo do paciente era AB positivo, tendo recebido duas transfusões prévias (última em 2005) e não tendo apresentado atividade de anticorpos contra painel (PRA de zero) para HLA classe I, classe II e antígenos MIC (21 de maio de 2009). HLA do receptor: A2/24, B50/51, DR4/13. Doador renal do sexo masculino, branco, 41 anos de idade, peso de 80 kg, morte por Acidente Vascular Encefálico. Tipo sanguíneo A positivo; HLA-A2/24, B50/B<sub>1</sub>, DR4/13. Creatinina sérica de 1,2mg% na admissão e de 2,6 mg% no momento da doação. Como comorbidades, apresentava hipertensão arterial sistêmica e alcoolismo. O rim foi alocado baseado no critério de zero incompatibilidade HLA. *Crossmatch* convencional por citotoxicidade dependente de complemento (CXM) foi negativo para linfócitos T e B, tempo de isquemia fria de 20 horas. Imunossupressão inicial consistiu em Basiliximabe, Metilprednisolona, Tacrolimo e Micofenolato Sódico. A cirurgia de transplantação transcorreu sem incidentes e o rim apresentou boa perfusão inicial; contudo, dez minutos após, o órgão perdeu o turgor e apresentou rejeição hiperaguda humoral, necessitando remoção do enxerto. A rejeição hiperaguda foi confirmada pela análise anatomopatológica do rim. O CXM foi repetido com o soro atual e com os históricos, apresentando os mesmos resultados. Não havia mais células disponíveis do doador para a realização de FCXCM.

## DISCUSSÃO

A rejeição hiperaguda é causada pela ligação de anticorpos circulantes presentes no receptor contra antígenos de superfície das células endoteliais do doador. Hoje em dia, menos de 0,2% dos transplantes ainda desenvolvem rejeição hiperaguda.<sup>1</sup> Os antígenos do doador que agem como alvo são os antígenos ABO, antígenos HLA classe I ou, raramente classe II. O método padrão para a detecção pré-transplante de anticorpos específicos anti-HLA do doador é baseado no teste de microlinfocitotoxicidade dependente de complemento (CXM).<sup>2</sup> O teste de *crossmatch* por citometria de fluxo (FCXCM), o qual foi desenvolvido posteriormente tem sido reconhecido como de alta sensibilidade na detecção de anticorpos específicos, anti-HLA do doador.<sup>3</sup> As células-alvo utilizadas para a realização do *crossmatch* são os linfócitos; células T são utilizadas para detectar anticorpos específicos anti-HLA classe I do doador e células B para detectar anticorpos anti HLA classe I e classe II do doador.

Apesar de os antígenos clássicos HLA, não compartilhados (*mismatch*), serem alvos de respostas mediadas por anticorpos, outros antígenos polimórficos podem também ter papel importante nesse contexto. Assim, rejeições agudas e hiperagudas podem ocorrer na ausência de anticorpos anti-HLA detectáveis. Anticorpos não HLA reagem com células endoteliais (E) e monócitos (M), o também chamado sistema antigênico endotélio-monócito.<sup>4</sup> As células endoteliais expressam inúmeros determinantes antigênicos não HLA que são clinicamente relevantes. A prevalência na transplantação de órgãos de anticorpos pré-formados antiendotélio do doador tem sido estimada entre 2-6% e sua importância clínica tem sido observada em rejeições de enxertos, mesmo em casos de transplantes realizados entre irmãos HLA idênticos.<sup>5-7</sup> Os anticorpos não HLA podem ser autoanticorpos pré-existentes ou induzidos via alo-sensibilização; porém, a origem exata desses anticorpos clinicamente relevantes ainda não está clara.<sup>4</sup> No transplante renal, várias moléculas têm sido identificadas como alvos de anticorpos antiendotélio, ocasionando rejeição hiperaguda com perda

precoce do enxerto, como por exemplo, antígeno de 97-110 kDa como alvo de anticorpos tipo IgM, sistema antigênico endotélio-monócito comum com peso molecular de 38-40 kDa, ou ainda glicoproteínas de superfície celular dos antígenos não clássicos de histocompatibilidade de 62 kDa, MICA e MICB.<sup>4,7,8</sup> Os antígenos MICA e MICB são expressos em vários tipos celulares incluindo células endoteliais, mas não em linfócitos. Até o momento, não estão claros os mecanismos de indução de anticorpos anti-MICA/MICB previamente ao transplante, mas sua presença tem sido claramente correlacionada a complicações imunológicas tanto precoces como tardias (incluindo rejeições hiperagudas), mesmo na ausência de anticorpos específicos anti-HLA em receptores renais.<sup>4,8</sup>

Apesar desse conhecimento, o teste de *crossmatch* de rotina tanto CXM como FCXCM que utilizam linfócitos não detectam anticorpos antiendotélio clinicamente relevantes, e, até o momento, não há um método disponível para se realizar de rotina *crossmatch* específico antiendotélio do doador. Na literatura, cerca de 1-2% dos CXM podem ser falso negativos. Por outro lado, cerca de 9% de todos os transplantes renais primários serão FCXCM positivos, CXM negativos no *crossmatch* final e serão recusados desnecessariamente para realizar o transplante.<sup>9</sup>

Nesse caso ora descrito, não se pode afirmar se o FCXCM seria positivo em um paciente com estas características: sexo masculino, tipo sanguíneo AB, primeiro transplante, PRA zero, zero incompatibilidade. Em um estudo retrospectivo, 18/102 (18%) dos transplantes renais e 11/66 (17%) dos receptores de pâncreas-rim eram FCXCM positivos e CXM negativos, mas nenhum enxerto foi perdido devido à rejeição hiperaguda nesse grupo.<sup>9</sup>

Em nosso serviço, o tempo necessário para a realização de ambos os métodos, FCXCM e CXM é o mesmo, o que não causaria maiores impactos no tempo de isquemia fria; porém, o custo da realização de *crossmatch* por citometria de fluxo (FCXCM) é 2,3 vezes maior do que o *crossmatch* tradicional (CXM).

O FCXCM é um método eficaz para detectar pacientes fracamente sensibilizados que passariam despercebidos pelo CXM, e que poderiam apresentar alto risco de desenvolver rejeição aguda grave mediada por anticorpos. Por outro lado, vários estudos não conseguiram demonstrar qualquer vantagem definitiva em se realizar FCXCM ao invés de CXM, no que concerne à evolução clínica desses pacientes, e ainda destacaram o fato de que esse método de seleção levaria à exclusão de grande número de pacientes para a realização de transplantes.<sup>9-14</sup> O protocolo do UNOS afirma que testes de citotoxicidade podem ser realizados inicialmente para *crossmatch* (CXM), mas testes mais sensíveis, incluindo FCXCM, deveriam ser realizados para se identificar pacientes com anticorpos pré-formados, particularmente quando há suspeita de presença de anticorpos anti-HLA,<sup>15</sup> o que não é o caso do paciente aqui descrito. Assim, mesmo se estivesse disponível, provavelmente, o FCXCM não ajudaria nesse caso.

A existência de polimorfismos e a presença de anticorpos não HLA reativos ao endotélio e sistemas antigênicos específicos justifica a necessidade de testes para a detecção de anticorpos não HLA.<sup>4</sup> Porém, apesar de alguns pesquisadores terem advogado o uso de testes de *crossmatch* contra antígenos endoteliais<sup>4,7</sup> que porventura detectaríamos casos como o aqui descrito, a utilização de tal ferramenta em grande escala, ao nosso ver aumentaria demasiadamente os custos do programa de alocação de órgãos.

---

**ABSTRACT**

Since 1997, the Brazilian State of São Paulo has adopted an organ allocation program based on the criteria proposed by the United Network for Organ Sharing (UNOS). We report a case of a male kidney recipient with zero mismatch deceased donor transplant who evolved to hyperacute rejection, despite a negative conventional complement-dependent cytotoxicity crossmatch (CXM) for T and B lymphocytes. Patient was blood type AB with 2 previous blood transfusions and who presented recent and historical negative reactive antibodies panel against HLA class I, class II and MIC antigens. The CXM was repeated attaining the same previous results. Since no more donor cells were available, a T cell flow cytometry crossmatch (FCXM) was not performed. We discuss the economical impact, advantages and disadvantages as well as the feasibility of performing FCXM in all patients.

**Keywords:** Rejection, Kidney Transplant, Patient Selection.

---

**REFERÊNCIAS:**

1. Takeda A, Uchida K, Haba T et al. Acute humoral rejection of kidney allografts in patients with a positive flow cytometry crossmatch (FXCM). *Clin Transplant*. 2000;14(3):15-20.
2. Terasaki PI, McClelland JD. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature*. 1964;204:998.
3. Garovoy MR, Rheinschmidt MA, Bigos M et al. Flow cytometry analysis: a high technology crossmatch technique facilitating transplantation. *Transplant Proc*. 1983;15:1939.
4. Sumitran-Holgersson S. Relevance of MICA and other non-HLA antibodies in clinical transplantation. *Curr Opin Immunol*. 2008;20(5):607-13.
5. Kalil J, Guilherme L, Neumann J et al. Humoral rejection in two HLA identical living related donor kidney transplants. *Transplant Proc*. 1989;21:711.
6. Cerilli J, Bay W, Brasile L. The significance of the monocyte crossmatch in recipients of living-related HLA identical kidney grafts. *Hum Immunol*. 1983;7:45.
7. Grandtnerová B, Macková N, Hovorícová B, Jahnová E. Hyperacute rejection of living related kidney grafts caused by endothelial cell-specific antibodies: case reports. *Transplant Proc*. 2008;40(7):2422-4.
8. Sumitran-Holgersson S, Wilczek HE, Holgersson J et al. Identification of the nonclassical HLA molecules, MICA, as targets for humoral immunity associated with irreversible rejection of kidney allografts. *Transplantation*. 2002;74:268.
9. Pelletier RP, Orosz CG, Adams PW, et al. Clinical and economic impact of flow cytometry crossmatching in primary cadaveric kidney and simultaneous pancreas-kidney transplant recipients. *Transplantation*. 1997;15;63(11):1639-45.
10. Christiaans MH, Overhof R, ten Haaf A et al. No advantage of flow cytometry crossmatch over complement-dependent cytotoxicity in immunologically well-documented renal allograft recipients. *Transplantation*. 1996;62(9):1341-7.
11. Cecka JM. Does flow cytometry crossmatch predict renal allograft outcome in patients with a negative antiglobulin crossmatch? *Nature Reviews Nephrology*. 2007;3:136-7.
12. Piatosa B, Rubik J, Grenda R. Is positive flow cytometric crossmatch a risk factor for early cadaveric kidney graft dysfunction? *Transplant Proc*. 2006;38(1):53-5.
13. Wen R, Wu V, Dmitrienko S et al. Biomarkers in transplantation: Prospective, blinded measurement of predictive value for the flow cytometry crossmatch after negative antiglobulin crossmatch in kidney transplantation. *Kidney Int*. 2006;70(8):1474-81.
14. Gupta A, Iveson V, Varaganam M et al. Pretransplantation donor-specific antibodies in cytotoxic negative crossmatch kidney transplants: are they relevant? *Transplantation*. 2008;85(8):1200-4
15. United Network for Organ Sharing (UNOS) Guidelines. [http://www.unos.org/PoliciesandBylaws2/policies/pdfs/policy\\_109.pdf](http://www.unos.org/PoliciesandBylaws2/policies/pdfs/policy_109.pdf).