

Capítulo 21

Imunologia Clínica dos Transplantes

Maria Gerbase-DeLima
Luciana T. S. Saber
Eduardo A. Donadi
Júlio C. Voltarelli

CENÁRIO DOS TRANSPLANTES NO BRASIL

O nosso país ocupa uma posição de destaque mundial em relação ao número e à diversidade de transplantes de órgãos sólidos, tecidos e células progenitoras hematopoéticas, além de ser o segundo país em número de transplantes renais, superado apenas pelos Estados Unidos. De acordo com o Registro Brasileiro de Transplantes, de dezembro de 2006, catalogado pela Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO), na última década (1995-2004) foram realizados cerca de 79.000 transplantes no país. Desses, cerca de 33.000 foram de órgãos sólidos, a grande maioria de rins (78%), seguidos pelos de fígado (14%), coração (4%), pâncreas-rim (2%), pâncreas e pulmão (< 1% cada), e, ainda, cerca de 46.000 transplantes de tecidos, a grande maioria de córnea (78%) e, em menor monta, de ossos (7%). Nesse registro, o transplante de células-tronco hematopoéticas está incluído entre os teciduais, representando cerca de 15% do total, sendo 57% de células alogênicas e 43% de autólogas (Tabela 21.1). Dentre os autólogos, cabe destacar o pioneirismo dos grupos de transplante brasileiros no tratamento eficaz de doenças auto-imunes, como o *diabetes mellitus* do tipo 1, além de se transplantar esclerose múltipla, esclerose sistêmica e vasculites, dentre outras (ver pág. 468).

O estado de São Paulo concentra o maior número de equipes e realiza o maior número de transplantes de células-tronco hematopoéticas e

de órgãos sólidos, excetuando-se os de pulmão e ossos, realizados mais frequentemente nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná, respectivamente. A maioria dos transplantes renais é realizada em pacientes com 18 a 60 anos, ao passo que os de fígado e coração, em pacientes com 41 a 60 anos. Os órgãos sólidos para transplante são fornecidos predominantemente por doadores falecidos; no entanto, no caso dos enxertos renais, o número de transplantes realizados com doadores vivos é semelhante aos com doadores falecidos. Essas e outras informações sobre transplantes no Brasil podem ser encontradas no site www.abto.org.br.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Face os conhecimentos adquiridos ao longo dos últimos 100 anos nas áreas de cirurgia, imunologia, genética, farmacologia, doenças infecciosas e medicina em geral, atualmente a realização de transplantes alogênicos, isto é, de doadores da mesma espécie, já pode ser considerada uma opção terapêutica convencional para muitas doenças humanas. Transplantes são realizados em pacientes que apresentam doença renal, cardíaca ou hepática em estágio terminal, assim como em pacientes que apresentam doenças hematológicas potencialmente fatais, como a aplasia de medula óssea, algumas doenças auto-imunes, genéticas ou malignas. O transplante de pâncreas combinado ao transplante renal vem sendo cada vez mais empregado em pacientes diabéticos com insuficiência renal ter-

Tabela 21.1. Número de Equipes Transplantadoras Ativas e Número de Transplantes Realizados no Brasil no Período Compreendido entre 1995 a 2006, segundo Dados da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO)

<i>Tipo de Transplante</i>	<i>Número de Equipes Ativas em 2006</i>	<i>Número de Transplantes Realizados</i>	<i>Número de Pacientes Aguardando Transplante*</i>
Rim	165	25.434	29.389
Coração	46	1.312	256
Fígado	59	4.712	6.288
Pâncreas	15	217	145
Pâncreas/Rim	27	633	299
Pulmão	7	224	104
Intestino	1	2	Não há dados
Córnea	272	35.529	24.638
Medula Óssea	52	6.755	Não há dados
Ossos	15	3.242	Não se aplica

Fonte: Registro Brasileiro de Transplantes, 10 anos, Edição Comemorativa, dezembro de 2006 (publicado pela Associação Brasileira de Transplante de Órgãos).

*No ano de 2007, foram realizados no país, segundo o RBT, 3.397 transplantes de rim, 136 de coração, 997 de fígado, 35 de pâncreas, 122 de pâncreas/rim, 46 de pulmão, 0 de intestino, 9.940 de córnea, 1.356 de medula óssea e 2340 de ossos.

minal, ao passo que os transplantes de pâncreas isolado e de pulmão não são ainda extensivamente realizados no Brasil devido a dificuldades técnicas e de disponibilidade de órgãos (Tabela 21.1). Transplante de intestino tem indicação em situações de intestino residual menor do que 10 cm (intestino ultracurto) ou quando houver perda de 80% da área funcional e seu objetivo é tornar possível a alimentação independente do suporte nutricional parenteral. O transplante intestinal é realizado quer de forma isolada, quer combinado a transplante de fígado ou de outras vísceras, mas é muito pouco realizado no Brasil (Tabela 21.1).

Apesar do progresso considerável nos últimos 20 anos no número e na qualidade de drogas imunossupressoras, a ocorrência de reação de rejeição, decorrente da resposta desenvolvida pelo sistema imune do receptor contra o enxerto, continua a representar o principal obstáculo ao sucesso dos transplantes de órgãos vascularizados. No caso do transplante de células-tronco hematopoéticas, derivadas de medula óssea, sangue periférico ou sangue de cordão umbilical, pode ocorrer um problema tão ou mais grave do que a reação de rejeição, isto é, a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH ou GVHD, de *graft-versus-host disease*). O tipo de rejeição mais freqüente em receptores de órgãos sólidos é a rejeição aguda, que, em geral, é revertida com o arsenal terapêutico atualmente disponível de agen-

tes imunossupressores. As alterações crônicas do enxerto, que ocorrem, pelo menos em parte, como conseqüência de episódios de rejeição aguda, não respondem a nenhum tratamento e representam, hoje, o maior desafio no transplante de órgãos sólidos. Assim, para que se possa realmente aumentar a sobrevida do enxerto em longo prazo, é imprescindível um melhor entendimento de todos os fatores que contribuem para a ocorrência de doença crônica do enxerto.

Transplante de córnea é amplamente utilizado e ocupa uma posição especial entre os alotransplantes, uma vez que, na grande maioria dos casos, não apresenta problema de rejeição imunológica, por não ser vascularizado. Já o alotransplante de pele apresenta imunogenicidade muito alta e sua utilização, ainda que transitória, é importante para a oclusão de feridas, principalmente decorrentes de queimaduras extensas, funcionando como verdadeiro curativo biológico, até ocorrer sua rejeição em uma a duas semanas. Enxertos ósseos, autólogos ou alogênicos são os mais freqüentemente realizados no mundo, mas pouco relatados no Brasil (Tabela 21.1). Células e substâncias orgânicas de vários tipos presentes no tecido ósseo induzem respostas imunológicas do receptor, que podem provocar falhas (10% dos casos) ou retardo da enxertia; entretanto, agentes imunossupressores não são usados rotineiramente.

OS GENES E AS MOLÉCULAS DE HISTOCOMPATIBILIDADE

Posto que os antígenos de histocompatibilidade são importantes para a seleção de doadores adequados e desempenham papéis primordiais na rejeição dos alotransplantes e na sobrevivência do enxerto, é necessário o conhecimento de alguns aspectos relevantes acerca dos genes e das moléculas de histocompatibilidade.

Os genes de histocompatibilidade foram assim denominados pelo fato de que, quando descobertos, eram os principais responsáveis pela rápida rejeição de tecidos transplantados entre animais de experimentação, particularmente entre camundongos; o conjunto desses genes é denominado *major histocompatibility complex* (MHC) ou Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH). Mais tarde, foram descobertos outros genes que apresentavam papel menos importante na rejeição contra enxertos, sendo denominados de genes secundários de histocompatibilidade (*minor histocompatibility genes*). Assim, o CPH representa o conjunto de genes responsável por codificar as moléculas de histocompatibilidade em uma determinada espécie, sendo chamado no ser humano de sistema HLA (*Human Leukocyte Antigen*).

O CPH no ser humano está localizado no braço curto do cromossomo 6 e é constituído por genes agrupados em três classes, denominadas classe I, II e III. Os genes de classe I codificam as moléculas clássicas de histocompatibilidade HLA-A, B e C; os genes de classe II codificam as moléculas clássicas de histocompatibilidade HLA-DR, DQ e DP e os genes de classe III, embora estejam incluídos dentro do CPH, não codificam moléculas de histocompatibilidade, e, sim, outras moléculas, algumas delas fazendo parte do sistema imune, outras não. Por exemplo,

as proteínas C4 e C2 da via clássica e o fator B da via alternativa de ativação do complemento, o fator de necrose tumoral (TNF), linfotoxinas, dentre outras, são codificados por genes incluídos na região de classe III. A Fig. 21.1 esquematiza essas classes de genes do CPH humano.

O CPH é o conjunto de genes mais polimórfico entre os mamíferos. O entendimento do termo polimorfismo é essencial para a compreensão da seleção de doadores e dos mecanismos imunológicos envolvidos na rejeição aos enxertos. Alguns genes apresentam uma mesma seqüência de bases nitrogenadas em todos os membros de uma população, sendo chamados não-polimórficos (p. ex., β_2 -microglobulina). Outros apresentam variantes que estão presentes em diferentes membros da população com freqüências estáveis, geralmente maior do que 1%, caracterizando, então, o polimorfismo genético. Cada variante de um gene polimórfico é denominada de alelo. Uma vez que os genes de histocompatibilidade são codominantes, tanto os genes de origem materna como os paternos serão expressos. Assim, para os genes de classe I, até seis moléculas podem ser expressas nas superfícies celulares, ou seja, duas moléculas HLA-A, duas moléculas HLA-B e duas moléculas HLA-C, totalizando seis tipos de moléculas. Pelo fato de esses genes estarem muito próximos uns dos outros, são herdados em bloco. O conjunto de genes oriundo do cromossomo materno ou paterno é designado de haplótipo.

Durante muitos anos, a função conhecida das moléculas de histocompatibilidade estava relacionada apenas com os mecanismos de rejeição contra enxertos. Atualmente, sabe-se que a função primordial dessas moléculas é a de apresentação de peptídeos antigênicos para o reconhecimento pelos receptores dos linfócitos T. As moléculas de classe I apresentam peptídeos gerados intracelularmente, no citosol, para

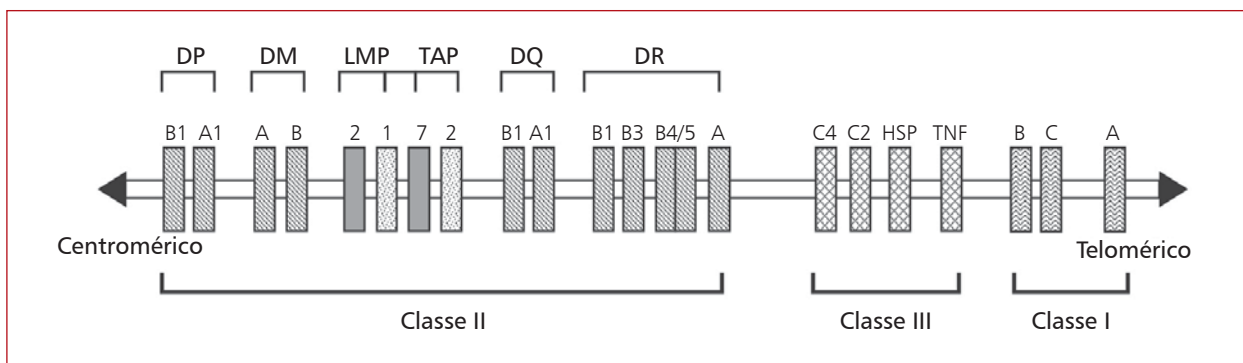


Fig. 21.1 — Estrutura gênica do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) humano, identificando os genes HLA de Classe I (HLA-A, B e C), de Classe II (HLA-DR, DQ e DP) e os de Classe III. Os genes TAP, LMP e HLA-DM, que codificam proteínas não expressas nas superfícies celulares, estão também identificados.

os linfócitos T CD8+, ao passo que as moléculas de classe II apresentam peptídeos extracelulares, que sofreram processo de endocitose, para as células T CD4+ (ver Capítulo 1).

As moléculas de classe I estão constitutivamente expressas nas superfícies de todas as células nucleadas e são compostas por duas cadeias diferentes (heterodímeros). A cadeia pesada α , polimórfica, é codificada pelos loci HLA-A, -B, ou -C do CPH, situados no cromossomo 6, e a cadeia leve, a β_2 -microglobulina, não polimórfica, é codificada por gene situado fora do CPH, no cromossomo 15. A cadeia pesada α contém três domínios, α_1 , α_2 e α_3 , e o grande polimorfismo dessas moléculas ocorre nos domínios α_1 e α_2 . (Fig. 21.2). Esses domínios são extracelulares e contêm cerca de 90 resíduos de aminoácidos cada. Os peptídeos que vão se ligar às moléculas de classe I são gerados no citosol pela ação de algumas proteínas chamadas proteossomas (genes LPM 2 e 7, situados no CPH), sendo transportados ao retículo endoplasmático pelas proteínas TAP 1 e 2 (genes também situados no CPH). Ainda no retículo endoplasmático ocorre o encaixe de peptídeo com cerca de 8 a 12 aminoácidos no sulco de ligação da molécula de classe I e, a seguir, a molécula HLA, complexada com o peptídeo, é transportada até a membrana da célula. A ligação do peptídeo à molécula HLA a torna estável e em condições adequadas para apresentar o peptídeo

aos linfócitos T CD8. Moléculas sem o peptídeo, ou sem a β_2 -microglobulina, não são estáveis e não são expressas na superfície celular.

As moléculas de classe II estão presentes constitutivamente apenas nas superfícies de alguns tipos celulares como macrófagos, linfócitos B e células dendríticas, coletivamente denominadas de células apresentadoras de antígenos (APC, *antigen presenting cells*). Essas moléculas também são heterodímeros formados por uma cadeia α e uma β , ambas codificadas por genes situados no CPH. Cada uma das cadeias apresenta dois domínios, cada domínio com cerca de 90 resíduos de aminoácidos (α_1 e α_2 e β_1 e β_2) (Fig. 21.2). A cadeia alfa da molécula HLA-DR não apresenta polimorfismo, ao passo que as cadeias alfa das moléculas HLA-DQ e DP são codificadas por genes polimórficos. Assim, até oito tipos diferentes de moléculas HLA-DQ e DP (dois genes HLA-DQA, dois DQB, dois DPA e dois DPB; um de cada genitor) podem ser encontradas nas superfícies celulares. Alguns indivíduos possuem apenas um loco em cada haplótipo que codifica para cadeia β de HLA-DR (B1); outros possuem dois locos (HLA-DRB1 mais B3, B4 ou B5). Assim, nos heterozigotos até quatro tipos de moléculas HLA-DR diferentes podem ser observadas.

Os peptídeos apresentados pelas moléculas HLA de classe II têm cerca de 12 a 24 aminoácidos e são

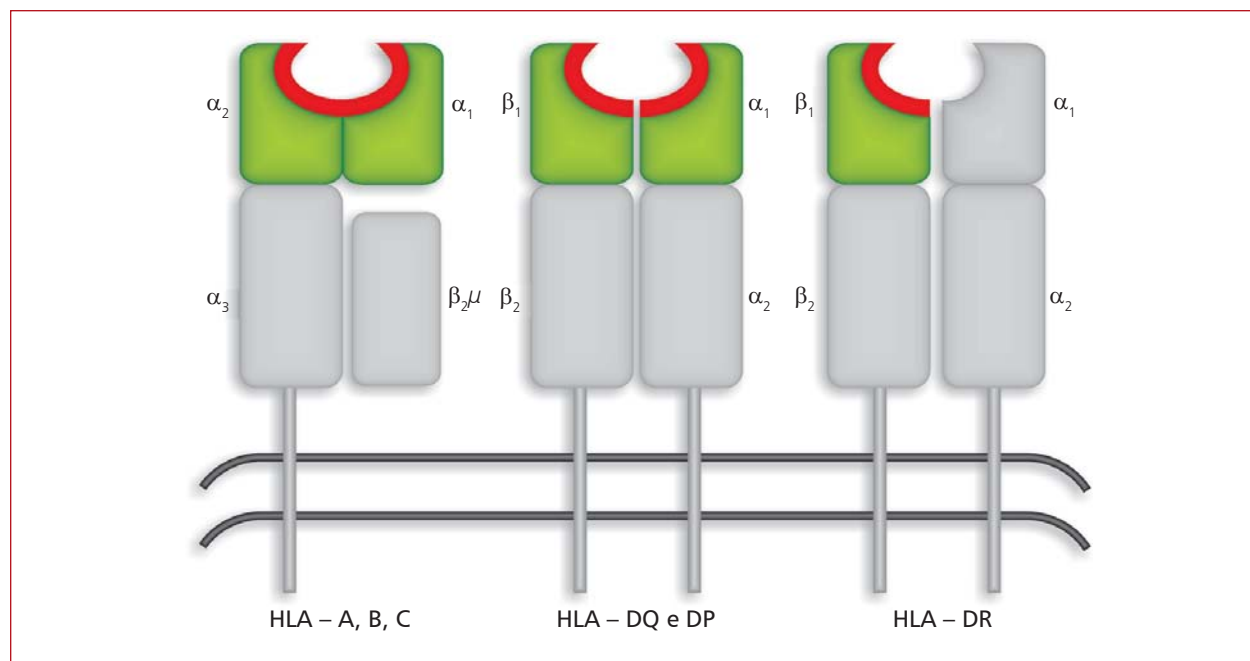


Fig. 21.2 – Moléculas de Histocompatibilidade de Classe I (HLA-A, B e C) e de Classe II (HLA-DR, DQ e DP), mostrando os domínios de maior polimorfismo. Nos domínios α_1 e α_2 das moléculas de Classe I e nos domínios α_1 e β_1 das moléculas HLA-DQ e DP e no domínio β_1 das moléculas HLA-DR são os locais onde ocorre maior polimorfismo (mostrados em vermelho).

processados nos compartimentos endolisossomais. As moléculas HLA-DM (presentes intracelularmente apenas) participam do processo de seleção do peptídeo, em termos de força de ligação à molécula HLA. As moléculas com ligação mais estável com o peptídeo são transportadas até a superfície celular, onde irão apresentar o peptídeo ao receptor do linfócito T CD4+.

A nomenclatura dos alelos HLA segue as seguintes normas: as duas primeiras letras referem-se ao *locus* em consideração (p. ex., DR), seguidas por uma letra que define o tipo de cadeia codificada pelo gene (A para cadeias α , B para cadeias β) e por um número que indica qual o gene que está sendo considerado entre os genes de uma mesma sub-região (p. ex., DRB1). Após um asterisco, segue-se um código de quatro dígitos em que os dois primeiros dígitos correspondem, salvo raras exceções, à especificidade a qual os alelos correspondem, e os dois últimos representam o alelo propriamente dito, caracterizado por uma sequência específica de nucleotídeos (ou de aminoácidos, em nível de proteína).

RESPOSTA IMUNOLÓGICA AO ALOENXERTO

A resposta imune ao enxerto pode ser dividida em duas fases: 1. uma fase de sensibilização, na qual os linfócitos reativos aos antígenos de histocompatibilidade do doador são ativados, proliferam e se diferenciam em células efetoras; 2. uma fase efetora, na qual ocorre o ataque do sistema imune contra o enxerto.

Os linfócitos T CD4+ reconhecem os aloantígenos, quer pela via direta, quer pela via indireta. No reconhecimento dos antígenos HLA pelos receptores (TCR, de *T cell receptor*) dos linfócitos T CD8+ pela *via direta*, os aloantígenos são reconhecidos diretamente, em sua forma intacta, na superfície das células do doador. Esse tipo de reconhecimento, aparentemente, contraria o mecanismo de restrição ao CPH, em que os linfócitos T só reconhecem antígenos apresentados no sulco de moléculas HLA idênticas às deles. No caso da resposta alogênica, há uma grande frequência (1% a 10%) de linfócitos capazes de responder à estimulação por células alogênicas, através de reatividade cruzada ou com o peptídeo apresentado pela molécula CPH não-própria ou com a própria molécula alogênica (Fig. 21.3). Por outro lado, na via indireta, os aloantígenos do doador são processados por APCs do receptor e peptídeos derivados dos aloantígenos são, então, apresentados

aos seus linfócitos T, pelas moléculas HLA classe II presentes nas APCs do próprio receptor (Fig. 21.3). O reconhecimento dos aloantígenos pelas células T, quer pela via direta, quer pela via indireta, gera o primeiro sinal de ativação celular. Um segundo sinal (sinal co-estimulatório) é gerado por interações entre moléculas presentes nos linfócitos e nas células apresentadoras de antígeno (CD28/CD80 e CD40L/CD40, por exemplo). Há evidências de que, entre os vários sinais co-estimulatórios já identificados, a interação de CD28 da célula T com um de seus dois ligantes nas APCs, CD80 ou CD86, é o mais importante na resposta a aloantígenos.

Esses dois sinais, atuando em concerto, acarretam a ativação da transcrição de vários genes, resultando na síntese de muitas proteínas envolvidas na proliferação, no bloqueio da apoptose, na diferenciação e ativação de vários tipos de células. O resultado final dessas interações de superfície celular permite o desenvolvimento não apenas do braço efetor da resposta, como também de diferentes subpopulações de células T helper, Th1 e Th2 (vide Capítulo 1). A polarização Th1 favorece a imunidade celular, ao passo que a Th2 favorece a produção de anticorpos, inibindo a Th1, estando geralmente associadas à rejeição e à tolerância ao enxerto, respectivamente. Apesar de vários experimentos indicarem essa associação, diversos estudos sugerem que nem sempre é clara a associação entre tolerância ao enxerto e polarização da resposta imune Th2. Isso pode ser devido ao fato de que, apesar de a rejeição aguda ser predominantemente uma resposta celular, resposta mediada por anticorpos, polarizada por citocinas Th2, também compõe um mecanismo estabelecido de rejeição ao enxerto.

As citocinas desempenham papel muito importante na resposta imune contra aloenxertos. A interleucina-2 (IL-2) é a citocina-chave na indução da proliferação de células T, via ativação do receptor induzido de IL-2 (IL-2R α -CD25) de maneira autócrina e parácrina. Por esse motivo, até recentemente, era considerada como essencial para o processo de rejeição, porém animais deficientes de IL-2 são capazes de rejeitar enxertos, o que, provavelmente, se deve ao fato de que outras citocinas como IL-4, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, dentre outras, também induzem proliferação de linfócitos T, independentemente da IL-2. O resultado final da interação de IL-2 com outros fatores de crescimento de células T e seus respectivos receptores é a liberação de um sinal que ativa o ciclo celular, deslocando-o da fase G1 para a fase S, por intermédio da enzima TOR (*target of rapamycin*). O ciclo celular dos linfócitos requer a síntese *de novo*

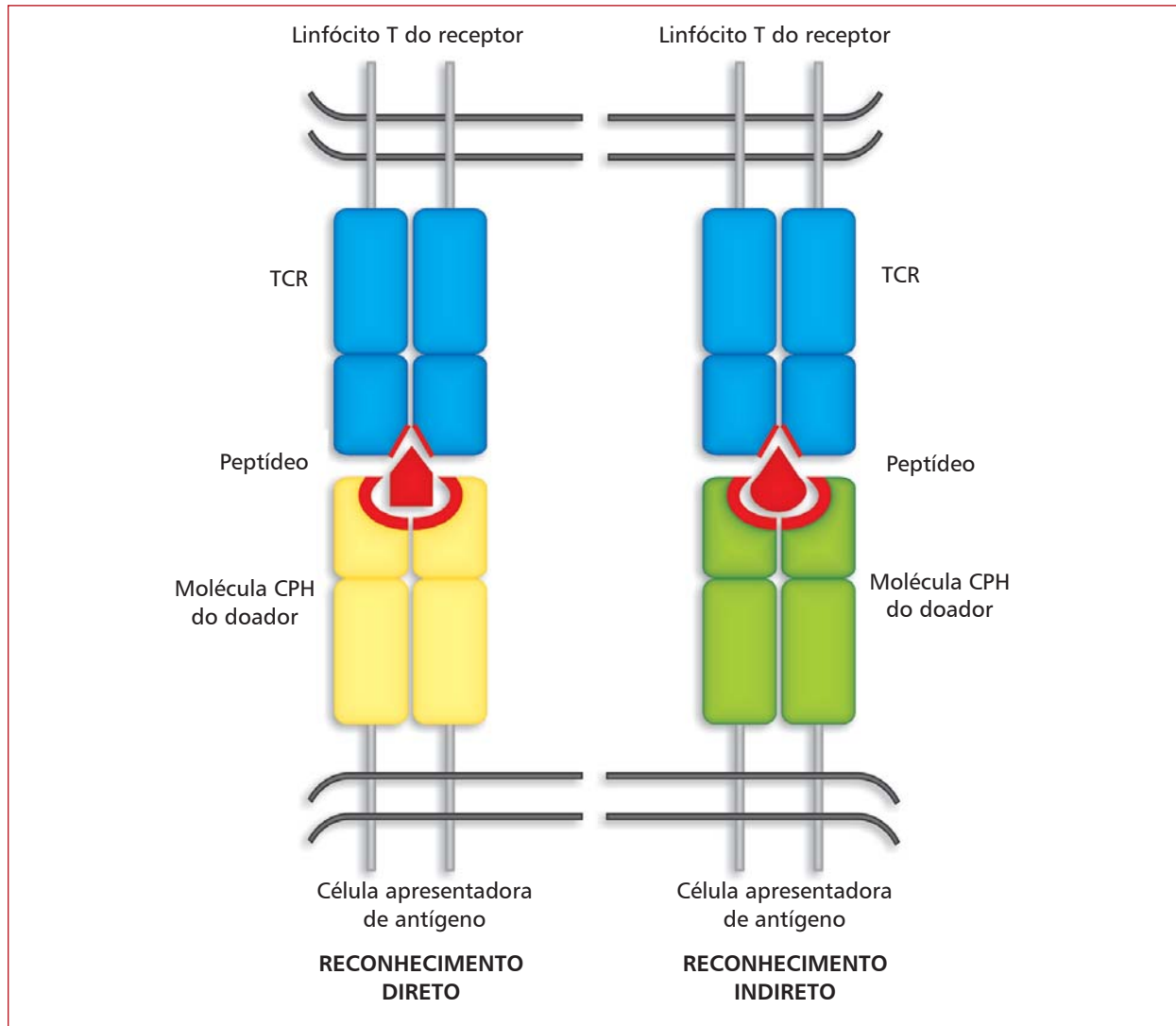


Fig. 21.3 – O linfócito T específico para um peptídeo ligado a uma molécula CPH autóloga (painel da direita) pode reagir cruzadamente com outro peptídeo, apresentado por uma molécula CPH alógena ou com a própria molécula alógena (painel da esquerda). Esses peptídeos encaixam-se no receptor do linfócito T (TCR), permitindo uma estimulação do linfócito, mesmo que não ocorra um encaixe perfeito na molécula CPH alógena. A molécula CPH alógena apresenta um peptídeo do doador por reconhecimento direto pelo linfócito T do receptor (associado com rejeição aguda). Por outro lado, a molécula CPH do receptor apresenta, normalmente, epítopos da molécula CPH do doador pelo mecanismo de reconhecimento indireto (associado com rejeição crônica).

de purinas, controlada pela enzima IMPDH (Inosino Monofosfato Desidrogenase), permitindo a expansão clonal e a realização de suas funções efetoras (a Tabela 21.2 sumariza as principais citocinas envolvidas na rejeição aos alotransplantes).

A rejeição ao aloenxerto é mediada pela infiltração coordenada e pelas funções efetoras de linfócitos T que reconhecem os aloantígenos. Muitos fatores facilitam a infiltração de linfócitos T no enxerto, incluindo a expressão de moléculas de adesão no seu endotélio vascular. As quimiocinas são uma superfamília de citocinas pequenas, estruturalmente relacionadas, capazes de, seletivamente, promover a adesão rápida, a quimiotaxia e

a ativação de subpopulações efetoras de leucócitos (ver Capítulo 1). O papel das quimiocinas em direcionar a migração de linfócitos ao aloenxerto ainda não está bem definido e sua presença durante a rejeição tem sido relatada recentemente. Nesse processo, merece especial atenção o papel das quimiocinas RANTES, MCP-1, IP-10 e Mig, as quais parecem exercer papel fundamental não só durante a rejeição aguda, como também na rejeição crônica ao enxerto, já que a rejeição está associada à presença de um infiltrado celular intersticial composto de células T, macrófagos e, ocasionalmente, eosinófilos, os quais são atraídos por essas quimiocinas. Praticamente, todos os tecidos podem

produzir quimiocinas, em geral em resposta a sinais pró-inflamatórios, incluindo aqueles que promovem interações leucócito-endotélio. As quimiocinas produzidas localmente durante a inflamação atuam como sinalizadoras para diversos tipos de leucóci-

tos, favorecendo o rolamento e a adesão às células endoteliais. Os leucócitos ativados expressam integrinas que facilitam a adesão ao endotélio, facilitando a migração para dentro do tecido, induzida pelas quimiocinas. Pelo menos cinco integrinas são importantes nas interações linfócito-endotélio e as mais importantes são LFA-1, ligante de ICAM-1 e ICAM-2 no endotélio e VLA-4, ligante de VCAM-1 (a Tabela 21.3 sumariza as principais moléculas de adesão).

Participam dos mecanismos efetores da rejeição do aloenxerto os linfócitos T citotóxicos, os linfócitos B, os macrófagos e as células *natural killer* (NK). As células T citotóxicas (CTL) lisam seus alvos por dois mecanismos: 1. mediado por enzimas, (perforina e granzima B) existentes nessas células citotóxicas ou mesmo causado diretamente pelo TNF- α ; 2. um processo apoptótico que envolve a interação de moléculas de superfície Fas e Fas-L (ligante). As células CD4, por sua vez, produzem citocinas pró-inflamatórias, como o IFN- γ , que aumentam a expressão de moléculas HLA no enxerto e ativam macrófagos. Os linfócitos B se diferenciam em plasmócitos, os quais secretam grandes quantidades de anticorpos específicos contra os aloantígenos. Os anticorpos podem lesar o enxerto diretamente via ligação do complemento ou por meio do envolvimento das células NK, induzindo a citotoxicidade dependente de anticorpos (*antibody-dependent, cell-mediated cytotoxicity-ADCC*). Os macrófagos parecem desempenhar papel importante no processo de disfunção crônica do enxerto, uma vez que citocinas, como IL-1, TNF, PGDF e TGF- β , produzidas por macrófagos ativados, podem resultar em alterações ateroscleróticas e fibrose, lesões estas associadas à disfunção crônica do enxerto.

Tabela 21.2. Principais Citocinas Envolvidas na Rejeição ao Transplante

Citocina	Atividade(s) Biológica(s)
IL-1 α/β	Aumenta a ativação de células T e B, induz febre, reagentes da fase aguda e proliferação de fibroblastos
IL-2	Induz a proliferação e diferenciação de células T, B e NK
IL-4	Fator de crescimento para células T e B
IL-5	Crescimento e diferenciação de eosinófilos, proliferação de células B
IL-6	Diferenciação de células B
IL-8	Quimiotaxia para neutrófilos
IL-9	Estimulação de células T
IL-10	Inibição da apresentação antigênica e da produção de INF- γ
IL-12	Potencializa a produção de INF- γ
IL-13	Inibe a produção de IL-1, TNF, IL-6 e IL-8; aumenta a produção de INF- γ .
TNF- α (fator de necrose tumoral)	Estimula fibroblastos, macrófagos e neutrófilos
INF- γ (interferon)	Ativa macrófagos, induz expressão de HLA classe I e II
TGF- β (fator transformador do crescimento)	Inibe a proliferação de cels T e B, inibe a ativação de macrófagos, estimula o fator de crescimento de fibroblastos

Tabela 21.3. Principais Moléculas de Adesão Envolvidas na Interação Leucócito-endotélio

Complexo Receptor-Ligante		Atividade(s) Biológica(s)
Molécula	Ligante	
LFA-1	ICAM - 1,2,3	Adesão, migração e ativação leucocitária
VLA-4	VCAM-1	Adesão, migração e ativação leucocitária
E- Selectina	s-Lex	Rolamento de leucócitos
P-Selectina	s-Lex	Rolamento de leucócitos
L- Selectina	PNAd	Rolamento de leucócitos

LFA – Função associada ao linfócito; ICAM – Molécula de adesão intercelular; VLA – Antígeno tardio (*very late antigen*); VCAM – Molécula de adesão célula-vasculatura; s-Lex – sialyl Lewis X; PNAd – *peripheral node addressin*.

REAÇÕES DE REJEIÇÃO AOS ENXERTOS

Diversos tipos de reação de rejeição ao enxerto têm sido descritos; alguns são mais frequentemente observadas em transplantes de órgãos sólidos, ao passo que outros em transplantes de células hematopoéticas. Um tipo especial de reação de rejeição de órgãos, denominada rejeição hiperaguda, ocorre quando o transplante é realizado em receptores que apresentam, por ocasião do transplante, anticorpos pré-formados contra antígenos do grupo sanguíneo ABO ou antígenos HLA presentes no enxerto. Na ausência de rejeição hiperaguda, o evento inicial da resposta imune do receptor que levará às rejeições aguda e crônica é o reconhecimento, pelos linfócitos T do receptor, dos antígenos presentes no enxerto e ausentes no receptor (aloantígenos contra os quais será dirigida a resposta imune). Os aloantígenos correspondem essencialmente aos antígenos de histocompatibilidade do sistema HLA de classe I e classe II. No caso de transplante de células-tronco hematopoéticas, a reação do enxerto contra o hospedeiro também é decorrente do reconhecimento dos antígenos de histocompatibilidade (HLA e não-HLA) do receptor pelos linfócitos do doador. Esse tipo de reação desencadeada por outros sistemas de aloantígenos além do HLA (antígenos de histocompatibilidade secundários) explica a ocorrência de doença do enxerto contra o hospedeiro em casos de doador e receptor HLA-idênticos.

Reações de Rejeição aos Enxertos de Órgãos Sólidos

- **Rejeição hiperaguda:** caracteristicamente, tem início minutos ou até 72 horas após a revascularização do enxerto, havendo cessação da função e rápida progressão para a perda irreversível do órgão (rim, coração, pulmão) devido à lesão do endotélio e à trombose capilar. É causada pela ligação, à superfície das células endoteliais, de anticorpos fixadores de complemento, já existentes no receptor por ocasião do enxerto. Os anticorpos envolvidos podem ser dirigidos contra antígenos do grupo sanguíneo ABO ou contra antígenos HLA, mais especificamente anticorpos IgG anti-HLA classe I. Anticorpos anti-HLA podem ser formados em decorrência de sensibilização por transfusões sanguíneas, gestações ou transplantes prévios. Em caso de rejeição hiperaguda de rim, por exemplo, as biópsias realizadas cerca de
- 60 minutos após a reperfusão do enxerto mostram neutrófilos nos capilares peritubulares e nos glomérulos. Após 12 a 24 horas, ocorre coagulação intravascular e necrose cortical, podendo ser detectados componentes do complemento nas lesões vasculares e glomerulares. Essa reação pode ser evitada por meio da tipificação dos antígenos eritrocitários ABO e prova cruzada (*crossmatch*), no entanto, não há tratamento efetivo.
- **Rejeição aguda:** classicamente, desenvolve-se no período de uma a seis semanas após o transplante, mas pode ocorrer a qualquer momento, mesmo anos após o transplante, especialmente em pacientes com baixa adesão ao tratamento imunossupressor. Atualmente, apresenta baixa incidência e comumente responde à terapia imunossupressora existente. No transplante renal, o quadro de rejeição é caracterizado por diminuição do volume urinário, febre, aumento de volume e dor no local do enxerto, hipertensão arterial, ganho de peso, aumento da creatinina, leucocitose e anemia, diminuição do sódio urinário, leucocitúria, hematúria e proteinúria. Com a utilização de drogas imunossupressoras mais potentes, atualmente, o quadro clínico é mascarado e, muitas vezes, o único sinal é o aumento ou a estabilização dos níveis de creatinina. O diagnóstico é feito com base na biópsia renal, sendo o achado microscópico característico a presença de intenso infiltrado de células mononucleares. Em alguns casos de rejeição aguda, de ocorrência mais rara, o quadro é mais grave, há comprometimento importante da vasculatura, não ocorre um intenso infiltrado mononuclear e há fortes indícios da participação predominante de anticorpos anti-HLA em sua patogenia.
- **Rejeição crônica:** ocorre meses ou anos após o transplante, ocasionando a perda progressiva e inexorável do enxerto. Envolve mecanismos de imunidade celular e humoral, além de outros fatores não imunológicos, como idade do doador, incompatibilidade de tamanho entre receptor e doador, tempo de isquemia fria, hipertensão arterial sistêmica, hiperlipidemia e certas infecções, principalmente por citomegalovírus. Caracteriza-se pela presença de fibrose intersticial associada à intensidade variável de infiltrado intersticial linfomononuclear e obliteração vascular. Até o momento não tem tratamento, mas pode ser evitada ou adiada mantendo-se um bom nível de imunossupressão, evitando-se rejeições agudas e tratando-se precoce e efetivamente as alterações supracitadas. Sendo multifatorial, hoje a preferên-

cia é pelo termo “disfunção ou doença crônica do enxerto”, em vez de rejeição crônica.

Reações de Rejeição aos Enxertos de Células Hematopoéticas

Nos transplantes alogênicos de células-tronco hematopoéticas (CTH), três tipos de eventos imunológicos influenciam decisivamente o resultado do transplante, traduzido em sobrevivência do paciente: a rejeição, a reação do enxerto-contra-hospedeiro e a reação enxerto-contra-leucemia.

Os mecanismos imunológicos operantes na rejeição de CTH envolvem a resposta de linfócitos T ou NK contra antígenos de histocompatibilidade principais e secundários presentes nas CTH. Essa reação ocorre raramente em receptores de transplantes HLA-genotipicamente idênticos que recebem altas doses de imunossupressão antes do transplante porque os agentes imunossupressores e os linfócitos T do enxerto eliminam drasticamente as células imunologicamente competentes do receptor, impedindo-o de responder contra as CTH infundidas. Entretanto, a incidência de rejeição aumenta em transplantes com receptores hipersensibilizados (politransfundidos com anemia aplástica, por exemplo), com disparidades nos antígenos HLA (aparentados ou não-aparentados), recebendo menores doses de imunossupressão (regimes não-mieloablativos) ou transplantes com depleção de células T no enxerto. Outra causa de rejeição é o uso de CTH de cordão umbilical em pacientes adultos, o que, frequentemente, resulta em um número insuficiente de CTH para produzir enxertamento. Qualquer que seja a causa da rejeição, ela constitui um evento muito grave e insustentável em longo prazo, devido à pancitopenia sangüínea associada e deve ser corrigida, seja por imunossupressão, seja por um segundo transplante.

A *doença do enxerto-contra-hospedeiro (DECH ou GVHD, de graft versus host disease)* é a principal causa de morbidade e mortalidade em transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas, como transplante de medula óssea, de células de cordão umbilical ou de células do sangue periférico. Os requisitos para o desenvolvimento de reação do enxerto contra o hospedeiro são os seguintes: 1. o enxerto deve conter células imunologicamente competentes; 2. o receptor deve expressar antígenos de histocompatibilidade não presentes no doador; 3. o receptor deve ser incapaz de destruir as células imunocompetentes do doador. Na sua forma aguda, a ativação dos linfócitos T do doador e a produção subsequente

de citocinas geram reações inflamatórias na pele, no trato gastrointestinal e no fígado. Em casos graves, pode haver eritroderma generalizado, hemorragia gastrointestinal e insuficiência hepática, com elevada morbimortalidade. Já a forma crônica se assemelha a uma doença auto-imune sistêmica com predomínio de fibrose e acomete pele, mucosas, olhos, fígado e, eventualmente, pulmões. Além disso, a GVHD crônica produz significativo estado de imunossupressão, causando infecções oportunistas graves e recorrentes, que são as principais causas de óbito nos pacientes acometidos. A resposta imunológica alogênica envolvida nas reações de GVHD assemelha-se, imunologicamente, à discutida acima para as rejeições de órgãos sólidos, tendo sido observada, recentemente, a participação decisiva das células apresentadoras de antígeno do receptor na GVHD aguda. Apesar da sua alta morbimortalidade, a GVHD está associada à menor recaída de doenças neoplásicas, estimulando a resposta imunológica de células T contra as células neoplásicas, na reação do enxerto-contra-leucemia (*GVL ou graft-versus-leukemia reaction*). Essa reação pode também ser mediada por linfócitos NK do doador expressando antígenos HLA do loco C (e receptores KIR – *killing inhibitor receptor*-) incompatíveis com os do receptor, sem aumento significativo de GVHD. Esses conhecimentos têm sido explorados em vários protocolos clínicos que tentam otimizar os resultados do TCTH, dissociando o efeito GVL da GVHD, usando megadose de CTH em transplantes haploidênticos, infusão de linfócitos alogênicos do doador para prevenir ou tratar recaídas pós-transplante ou infusão de subpopulações linfocitárias de diversas naturezas. Essa dissociação não pôde ser obtida com a depleção radical de linfócitos T e NK do doador *in vitro*, pois essa manipulação, embora tenha reduzido drasticamente a incidência da GVHD, aumentou significativamente a recaída da doença de base (neoplasia linfohematopoética) e a rejeição do enxerto.

A principal indicação dos TCTH continua sendo o tratamento de doenças malignas do sistema linfohematopoético, como as leucemias, os linfomas e o mieloma múltiplo (Tabela 21.4), mas essas indicações têm-se expandido para doenças genéticas, como as imunodeficiências e as hemoglobinopatias (anemia falciforme e talassemias), e, mais recentemente, para as doenças auto-imunes (DAI). A partir de 1996, mais de 1.000 transplantes autólogos de células progenitoras hematopoéticas para DAI graves e refratárias foram realizados no mundo, produzindo remissões prolongadas em 30% a 70% de pacientes com doenças reumáticas (principalmente lúpus eritematoso

sistêmico, esclerose sistêmica e artrite idiopática juvenil), esclerose múltipla e citopenias hematológicas (anemia hemolítica auto-imune, púrpura trombocitopênica imune). O Brasil ocupa um lugar de destaque nessa área porque, através de um estudo cooperativo multicêntrico iniciado em 2001, realizou cerca de 10% do total desses transplantes e, recentemente, publicou o primeiro trabalho de transplante de células-tronco em diabetes do tipo I, com resultados bastante promissores (14/15 pacientes alcançaram independência insulínica após o transplante, mantida em longo prazo em 12 pacientes).

TESTES IMUNOLÓGICOS PRÉ-TRANSPLANTES DE ÓRGÃOS

Compatibilidade ABO

É necessário respeitar a compatibilidade ABO em transplantes de rim, assim como de outros órgãos vascularizados, com a finalidade de evitar rejeição hiperaguda mediada por isoaglutininas anti-A ou anti-B. Transplantes de fígado, entretanto, são resistentes a esse tipo de rejeição, o que permite a realização de transplantes em situação de incompatibilidade ABO. Ainda assim, recomenda-se que transplante de fígado ABO incompatível se restrinja a casos em que haja emergência para o transplante, uma vez que a incompatibilidade ABO associa-se à menor sobrevida do transplante em longo prazo.

Em caso de transplantes de rim com doador falecido, utiliza-se o critério de identidade ao invés de compatibilidade ABO, para que os receptores do grupo O, que só podem receber rins de doadores O, não fiquem em desvantagem em relação aos outros receptores que, além de poderem receber rins de doadores do mesmo grupo sanguíneo, podem também receber rins de doadores do grupo O. Exceção a esta regra ocorre em casos de doador com excelente compatibilidade HLA em relação ao receptor (nenhuma incompatibilidade HLA-A, B, DR), situação em que é respeitada apenas a compatibilidade ABO.

Prova Cruzada ou Crossmatch

Essa prova é realizada com a finalidade de evitar a ocorrência de rejeição hiperaguda mediada por anticorpos pré-formados contra antígenos HLA do doador. É um exame obrigatório no pré-transplante e a presença de anticorpos IgG dirigidos contra antígenos HLA classe I é uma contra-indicação formal ao transplante, pelo alto risco de ocorrência de rejeição hiperaguda. A prova-cruzada pré-transplante deve ser realizada com métodos sensíveis (o método de microlinfocitotoxicidade sensibilizado com antiglobulina humana é o mais freqüentemente utilizado) e deve ser capaz de discriminar entre reatividade devida a anticorpos da classe IgG, deletérios ao transplante, daquela causada por anticorpos da classe IgM, não deletérios ao transplante. Além disso, sem-

Tabela 21.8. Principais indicações de transplantes de células tronco hematopoéticas (TCTH) permitidas no Sistema Único de Saúde brasileiro (Portaria No 931 de 2/maio/2006 do Ministério da Saúde)

TCTH Autólogo de Sangue Periférico (Idade <70 anos)	TCTH Alogênico de Medula Óssea Aparentado Mieloablativo (Idade <60 anos)	TCTH Alogênico de Medula Óssea Aparentado Não-mieloablativo (Idade <70 anos)
Leucemia mielóide aguda	• Leucemia mielóide aguda	• Mesmas indicações da coluna anterior em pacientes com co-morbidades associadas
Linfoma não-Hodgkin	• Leucemia linfóide aguda/linfoma linfoblástico	• Leucemia linfóide crônica
Doença de Hodgkin	• Leucemia linfóide aguda Ph1+	• Mieloma múltiplo
Mieloma múltiplo	• Leucemia mielóide crônica	• Linfoma não-Hodgkin indolente
Tumor de célula germinativo	• Anemia aplástica grave adquirida ou constitucional • Síndrome mielodisplásica • Imunodeficiência celular primária • Talassemia maior • Mielofibrose primária	• Linfoma de Hodgkin

Observações: 1) Cada uma dessas indicações possui restrições quanto ao estágio da doença e outras características (fatores de risco, quimiossensibilidade, etc); 2) Há outras categorias de TCTH contempladas na portaria (alogênico de sangue periférico, não-aparentado de medula óssea, sangue periférico ou cordão umbilical), com indicações semelhantes; 3) Outras indicações não experimentais ou transplantes realizados em protocolos de pesquisa poderão ser autorizados pelo Sistema Nacional de Transplantes do Ministério da Saúde

pre que possível, além do soro recente do receptor, devem ser avaliados, frente às células do possível doador, seus soros anteriores (“soros históricos”), com a finalidade de pesquisar se previamente o receptor apresentava anticorpos contra antígenos HLA do doador. A ocorrência de prova cruzada positiva somente com soro histórico, em geral, não se associa com rejeição hiperaguda, porém confere risco aumentado de rejeição aguda acelerada.

No transplante renal, a prova cruzada é realizada rotineiramente antes do transplante. Nos transplantes cardíaco e pulmonar, entretanto, que não permitem longos períodos de espera entre a retirada do órgão e seu implante no receptor, a prova cruzada geralmente não é realizada antes do transplante, desde que o soro do receptor tenha sido analisado anteriormente e tiver sido provado que o mesmo não contém anticorpos anti-HLA.

Da mesma forma que em relação à incompatibilidade no sistema ABO, o transplante hepático não sofre reação de rejeição hiperaguda por anticorpos anti-HLA. No entanto, não é recomendável que os transplantes sejam realizados nessa situação, pois pode comprometer a sobrevida do enxerto em longo prazo.

Reatividade Contra Pannel

Esse exame, conhecido também pela sigla PRA, de *panel reactive antibodies*, é realizado para investigar a presença de anticorpos anti-HLA no soro do receptor. Para tanto, o soro é investigado frente a um painel de células de diferentes indivíduos, em que estão representadas as diferentes especificidades HLA. A presença de anticorpos é detectada pelo método de citotoxicidade dependente de complemento, ou por métodos em que os antígenos HLA solubilizados são aderidos a superfícies sólidas e os anticorpos são detectados por ELISA ou por tecnologia Luminex. Os resultados são expressos em termos de porcentagem de reatividade contra pannel, isto é, porcentagem de células do pannel com as quais o soro mostrou reação positiva. Os resultados do PRA são relevantes para uma série de questões: estimativa da probabilidade do receptor em encontrar um doador contra o qual apresente prova-cruzada negativa; seleção do(s) soro(s) que dever(ão) ser testado(s), além do soro atual, com as células do doador no *crossmatch* pré-transplante; avaliação do risco de perda do transplante em longo prazo, uma vez que altos níveis de PRA (> 50 % e, especialmente, > 80%) associam-se à menor sobrevida do transplante. Outro aspecto muito importante do PRA é a definição da especificidade dos anticorpos, para que sejam

evitados transplantes com doadores que apresentem antígenos HLA contra os quais o receptor apresente, ou tenha apresentado no passado, anticorpos.

Compatibilidade HLA

A tipificação dos antígenos HLA classe I (antígenos HLA-A, B, C) pode ser realizada por meio do método de citotoxicidade dependente de complemento (“método sorológico”), em que uma suspensão de linfócitos do indivíduo a ser tipificado é estudada frente a uma bateria de anti-soros ou anticorpos monoclonais dirigidos contra as diversas especificidades HLA. Alternativamente, a determinação dos antígenos HLA classe I pode ser realizada através do estudo do DNA. Nesse caso, pode ser empregado o método de PCR-SSO (amplificação loco-específica do DNA, seguida de hibridação com sondas específicas para os diferentes alelos ou grupos de alelos) ou o método de PCR-SSP que consiste na amplificação dos alelos por pares específicos de iniciadores (*primers*).

A tipificação dos antígenos HLA classe II pode ser realizada pelo método sorológico, como o descrito para os antígenos HLA classe I, desde que a suspensão celular empregada seja enriquecida em linfócitos B (linfócitos T não ativados não apresentam antígenos classe II). Considerando as dificuldades técnicas para a preparação da suspensão de linfócitos B e também a dificuldade em obter bons reagentes (anticorpos específicos contra as diversas especificidades HLA classe II), o método sorológico foi praticamente abandonado e, atualmente, a grande maioria dos laboratórios emprega os métodos de PCR-SSO ou PCR-SSP para a tipificação dos antígenos HLA classe II.

A tipificação HLA classe I ou classe II por biologia molecular denominada de baixa/média resolução permite a definição das especificidades HLA (cada especificidade representa uma família de alelos). Já a tipificação de alta resolução permite a definição dos diferentes alelos HLA.

Em transplantes com doador vivo aparentado, como pode ser o caso de transplante de rim ou de células-tronco hematopoéticas, os possíveis doadores são classificados de acordo com o número de haplótipos HLA maternos e/ou paternos (haplótipos idênticos por descendência) compartilhados. Assim, doadores HLA-idênticos, HLA-haplo-idênticos ou HLA-distintos compartilham dois, um ou nenhum haplótipo HLA com o receptor. Os pais são sempre HLA-haplo-idênticos em relação aos filhos e vice-versa.

Em caso de transplantes de rim com doador falecido, o grau de compatibilidade entre receptor e doador é referido em termos de número de incompatibilidades HLA, sempre levando-se em consideração os antígenos HLA presentes no doador e ausentes no receptor, isto é, aqueles antígenos que seriam reconhecidos como “não próprios” pelo receptor. O número máximo de incompatibilidades (ou *mismatches*, MM), considerando-se os locos HLA-A, B e DR é seis, uma vez que cada indivíduo apresenta duas moléculas correspondentes a cada loco. Em caso de haver a determinação de somente um antígeno em um loco, considera-se o indivíduo homocigoto neste loco. Por exemplo, se o receptor for HLA- A01,02; B07,51; DR11,15, e o doador, A01,-; B07,-; DR11,13, será computada somente uma incompatibilidade HLA (HLA-DR13) com este doador.

A classificação por incompatibilidades, descrita acima, passou a ser utilizada a partir da década de 1990, quando a metodologia para a tipificação dos antígenos HLA por biologia molecular possibilitou a obtenção de resultados mais precisos. Anteriormente, utilizava-se a classificação por número de antígenos HLA em comum (número de compatibilidades) entre receptor e doador.

VALORIZAÇÃO DA COMPATIBILIDADE HLA NA SELEÇÃO IMUNOLÓGICA NOS DIVERSOS TIPOS DE ENXERTO

Transplante Renal

A tipificação HLA foi aplicada ao transplante renal logo após terem sido descobertos os primeiros antígenos HLA. Antes do final da década de 1960, já havia publicações demonstrando que a sobrevida do enxerto era muito superior quando o doador era um irmão HLA-idêntico em comparação com qualquer outro tipo de doador. Atualmente, o efeito da compatibilidade HLA continua a ser demonstrado, tanto em transplantes com doador vivo como com doador falecido; seu impacto é observado principalmente quando se considera a sobrevida do transplante em longo prazo (mais do que cinco ou dez anos pós-transplante). A meia-vida do transplante de rim (tempo necessário para que 50% dos transplantes falhem, considerando somente os enxertos funcionantes um ano após o transplante) tem sido estimada em torno de 27 anos, quando o doador é HLA-idêntico, e em 11 anos quando o doador é HLA haplo-idêntico. Em transplantes com doador falecido, a meia-vida tem sido estimada em 17 anos, quando não há incompatibilidades HLA-A, B, DR com o receptor e em 8 anos, nos outros casos.

Além da compatibilidade HLA, outros fatores influenciam a sobrevida do enxerto, como tempo em lista de espera por transplante, estado geral do receptor, idade do receptor e doador, condições médicas do doador, tempo de isquemia fria.

Novas drogas e novas combinações de drogas surgidas na última década associaram-se a uma redução drástica no número de rejeições agudas. Estes bons resultados obtidos em curto prazo levaram ao questionamento se ainda seria necessário levar em consideração o grau de compatibilidade HLA em transplante renal. Análises uni e multicêntricas, entretanto, claramente demonstram que a compatibilidade HLA continua a ser o fator isolado que apresenta o maior impacto na sobrevida do enxerto renal.

Na Fig 21.4 estão apresentadas várias curvas de sobrevida de enxerto renal, elaboradas pelo CTS (*Collaborative Transplan Study*), uma organização dirigida pelo Prof. Dr Gerhard Opelz, voltada para a análise de dados de transplantes de órgãos, que abrange mais de 300 centros de transplantes em mais de 50 países. A Fig. 21.4A mostra curvas de sobrevida de primeiro enxerto com doador aparentado HLA-idêntico (melhor sobrevida), haplo-idêntico (sobrevida intermediária) e doador falecido (menor sobrevida). Todas as outras curvas referem-se a primeiro transplante com rim de doador falecido. O impacto do número de incompatibilidades HLA pode ser apreciado na Fig. 21.4B. A Fig. 21.4C mostra que tempo de isquemia fria (tempo entre a retirada e a implantação do órgão) curto, por si só, não garante o sucesso do transplante. Note-se que a sobrevida do enxerto é maior em casos de zero incompatibilidade com tempos de isquemia fria entre 37 a 48 horas do que em transplantes com seis incompatibilidades e tempo de isquemia fria menor que 2 horas. As Figs. 21.4 C, D e E mostram que o impacto da compatibilidade HLA na sobrevida do transplante renal é maior em pacientes sensibilizados contra antígenos HLA, mesmo sendo transplantados com prova-cruzada negativa contra o doador.

No Brasil, a seleção de receptores de transplante com rim de doador falecido, utilizando critérios de histocompatibilidade, foi iniciada em 1987 no São Paulo Interior Transplante (SPIT), só se tornando rotineira no estado de São Paulo em 2002. Dados do SPIT confirmaram as observações da literatura internacional em relação à associação entre maior grau de compatibilidade HLA do par doador/recep-

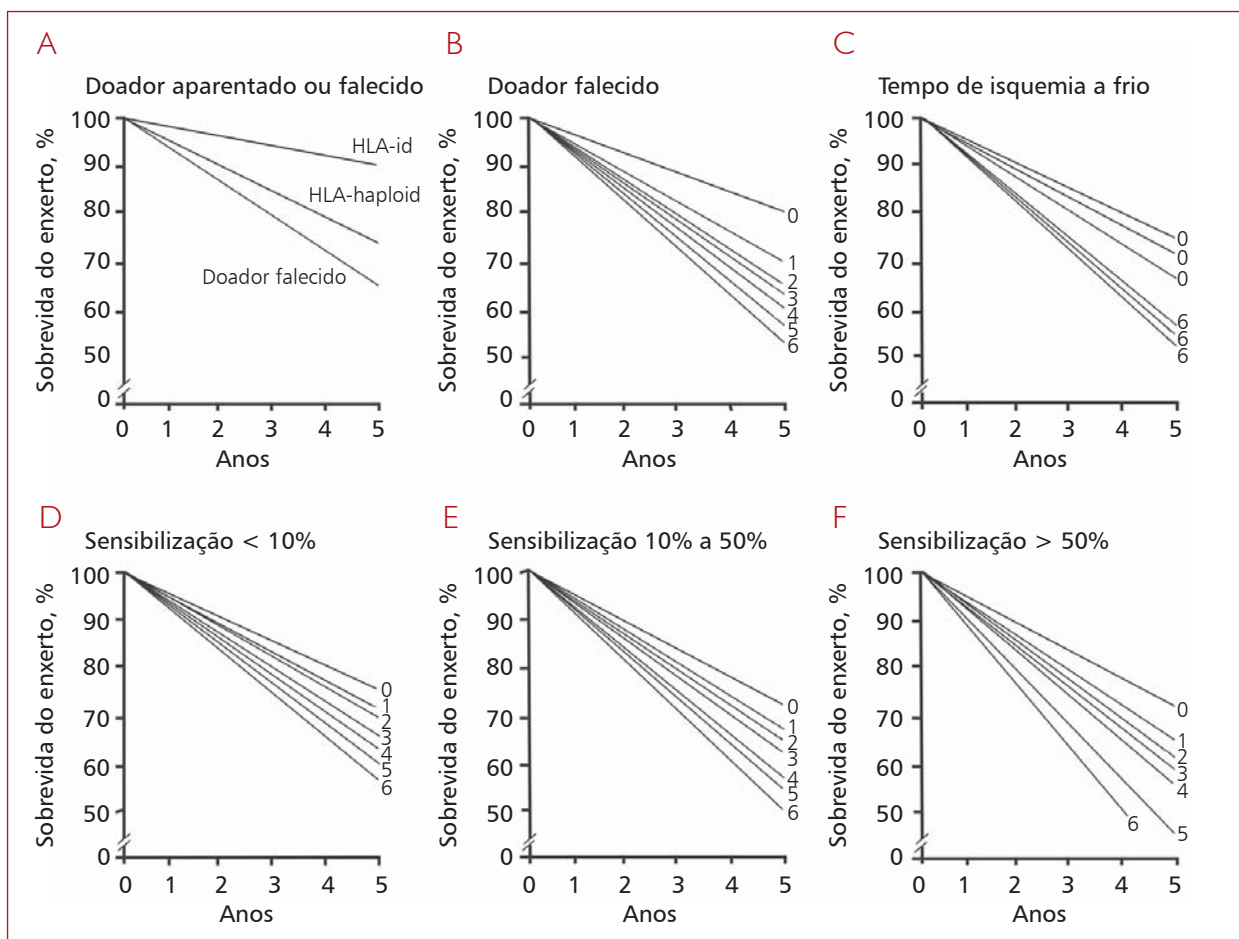


Fig. 21.4 — Curvas de sobrevida de transplante renal, elaboradas pelo *Collaborative Transplant Study* (CTS): A. sobrevida segundo o tipo de doador (irmão HLA-idêntico, irmão HLA-haplo-idêntico, doador falecido); as curvas B a F referem-se à sobrevida de transplantes com doador falecido, segundo: B. número de incompatibilidades HLA; C. tempo de isquemia fria em transplantes com zero e com seis incompatibilidades HLA. As três curvas superiores e inferiores indicam tempos de isquemia fria de < 2 horas, 24 a 36 horas e 37 a 48 horas, respectivamente; D. número de incompatibilidades HLA em receptores não sensibilizados contra antígenos HLA (PRA < 10%); E. número de incompatibilidades HLA em receptores sensibilizados contra antígenos HLA, com PRA entre 10% e 50%; F. número de incompatibilidades HLA em receptores sensibilizados contra antígenos HLA, com PRA > 50%. PRA: % de reatividade do soro contra um painel de células.

tor e maior sobrevida do enxerto (Fig 21.5 A). Dados atuais sobre compatibilidade HLA e sobrevida do enxerto renal no Estado de São Paulo, apresentados na Fig. 21.5B, mostram que a sobrevida do enxerto, em seis anos (01/01/2002 a 31/12/2007) foi 74,21%, 65,35% e 58,76%, em receptores com 0, 1 a 2 ou 3 ou mais incompatibilidades HLA com o doador, respectivamente ($p < 0.05$, na comparação entre 0 e 1-2 incompatibilidades; $p < 0.025$ na comparação entre 1-2 e 3 incompatibilidades).

Transplantes de Fígado, Coração e Pulmão

Considerando que os pacientes em lista de espera de transplante de fígado, coração ou pulmão apresentam falência de órgãos para os quais não há terapêutica substitutiva equivalente à hemodiálise, um fator crítico para a sobrevivência do paciente é

o tempo de espera para a realização do transplante. Para isso, não se aplica o critério de compatibilidade HLA na seleção do receptor que irá receber o transplante de determinado doador.

Transplante de Córnea

Apesar de haver evidências de que a sobrevida do transplante de córnea também seja influenciada pelo grau de compatibilidade HLA, o grau do impacto da compatibilidade não justifica a implementação de programa de distribuição de córneas baseado em compatibilidade HLA no caso de primeiros transplantes cujo risco de rejeição é muito baixo. A situação é um pouco diferente, entretanto, quando a córnea do receptor se tornou vascularizada devido a processos inflamatórios prévios ou quando o receptor já rejeitou um ou mais transplantes de córnea prévios. Nessas situações,

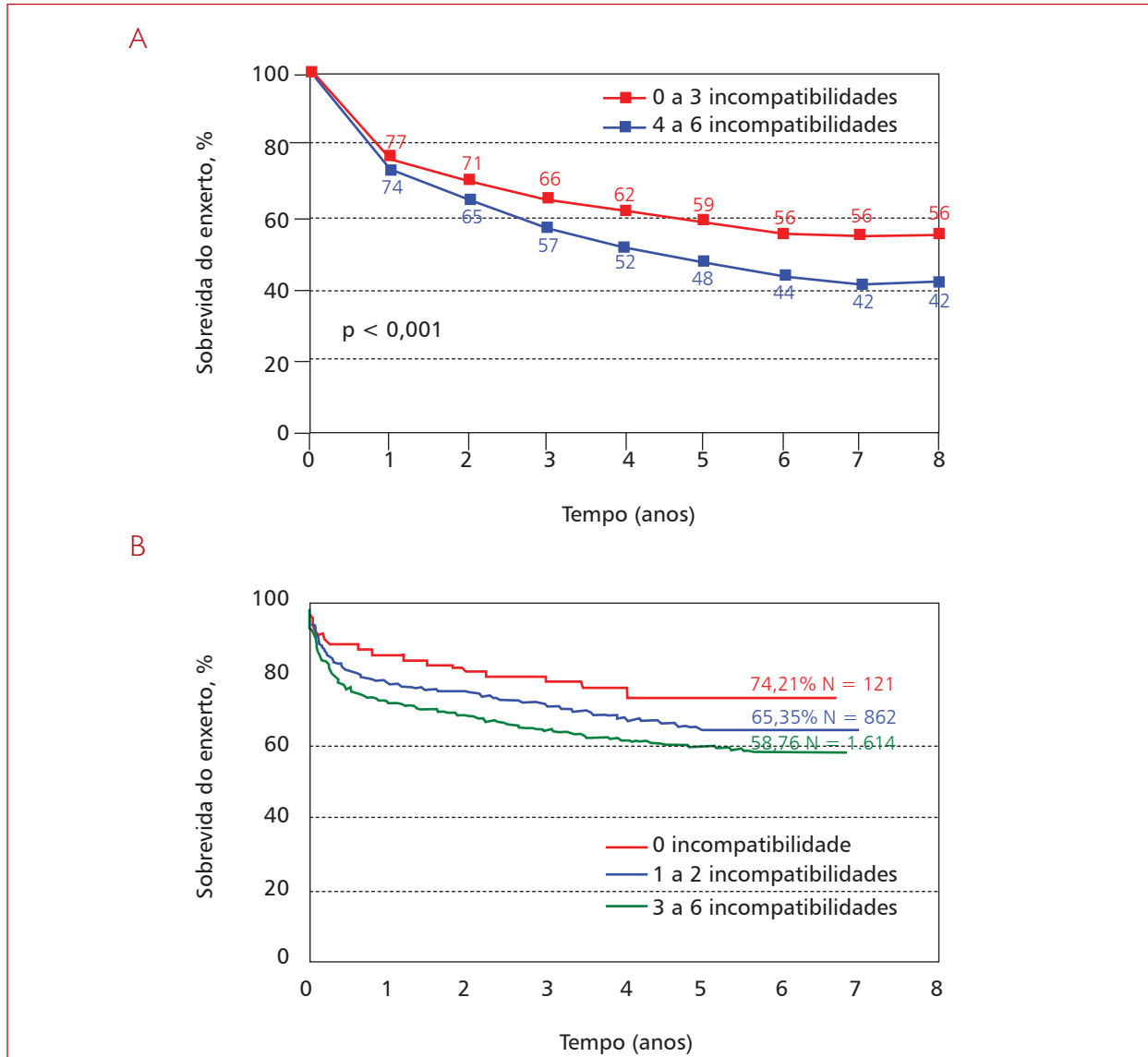


Fig. 21.5 – Efeito da compatibilidade HLA sobre a sobrevida de rim de doador falecido. A. Dados do São Paulo Interior Transplante (SPIT), relativos a transplantes realizados entre 01/04/87 a 31/07/96, de acordo com o número de incompatibilidades HLA; B. Dados da Central de Transplantes do Estado de São Paulo, relativos a transplantes realizados no Estado de São Paulo no período entre 01/01/2002 e 31/12/2006, de acordo com o número de incompatibilidades HLA.

o transplante de córneas compatíveis quanto aos antígenos HLA tem melhor prognóstico.

Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas

A seleção imunológica de doador para transplante de células tronco hematopoéticas baseia-se no fato de que quanto maior o grau de compatibilidade HLA, maior a probabilidade de enxertia (que reflete, entre outras coisas, a ausência de rejeição ao transplante) e menor o risco de doença do enxerto-contrá-hospedeiro. Há que considerar, entretanto, que algum grau de incompatibilidade pode ser benéfico em casos de leucemias, por induzir o chamado efeito enxerto-contrá-leucemia.

O doador ideal é um irmão HLA-idêntico e a probabilidade de um par de irmãos ser HLA-idêntico é de 25%. A probabilidade de encontro de um irmão HLA-idêntico, de acordo com o número (n) de irmãos pode ser deduzida através da fórmula: $1 - (0,75)^n$. Ocasionalmente, especialmente em famílias com casamentos consanguíneos, um familiar não irmão pode apresentar grau suficiente de compatibilidade HLA para se tornar doador. Cerca de 40% a 70% dos receptores não encontram um doador na família (dependendo do número de irmãos do paciente) e, para estes, resta a procura de doadores em registros nacionais e internacionais de doadores voluntários de medula óssea. Evidentemente, o grande polimorfismo do sistema HLA dificulta o encontro de doador

compatível e nem todos os receptores encontram, em tempo hábil, um doador não aparentado adequado. Os critérios mínimos de compatibilidade HLA exigidos para transplantes com doador não aparentado variam de centro para centro transplantador, mas é rara a realização de um transplante de medula óssea sem haver, no mínimo, cinco compatibilidades HLA, considerando HLA-A e HLA-B, em nível de grupos de alelos e HLA-DR, em nível de alelos. Em se tratando de transplante de células de cordão umbilical, aceitam-se doadores com menor grau de compatibilidade HLA. O transplante de células de cordão umbilical, entretanto, não é tão eficaz como o transplante de células de medula óssea para pacientes adultos. Esse tipo de transplante é mais freqüentemente aplicado a crianças, uma vez que, na maior parte dos casos, o número de células disponíveis não é suficiente para um transplante em paciente adulto.

IMUNOSSUPRESSÃO PÓS-TRANSPLANTE

Enquanto não for possível induzir a tolerância, o sucesso dos transplantes alogênicos de doadores não geneticamente idênticos depende, fundamentalmente, de drogas imunossupressoras. O carácter inespecífico da imunossupressão produzida pelas mesmas, entretanto, torna o receptor muito susceptível a infecções. Além disso, outros efeitos colaterais podem ocorrer, específicos para cada tipo de droga. As drogas imunossupressoras podem ser classificadas em diversos grupos, de acordo com seu mecanismo de ação: agentes inibidores de mitose (azatioprina, micofenolato), antiinflamatórios (corticosteróides) e inibidores da ativação dos linfócitos (ciclosporina A, tacrolimus, rapamicinas). Anticorpos antilinfocitários poli ou monoclonais, assim como anticorpos monoclonais anti-CD3 ou anti-CD25 também têm sido empregados, principalmente para tratar rejeições resistentes aos corticosteróides ou como terapia de indução em pacientes que apresentam alto risco de rejeitarem o enxerto.

Então, para evitar episódios de rejeição aguda e o desenvolvimento de rejeição crônica, são utilizados diferentes protocolos de imunossupressão. Desde 1960 até meados da década de 1980, dispúnhamos apenas de azatioprina e prednisona, quando, então, a ciclosporina A foi introduzida, o que trouxe importante contribuição para a sobrevivência de enxerto, principalmente em transplantes com doador falecido. A combinação desses três imunossupressores passou a ser chamado esquema clássico

de tratamento. Desde a década de 1990, diversas drogas imunossupressoras têm sido desenvolvidas, incluindo tacrolimus, micofenolato mofetil (MMF), sirolimus e, recentemente, micofenolato sódico, everolimus e FTY 720A, além de anticorpos monoclonais que bloqueiam a interação de IL-2 com o seu receptor (IL-2R): basiliximab e daclizumab. Assim, podemos individualizar a imunossupressão de acordo com as características do receptor e, por meio de associações de drogas, diminuir os efeitos colaterais de cada uma delas.

Os protocolos de tratamento, em geral, são baseados na associação de: 1. antiinflamatórios: corticosteróides (metilprednisolona, prednisona); 2. inibidores de calcineurina (ciclosporina A, tacrolimus); 3. drogas antiproliferativas (azatioprina, micofenolato, rapamicinas). Essa associação pode ou não ser precedida do uso de agentes biológicos que suprimem a resposta de linfócitos, incluindo anticorpos poli (ATG, ALG) ou monoclonais (OKT3, basiliximab, daclizumab).

- *Corticosteróides (metilprednisolona, prednisona)*: o mais antigo antiinflamatório conhecido é também o mais inespecífico imunossupressor, inibindo a ativação de APCs e linfócitos T e a síntese de IL-1, IL-2, IL-6 e IFN- γ . Apresenta como principais efeitos colaterais: hipertensão arterial, obesidade, *diabetes mellitus*, dislipidemia, doenças pépticas, pancreatite, hirsutismo, acne, catarata, glaucoma, retardo do crescimento (crianças), osteoporose, dificuldade de cicatrização, risco de infecções. É usado na indução, na manutenção e como resgate de rejeições agudas celulares. Devido ao grande espectro de efeitos colaterais, existe uma tendência atual de diminuição rápida de sua dosagem e há grupos que, em pacientes de baixo risco imunológico, o utilizam apenas no início (protocolos com três dias a três meses) ou não o utilizam. Como alternativa, podemos utilizar o deflazacort em pacientes estáveis com pelo menos seis meses de transplante.
- *Inibidores de calcineurina (ciclosporina A, tacrolimus)*: a inibição da calcineurina impede a desfosforilação do fator de ativação nuclear (NFAT1), bloqueando a sua translocação para o núcleo e, conseqüentemente, a transcrição gênica de citocinas, principalmente IL-2. O principal efeito colateral é a nefrotoxicidade, devido à vasoconstrição renal, principalmente da arteriola aferente, fazendo com que a janela terapêutica seja muito estreita (Tabela 21.5). Outros efeitos colaterais: hipertensão arterial, dislipidemia, hiperuricemia, *diabetes mellitus*, neurotoxicidade,

Tabela 21.5. Comparação entre Ciclosporina e Tacrolimus

	<i>Ciclosporina</i>	<i>Tacrolimus</i>
Mecanismo de ação	Inibidor de calcineurina	Inibidor de calcineurina
Dose de manutenção diária	2 a 6 mg/kg	0,10 a 0,25 mg/kg
Administração	Oral e endovenosa	Oral e endovenosa
Interações medicamentosas	Similar	Similar
Prevenção de rejeição	+	++?
Associação com MMF	+	+ (possibilidade de redução de dose)
Associação com sirolimus	+ (pode aumentar nefrotoxicidade)	+ (pode aumentar nefrotoxicidade)
Nefrotoxicidade	+	+
HA e retenção de sódio	++	+
Toxicidade a ilhotas pancreáticas	+	++
Neurotoxicidade	+	++
Hirsutismo	+	-
Queda de cabelo	-	+
Hipertrofia de gengiva	+	-
Efeitos gastrintestinais	-	+
Motilidade gástrica	-	+
Hipercalemia	+	+
Hipomagnesemia	+	+
Hipercolesterolemia	+	-?
Hiperuricemia/Gota	++	+

hepatotoxicidade, síndrome hemolítico-urêmica, hipertrofia gengival, hirsutismo (ciclosporina), alopecia (tacrolimus), aumento do risco de infecções. Ambos são metabolizados pelo sistema enzimático do citocromo P450A e, portanto, devem ter suas doses ajustadas quando em uso de drogas que interfiram com esse sistema. São utilizados na manutenção e, em alguns casos, como resgate de rejeição aguda. Não podem ser utilizados conjuntamente (Tabela 21.6).

■ **Drogas antiproliferativas (azatioprina, micofenolato, rapamicinas):** essas drogas têm como objetivo comum impedir a proliferação clonal, porém agem de maneiras distintas.

– **Azatioprina:** derivada da 6-mercaptopurina, age como análoga às bases purínicas, inibindo sua síntese. Utilizada na manutenção. Efeitos colaterais: mielotoxicidade, hepatotoxicidade,

pancreatite, aumento do risco de infecções. Não deve ser utilizada em associação com alopurinol (mielossupressão e hepatotoxicidade) e nem com micofenolato.

– **Micofenolato mofetil e micofenolato sódico:** têm como princípio ativo o ácido micofenólico, o qual é inibidor da enzima inosina monofosfato desidrogenase (IMPDH), inibindo a síntese *de novo* de purinas especialmente em linfócitos, o que confere mais especificidade (além de maior potência) do que a azatioprina. São utilizados na manutenção, em alguns casos de resgate de rejeições agudas e também no tratamento de nefropatia crônica do enxerto, principalmente nos casos de nefrotoxicidade causada pelos inibidores de calcineurina, possibilitando a redução de dose ou mesmo a suspensão deles. Apresentam eficácia, segurança e efeitos colaterais semelhantes; os mais frequentes são: mielotoxicidade, doenças

Tabela 21.6. Drogas Imunossupressoras – Doses Preconizadas

Drogas	Indução	Manutenção
Metilprednisolona	0,25 a 1 g/dia	(-)
Prednisona	1 mg/kg/dia	0,05 a 0,1 mg/kg/dia
Ciclosporina A	8 a 12 mg/kg/dia	2 a 6 mg/kg/dia*
Tacrolimus	0,1 a 0,3 mg/kg/dia	0,1 a 0,25 mg/kg/dia*
Azatioprina	3 a 5 mg/kg/dia	1 a 3 mg/kg/dia**
Micofenolato Mofetil	2 a 3 g/dia	1 a 2 g/dia**
Sirolimus	2 a 6 mg/dia	2 a 5 mg/dia*
Micofenolato Sódico	1.440 mg/dia	720 a 1.440 mg/dia**
Everolimus	1,5 a 3 mg/dia	1,5 a 3 mg/dia
FTY 720A	2,5 a 5 mg/dia	1 a 5 mg/dia**

* Correção de dose conforme nível sérico.

** Correção da dose conforme contagem periférica de linfócitos.

pépticas, pancreatite, diarreia, dor abdominal, aumento do risco de infecções. Podem ser utilizados associados ao alopurinol e parecem ser menos hepatotóxicos do que a azatioprina.

- *Rapamicinas (sirolimus, everolimus)*: inibidores da atividade da *target of rapamicin* (TOR), inibindo sinais de ativação e proliferação derivados dos receptores de IL-2 (IL-2R) e de co-estimulação CD28, inibindo o ciclo celular. Apresentam eficácia e efeitos colaterais semelhantes: dislipidemia, mielotoxicidade, diarreia, artralgia, linfocele, aumento do risco de infecções. Como não causam efeitos vasomotores renais, são consideradas como não-nefrotóxicas, porém seu uso está associado à ocorrência de proteinúria e disfunção renal aguda em alguns pacientes. Esses efeitos adversos parecem ser decorrentes do aumento da pressão capilar glomerular após a suspensão dos inibidores de calcineurina (proteinúria) e supressão do processo de proliferação celular renal compensatória (disfunção renal). A capacidade de inibir o ciclo celular confere às rapamicinas ações antineoplásicas, sendo atualmente utilizadas com sucesso em casos de tumores pós-transplante. Podem ser utilizados em conjunto com micofenolato mofetil ou com inibidores de calcineurina, porém parecem potencializar o efeito nefrotóxico da ciclosporina. São utilizados na manutenção e também no tratamento de nefropatia crônica do enxerto, principalmente nos casos de nefrotoxicidade causada pelos inibidores de calcineurina, possibilitando

a suspensão deles. Nível terapêutico sugerido de sirolimus: 5 a 20 ng/mL.

As doses preconizadas dos imunossupressores anteriormente descritos estão na Tabela 21.6 e seus principais efeitos colaterais estão resumidos na Tabela 21.7.

A indução da imunossupressão pode também ser realizada com o emprego de anticorpos poli ou monoclonais. Devido ao aumento considerável da carga imunossupressora e possíveis conseqüências, deve ser restrita aos pacientes de alto risco imunológico (crianças, adolescentes, afro-brasileiros, retransplante, reatividade contra painel $\geq 30\%$) e/ou em situações nas quais há um alto risco de necrose tubular aguda e que se deseje adiar a introdução de inibidores de calcineurina, como, por exemplo, em casos de doador com idade ≥ 60 anos ou isquemia fria ≥ 30 horas. Como há um aumento considerável na incidência de infecções virais, especialmente CMV, recomenda-se a instituição de tratamento com ganciclovir sempre que se usar anticorpos poli ou monoclonais.

■ Anticorpos policlonais:

- *globulina antitimocitária (ATG) e globulina antilinfocitária (ALG)*: anticorpos com ação contra múltiplas moléculas de superfície de linfócitos, induzindo linfopenia, opsonização, apoptose e modulação de receptores de linfócitos. São obtidos por imunização de animais (coelho, cavalo) com linfócitos de cultura ou timócitos. Utilizados por via endovenosa na indução ou

Tabela 21.7. Toxicidade dos Imunossupressores

Toxicidade	Ciclosporina	Tacrolimus	Esteróides	Rapamicina	Micofenolato
Nefrotoxicidade	+	+	-	±	-
Neurotoxicidade	+	+	-	-	-
Hipertensão	+	+	+	-	-
Hiperlipidemia	+	?	+	+	-
Diabetes	+	+	+	-	-
Osteoporose	+	+	+	-	-
Mielotoxicidade	-	-	-	+	+

no tratamento de rejeição aguda grave, por um período de 10 a 14 dias, na dose de 1 a 1,5 mg/kg/dia (de ATG). Como são proteínas heterólogas, podem desencadear doença do soro e a produção de anticorpos, com limitação de segundo uso, além de anafilaxia. As primeiras doses (principalmente a primeira) causam liberação de citocinas, especialmente TNF e INF- γ , desencadeando freqüentemente febre alta, calafrios, náuseas, vômitos, diarreia, dispnéia, meningite asséptica, cefaléia, artralgia e mialgia, devendo ser seguido o mesmo protocolo descrito para o uso de OKT3 (a seguir). É comum, também, o aparecimento de eritema cutâneo, anemia, plaquetopenia, aumento do número de infecções e risco de neoplasias futuras.

■ *Anticorpos monoclonais:*

- *anticorpo anti-CD3 (OKT3):* anticorpo heterólogo, de camundongo, específico contra a molécula CD3 associada ao receptor da célula T em linfócitos T maduros. Induz lise celular com linfopenia, opsonização, apoptose e modulação de receptores de linfócitos. Apresenta as mesmas reações adversas já descritas com o uso de anticorpos policlonais, apenas mais freqüentes e mais intensas, além de nefropatia induzida pelo OKT3. Utilizado por via endovenosa na indução ou tratamento de rejeição aguda grave (vascular ou corticorresistente), por um período de 7 a 14 dias, na dose de 2,5 a 5 mg/dia. A formação de anticorpos anticamundongo deve ser suspeitada quando houver reaparecimento de células CD3 na circulação, podendo-se aumentar a dose de OKT3;
- *anticorpo anti-CD25 (receptor alfa da IL-2):* anticorpos monoclonais quiméricos (basiliximab) ou humanizados (daclizumab), que bloqueiam o receptor IL-2R competindo com

a IL-2, de baixa imunogenicidade e alta afinidade. Como não há ativação ou lise de linfócitos, não há a síndrome de primeira dose e seu uso é bastante seguro e praticamente isento de efeitos colaterais. São utilizados por via endovenosa nas seguintes doses: basiliximab duas doses de 20 mg cada, no dia zero pré-transplante e no quarto dia; daclizumab cinco doses de 1 mg/kg no dia zero (pré-transplante) e a cada duas semanas. Uma alternativa a esse esquema seria o emprego de duas doses de 2 mg/kg no pré-operatório e no dia dez. Ambos são muito eficazes, seguros e devem ser utilizados apenas como indução. No HCFMRP, utilizamos esses anticorpos como indução em casos selecionados, poupando o uso de OKT3 ou anticorpos policlonais para os casos de rejeição vascular ou celular córtico-resistente. Assim, é utilizado nos casos de enxertos com isquemia fria ≥ 30 horas, retransplante, painel $\geq 30\%$, receptor criança, adolescente ou afro-brasileiro ou doador com idade ≥ 60 anos.

Além de seu efeito desejável de diminuir a resposta imune contra o aloenxerto, os imunossupressores também atuam diminuindo a resposta imune contra os agentes infecciosos, favorecendo o surgimento de diversas infecções pós-transplante. A Tabela 21.8 sumaria as principais complicações infecciosas pós-transplante renal.

MONITORIZAÇÃO IMUNOLÓGICA EM TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS SÓLIDOS

A monitorização imunológica pós-transplante tem como objetivo geral estabelecer testes *in vitro* que permitam caracterizar e quantificar a resposta imune do receptor, buscando responder a uma série de questões e problemas que se apresentam no período pós-transplante.

Tabela 21.8. Infecções Pós-Transplante Renal			
	Primeiro Mês Pós-Operatório	1 a 4 Meses	Após 3 a 4 Meses
Bactérias	ITU, ferida operatória, pneumonia, relacionadas com cateteres	Nocardia, Listeria, <i>Mycobacterium</i> spp.	Doenças adquiridas na comunidade, às vezes com apresentação atípica
Vírus	Herpes simplex	CMV, EBV, VZV, Polyoma vírus, influenza, adenovírus	CMV, VZV, HBV, HCV, Polyoma, EBV, HHV-8, Herpes simplex
Fungo	Candida	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Cryptococcus</i>
Parasitas		<i>Strongyloides</i> spp., <i>Pneumocystis</i> , <i>Toxoplasma</i> sp.	
Nosocomiais	<i>Legionella</i> sp.		

Embora o padrão-ouro para o diagnóstico da rejeição seja atualmente a análise histológica de biópsias, esse exame não apresenta 100% de sensibilidade e especificidade em relação ao diagnóstico de rejeição, além de ser um procedimento invasivo e não isento de risco de complicações para o paciente. Outras limitações da avaliação histológica é que ela só permite a detecção de processos de rejeição que já ocasionaram lesão no tecido e, além disso, fornece muito poucas informações a respeito dos mecanismos imunológicos operantes.

Levando-se em conta as limitações da análise histológica, um dos objetivos da monitorização imunológica é a definição de marcadores, em biópsias, que sirvam para aumentar a sensibilidade e a especificidade desse exame para o diagnóstico de rejeição. O grande objetivo em relação ao diagnóstico de rejeição, entretanto, é o encontro de testes que, além de sensíveis e específicos, não sejam invasivos. Nesse sentido, marcadores de rejeição vêm sendo pesquisados no sangue e na urina.

A monitorização imunológica visa também à caracterização do tipo predominante de mecanismo imunológico operante. Por exemplo, a distinção entre rejeição mediada por anticorpos, por mecanismos de imunidade celular, ou com participação de ambos os mecanismos propiciaria a escolha de abordagens terapêuticas mais adequadas para cada caso.

A definição de marcadores capazes de prever a ocorrência de rejeição antes do surgimento de alterações histológicas, por outro lado, propiciaria intervenção terapêutica precoce.

Outro grande alvo da monitorização imunológica é o estabelecimento de parâmetros que possam servir para ajustar o tipo e a dosagem de imunossuppressores, de acordo com a necessidade de cada paciente,

de maneira a ser ministrada imunossupressão suficiente para suprimir a reação de rejeição e, ao mesmo tempo, manter o paciente com suficiente resposta imune para protegê-lo contra infecções e neoplasias. Dentro desse contexto, insere-se também a busca de marcadores de risco de perda do transplante em médio e em longo prazo.

Além de todos os pontos anteriormente mencionados, é evidente que os conhecimentos, gerados pela monitorização imunológica, sobre mecanismos que levam à rejeição ou ao estabelecimento de tolerância ao enxerto, poderão levar à descoberta de novos alvos para drogas imunossupressoras ou que dirijam a resposta imune no sentido da tolerância. Dessa maneira, a monitorização imunológica poderá contribuir para a realização do grande sonho dos transplantadores: o estabelecimento de tolerância doador-específica, capaz de promover a aceitação do enxerto sem a utilização, ou com o uso de doses muito baixas, de imunossuppressores.

A monitorização pós-transplante abrange testes de imunidade mediada por anticorpos e por células. Independentemente do teste utilizado e do material empregado, informações mais precisas são, em geral, obtidas quando as avaliações são realizadas de maneira seriada, permitindo que sejam consideradas flutuações de valores em um mesmo paciente.

Métodos Utilizados na Monitorização da Resposta Imune Humoral contra o Enxerto

Esses métodos correspondem essencialmente aos utilizados para a detecção de anticorpos HLA, embora alguns outros anticorpos, como anticorpos anti-MICA (MICA é um antígeno HLA não clássico que se expressa principalmente em células subme-

tidas à estresse), possam também estar relacionados com rejeição.

A pesquisa de anticorpos anti-HLA pode ser realizada diretamente frente a linfócitos do doador, se eles estiverem disponíveis, ou pode ser realizada frente a painel de células ou de antígenos HLA. É interessante a comparação dos resultados obtidos em soros pós-transplante com os observados em soro(s) pré-transplante, com a finalidade de determinar se os anticorpos detectados no pós-transplante começaram a ser produzidos somente nesse período.

A produção, no pós-transplante precoce, de anticorpos IgG anti-HLA classe I associa-se com ocorrência de rejeição aguda com componente humoral tanto em transplante renal como cardíaco. A relação entre anticorpos anti-HLA e sobrevida do enxerto em longo prazo é um assunto que está sendo intensamente investigado em todos os tipos de transplantes. Os resultados obtidos sugerem fortemente que anticorpos anti-HLA participam da patogenia de pelo menos uma proporção das rejeições crônicas de transplante renal.

Métodos Utilizados na Monitorização da Resposta Imune Celular contra o Enxerto

Os testes utilizados para avaliar a resposta imune celular podem ser divididos em duas grandes categorias: testes específicos contra os antígenos do doador e testes não específicos. Em um ou outro caso, o material mais informativo é um fragmento de biópsia do próprio enxerto. Testes em células mononucleares do sangue periférico, entretanto, têm sido intensamente investigados, pela facilidade e pela ausência de risco na obtenção desse tipo de material. Mais raramente, têm sido utilizadas células presentes na urina, em caso de transplante renal.

A resposta dos linfócitos do receptor contra as células do doador é classicamente avaliada *in vitro* através do teste denominado cultura mista de linfócitos, em que é medida a resposta proliferativa dos linfócitos do receptor frente a células do doador. Face à falta de correlação com a evolução ao enxerto, esse teste foi abandonado.

Dentre os testes inespecíficos, os mais frequentemente utilizados são a caracterização das células infiltrantes do enxerto, através de marcadores de superfície celular e a avaliação quantitativa da expressão de uma série de moléculas que participam

da ativação, desenvolvimento, regulação ou fase efetora da resposta imune. A expressão dessas moléculas tem sido avaliada quer através de métodos imunistoquímicos, quer através da quantificação de seu mRNA, através do método de RT-PCR (*reverse transcriptase-polymerase chain reaction*) quantitativo com competidor ou de RT-PCR em tempo real. A maioria dos estudos vêm sendo realizados em fragmentos de biópsias. Quantificação de mRNA de células obtidas de amostras de sangue e de urina também tem sido utilizada como ferramenta para monitorização imunológica visando ao diagnóstico de rejeição por métodos não-invasivos.

Recentemente, foram publicados alguns trabalhos sobre monitorização imunológica utilizando a metodologia de cDNA microarray para analisar a expressão gênica, quer em material de biópsias, quer em células extraídas do sangue periférico ou de urina. Em contraste com o método de RT-PCR, em que a expressão de cada gene é avaliada individualmente, a tecnologia de cDNA microarray oferece a possibilidade de uma análise simultânea da expressão de milhares de diferentes genes, gerando padrões de expressão (“assinaturas gênicas”) relacionadas com diferentes situações clínicas, por exemplo, rejeição, infecção, quiescência.

Concluindo, a monitorização imunológica pós-transplante ainda não revelou nenhum tipo de teste para o diagnóstico de rejeição que supere a histologia de biópsias em relação ao diagnóstico de rejeição. As pesquisas já sugerem, entretanto, marcadores que, quando analisados em conjunto com a análise histológica, permitiriam aumentar a sensibilidade do diagnóstico histológico de rejeição. Além disso, foram descritos marcadores em biópsias e/ou em sangue capazes de caracterizar diferentes tipos de rejeição e também de fornecer informações sobre risco de rejeição em curto e em longo prazo. Um aspecto importante a considerar é que nenhum teste isoladamente será capaz de prover todas as respostas. Espera-se, contudo, que a combinação de resultados de diferentes testes possa vir a compor um retrato fidedigno do que esteja ocorrendo a cada momento, em cada paciente.

MONITORIZAÇÃO IMUNOLÓGICA EM TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS

Embora sejam usados, rotineiramente, métodos imunológicos relativamente sofisticados para a seleção de doadores para transplante de células

tronco hematopoéticas, como a tipificação molecular dos genes HLA, no período pós-transplante, investigação laboratorial relativamente simples é empregada, na maioria das vezes, para monitorar os eventos imunológicos que ocorrem no transplante alogênico de CTH. Assim, a enxertia ou a rejeição do transplante são monitoradas através de contagens sanguíneas de células produzidas pela medula óssea (hemácias, granulócitos e plaquetas); a ocorrência e a evolução da temida reação do enxerto-contrahospedeiro (GVHD) são determinadas por métodos clínicos laboratoriais dirigidos à lesão de órgãos-alvo, dispensando a detecção de alorreatividade do doador contra o receptor. Do mesmo modo, a reação enxerto-contra-leucemia (*graft-versus-leukemia* ou *GVL*) é avaliada, indiretamente, pela ocorrência ou não de recaída da doença neoplásica de base, por métodos morfológicos ou de imagem, sem recorrer a avaliações da resposta imunológica antitumoral. Em adição, embora se disponham de métodos bastante sofisticados para estudo da recuperação quantitativa e funcional dos vários componentes do sistema imunológico no período pós-transplante, na maioria dos centros ainda se emprega a simples contagem linfocitária total para essa avaliação. Mais recentemente, em alguns poucos centros, tem-se procurado monitorizar a reconstituição imunológica pós-TCTH com contagens absolutas de linfócitos CD4, como é rotineiro na infecção pelo HIV.

Uma exceção ao quadro descrito acima é a avaliação do grau de quimerismo doador/receptor, que costuma ser feito com técnicas sofisticadas de citometria de fluxo, ou, com maior sensibilidade, de biologia molecular, usando, por exemplo, *real time PCR*. Esses estudos encontram aplicação, no período pós-transplante, na determinação do grau de enxertia, da presença de doença residual mínima e, por extensão, na presença de recaída e na avaliação do sucesso das abordagens imunoterápicas para combater a recaída pós-TCTH.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização de transplantes de órgãos é, hoje, uma realidade que faz parte da prática clínica. Desde o primeiro transplante de rim de doador não geneticamente idêntico ao receptor, realizado com bons resultados na década de 1960, o sucesso progressivo alcançado pelos transplantes nos últimos 40 anos deveu-se, principalmente, à compreensão dos mecanismos de rejeição e à utilização de drogas imunossupressoras cada vez mais eficientes. O reconhecimento de que a rejeição hiperaguda era

devida a anticorpos e a existência de metodologia adequada para a detecção desses anticorpos praticamente eliminou esse tipo de rejeição. A introdução da ciclosporina A, na década de 1980, ao esquema imunossupressor, até então constituído somente por azatioprina e corticosteróides, não só teve um impacto marcante na sobrevida do transplante renal, como viabilizou o sucesso de transplantes de outros órgãos. Outras drogas imunossupressoras começaram também a ser usadas, propiciando esquemas alternativos, em caso de ineficiência ou efeitos colaterais das drogas “clássicas”. A sobrevida atual dos transplantes é excelente em curto prazo; por exemplo, é de cerca de 90% a sobrevida do enxerto renal em um ano. Entretanto, a sobrevida em longo prazo, tanto do transplante renal como de outros órgãos, ainda é comprometida pela ocorrência da doença crônica do enxerto.

Para o futuro, restam muitos desafios, entre os quais se destacam: a prevenção ou o tratamento da doença crônica do enxerto; a individualização da imunossupressão, tanto em termos de doses como de tipo de imunossupressores, de acordo com características genéticas do receptor e/ou de parâmetros de resposta imune contra o enxerto obtidos em testes de monitoração imunológica pós-transplante; a indução de tolerância imunológica ao órgão transplantado, com a finalidade de evitar ou minimizar a necessidade de emprego de drogas imunossupressoras; a utilização de órgãos de animais, os xenotransplantes, com a finalidade de eliminar o problema da escassez dos doadores; o transplante de células que, em alguns casos, poderia substituir o transplante de um órgão como um todo.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. Afzali B, Lechler RI, Hernandez-Fuentes MP. Allorecognition and the alloresponse: clinical implications. *Tissue Antigens* 69:545-56, 2007.
2. Banasik M, Klinger M. Chronic allograft nephropathy-immunologic and nonimmunologic factors. *Ann Transplant*, 11:7-10, 2006.
3. Basta S, Alatery A. The cross-priming pathway: a portrait of an intricate immune system. *Scand J Immunol*, 65:311-9, 2007.
4. Bryant P, Ploegh H. Class II MHC peptide loading by professionals. *Curr Opin Immunol* 16: 96-102, 2004.
5. Campos EF, Tedesco-Silva H, Machado PG, Franco M, Medina-Pestana JO, Gerbase-DeLima M. Post-transplant anti-HLA class II antibodies as risk factor for late kidney allograft failure. *Am J Transplant*, 6:2316-20, 2006.
6. Castro FA, Palma PVB, Morais FR, Voltarelli JC. Immunological effects of donor lymphocyte infusions in patients with chronic myelogenous leukemia relapsing after bone marrow transplantation. *Braz J Med Biol Res* 37:201-206, 2004.

7. Corris PA, Christie JD. Update in transplantation 2006. *Am J Respir Crit Care Med*, 175:432-5, 2007.
8. El Essawy B, Otu HH, Choy B, Zheng XX, Libermann TA, Strom TB. Proteomic analysis of the allograft response. *Transplantation*, 82:267-74, 2006.
9. Erlich HA, Opelz G, Hansen J. HLA DNA typing and transplantation. *Immunity* 14:347-56, 2001.
10. Ferraz AS, Paula Santos CM, Wen LY, Voltarelli JC. The experience of the São Paulo Interior Transplante with a multifactorial system for selection of cadaver kidney recipients. *Transplant Proc*, 23:2676, 1991.
11. Ferraz AS, Saber LS, Voltarelli JC, Mytilineos J, Opelz G, Donadi EA. Comparative study of HLA typing by serology and sequence-specific primer analysis in a genetically highly diverse population of kidney transplant recipients. *Transplant Proc*, 34:463-465, 2002.
12. First MR. Clinical application of immunosuppressive agents in renal transplantation. *Surg Clin N Am*, 78:61-76, 1998.
13. Fishman JA, Rubin RH.: Infection in organ transplant recipients. *NEJM*, 338:1741-51, 1998.
14. Garcia KC, Degano M, Speir JA, Wilson IA. Emerging principles for T cell receptor recognition of antigen in cellular immunity. *Rev Immunogenet* 1:75-90, 1999.
15. Gebel HM, Bray RA, Nickerson P. Pre-transplant assessment of donor-reactive, HLA-specific antibodies in renal transplantation: contraindication vs. risk. *Am J Transplant*, 3:1488-500, 2003.
16. Golshayan D, Buhler L, Lechler RI, Pascual M. From current immunosuppressive strategies to clinical tolerance of allografts. *Transpl Int*, 20:12-24, 2007.
17. Israeli M, Yussim A, Mor E, Sredni B, Klein T. Preceding the rejection: In search for a comprehensive post-transplant immune monitoring platform. *Transpl Immunol*, 18:7-12, 2007.
18. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med*, 343:702-708, 2000.
19. Klein J, Sato A. The HLA system. Second of two parts. *N Engl J Med*, 343:782-786, 2000.
20. Kochshis SA. Improving results of intestinal transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*, 5:295-299, 2000.
21. Lehner PJ, Cresswell P. Recent development in MHC class I mediated antigen presentation. *Curr Opin Immunol*, 16:82-89, 2004.
22. Martin P. Overview of hematopoietic cell transplantation immunology. In: Thomas' hematopoietic cell transplantation, ed by KG Blume, SJ Forman, Appelbaum FR (eds.). Blackwell Publishing, Malden MA, USA, 3. ed., 16-30, 2004.
23. Mizutani K, Terasaki P, Hamdani E, Esquenazi V, Rosen A, Miller J, Ozawa M. The importance of anti-HLA-specific antibody strength in monitoring kidney transplant patients. *Am J Transplant*, 7:1027-31, 2007.
24. Morgun A, Shulzhenko N, Perez-Diez A, Diniz RV, Sanson GF, Almeida DR, Matzinger P, Gerbase-DeLima M. Molecular profiling improves diagnoses of rejection and infection in transplanted organs. *Circ Res*, 23:98 e 74-83, 2006.
25. Opelz G, Döhler B. Effect of human leukocyte antigen compatibility on kidney graft survival: comparative analysis of two transplantation: comparative analysis of two decades. *Transplantation* 84: 137-43, 2007.
26. Panda A, Vanathi M, Kumar A, Dash Y, Priya S. Corneal graft rejection. *Surv Ophthalmol*, 52:375-96, 2007.
27. Petersdorf EW, Hansen JA, Martin PJ, Woolfrey A, Malkki M, Gooley T et al. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 345:1794-800, 2001.
28. Porter D, Levine JE. Graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia after donor leukocyte infusion. *Semin Hematol*, 43:53-61, 2006.
29. Ruiz P, Kato T, Tzakis A. Current status of transplantation of the small intestine. *Transplantation*, 83:1-6. Review, 2007.
30. Said A, Einstein M, Lucey MR. Liver transplantation: an update 2007. *Curr Opin Gastroenterol*. 23:292-8, 2007.
31. Sarwal M, Chua MS, Kambham N, Hsieh SC, Satterwhite T, Masek M, Salvatierra O Jr. Molecular heterogeneity in acute renal allograft rejection identified by DNA microarray profiling. *N Engl J Med* 349:125-38, 2003.
32. Sawitzki B, Bushell A, Steger U, Jones N, Risch K, Siepert A et al. Identification of gene markers for the prediction of allograft rejection or permanent acceptance. *Am J Transplant*, May;7:1091-102, 2007.
33. Sayegh MH, Carpenter CB. Transplantation 50 years later-progress, challenges, and promises. *N Engl J Med*, 351:2761-6, 2004.
34. Sayegh MH, Remuzzi G. Clinical update: immunosuppression minimisation. *Lancet*, 369:1676-8, 2007
35. Scornik JC, Guerra G, Schold JD, Srinivas TR, Dragun D, Meier-Kriesche HU. Value of posttransplant antibody tests in the evaluation of patients with renal graft dysfunction. *Am. J. Transplant*, 7:1808-14, 2007.
36. Selvaggi G, Tzakis AG. Intestinal and multivisceral transplantation: future perspectives. *Front Biosci*, 12:4742-54, 2007.
37. Sis B, Campbell PM, Mueller T, Hunter C, Cockfield SM, Cruz J et al. Transplant Glomerulopathy, Late Antibody-Mediated Rejection and the ABCD Tetrad in Kidney Allograft Biopsies for Cause. *Am J Transplant*, 7:1743-52, 2007.
38. Smyth LA, Afzali B, Tsang J, Lombardi G, Lechler RI. Inter-cellular transfer of MHC and immunological molecules: molecular mechanisms and biological significance. *Am J Transplant*, 7:1442-9, 2007.
39. Snell GI, Boehler A, Glanville AR, McNeil K, Scott JP, Studer SM, Wallwork J, Westall G, Zamora MR, Stewart S. Eleven years on: a clinical update of key areas of the 1996 lung allograft rejection working formulation. *J Heart Lung Transplant*, 26:423-30. Review, 2007.
40. Strom TB, Suthanthiran M. Transcriptional profiling to assess the clinical status of kidney transplants. *Nat Clin Pract Nephrol*, 2:116-7, 2006.
41. Susal C, Opelz G. Options for Immunologic Support of Renal Transplantation Through the HLA and Immunology Laboratories. *Am J Transplant*, 7:1450-6, 2007.
42. Terasaki PI, Ozawa M, Castro R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant*, Feb;7:408-15, 2007.
43. Trowsdale J. HLA genomics in the third millennium. *Curr Opin Immunol* 17:498-504, 2005.
44. Voltarelli JC, Stites DP. Immunological monitoring of bone marrow transplantation. *Diagn Immunol*, 4:171-193, 1986.
45. Voltarelli JC, Corpuz S, Martin PJ. In vitro comparison of two methods of T cell depletion associated with different rates of graft failure after allogeneic marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 6:419-423, 1990.
46. Voltarelli JC. Hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: The Brazilian experience. *Rev Bras Hematol Hemoter* 29(Supl):65-69, 2007.
47. Voltarelli JC, Couri CEB, Stracieri ABPL, Oliveira MC, Moraes DA, Pieroni F et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA* 297:1568-1576, 2007.
48. Voltarelli JC, Przepiorka D, Shankar P, Kopecky K, Martin PJ, Torok-Storb B. CD8+/DR+/CD25- T-lymphocytes associated with marrow graft failure. *Bone Marrow Transplant* 4: 647-652, 1989.
49. Voltarelli JC, Stracieri ABPL. Aspectos imunológicos do transplante de células tronco hematopoéticas. *Medicina- Ribeirão Preto* 33: 443-462, 2000.