LUIZ ROBERTO DE SOUSA ULISSES

**Transplante renal com doador vivo após
dessensibilização com imunoglobulinas polivalentes:
impacto nos anticorpos específicos contra o doador**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Nefrologia

Orientadora: Dra. Maria Cristina Ribeiro de Castro

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011.
A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Ulisses, Luiz Roberto de Sousa
Transplante renal com doador vivo após
dessensibilização com imunoglobulinas polivalentes :
impacto nos anticorpos específicos contra o doador /
Luiz Roberto de Sousa Ulisses. -- São Paulo, 2019.
Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Nefrologia.
Orientadora: Maria Cristina Ribeiro de Castro.

Descritores: 1.Anticorpos 2.Antígenos HLA
3.Doadores vivos 4.Rejeição de enxerto 5.Teste de
histocompatibilidade 6.Transplante de rim

USP/FM/DBD-346/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Agradecimentos

À Dra. Maria Cristina Ribeiro Castro, de profundo admirador do seu trabalho tornei-me aluno e serei eternamente grato pela paciência e disponibilidade para a realização desta tese. Sempre digo que para trabalhar com Nefrologia é preciso exercitar diariamente a empatia com o paciente; Dra. Cristina faz isso com maestria ao dedicar sua vida para realizar o transplante daqueles que tinham esse sonho como algo quase impossível.

À enfermeira da pesquisa clínica Fabiana Agena por ser tão acessível e me ajudar no início de todo o processo.

À equipe do Laboratório de Imunologia do InCor, em especial Gislaine por dividir comigo a parte mais trabalhosa desta jornada: testes, exames, dúvidas...

A todos os amigos, em especial Jenaine, pela parceria, iniciada ainda durante a residência de Nefrologia e estreitada durante a pós-graduação; por dividir os momentos de tensão, prazos...

Ao Rafael pelo apoio incondicional e me lembrar diariamente que eu era capaz.

À Margarete por entrar na minha vida para me trazer paz espiritual e sempre me ouvir nos momentos bons e naqueles mais difíceis.

À minha família (tios, primos) que desde sempre vibram com minhas vitórias e como uma grande torcida estão sempre me impulsionando.

Aos meus irmãos (Júnior, Guilherme, Laila e Vitória), cunhadas (Cláudia e Erika), sobrinhas (Ana Luiza, Ana Laura e Manuela), agradeço por entenderem a ausência em situações especiais, e principalmente por serem minha base.

À minha vó Mariinha que foi a responsável por eu ter escolhido a medicina como profissão e pelas lembranças mais doces da minha vida.

Meu pai, Luiz José, o maior exemplo de retidão e compromisso com o trabalho que tenho; o verdadeiro pai super-herói.

Minha mãe, Solange, meu colo até os dias de hoje. Professora, dela herdei o sonho da vida acadêmica. Obrigado por sempre me encher de amor e me fazer sentir tão especial.

Por fim agradeço a Deus por guiar meus passos, e aos pacientes, motivo de todo esse esforço e para quem assumo o compromisso de ser um médico cada dia melhor.

Epígrafe

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação.

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journal Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de Apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha; Maria Júlia de A. L. Freddi; Maria F. Crestana; Marinalva de Souza Aragão; Suely Campos Cardoso; Valéria Vilhena. 3. ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação, 2011.

Abreviatura dos títulos de periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 O paciente sensibilizado	2
1.2 Protocolos de dessensibilização:	6
1.3 Imunoglobulina humana polivalente (IVIG):	6
1.4 Rituximab (Mabthera)	8
1.5 Plasmaférese:.....	10
2 OBJETIVOS:.....	13
3 PACIENTES E MÉTODOS:	15
3.1 Casuística:	16
3.2 Tipificação HLA.....	18
3.3 Avaliação da resposta humoral.....	21
3.4 Teste de citotoxicidade dependente de complemento (CDC)	21
3.5 Prova-cruzada contra linfócitos por citometria de fluxo	22
3.6 Teste de microesferas marcadas (Luminex®).....	24
3.7 Estudo histológico.....	25
3.7.1 Microscopia óptica:	25
3.7.2 Imunohistoquímica para C4d	25
3.7.3 Imunoperoxidase para C4d	26
3.8 Análise clínica.....	27
3.9 Análise estatística	27
4 RESULTADOS:.....	28
4.1 Os doadores:	31
4.2 Pacientes transplantados com doador vivo após dessensibilização	32
4.3 Pós transplante:.....	45

4.3.1 Sobrevida dos pacientes, do enxerto, função renal e proteinúria	45
4.4 Rejeição	48
4.5 Complicações metabólicas, infecciosas e neoplásicas	51
4.6 Análise multivariada.....	53
4.6.1 Rejeição	53
4.6.2 Perda do enxerto	54
5 DISCUSSÃO.....	56
6 CONCLUSÃO:	64
7 REFERÊNCIAS	67
8 ANEXOS.....	75
Anexo I - Classificação de Banff 2009	76
Anexo II - cPRA CL I e II, DSA, número de pulsos de IVIG e provas cruzadas antes e após dessensibilização dos pacientes que realizaram transplante.....	78
Anexo III - Parecer consubstanciado do CEP	80
Anexo IV - Aprovação pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.....	83

Listas

ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTO -	Associação Brasileira de Transplante de Órgãos
AM -	<i>acceptable mismatch</i>
BKV -	polioma vírus humano
CDC -	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
CDC -	<i>complement dependent cytotoxicity</i>
CKD -	<i>chronic kidney disease</i>
CM -	<i>crossmatch</i>
CMV -	citomegalovírus
cPRA -	<i>calculated panel reactive antibody</i>
DD -	<i>deceased donor</i>
DF-	doador falecido
DS -	dessensibilização
DSA -	<i>donor specific antibody</i>
DV -	doador vivo
FCXM -	<i>flow cytometry crossmatch</i>
GNC -	glomerulonefrite crônica
HLA -	<i>human leucocyte antigens</i>
HPV -	<i>human papillomavirus</i>
iDSA -	<i>donor specific antibody</i> (imunodominant)

IF -	imunofluorescência
IP -	imunoperoxidase
IVIg -	imunoglobulina humana polivalente
LV -	<i>living donor</i>
MDRD -	<i>modification of diet in renal disease</i>
MFI -	<i>median fluorescence intensity</i>
MMF -	micofenolato mofetil
MMS -	micofenolato sódico
NK -	<i>natural killer</i>
PCR -	<i>polymerase chain reaction</i>
PF -	plasmaferese
PO -	pós-operatório
PRA -	<i>panel reactive antibody</i>
RAMA -	rejeição aguda mediada por anticorpos
RAMC -	rejeição aguda mediada por células
RCMA -	rejeição crônica mediada por anticorpos
SBN -	Sociedade Brasileira de Nefrologia
TFG -	taxa de filtração glomerular
TRS -	terapia renal substitutiva
UNOS -	<i>United Network for Organ Sharing</i>
WL -	waiting list

FIGURAS

Figura 1 -	Distribuição da amostra de pacientes avaliados.....	30
Figura 2 -	Distribuição dos eventos sensibilizadores nas pacientes do sexo feminino.....	34
Figura 3 -	cPRA e DSA-MFI antes e após dessensibilização	36
Figura 4 -	Evolução do DSA após DS	37
Figura 5 -	Número de Infusões de IVIG vs número, intensidade e classe do DSA	39
Figura 6 -	PRA, número de IVIG entre os grupos FACS+/CDC- vs. FACS+/CDC+	41
Figura 7 -	Gráfico de sobrevida de pacientes	47
Figura 8 -	Gráfico de sobrevida de enxertos.....	47

TABELAS

Tabela 1 -	Características demográficas dos candidatos ao transplante	29
Tabela 2 -	Características demográficas dos doadores	31
Tabela 3 -	Características demográficas dos receptores.....	32
Tabela 4 -	Distribuição dos pares (doador-receptor) por compatibilidade HLA A, B, DR	33
Tabela 5 -	cPRA e DSA (MFI) antes e após dessensibilização	35
Tabela 6 -	Número de Infusões de IVIG vs número de DSA	38
Tabela 7 -	Número de Infusões de IVIG vs somatório MFI	38
Tabela 8 -	Número de Infusões de IVIG vs classe do DSA	39
Tabela 9 -	cPRA, número de IVIG entre os grupos FACS+/CDC- vs FACS+/CDC+	40
Tabela 10 -	Número de infusões de IVIG pelo DSA dominante.....	42
Tabela 11 -	iDSA antes e após DS	43
Tabela 12 -	cPRA, número e intensidade de DSA dos pacientes que não realizaram transplante vs pacientes transplantados	44
Tabela 13 -	Causas de perda de enxerto/retorno para diálise e tempo de perda.....	46
Tabela 14 -	Percentuais de sobrevida dos pacientes ao longo do tempo.....	46

Tabela 15 - Intervalos de confiança de 95% para os percentuais de sobrevivência dos pacientes ao longo do tempo	46
Tabela 16 - Função renal média e proteinúria.....	48
Tabela 17 - Perfil dos pacientes (cPRA, número e intensidade do DSA) sem e com rejeição.....	49
Tabela 18 - Perda de enxerto entre os grupos com e sem rejeição	50
Tabela 19 - RAMA e RCMA nos grupos com e sem indução com IVIG	50
Tabela 20 - Complicações infecciosas após o transplante renal	52
Tabela 21 - Análise de regressão logística para RAMA	54
Tabela 22 - Análise de regressão logística para perda de enxerto	55

Resumo

Ulisses LRS. *Transplante renal com doador vivo após dessensibilização com imunoglobulinas polivalentes: impacto nos anticorpos específicos contra o doador* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

INTRODUÇÃO: A sensibilização HLA constitui importante barreira para o transplante da população de pacientes portadores de doença renal crônica em diálise. Os pacientes sensibilizados permanecem mais tempo em lista de espera e, em decorrência disso, apresentam maior taxa de mortalidade e complicações relacionadas à DRC. Os tratamentos realizados com a finalidade de reduzir os anticorpos anti-HLA são popularmente chamados de dessensibilização e têm apresentado bons resultados de transplantabilidade e sobrevida de paciente e de enxerto. **MÉTODOS:** Estudo retrospectivo em que foram analisados prontuários de 45 pacientes que compareceram ao Ambulatório de Sensibilizados do Serviço de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2014, com um potencial doador vivo contra quem apresentavam prova cruzada positiva por citotoxicidade ou citometria de fluxo e que foram submetidos ao protocolo de dessensibilização da instituição (infusões mensais de IVIG na dose de 2 g/kg). **RESULTADOS:** Dos 45 pacientes, 12 foram excluídos, 22 pacientes realizaram transplante renal com DV, 7 realizaram transplante com DF e 4 não realizaram transplante (1 óbito e 3 pacientes não conseguiram negativar a prova cruzada). A maioria dos pacientes era do sexo feminino (n=20) e com doença de base GNC (n=12). A média de idade foi de $40 \pm 8,53$ anos e estavam em diálise há $86,62 \pm 60,28$ meses. Os pacientes apresentavam cPRA de Classe I de $73,90 \pm 22,29\%$ e classe II de $66,27 \pm 35,67$. Dezesesseis (81,81%) pacientes apresentavam prova cruzada positiva por FACS e CDC antes da DS; enquanto 4 (18,19%) pacientes apresentavam somente prova cruzada positiva por citometria de fluxo. Os pacientes realizaram transplante após uma média de $6,72 \pm 3,8$ infusões de IVIG. A mediana do MFI dos DSAs antes da DS foi de 5057,5 (2246–11691,5). Após a dessensibilização, a mediana foi de 1389,5 (934,25–2492,5) ($p=0,0001$). O tempo médio de seguimento dos pacientes após o transplante foi de $60,53 \pm 36,82$ meses. Nove pacientes (45%) não apresentaram nenhum episódio de rejeição clínica durante sua evolução. 8 pacientes (40%) apresentaram rejeições mediadas por células, e 6 pacientes (27,27%) apresentaram rejeições mediadas por anticorpos. A sobrevida do enxerto (censurada para óbito) após 1, 3 e 5 anos foi de respectivamente 90,5%, 90,5%, 82,3%. A sobrevida dos pacientes após 1,3,5 anos foi de respectivamente 95,5%, 95,5% e 85%. A função renal média dos enxertos após 1, 3 e 5 anos estimada pela depuração de creatinina (MDRD) foi de $66,21 \pm 14,24$ ml/min/1,73m²; $60,39 \pm 21,19$ ml/min/1,73m²; $60,59 \pm 22,80$ ml/min/1,73m² e

81,37 $\pm$ 0 ml/min/1,73m². CONCLUSÕES: A dessensibilização utilizando somente IVIG mostrou ser uma estratégia segura e efetiva (alta taxa de sucesso com 87,87% dos pacientes transplantados) para proporcionar o transplante renal de pacientes sensibilizados com doador vivo contra o qual apresentavam prova cruzada positiva.

Descritores: Anticorpos; Antígenos HLA; Doadores vivos; Rejeição de enxerto; Teste de histocompatibilidade; Transplante de rim.

Abstract

Ulisses LRS. *Desensitization using only IVIG for living kidney transplantation: impact on donor specific antibodies* [dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

INTRODUCTION: HLA sensitization is a major barrier for the transplantation of patients with chronic kidney disease on dialysis. Sensitized patients stay longer on the waiting list for renal transplantation and, as a result, have higher mortality rates and complications related to CKD. Therapies performed to reduce anti-HLA antibodies are popularly called desensitization and have shown to increase transplant access and to provide good patient and graft survival results. **METHODS:** A retrospective study was carried out in which records of 45 patients who attended the Renal Transplant Service Outpatient Clinic at Hospital das Clínicas of the Medical School of the University of São Paulo, from January 2003 to December 2014 were analyzed. Patients with a potential living donor against whom they presented a positive CDC or FXCM, received monthly IVIG infusions at a dose of 2 g/kg until negativation of the T and B-FXCM. **RESULTS:** Of the 45 patients, 12 were excluded, and 22 patients underwent renal transplantation with a LD, 7 underwent transplantation with a DD and 4 did not undergo transplantation (1 died before treatment and 3 patients could not be cleared to transplant). Most of the patients who were transplanted with a living donor were female ($n = 20$). The mean age was 40 ± 8.53 y-old and they had been on dialysis for 86.62 ± 60.28 months. The patients had a mean Class I PRA of $73.90 \pm 22.29\%$ and class II of 66.27 ± 35.67 . Sixteen (81,81%) patients presented a positive CDC-CM; while 4 (18.19%) patients presented only positive FCXM. The patients underwent transplantation after a mean of 6.72 ± 3.8 IVIG infusions. The median MFI-DSA before DS was 5057,5 (2246–11691,5). After desensitization, the median MFI-DSA was 1389,5 (934,25–2492,5) ($p = 0,0001$). The mean follow-up time of the patients after transplantation was 60.53 ± 36.82 months. Nine patients (45%) did not present any episodes of clinical rejection during their evolution; 8 patients (40%) showed T cell-mediated rejections, and 6 patients (27.27%) presented ABMR. Graft survival (censored for death) after 1, 3, and 5 years was respectively 90.5%, 90.5% and 82.3%. Patient survival after 1,3, and 5 years was respectively 95,5%, 95,5% e 85%. Mean creatinine clearance (MDRD) after 1, 3 and 5 year was 66.21 ± 14.24 ml/min/1.73m²; 60.39 ± 21.19 ml/min/1.73m² and 60.59 ± 22.80 ml/min/1.73m². **CONCLUSIONS:** Desensitization using only IVIG has shown to be a safe and effective strategy (high success transplant rate=87.87% of the patients) to provide renal transplantation of sensitized patients with a live donor against whom they presented a positive crossmatch.

Descriptors: Antibodies; HLA antigens; Living donors; Graft rejection; Histocompatibility testing; Kidney transplantation.

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 O paciente sensibilizado

A doença renal crônica (DRC) é altamente prevalente no mundo; por estar diretamente associada com duas condições clínicas frequentes: diabetes e hipertensão arterial. Análise de dados do NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*), realizada pelo CDC (*Center for Disease Control and Prevention*) no período de 1999 a 2004, indica que 16,8% dos indivíduos acima dos 20 anos nos Estados Unidos apresentam DRC ⁽¹⁾.

De acordo com o Censo Brasileiro de Diálise de 2016, da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), estima-se que 122.825 pacientes estejam realizando alguma modalidade de terapia de substituição renal (TRS), hemodiálise e diálise peritoneal, com uma taxa de mortalidade de 18,2% ao ano ⁽²⁾.

A DRC compromete também a qualidade de vida e a capacidade funcional do indivíduo pelas complicações cardiovasculares associadas, anemia e distúrbio mineral ósseo (dores ósseas e fraturas patológicas). Dentre as modalidades de terapia renal substitutiva, o transplante renal é a que oferece maior sobrevida e melhor qualidade de vida ao paciente renal crônico ⁽³⁾.

O Brasil é o segundo país em número absoluto de transplantes renais no mundo ocidental. Em 2016 foram realizados 5.492 transplantes de acordo com os dados da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO), que, no entanto, relata a necessidade de realização de 12.267 transplantes por ano para atender à demanda nacional. As principais dificuldades encontradas para o aumento dos transplantes renais no país são: taxa negativa de doações pelos familiares (43%), baixo índice de notificação de

morte encefálica e de aproveitamento dos órgãos captados e limitações financeiras dos programas de transplante renal ⁽⁴⁾.

Pela carência de doadores, o tempo de espera em lista no Brasil é elevado quando comparado ao de outros países. De acordo com dados do Registro Brasileiro de Transplantes da ABTO, 2.918 transplantes renais (com doadores vivos e falecidos) foram realizados no primeiro semestre de 2017, contra 20.523 pacientes ativos em lista de espera sendo que destes, 5.910 foram inscritos somente no primeiro semestre de 2017 ⁽⁴⁾.

Na população de pacientes em lista de espera para transplante renal, há uma parcela de pacientes em que o tempo em lista de espera ainda é maior: os sensibilizados. São pacientes que, ao longo do tempo desenvolveram anticorpos anti-HLA contra a população, ao serem expostos previamente a transfusões de sangue, gestações e/ou transplantes.

A presença de DSA (*donor specific antibody*), anticorpos específicos contra o doador que são detectados pela prova cruzada positiva no estudo pré-transplante, já foi considerada no passado uma contraindicação absoluta para a realização do transplante renal. A sensibilização HLA aumenta o tempo de espera em lista e o risco de rejeição, além do risco de perda do enxerto relacionada à presença desses anticorpos (rejeição mediada por anticorpos). Os pacientes sensibilizados apresentam uma menor transplantabilidade e ficam expostos às complicações decorrentes do maior tempo em diálise: morbi-mortalidade de causa cardiovascular e infecciosa, além da perda dos acessos vasculares/peritoneal para diálise.

O melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na rejeição mediada por anticorpos (RAMA) e o surgimento de novas drogas e técnicas para o seu tratamento têm possibilitado melhor resultado do transplante nessa população de alto risco imunológico ⁽⁵⁾. Além disso, existem hoje, protocolos que objetivam reduzir anticorpos anti-HLA para aumentar a chance de transplante. Os protocolos são variados e em sua maioria utilizam a administração de Imunoglobulina humana polivalente (IVIg) associada com sessões de plasmaferese e outras drogas imunodepletoras (por exemplo;

Rituximabe, Bortezomibe). Os tratamentos realizados com essa finalidade são chamados popularmente de dessensibilização e tem apresentado bons resultados de transplantabilidade e sobrevida de paciente e de enxerto ⁽⁶⁾.

Como forma de aumentar o acesso do paciente hipersensibilizado ao transplante, a dessensibilização deve fazer parte de uma estratégia de saúde pública, a fim de permitir que estes pacientes tenham as mesmas condições dos demais indivíduos. Programas de pontuação considerando a intensidade do PRA (*Panel Reactive Antibody*) e o tempo de diálise são algumas dessas estratégias. Em 2014, o *Eurotransplant Acceptable Mismatch Program* (AM), maior programa de acesso ao transplante renal direcionado aos pacientes sensibilizados, completou 25 anos com bons resultados. O programa AM modifica o critério tradicional de alocação dos órgãos que deixam de ser baseados unicamente nas compatibilidades HLA, acrescentando o critério de antígenos aceitáveis para aquele receptor, que seriam aqueles contra os quais o paciente nunca desenvolveu anticorpos. Esse processo aumenta o número de potenciais doadores para os pacientes sensibilizados e, portanto, a sua transplantabilidade. São inscritos no programa AM, pacientes com PRA acima de 85%, nos países que fazem parte do sistema *Eurotransplant*. Por meio desse programa, entre 1989 e 2014, foram realizados mais de 1.000 transplantes de pacientes altamente sensibilizados, com sobrevida do enxerto em 10 anos comparável a dos transplantes realizados em não sensibilizados fora do programa ⁽⁷⁾. Existem outros programas semelhantes em outras regiões do mundo.

Uma nova forma de observar a interação anticorpo-HLA foi descrita quando Rene Duquesnoy observou que o anticorpo não reage contra o antígeno HLA, mas com epítomos chamados de “*eplets*”. De acordo com essa teoria, diferentes moléculas de HLA serão reconhecidas pelo mesmo anticorpo, se essas moléculas HLA tiverem um ou mais *eplets* em comum reconhecidos por este anticorpo. Desta forma, seriam considerados antígenos aceitáveis aqueles diferentes do próprio paciente e que não possuísem *eplets* reconhecidos pelos anticorpos do receptor. Baseado nesse conhecimento, Duquesnoy e colaboradores desenvolveram o HLA

matchmaker, um programa de compatibilidade doador-receptor baseado em *epitets*, que aumentou a transplantabilidade dos pacientes sensibilizados. Porém o programa HLA *matchmaker* é de difícil uso e requer o manuseio por pessoal treinado ⁽⁸⁾. Em 2011, Semiramis do Monte e colaboradores desenvolveram um software (EpHLA), que automatiza e, desta forma, simplifica a análise de epítomos aceitáveis e inaceitáveis com base no algoritmo HLA *matchmaker*. Esta ferramenta é importante para identificar os pacientes de risco para rejeição mediada por anticorpos e diminuir a incidência de erro humano na análise das incompatibilidades aceitáveis ⁽⁹⁾.

O transplante renal com doador vivo é uma alternativa para reduzir o tempo em lista dos pacientes em terapia renal substitutiva. O órgão de doador vivo não sofre as consequências do tempo prolongado de isquemia fria, que ocorre no enxerto de doador falecido. Em virtude disso, o paciente apresenta alta hospitalar mais precoce, menos complicações e observa-se maior sobrevida do paciente e do enxerto ⁽¹⁰⁾. Além disso, os pacientes transplantados com doador vivo deixam de compor a lista de espera para transplante com doador falecido. Pela dificuldade em encontrar doador compatível para os pacientes sensibilizados entre os doadores falecidos disponíveis, o transplante com doador vivo surge como uma opção extremamente interessante para transplantar estes pacientes.

Nos Estados Unidos, um terço dos transplantes é realizado com doadores vivos e a doação cruzada (ou pareada) surgiu como um reforço ao transplante de pacientes sensibilizados, e pode ser associada ou não ao processo de dessensibilização. A doação pareada consiste na troca entre dois pares de receptor-doador que apresentem incompatibilidade HLA ou ABO. As novas duplas formadas podem apresentar prova cruzada negativa, ausência de anticorpos pré-formados (DSA) e estes quando existentes, podem ocorrer em níveis mais baixos, necessitando de tratamentos menos agressivos ^(11, 12). O procedimento de doação pareada ainda não existe em nosso país.

1.2 Protocolos de dessensibilização

Os protocolos de dessensibilização variam de centro para centro. De forma geral, quando há um doador vivo, a maior parte dos serviços usa doses altas de Imunoglobulina Humana Polivalente (IVIG) associada com sessões de plasmaferese e drogas com efeito imunossupressor dirigido aos linfócitos B (Rituximabe) e/ou plasmócitos (Bortezomibe), às citocinas (Tocilizumabe) e outras. No caso de não existirem doadores vivos, os protocolos excluem as sessões de plasmaferese, uma vez que nesse caso não existe doador pronto para o transplante ^(13, 14).

1.3 Imunoglobulina Humana Polivalente (IVIG)

As IVIG são derivadas do plasma de um “pool” de doadores humanos e caracterizam-se por possuir grande quantidade de IgG que tem a reconhecida capacidade de neutralizar alo e auto-anticorpos, e de bloquear os receptores Fc em células efetoras, inibindo assim a ativação de vias inflamatórias. São largamente utilizadas no tratamento de doenças autoimunes (Guillain-Barrè, Miastenia gravis, Dermatomiosite) e seu efeito imunomodulador tem se revelado extremamente importante no transplante dos pacientes hipersensibilizados ⁽¹⁵⁾.

Além de IgG, os preparados de IVIG contém traços de IgM, IgA e anticorpos anti-idiotípicos. Estes últimos têm participação nos efeitos imunomoduladores da IVIG. Os anticorpos anti-idiotípicos ligam-se aos receptores Fcγ de células B, levando a uma *up-regulation* desses receptores. O receptor Fcγ é um sinalizador negativo. Sua expansão inibe a proliferação e induz a apoptose das células B ⁽¹⁶⁾. A IVIG ainda inibe a ativação da cascata do complemento por meio do bloqueio da formação com complexo de ataque à membrana (C5b-C9); impedindo o dano tecidual. Outra via pela qual a IVIG bloqueia a lesão mediada pela ativação do

complemento é acelerando a conversão da fração C3b em sua forma inativa ⁽¹⁶⁾.

A droga tem sido utilizada também com sucesso no tratamento de rejeições mediadas por anticorpos (RAMA) ⁽¹⁵⁾. Poucos são os efeitos colaterais relacionados à infusão dessa droga. Nos casos mais extremos, existem relatos de trombose vascular, meningite asséptica e anafilaxia grave ⁽¹⁷⁾.

Glitz publicou em 2002, os resultados da primeira série de casos de pacientes que foram submetidos à dessensibilização com IVIG, conseguindo alta taxa de transplantabilidade (de um total de 15 pacientes tratados, 13 foram transplantados). Nesta série, foram selecionados pacientes com PRA Classe I acima de 50% ou que apresentassem prova cruzada positiva contra um doador vivo. Os pacientes receberam infusões mensais de IVIG 2g/kg durante três meses. Onze pacientes foram transplantados com rim de doador falecido e apresentaram, em média, uma queda de 80% do PRA, e dois pacientes foram transplantados com doador vivo após negatização de prova cruzada. Apenas um paciente apresentou perda de enxerto por rejeição. Dois pacientes apresentaram nefropatia pelo poliomavírus (BKV). Um paciente evoluiu com nefrotoxicidade pelos inibidores de calcineurina e uma perda de enxerto ocorreu por trombose no pós-transplante imediato. Os outros oito pacientes evoluíram com boa função renal e nenhum episódio de rejeição ocorreu no primeiro ano após o transplante ⁽¹⁸⁾.

Em 2003, Jordan e colaboradores avaliaram a resposta *in vitro* do tratamento com IVIG do soro de pacientes sensibilizados como preditiva do resultado da dessensibilização com IVIG. Um total de quarenta e dois de quarenta e cinco pacientes (93%) apresentou redução do PRA (candidatos a transplante com doador falecido) ou negatização da prova cruzada (candidatos com doador vivo) quando o soro foi tratado com IVIG. Três pacientes não obtiveram a resposta esperada e não foram submetidos à dessensibilização. Foram realizados vinte e quatro transplantes renais com doador vivo, após uma única dose de IVIG 2 g/kg, e 16 transplantes com

doador falecido (12 de rim, 1 de coração-fígado, 1 de coração-rim, 1 de fígado-rim e 1 cardíaco). Trinta e um por cento dos pacientes apresentaram um episódio de rejeição, a maioria deles, nas primeiras 2-4 semanas após o transplante. Nesta série, a sobrevida do paciente e enxerto em 24 meses foi de 97,6% e 89,1%, respectivamente ⁽¹⁹⁾.

1.4 Rituximab (Mabthera)

O Rituximab é um anticorpo quimérico anti-CD20, que se liga ao receptor CD20 na superfície das células B e que foi utilizado inicialmente para o tratamento de Linfoma não-Hodgkin, Leucemia Linfocítica Crônica e Artrite Reumatóide. O antígeno CD20 é uma fosfoproteína transmembrana expressa na superfície das células B jovens e maduras. Após ligar-se ao antígeno CD20, o Rituximab afeta o funcionamento das células B induzindo: a ativação da cascata de complemento com consequente citotoxicidade; reconhecimento dos linfócitos B pelos macrófagos induzindo fagocitose e ativação das células NK (*natural killer cells*). Rituximab leva à redução das células B presentes no sangue periférico em cerca de um a três dias após a administração e uma depleção completa de células B na maioria dos pacientes em torno de 6 semanas. A droga tem sido frequentemente utilizada em protocolos de dessensibilização e para o tratamento de rejeições mediadas por anticorpos (RAMA) ⁽¹⁹⁾. Trata-se de uma droga relativamente segura, mas relacionada com um risco maior de infecção (pneumocistose, reativação de hepatite B, CMV e infecções fúngicas). Neutropenia e trombocitopenia são as alterações hematológicas mais frequentes após seu uso ^(20, 21).

O NIH G02 *trial* (um estudo randomizado, multicêntrico e controlado) corroborou o fato de que IVIG isolada em altas doses (2 g/kg) era capaz de reduzir os níveis de anticorpos anti-HLA nos pacientes sensibilizados, promovendo um aumento na transplantabilidade desses pacientes quando comparados ao placebo (35% vs. 17%, P=0,02), além de reduzir o tempo de

espera em lista (4,8 anos no grupo tratado vs. 10,3 anos para os pacientes que receberam placebo; $p=0,03$) ⁽²²⁾.

O protocolo de utilização de IVIG isoladamente não se mostrou efetivo para alguns pacientes, especialmente aqueles com altos níveis de anticorpos. Por esta razão, foram idealizadas novas formas de tratamento acrescentando drogas como o Rituximab em associação com IVIG. Jordan e colaboradores avaliaram se o uso do Rituximab associado à IVIG em altas doses poderia aumentar a transplantabilidade de pacientes sensibilizados. Foram selecionados 20 pacientes que apresentavam PRA igual a $77\pm 19\%$ ou DSA. Os pacientes receberam IVIG 2 g/kg no início do tratamento e no D30; e duas doses de Rituximab (1g nos dias D7 e D22). Pesquisa de DSA e prova cruzada por citometria de fluxo foram realizadas no momento em que os pacientes ingressaram no estudo, após o tratamento e antes da realização do transplante. Dezesseis pacientes realizaram transplante após dessensibilização em um período mínimo de 12 meses (6 com doador falecido e 10 com doador vivo). Os pacientes que receberam transplante com doador falecido tinham um tempo médio de 144 ± 89 meses de espera e, após a dessensibilização, permaneceram em lista por um período de 5 ± 6 meses. Ocorreu uma redução do PRA em todos os pacientes ($77\pm 19\%$ antes da primeira infusão de IVIG vs. $44\pm 30\%$ após a segunda infusão; $p<0,001$). As sobrevidas de 12 meses, dos pacientes e dos enxertos, foram de 100% e 94%, respectivamente. Cinquenta por cento dos pacientes apresentou RAMA no primeiro mês de transplante, que foi revertida após tratamento específico. Não foram diagnosticadas infecções virais nos pacientes após a dessensibilização com IVIG e Rituximab ⁽²³⁾.

Os protocolos de dessensibilização recebem críticas eventuais em função da menor sobrevida do enxerto quando comparados com a de pacientes não sensibilizados ou que não possuam DSA. No entanto, estudos com seguimento mais longo, mostraram resultados positivos de sobrevida do enxerto após dessensibilização com IVIG associado ao Rituximab e/ou plasmaferese (PF). Jordan e colaboradores publicaram estudo retrospectivo, analisando transplantes com doador vivo, avaliando como objetivo primário a

sobrevida do enxerto e como objetivos secundários a sobrevida do paciente, a incidência de rejeição, a taxa de filtração glomerular e a presença de proteinúria.

Os pacientes foram divididos em alto risco imunológico: sensibilizados (com prova cruzada positiva contra o doador ou presença de DSA no momento do transplante, n=66) e baixo risco imunológico (n=111). Os transplantes foram realizados com prova cruzada por CDC negativa obtida após duas doses de IVIG 2 g/kg administradas com intervalo de quatro semanas e uma dose total de Rituximab 1 g. Sessões de plasmaférese foram realizadas naqueles pacientes que, no momento do transplante, apresentavam títulos elevados de DSA ou prova cruzada positiva por citometria de fluxo (n=13). Não houve diferença de sobrevida dos pacientes entre os dois grupos e nem na incidência de rejeição (30% no grupo dos sensibilizados vs. 23% no grupo de baixo risco, p=0,18) sendo que a presença de prova cruzada positiva para células B por citometria de fluxo foi o maior fator preditivo de risco para rejeição. A taxa de filtração glomerular (TFG) e a presença de proteinúria foram analisadas anualmente: os grupos não apresentaram diferença quanto a TFG (60 ml/min em média ao final de 5 anos) nem na quantificação da proteinúria (71% dos sensibilizados apresentavam nenhuma ou um traço de proteinúria vs. 77% no grupo dos pacientes de alto risco imunológico). Analisando separadamente os pacientes sensibilizados que necessitaram de plasmáfereze, os desfechos foram piores e principalmente relacionados à presença de DSA em níveis elevados ⁽²⁴⁾.

1.5 Plasmáfereze

A plasmáfereze (PF) constitui um método de remoção mecânica de anticorpos anti-HLA e, além da sua utilização no tratamento da RAMA, tem sido utilizada em associação com IVIG em baixas doses (0,1 g/kg) para

dessensibilização de pacientes candidatos a transplante renal com doador vivo.

A PF não é utilizada como estratégia para dessensibilização para transplante com doadores falecidos, pois não garante uma redução de longa duração dos anticorpos removidos e o transplante necessitaria ser realizado dentro de alguns dias após o tratamento ^(25, 26).

A plasmaferese inclui a troca de 1 a 1,5 vezes a volemia do paciente usando reposição com albumina ou plasma. Os principais riscos relacionados à PF incluem desde erupção cutânea, rubor, taquicardia, cefaleia, náuseas e vômitos até quadros mais graves como hipocalcemia, dispneia, anafilaxia, edema de vias aéreas e sangramentos (pela remoção de fatores de coagulação) ^(25, 26).

Montgomery e colaboradores publicaram artigo com o objetivo de avaliar a sobrevida de pacientes submetidos a transplante com doador vivo após dessensibilização com PF e baixas doses de IVIG (grupo 1) versus permanecer em hemodiálise e não realizar transplante (grupo 2) ou aguardar em diálise um doador falecido sem prova cruzada positiva ou presença de DSA. Os pacientes do grupo 1 foram submetidos a sessões de PF antes e depois do transplante, seguidas de infusões de IVIG 0,1 g/kg. O protocolo incluía a realização de sessões de plasmaferese após a realização do transplante e a quantidade de sessões era determinada pelos níveis de DSA. Foram realizados 211 transplantes após a dessensibilização. Entre os pacientes de maior risco imunológico (aqueles que apresentavam prova cruzada positiva por CDC), a taxa de sobrevida dos pacientes foi de 78% após 8 anos de transplante contra 27,1% do grupo 2 e 44,6% do grupo 3, mostrando o benefício da dessensibilização ⁽²⁷⁾.

O alto custo dos protocolos de dessensibilização já foi comparado com a permanência do paciente sensibilizado em hemodiálise. Estudo realizado na Arábia Saudita comparou 35 pacientes sensibilizados que foram submetidos ao transplante renal com doador vivo após dessensibilização (grupo A); com 49 pacientes que permaneceram em hemodiálise durante o

mesmo período (grupo B); utilizando capilares de alto fluxo e uso único. Os gastos relacionados à dessensibilização incluíam além das medicações (Imunoglobulina Polivalente e Rituximab) e sessões de plasmaferese/imunoadsorção, os gastos relacionados ao primeiro ano de seguimento do paciente (consultas e realização de exames).

Foram contabilizados ainda como gastos no grupo A, todas as biópsias, consultas médicas, internações para tratamento de rejeição e complicações infecciosas. O gasto anual, em média, para os pacientes do grupo A no primeiro, segundo, terceiro e quarto ano de tratamento foi de U\$ 186.608, U\$ 14.233, U\$ 5.536 e U\$ 4.402 comparado ao gasto anual de U\$ 79.296 dos pacientes do grupo B. O gasto total em ambos os grupos se tornou semelhante a partir do trigésimo primeiro mês de seguimento ⁽²⁸⁾.

Em 2013, Stanley observou, em uma análise de 207 pacientes com PRA acima de 80% (146 foram transplantados após dessensibilização utilizando IVIG e Rituximab), que o custo por paciente após três anos de seguimento foi de US\$ 219.914 enquanto que o custo, no mesmo período, por paciente que permaneceu em hemodiálise foi de U\$ 238.667. Além do impacto econômico, o estudo observou uma sobrevida de 96,6% em três anos dos que realizaram transplante *versus* 79% dos que permaneceram em hemodiálise ⁽²⁹⁾.

2 Objetivos

2 OBJETIVOS

Principal:

- Avaliar o impacto do uso de altas doses de Imunoglobulina polivalente (IVIG) no número e na intensidade de anticorpos anti-HLA específicos e na prova cruzada de pacientes sensibilizados, candidatos a transplante renal, com doador vivo contra o qual apresentavam prova cruzada positiva.

Secundário:

- Avaliar os resultados de sobrevida do paciente, sobrevida do enxerto e da função renal dos pacientes transplantados com doador vivo após dessensibilização com altas doses de IVIg.
- Avaliar a incidência a incidência de rejeição (RAMA, RAMC ou mista), complicações cardiovasculares, infecciosas e neoplásicas após o transplante renal.

3 Pacientes e Métodos

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Casuística

Foram analisados, retrospectivamente, os dados contidos no prontuário eletrônico de 45 pacientes sensibilizados que foram encaminhados ao Ambulatório de Sensibilizados do Serviço de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2014, com um potencial doador vivo contra o qual apresentavam prova cruzada positiva por citotoxicidade ou citometria de fluxo e que foram submetidos ao protocolo de dessensibilização da instituição, que consistiu em terapia com IVIG na dose de 2 g/kg por mês. Os transplantes desses pacientes foram liberados quando, após tratamento, as provas-cruzadas com linfócitos T e B por citometria de fluxo se tornaram negativas ou limítrofes (diferença menor do que 20 canais com relação ao controle negativo do teste).

As infusões de IVIG em sua maioria foram realizadas durante a hemodiálise (duração: 4 horas) na clínica de origem dos pacientes, em acesso calibroso (fistula arteriovenosa ou cateter de hemodiálise implantado em acesso venoso central). As clínicas de hemodiálise receberam orientações sobre a infusão; assim como foram orientadas a registrar eventos adversos relacionados a mesma. Alguns pacientes realizaram a infusão de IVIG internados no HCFMUSP.

Foram avaliados os dados epidemiológicos relacionados à doença renal crônica e à terapia renal substitutiva, eventos sensibilizadores, perfil dos anticorpos anti-HLA antes e durante o tratamento com IVIg, taxa de transplantação dos pacientes, evolução dos pacientes e dos enxertos renais e dos anticorpos anti-HLA no pós-transplante. Foram ainda avaliadas reações adversas relacionadas ao uso da IVIg, ocorrência de eventos infecciosos e mortalidade no pré e pós-transplante renal.

As rejeições foram classificadas por Banff 2009 (Anexo 1), e incluíram a pesquisa de C4d por IF ou IP (na falta de tecido renal para análise por IF).

Foram avaliados o painel e o perfil de anticorpos anti-HLA dos pacientes periodicamente, iniciando-se com o material coletado imediatamente antes do início das infusões de IVIg. Para cada paciente foi analisada a evolução do painel, e de cada anticorpo anti-HLA doador-específico e das provas cruzadas para células B e T (por citotoxicidade e por citometria de fluxo), utilizando-se os soros encaminhados ao Laboratório de Histocompatibilidade do INCOR – HCFMUSP.

Avaliamos as alterações obtidas no perfil, na intensidade de fluorescência, nas especificidades dos anticorpos anti-HLA e nas provas cruzadas durante o período de administração da Imunoglobulina humana polivalente, comparados ao perfil e aos títulos anteriores ao tratamento. Com isso, objetivou-se demonstrar o impacto da administração da IVIg sobre a redução dos anticorpos responsáveis por tornar positivas as provas cruzadas e o impacto deste tratamento sobre a taxa de transplantação destes pacientes.

O número de DSA e sua intensidade em MFI foram avaliados a partir dos transplantes realizados em 2010 (n =14), quando o PRA por Single tornou-se rotina disponível no Laboratório de Histocompatibilidade do INCOR – HCFMUSP.

A avaliação foi feita observando-se:

1. Número de DSAs pré e pós DS;
2. DSA-MFI do anticorpo imunodominante pré e pós DS;
3. Somatória dos DSA-MFI pré e pós DS.

Foi avaliada ainda a evolução do enxerto renal e a sobrevida dos pacientes; a função renal (por meio dos resultados de creatinina sérica, da relação urinária/plasmática de proteínas e da análise de depuração de creatinina pela fórmula do MDRD IV (*Modification of Diet in Renal Disease*),

além da ocorrência de episódios de rejeição mediada por anticorpos e por células e as causas das perdas de enxerto e dos óbitos.

Os pacientes foram submetidos a biópsias renais: protocolares nas duas primeiras semanas após o transplante (desde que não houvesse contraindicação ao procedimento), e na presença das seguintes alterações laboratoriais:

- Piora de função renal (estimada pela creatinina sérica em mg/dl);
- Início de proteinúria.

Foram analisadas ainda a ocorrência de complicações relacionadas à infusão de IVIG e a incidência de neoplasias e de infecções por germes oportunistas naqueles pacientes que foram transplantados.

Os transplantes foram realizados após consentimento informado e com autorização judicial em caso de não parentes, conforme determina a Lei de Transplantes no Brasil.

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da FMUSP, com número de parecer 1.629.259 em 8/7/16 (Anexo III).

O protocolo de dessensibilização foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da FMUSP com o número 503/02, em 25/7/2002 (Anexo IV).

3.2 Tipificação HLA

Para tipificação do HLA foi realizada a extração do DNA obtida de células do sangue periférico. O DNA genômico foi extraído a partir da amostra colhida com EDTA. As extrações foram realizadas pelo método que utiliza sais de Brometo de Tetrametilamônio.

O sangue foi inicialmente centrifugado por 10 minutos a 1.500 rpm. O *buffy-coat* ("papa de leucócitos") foi recuperado e transferido para 2 tubos

de 2 ml (aproximadamente 500 µl em cada tubo) ao qual foi adicionado igual volume de tampão de lise, DTAB 12% (brometo de dodeciltrimetilamônio). Os tubos foram, então, homogeneizados e incubados em banho-maria 68°C por 5 minutos. Dois volumes de clorofórmio foram acrescentados e os tubos agitados vigorosamente. Após centrifugação por 2 minutos a 10.000 rpm, a camada superior (aquosa) onde estava o DNA foi recuperada e foram adicionados 2 volumes de CTAB 0,5% (brometo de hexadeciltrimetilamônio). Esta mistura foi homogeneizada até a obtenção do precipitado DNA/CTAB. Após nova centrifugação por 2 minutos a 10.000 rpm, o *pellet* DNA/CTAB foi ressuspensionado em 300 µl de NaCl 1,2 M (cloreto de sódio) e reprecipitado em 750 µl de etanol absoluto. Centrifugou-se mais 2 minutos a 13000 rpm e o *pellet* foi ressuspensionado em etanol 70%, para retirar o excesso de sal. O sobrenadante foi, então, desprezado, enquanto o DNA obtido foi dissolvido em H₂O.

A quantidade e a pureza do DNA genômico foram determinadas por densidade óptica em espectrofotômetro (NanoDrop® ND-1000 UV-Vis) nos comprimentos de onda de 260 e 280nm. A razão de λ 260/280nm variou de 1,7 a 1,9 indicando boa qualidade do DNA. Todas as amostras ficaram estocadas em freezer a menos de 80° C para o início das tipificações.

A tipificação HLA A, B e DR dos doadores falecidos foi realizada por PCR-SSP, reação de polimerização em cadeia utilizando sequência específica de *primers* (do inglês, *Polymerase Chain Reaction- Sequence Specific Primers*) utilizando kits LABType SSP (*One Lambda, California, USA*).

A amplificação da região de interesse do DNA foi realizada utilizando *primers* específicos para diversas sequências-alvo. Após o processo de reação de polimerização em cadeia, os fragmentos de DNA amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose, visualizados por coloração com brometo de etídio e exposição à luz ultravioleta. A interpretação dos resultados de PCR-SSP baseia-se na presença ou ausência de um fragmento de DNA amplificado específico. Existe um par de

primers de controle interno incluído em todas as reações de PCR. O par de *primers* de controle amplifica uma região conservada do gene da β -globina humana, que está presente em todas as amostras de DNA prova e que é usada para confirmar a integridade da reação.

A tipificação HLA A, B e DR dos receptores e doadores vivos, assim como a tipificação do HLA C e DQB1, também dos doadores falecidos, foi realizada utilizando os kits LABTypes SSO (*One Lambda, Califórnia, USA*), (do inglês, *Sequence Specific Oligonucleotide*) segundo orientação do fabricante.

Inicialmente foi realizada a amplificação gênica utilizando-se *primers* biotinilados específicos para a região gênica de interesse e *primers* específicos para amplificação de alelos. O produto de PCR amplificado foi então desnaturado e colocado frente a sondas marcadas (hibridização) conjugadas a microesferas codificadas por fluorescência que fazem parte do sistema multianalítico Luminex.

Cada microesfera é marcada com uma determinada fluorescência e possui uma sonda de oligonucleotídeo correspondente a um alelo HLA ou a um grupo de alelos HLA. Após esta etapa de hibridização, as sondas que hibridizaram com o DNA foram marcadas com uma solução estreptavidina conjugada com ficoeritrina (SAPE) e, assim, foi realizada a leitura da reação.

As reações foram lidas no citômetro de fluxo LABScan™ 200 (tecnologia Luminex) que é capaz de reconhecer a fluorescência da microesfera e da SAPE ligada à sonda. Um laser para a cor vermelha ($\lambda 633\text{nm}$) reconhece a cor da microesfera e outro laser reconhece a marcação com SAPE, verde ($\lambda 532\text{nm}$), determinando a positividade da reação. Os dados gerados pelo aparelho foram analisados no software HLA Fusion v. 3.0 para a determinação dos alelos.

3.3 Avaliação da resposta humoral

Os soros foram obtidos a partir da coleta de 10 mL de sangue periférico em tubos *vacutainer* (BectonDickson, Montainview, CA, EUA) sem anticoagulante e permaneceram armazenados em refrigeradores a -40°C até o momento da realização dos ensaios.

Nos casos de doadores vivos, as células mononucleares foram obtidas a partir de 30 mL de sangue periférico coletados em tubos *vacutainer* (BectonDickson, Montainview, CA, EUA) com o anticoagulante heparina sódica.

Nos casos de doadores falecidos, foram coletados fragmentos de baço ou linfonodos. Esses foram reduzidos a fragmentos menores para liberação das células presentes no parênquima tecidual.

Em ambos os casos, a suspensão celular obtida foi centrifugada a 1500 rpm por 10 minutos, e ressuspensa em RPMI a 10%. A contagem celular foi ajustada para obter concentração de 15 a 20 x 10⁶ células/mL. Após processo de congelamento, os linfócitos totais foram distribuídos em tubos de criopreservação e refrigerados a -80°C até o momento do uso.

3.4 Teste de Citotoxicidade Dependente de Complemento (CDC)

Essa técnica foi realizada no pré-transplante de todos os transplantes realizados. Os linfócitos do doador foram separados por centrifugação, utilizando-se gradiente de densidade com Ficoll-Hypaque, $d=1,077\text{ g/L}$. Após a centrifugação, foi coletada a “nuvem” de células mononucleares. A trombina foi utilizada para eliminar as plaquetas e granulócitos existentes na suspensão celular, de modo a restar apenas linfócitos totais.

Pela técnica de aderência à lã de náilon, os linfócitos totais foram separados em linfócitos T e linfócitos B. A seguir, a concentração celular foi

ajustada para 2,5 a 3,0 x 10⁶ células/mL antes de dispensá-las em placas. Foi incubado 1 µL da suspensão celular (linfócitos T ou linfócitos B do doador) com 1 µL de soro do receptor por poço, em placa de Terasaki (*One Lambda, Canoga Park, CA, EUA*), durante 30 minutos para a placa com linfócitos T e durante 60 minutos para a placa com linfócitos B, em temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados 5 µL por poço de complemento de coelho (*One Lambda, Canoga Park, CA, EUA*) para ambas as placas e a suspensão celular foi submetida à incubação durante 90 minutos a temperatura ambiente. A reação foi evidenciada pela adição de 10 µL de Stain-Fix (*One Lambda, Canoga Park, CA, EUA*) e, depois de transcorridos 20 minutos, o resultado foi avaliado em microscópio de contraste de fase. O teste foi considerado positivo quando houve mais do que 10% de lise celular no soro-teste em comparação com o controle negativo.

Para caracterizar o isotipo do anticorpo, foi utilizado o agente redutor ditioneitol (DTT) que destrói as pontes dissulfeto da molécula de IgM, inativando-a, sem interferir na reatividade dos anticorpos do isotipo IgG. O DTT foi utilizado na proporção de 1:10 e incubado com o soro-teste durante 30 minutos a 37 °C, sob agitação a cada 5 minutos.

Para obter maior sensibilidade no teste, foi utilizado o anticorpo anti-globulina humana, AGH (*One Lambda, Canoga Park, CA, EUA*), em uma placa contendo linfócitos T.

3.5 Prova-cruzada contra linfócitos por Citometria de Fluxo

Essa técnica foi realizada no pré-transplante sempre que o receptor fosse sensibilizado e recebesse um rim de doador vivo ou quando existissem células viáveis do doador falecido para análise. Em uma placa de 96 poços de fundo em U, foram dispensados 100 µL de suspensão celular (linfócitos totais do doador) contendo 0,5 x 10⁶ células por poço. Após centrifugação da placa a 1.800 rpm durante 5 minutos a 4 °C, o sobrenadante foi

desprezado e a suspensão celular foi ressuspensa em agitador de placa. A seguir, a suspensão celular foi lavada com 150 μ L por poço com tampão FACS (salina, soro fetal bovino a 2%, AZIDA 0,1%) seguida de nova centrifugação a 1.800 rpm durante 5 minutos a 4°C. Depois, foram adicionados 25 μ L por poço do soro correspondente (soro-controle negativo, soro-controle positivo e soro-teste) e, posteriormente, a suspensão celular foi incubada por 30 minutos em temperatura ambiente. O soro-controle negativo foi composto por soro coletado de homem sadio, sem antecedentes de transfusão de hemocomponentes e do tipo sanguíneo AB; o soro-controle positivo é o soro de pacientes hiperimunizados com anticorpos anti-HLA.

Após repetir o processo de lavagem por mais 3 vezes, a suspensão celular foi incubada com 25 μ L anticorpo anti-IgG humano conjugado com FITC (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA), diluição de 1:50, a 4 °C durante 30 minutos. Repetiu-se a lavagem mais 3 vezes e, a seguir, a suspensão celular foi incubada com 25 μ L por poço de anticorpo anti-CD3 marcado com *Cy-Chrome* (*Pharmigen, San Diego, CA, EUA*) e com 25 μ L por poço de anticorpo anti-CD19 marcado com PE (*Pharmigen, San Diego, CA, EUA*), ambos na diluição de 1:10, a 4 °C durante 30 minutos ao abrigo da luz. Estes anticorpos marcam antígenos de superfície nos linfócitos T e B, respectivamente. Após mais 3 lavagens, as células foram ressuspensas em 400 μ L de tampão FACS em tubos de leitura e, só então, inicia-se a aquisição das células.

A análise do teste foi realizada em FACS-Calibur® (*Becton Dickinson, San Jose, CA, EUA*). Foram adquiridas 10.000 células para cada soro analisado. O resultado foi expresso em mediana de intensidade de fluorescência. A prova-cruzada foi positiva quando a mediana de intensidade de fluorescência foi maior que 40 canais para linfócitos T e que 50 canais para linfócitos B acima do controle negativo.

3.6 Teste de microesferas marcadas (Luminex®)

Essa técnica foi realizada em todos os receptores no pré e no pós-transplante renal para definição do painel anti-HLA. Os testes LABScreen® (*One Lambda, Canoga Park, CA, EUA*) baseiam-se na utilização de microesferas marcadas com antígenos HLA purificados de classe I e de classe II. As microesferas são codificadas por cores, podendo ser avaliadas em um único tubo. O teste Mixed® detecta simultaneamente a presença de anticorpos anti-HLA classe I e/ou classe II. O teste de Flow-PRA® detecta a porcentagem e a especificidade dos anticorpos anti-HLA detectados em cada amostra. O teste Single Antigen® confirma a especificidade do anticorpo encontrado no teste de *Flow-PRA*®.

Em uma placa de PCR com 96 poços, foram incubados 2,5 µL de micro-esferas com 10 µL de soro-teste em cada poço, durante 30 minutos em temperatura ambiente, ao abrigo da luz e sob homogeneização constante. Para cada conjunto de testes foi utilizado um soro-controle negativo. Todos os dados foram normalizados para cada esfera de acordo com os resultados do controle negativo.

Após a incubação, foram adicionados 150 µL de tampão de lavagem previamente diluído. A placa foi selada e submetida à homogeneização seguida de centrifugação a 1.300 rpm durante 5 minutos. Depois, o tampão de lavagem foi removido com movimento súbito e o procedimento de lavagem foi repetido mais duas vezes.

Foram diluídos anticorpos IgG caprino anti-humano conjugado com PE em tampão de lavagem na diluição de 1:100 (0,5 µL de anticorpo IgG caprino anti-humano conjugado com PE com 49,5 µL de tampão de lavagem para cada poço). Em seguida, foram adicionados 50 µL desta solução por poço seguida de homogeneização e, só então, foi iniciada incubação durante 30 minutos em temperatura ambiente, ao abrigo da luz e sob homogeneização constante. Após nova lavagem, foram adicionados 70 µL

de PBS. A seguir, o conteúdo da placa de reação foi transferido para a placa de aquisição com fundo em U para iniciar a leitura do teste.

A leitura do teste foi realizada em LABScanTM100 (*Luminex Corporation, Austin, Texas, EUA*) e foi avaliada por intensidade média de fluorescência (MFI = “*Mean Fluorescence Intensity*”), unidade que expressa a intensidade do anticorpo, medida pela citometria de fluxo. Foi estabelecido 1000 de MFI para a técnica Single Antigen® como corte, qualquer anticorpo com valor de MFI acima do ponto de corte foi considerado positivo e abaixo foi considerado negativo.

Para os testes FlowPRA® e *Single Antigen*®, o valor fluorescente de cada esfera corresponde ao valor de cada esfera dividido pelo valor do controle negativo. Para os testes Mixed®, o sinal fluorescente foi equivalente ao valor da esfera menos o valor do controle negativo. O controle negativo foi constituído por um *pool* de amostras de soro retirado de doadores do sexo masculino que nunca receberam transfusões de sangue ou transplantes e que, portanto, não apresentam anticorpos anti-HLA. O soro controle positivo foi usado com próprio controle interno do fabricante do ensaio.

3.7 Estudo histológico

3.7.1 Microscopia Óptica

Para microscopia óptica, as colorações utilizadas foram hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico de Shiff (PAS) e Tricrômio de Masson.

3.7.2 Imunofluorescência indireta para C4d

Os fragmentos de rim congelado foram cortados numa espessura de 2 a 4 µm e colocados em superfície seca para descongelar durante 30 minutos. Depois disso, os fragmentos foram submetidos à lavagem com PBS

seguida da aplicação de 150 µL do complexo avidina/biotina (*Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA*) para bloquear a biotina endógena, durante 20 minutos. Após nova lavagem com PBS, foi iniciada incubação dos fragmentos com anticorpo monoclonal de camundongo anti-C4d humano (1:100 clone 10-11, *Biogenesis, Sandown, NH, MO, EUA*) durante 30 minutos. Os fragmentos foram lavados com PBS mais 3 vezes durante 2 a 3 minutos, e a seguir, foram incubados com anticorpo biotinilado IgG de cavalo anti-camundongo na diluição de 1:100 (*Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA*) durante 30 minutos. Em seguida, foram incubados com FITC-estreptavidina na diluição 1:100 (*Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA*) durante 30 minutos. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico.

3.7.3 Imunoperoxidase para C4d

A técnica de imunoperoxidase para C4d foi utilizada em amostras de biópsia renal em parafina. Antes da realização da técnica de imunoperoxidase para C4d, as lâminas contendo fragmentos de biópsia renal de 2 µm de espessura foram submetidas à desparafinização. Em seguida, as mesmas foram submetidas à hidratação.

Depois disso, os fragmentos foram submetidos à lavagem com PBS. A seguir, a atividade da peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio a 3%. Após, os fragmentos foram submetidos a 2 sessões de lavagem em água corrente destilada. A seguir, os antígenos foram recuperados em panela-de-pressão imersos em tampão de ácido cítrico 10 mM pH 6,0 por 5 minutos. Após mais 2 sessões de lavagem em água corrente destilada, a atividade da peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio a 3%. Na sequência, foi iniciada incubação dos fragmentos com anticorpo policlonal de coelho anti-C4d humano na diluição 1:50 (*Biomedica, Wien, Áustria*), a 4 °C durante toda a noite (overnight). A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico.

3.8 Análise Clínica

Os pacientes foram avaliados em relação ao número e a classificação dos episódios de rejeição aguda, usando a classificação de Banff 2009 (Anexo 1). Foram analisadas as sobrevidas do enxerto, assim como a presença de proteinúria e a função renal ao longo dos anos após o transplante. A fórmula para estimar a taxa da filtração glomerular (TFG) utilizada foi a de equação MDRD simplificada, do inglês *Modification of Diet in Renal Disease*, que utiliza quatro variáveis (idade, raça, sexo e creatinina sérica). Para gênero e raça existe um multiplicador; se negros 1,21, se mulheres não negras 0,742 e para todos outros indivíduos 1,0. Conforme equação a seguir:

$$\text{RFG (ml/min/1.73m}^2\text{)} = 186 \times \text{creatinina}^{-1.154} \times \text{idade}^{-0.203}$$
$$\text{sexo feminino}=\text{RFG} \times 0.742; \text{negros}=\text{RFG} \times 1.21$$

3.9 Análise estatística

Para a análise estatística, os dados quantitativos (PRA, número e intensidade em MFI dos DSAs) foram analisados através das médias e desvios padrão e foi utilizado o *teste não-paramétrico de Wilcoxon* para a comparação entre os grupos. Para os dados atributos (incidência de RAMA, RCMA, rejeição geral, perda de enxerto) foi realizada a descrição através das frequências e percentuais e utilizado o *teste Exato de Fisher* para a comparação entre os grupos. Foi considerado o nível de significância de 5% nas comparações.

As curvas de sobrevida de paciente e enxerto, após o transplante, foram feitas utilizando a técnica de Kaplan-Meier.

4 Resultados

4 RESULTADOS

Entre 01 de janeiro de 2003 e 31 de dezembro de 2014, 45 pacientes foram avaliados para ingressar em um protocolo de tratamento para viabilizar o transplante com DV após dessensibilização. Em sua maioria, os pacientes foram do sexo feminino (n=38; 84,44%), de cor branca (n=35; 77,78%), com tipagem sanguínea A (n=22; 48,89%) e que realizavam hemodiálise (n=35; 77,78%). A taxa de retransplantes foi de 31,11% (n=14). A média de idade dos pacientes foi de $37,72 \pm 10,26$ anos no atendimento inicial. (Tabela 1)

Tabela 1 - Características demográficas dos candidatos ao transplante

N =45	
Gênero	Masculino (7): Feminino (38)
Cor	Branco (35): Não-branco (10)
Tipo Sanguíneo	A (22): O (19): B (4): AB (0)
Idade (média)	$37,72 \pm 10,26$
Tempo em diálise em meses (média)	$89,46 \pm 192,07$

Dos 45 pacientes, 12 foram excluídos da análise final por não terem realizado corretamente o protocolo de DS: um paciente não iniciou o tratamento (faleceu antes). Onze deles foram excluídos durante o tratamento (4 pacientes por abandono, 4 pacientes mudaram de centro transplantador, 1 paciente por desistência da doadora, 1 paciente realizou transplante com protocolo que incluiu plasmaferese e Rituximab e 1 paciente conseguiu um doador idêntico após o início do tratamento).

Prosseguiram no estudo 33 pacientes, dos quais: 22 (66,67%) realizaram transplante com doador vivo, 7 (21,21%) realizaram transplante

com doador falecido durante o preparo para transplante com doador vivo, 3 (9,10%) pacientes não conseguiram realizar o transplante até o final do período de observação de $60,53 \pm 36,82$ meses e 1 (3,02%) paciente foi a óbito durante o tratamento em outro serviço (*causa mortis*: falência de múltiplos órgãos de acordo com informação dos familiares) (Figura 1).

Figura 1 - Distribuição da amostra de pacientes avaliados

Dos 33 pacientes avaliados, 29 (87,88%) conseguiram transplantar: 22 com DV e 7 com DF. O tempo médio, em meses, para a realização do transplante desses dois grupos foi: $86,62 \pm 60,28$ e $119,5 \pm 48,14$.

O tempo médio em lista até o início da dessensibilização dos pacientes que realizaram transplante com doador vivo e falecido foi de $72,33 \pm 60,37$ e $80 \pm 43,97$ meses, respectivamente. Após o início da dessensibilização, o tempo médio, em meses, para realização do transplante foi de $12,57 \pm 10,08$ nos pacientes que transplantaram com doador vivo e $23,42 \pm 7,32$ nos pacientes que transplantaram com doador falecido.

Quatro dos 33 (12,12%) pacientes foram considerados falhas de tratamento por não terem conseguido transplantar após uma média de $7,0 \pm 4,18$ doses de IVIG, variando de 3 a 14 doses. Um paciente interrompeu o tratamento e saiu de lista após diagnóstico de neoplasia de mama, um paciente descontinuou tratamento por gestação, ocorreu um óbito após três

infusões (*causa mortis*: falência de múltiplos órgãos de acordo com informação dos familiares) e um paciente permaneceu em dessensibilização, mantendo prova cruzada positiva, após 35 infusões de IVIG e uma infusão de Rituximabe.

Os 7 pacientes que receberam um rim de DF durante o processo de dessensibilização estão sendo analisados em conjunto com pacientes que não tinham DV no momento da avaliação, em outro estudo, para que se avalie o impacto do tratamento na viabilização do transplante com doador falecido.

4.1 Os doadores

Durante o período de análise, foram realizados 22 transplantes com doadores vivos após dessensibilização. Os doadores em sua maioria eram do sexo masculino (n= 12; 54,54%), parentes (n= 18; 81,81%), de cor branca (n = 15; 68,19%) e do tipo sanguíneo O (n = 14). (Tabela 2)

A idade média dos doadores foi $48,25 \pm 23,39$ anos. Apresentavam depuração média de creatinina (MDRD) de $97,33 \pm 25,67$ ml/min/1,73m². A maioria dos doadores parentes eram irmãos (n = 9), seguidos dos pais (n= 5), filhos (n=3) e primo (n=1). Entre os doadores não parentes: cônjuges (n=3) e irmão adotivo (n=1). (Tabela 2)

Tabela 2 - Características demográficas dos doadores

Gênero	Masculino (54,54%; n=12): Feminino (45,46%; n=10)
Tipo doador	Parente (81,81%; n=18): Não parente (18,19%; n=4)
Cor	Branca (68,18%; n=15): Não branca (31,82%; n=7)
Idade média	$48,25 \pm 23,39$ anos
Depuração média de Creatinina (MDRD)	$97,33 \pm 25,67$ ml/min/1,73m ²

4.2 Pacientes transplantados com doador vivo após dessensibilização

Os pacientes transplantados após dessensibilização eram em sua maioria do gênero feminino (n = 20; 90,91 %), de cor branca (n = 15; 68,19 %), do tipo sanguíneo A (n = 11; 50%), com idade média de $40 \pm 8,53$ anos. A forma de terapia renal substitutiva mais comum entre os pacientes foi hemodiálise (n = 18, 81,81%) e o tempo médio em diálise dos pacientes até a realização do transplante foi de 86,62 meses $\pm 60,28$ meses. Um paciente encontrava-se priorizado por ausência de acesso vascular em lista para transplante com doador falecido. (Tabela 3)

Tabela 3 - Características demográficas dos receptores

N=22	
Gênero	Masculino (9,1%; n=2): Feminino (90,90%; n=20)
Cor	Branca (68,18%; n=15): Não-branca (31,82%; n=7)
Tipo Sanguíneo	A (50%; n=11), O (31,81%; n=7), B (18,19%; n=4), AB (0)
Idade (média)	40 anos $\pm 8,53$
Tipo de Diálise	Hemodiálise (81,81%; n=18): Diálise Peritoneal (18,19%; n=4)
Tempo em diálise (média)	86,62 meses $\pm 60,28$

Mais da metade dos receptores ($n = 12$) apresentava 3 incompatibilidades nos loci A, B e DR. (Tabela 4)

Tabela 4 - Distribuição dos pares (doador-receptor) por compatibilidade HLA A, B, DR

Número de incompatibilidades	Número de pacientes
1	0
2	3
3	12
4	1
5	4
6	2

A doença de base mais prevalente foi a glomerulonefrite crônica ($n = 12$), sendo que 5, apresentavam diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistêmico. Na amostra, não existiam pacientes cuja doença de base fosse Diabetes Mellito.

Os pacientes foram analisados de acordo os eventos sensibilizadores aos quais haviam sido submetidos: gestação, transplante prévio e transfusão de hemocomponentes. O evento sensibilizador mais frequente na amostra estudada foi a transfusão de sangue; presente em 15 dos pacientes. Entre as pacientes do sexo feminino, os eventos sensibilizadores com maior incidência foram a associação de gravidez e transfusão de hemocomponentes; o que ocorreu em 10 mulheres, e nenhum paciente apresentou os três eventos sensibilizadores, conforme a Figura 2.

Figura 2 - Distribuição dos eventos sensibilizadores nas pacientes do sexo feminino

O principal evento sensibilizador entre os pacientes do sexo masculino ($n=2$) foi a realização de transplante prévio (100% dos casos); sendo registrada a presença de transfusão de hemocomponentes em apenas um dos pacientes.

Os pacientes apresentavam, no início do tratamento, a mediana do cPRA de Classe I igual a 80,5% (61,25-95,25) e classe II igual 83% (42,5-94). Após a dessensibilização (antes do transplante), os pacientes apresentavam mediana cPRA de Classe I de 62,5 ($p=0,0425$) e classe II de 68,5 ($p=0,2188$). (Tabela 5)

A mediana de DSA dos pacientes (quantidade de DSA) foi de 1 e sua intensidade em MFI de 5057,5. Seis pacientes apresentavam somente DSA de Classe I, 4 pacientes somente DSA de Classe II e 3 pacientes apresentavam DSA de Classe I e II. Após a dessensibilização, a mediana dos DSA foi de 1389,5 ($p < 0,0001$). (Tabela 5)

Tabela 5 - cPRA e DSA (MFI) antes e após dessensibilização

Característica	Pré DS	Pós DS	<i>p-value</i>
PRA CL I n=22	80,5 (61,25–95,25)	62,5 (48,75–77,75)	0,0425
PRA CL II n=22	83 (42,5–94)	68,5 (18–91,75)	0,2188
Número de DSAs n=13*	1 (1–2)	1 (0,5–2)	0,2500
Intensidade individual (MFI)	5057,5 (2246–11691,5)	1389,5 (934,25–2492,5)	<0,0001
MFI Somatório n=13**	5522 (3967,5–14095,5)	1975 (603–5510)	0,0002

*/**: pacientes nos quais o teste de PRA single (Luminex) foi realizado.

Figura 3 - cPRA e DSA-MFI antes e após dessensibilização

A Figura 4 ilustra o comportamento dos DSAs (20 anticorpos de 13 pacientes que possuíam Luminex disponível no momento da análise) antes e após DS: observamos queda da intensidade em MFI de todos os anticorpos analisados.

Figura 4 - Evolução do DSA após DS

A mediana de infusões mensais de IVIG entre os pacientes que realizaram transplante até a liberação da cirurgia foi de 5,5 (3-16).

Os pacientes foram divididos quanto ao número de DSA (1, 2 ou 3) antes do início da DS e os grupos foram avaliados quanto ao número de infusões de IVIG necessárias para a realização do transplante; não observada diferença ($p = 0,2607$) como visualizado na Tabela 6.

Tabela 6 - Número de Infusões de IVIG vs. número de DSAs

Número de DSAs	1	2	3	p-value
	(n = 7)	(n = 3)	(n = 1)	
n° IVIG	7 (5–9)	6 (4–12,5)	16 (—)	0,2627

* Após revisão de prontuários, identificados o DSA pré DS de 13 pacientes

Os pacientes foram divididos de acordo com a somatória da intensidade do DSA (no início do tratamento) e os grupos foram avaliados quanto ao número de infusões de IVIG necessárias para a realização do transplante; não sendo observada diferença ($p = 0,5497$) como visualizado na Tabela 7.

Tabela 7 - Número de Infusões de IVIG vs. somatório MFI

Somatório MFI-DSA	< 5000	5000-10.000	>10.000	p-value
	(n = 5)	(n = 3)	(n = 5)	
n° IVIG	9 (6–12,5)	5 (5–9)	6 (3–14)	0,5497

* Após revisão de prontuários, identificados o MFI pré DS 13 pacientes

Os pacientes foram divididos de acordo com a classe do DSA e os grupos foram avaliados quanto ao número de infusões de IVIG necessárias para a realização do transplante; não sendo observada diferença ($p = 0.0566$) como visualizado na Tabela 8.

Tabela 8 - Número de Infusões de IVIG vs classe do DSA

Classe DSA	I	II	I e II	<i>p-value</i>
	(n = 6)	(n = 3)	(n = 4)	
n° IVIG	9 (6,5–13)	3 (3–5)	9 (5,25–12,75)	0,0566

* Após revisão de prontuários, identificados o DSA pré DS de 14 pacientes

Figura 5 - Número de Infusões de IVIG vs número, intensidade e classe do DSA

Dezoito (81,81%) pacientes apresentavam prova cruzada positiva por FACS e CDC antes da DS; enquanto 4 (18,19%) pacientes apresentavam somente prova cruzada positiva por FACS. Não foi observada diferença entre os grupos FACS+/CDC- vs. FACS+/CDC+, quando analisados a

mediana do PRA de Classe I e II, o número e a intensidade (MFI) do DSA antes e após a dessensibilização. (Tabela 9)

A mediana de infusões de IVIG nos pacientes que apresentavam prova-cruzada positiva por CDC e FACS no início tratamento foi 6, enquanto os pacientes que apresentavam somente FACS positivo foi de 5,5 infusões de IVIG ($p=0,6671$). (Tabela 9)

Tabela 9 - cPRA, número de IVIG entre os grupos FACS+/CDC- vs FACS+/CDC+

Característica		CDC-/FACS +	CDC+/FACS +	p-value
PRA CL I PRE (%)	Mediana	65,5 (42,25–90,25)	85,5 (61,25–95,25)	0,5226
	N	4	18	
PRA CL II PRE (%)	Mediana	58,5 (5–97)	83 (50,75–94)	0,9317
	N	4	18	
IVIG (N)	Mediana	5,5 (3,5–8,25)	6 (3,75–11,25)	0,6671
	N	4	18	
DSA (N)	Mediana	1 (1–2)	1,5 (1–2)	0,5686
	N	3	10	
MFI-DSA Pré	Mediana	4593 (1587–23253)	6841 (4219,75–12998,75)	0,6121
	N	3	10

Figura 6 - PRA, número de IVIG entre os grupos FACS+/CDC- vs. FACS+/CDC+

A única intercorrência severa reportada durante as infusões da IVIg foi hipervolemia, que ocorreu em um paciente que necessitou de uma sessão de diálise extra nas infusões seguintes. Cefaleia ocorreu em poucos pacientes, ocasionalmente.

Analizando a especificidade do DSA imunodominante (iDSA) dos pacientes submetidos à dessensibilização, avaliamos o número de infusões de IVIG de acordo com a Tabela 10.

Tabela 10 - Número de infusões de IVIG pelo DSA dominante

DSA- especificidade	n° IVIG
B7	9
DR17	5
B27	9
DR13	6
DR4	3
B38	12
B44	16
DR8	13
B51	5
DR16	5
B15	7
A2	12
DQ5	3

Após a dessensibilização, observamos uma redução na mediana da intensidade em MFI do iDSA ($p=0,0002$), conforme observamos na Tabela 11.

Tabela 11 - iDSA (mediana) antes e após DS

iDSA	PRÉ DS	PÓS DS	p-value
B7	8160	1993	
DR17	3452,89	932,3	
B27	4593	1206	
DR13	10337	5579,9	
DR4	10499,7	1301,37	
B38	3463,6	3786,3	
DR8	1792,7	924,6	
B44	17053	1500	
B51	1587,8	0	
DR16	5522,9	0	
A2	12089	8617	
B15	4472,46	0	
DQ5	13000	12228,6	
Mediana	5522 (3457,5–11294)	1301 (462–3786)	0,0002

A lista completa dos pacientes transplantados (em ordem cronológica) com cPRA classe I e II, número e intensidade de MFI, número de infusões de IVIG e provas cruzadas antes e após a dessensibilização pode ser vista no Anexo II.

Dos quatros pacientes considerados como falha de tratamento (não realizaram transplante durante o período de observação de $24,8 \pm 18,21$ meses), três apresentavam provas cruzadas positivas por FACS e CDC no início da avaliação e um apresentava prova cruzada positiva somente por

FACS. A média do PRA de CL I desse grupo era $75,75 \pm 22,82$; CL II era de $74,5 \pm 27,95$.

Os pacientes que não realizaram transplante apresentavam uma média de PRA CLI ($p=0,9433$), CLII ($p=0,6422$) e o número de DSA ($p=0,1646$) superior ao grupo dos pacientes transplantados, mas essas diferenças não foram significativas. (Tabela 12)

A mediana do somatório da intensidade dos DSAs dos pacientes não transplantados foi maior do que o do grupo dos pacientes transplantados, mas essa diferença não foi significativa ($p=0,0926$). (Tabela 12)

Tabela 12 - CPRA, número e intensidade de DSA dos pacientes que não realizaram transplante vs pacientes transplantados

	Falha de tratamento	Transplantados	<i>p value</i>
CL I	72 (42,75–96,75) N=4	80,5 (61,25–95,25) N=22	0,9433
CL II	81,5 (40,5–98,5) 4	83 (42,5–94) N=22	0,6422
Número de DSAs	3 (1–4) N=3*	1 (1–2) N=13	0,1646
MFI mediana (somatório)	14764,9 (14661,9–32641,5) N=3*	5522 (3967,5–14095,5) N =13	0,0926

* Um paciente sem single disponível

4.3 Pós-transplante

No momento da indução, todos os pacientes receberam Timoglobulina na dose de 6 mg/kg de peso por 4-7 dias; 12 pacientes (54,54%) receberam ainda IVIG na dose de 2 g/kg nos PO 0,1, conduta que foi iniciada no serviço desde o primeiro transplante de paciente submetido ao protocolo de dessensibilização da instituição.

A imunossupressão de manutenção foi feita com prednisona e tacrolimo em 100% dos casos. Quatro pacientes utilizaram MMF (18,18%), e 18 pacientes utilizaram MMS (81,82 %) como droga antiproliferativa durante a manutenção. Todos os pacientes receberam profilaxia para citomegalovírus.

O tempo médio de seguimento dos pacientes transplantados foi de $60,53 \pm 36,82$ meses.

4.3.1 Sobrevida dos pacientes, do enxerto, função renal e proteinúria

A sobrevida dos pacientes após 1, 3 e 5 anos foi de respectivamente 95,5%, 95,5%, 85%. A sobrevida do enxerto (censurada para óbito) após 1, 3 e 5 anos foi de respectivamente 90,5 %, 90,5 %, 82,3 %.

Durante o seguimento, foram observadas 10 perdas de enxerto sendo 40% (n= 4) por Rejeição Crônica Mediada por Anticorpos (RCMA). 1 perda no PO 9 por trombose arterial, 1 perda no PO 70 após episódio de RAMC Banff III, 3 perdas por óbito com enxerto funcionando (Choque séptico no PO 3, Gastroenterocolite no PO 1250 e Insuficiência Respiratória de causa indeterminada no PO 1325) e uma paciente por Insuficiência Renal Aguda (causa indeterminada) no PO 3543 com retorno para hemodiálise em outro serviço.

Tabela 13 - Causas de perda de enxerto/retorno para diálise e tempo de perda

Causas de perda do enxerto	Número de perdas (n = 10)	Tempo (média em meses)
RCMA	4 (40%)	90,18 ± 23,33
Óbito com enxerto funcionando	3 (30%)	51,01 ± 42,5
Trombose de artéria renal	1 (10%)	0,3
Indeterminada	1 (10%)	118,1
RAMC	1 (10%)	1,33

Tabela 14 - Percentuais de sobrevida dos pacientes ao longo do tempo

Característica	1 ano n=19	3 anos n=19	5 anos n=9
Sobrevida do enxerto	90,5%	90,5%	82,3%
Sobrevida dos pacientes	95,5%	95,5%	85,0%

Tabela 15 - Intervalos de confiança de 95% para os percentuais de sobrevida dos pacientes ao longo do tempo

Característica	1 ano n=19	3 anos n=19	5 anos n=9
Sobrevida do enxerto	(68,9%; 97,6%)	(68,9%; 97,6%)	(55,5%; 94,5%)
Sobrevida dos pacientes	(73,9%; 99,4%)	(73,9%; 99,4%)	(62,2%; 95,1%)

Figura 7 - Gráfico de Sobrevida de Pacientes

Figura 8 - Gráfico de Sobrevida de Enxertos

A função renal média dos enxertos após 1,3 e 5 anos, estimada pela depuração de creatinina (MDRD), foi de $66,21 \pm 14,24$ ml/min/1,73m²; $60,39 \pm 21,19$ ml/min/1,73m² e $60,59 \pm 22,80$ ml/min/1,73m². Presença de proteinúria foi detectada em 36,84%, 47,37% e 33,33% dos pacientes após 1, 3 e 5 anos de transplante.

Tabela 16 - Função renal média e proteinúria

	1 ano n=19	3 anos n=19	5 anos n=9
Função renal (MDRD em ml/min/1,73m²)	66,21 ± 14,24	60,39 ± 21,19	60,59 ± 22,80
Presença de Proteinúria (%)	N= 7 (36,84%)	N= 9 (47,37%)	N= 3 (33,33%)

4.4 Rejeição

Foram excluídos dessa análise, dois pacientes que tiveram curto tempo de seguimento: um óbito precoce por choque séptico (PO 3) e uma perda precoce do enxerto com necessidade de transplantectomia por trombose da artéria renal (PO 9). As RAMC foram tratadas com pulsoterapia (Metilprednisolona 500 mg EV por 3 dias); e as RAMA com 6 sessões de PF, IVIG na dose de 2g/kg e, em alguns casos, Rituximabe.

Treze pacientes realizaram biópsias protocolares antes do PO 14; um paciente não realizou biópsia por plaquetopenia persistente. Dois pacientes apresentaram diagnósticos de RAMC em biópsias protocolares e nenhum diagnóstico de RAMA foi realizado nas biópsias protocolares.

Ao longo do tempo de seguimento, nove pacientes (45%) não apresentaram nenhum episódio de rejeição clínica. Oito pacientes (40%) apresentaram rejeições mediadas por células, e a mediana de tempo de diagnóstico dessas rejeições foi de 88,5 dias. Seis pacientes (27,27%)

apresentaram rejeições mediadas por anticorpos, sendo cinco (83,33 %) com C4d positivo à biópsia renal, e com uma mediana de 1004 dias após o transplante.

Apenas uma paciente evoluiu com perda do enxerto após episódio de rejeição aguda; tratava-se de uma RAMC Banff III diagnosticada no PO 8.

Analisando os pacientes em grupos (pacientes que não apresentaram rejeição vs pacientes que apresentaram rejeição) não observamos diferença quanto aos valores de PRA classe I e classe II, número de DSAs antes do transplante e nem sua intensidade (MFI-DSA). Embora não tenhamos encontrado diferença significativa na intensidade do MFI-DAS, os pacientes que rejeitaram apresentaram somatório quatro vezes superior aos que não rejeitaram.

Tabela 17 - Perfil dos pacientes (cPRA, número e intensidade do DSA) sem e com rejeição

Característica		Sem Rejeição	Com Rejeição	<i>p-value</i>
PRA CL I	Mediana (Q1-Q3)	85 (52,5–91)	76,5 (64,25–97)	0,8135
	N	9	6	
PRA CL II	Mediana (Q1-Q3)	68 (25–88,5)	76 (17–94)	0,8127
	N	9	6	
DSA	Mediana (Q1-Q3)	1 (1–2)	2 (1–3)	0,2482
	N	6	3	
MFI-somatório	Mediana (Q1-Q3)	4884 (3461,75–8744,75)	16289 (1587–45907)	0,4386
	N	6	3	

Foi avaliada a incidência de perda de enxerto (geral e por RCMA) entre os grupos com e sem rejeição e não foi observada diferença.

Tabela 18 - Perda de enxerto entre os grupos com e sem rejeição

Medida	Sem rejeição N=9	Com rejeição N=6	p-value
Perda de enxerto geral	2 (22,2%)	3 (50,0%)	0,329
Perda por RCMA	1 (11,1%)	2 (33,3%)	0,525

Os pacientes analisados em grupos (com ou sem IVIG no momento da indução da imunossupressão) não tiveram diferença quanto a ocorrência de RAMA ($p=1,0000$) e RCMA ($p=0,9999$).

Tabela 19 - RAMA e RCMA nos grupos com e sem indução com IVIG

	Com IVIG na Indução N=10*	Sem IVIG na Indução N=10	p-value
RAMA	1 (10%)	1 (10%)	1,0000
RCMA	1 (10%)	2 (20%)	0,9999
REJEIÇÃO	6 (60%)	5 (50%)	0,9999

* Foram retirados dessa análise dois pacientes com perda precoce de causa não imunológica.

4.5 Complicações metabólicas, infecciosas e neoplásicas

Serão excluídos dessa análise dois pacientes: um óbito precoce por choque séptico (PO 3), e uma perda precoce do enxerto com necessidade de transplantectomia por trombose da artéria renal (PO 9).

Dois pacientes apresentaram diabetes melito pós-transplante (10%). Não foram observadas complicações cardiovasculares ao longo do período de seguimento.

Foram contabilizadas por meio dos registros de prontuários, somente aquelas infecções mais frequentemente associadas ao estado de imunossupressão dos pacientes; e foram encontrados 15 episódios de infecção. 10 (50%) pacientes não apresentaram complicações infecciosas significativas durante o seguimento.

Dos pacientes que apresentaram complicações infecciosas, mais da metade (n=6; 60%) não apresentou episódios de rejeição no seguimento; portanto, não receberam tratamentos imunossupressores adicionais. Os demais pacientes (n=4) apresentaram incidência de 100% e 50% de RAMC e RAMA, respectivamente.

Um paciente apresentou Tuberculose intestinal (diagnosticada no PO 982), 1 paciente apresentou Tuberculose Pleural (PO 653), 3 pacientes apresentaram infecções fúngicas (1 cromomicose em hálux no PO 442, 1 criptococose pulmonar no PO 2011 e 1 esofagite por cândida no PO 73); 2 pacientes apresentaram diarreia prolongada crônica por germes oportunistas (criptosporidiose PO 856 e blastocistose no PO 371). Entre as infecções virais, foi observado apenas um caso de infecção por citomegalovírus (trato gastrointestinal, no PO 327) e duas infecções por poliomavírus (um apresentou duas citologias urinárias com a presença de decoy cells no PO 2537 e outro teve diagnóstico realizado por PCR no PO 290). Um paciente apresentou cistite hemorrágica por adenovírus (PO 152) e três apresentaram reativações cutâneas não complicadas pelo vírus da Varicela Zoster (PO

531, PO 2535 e PO 2357). Um paciente apresentou condilomatose por HPV (PO 2918).

Nenhuma das complicações infecciosas relatadas foi responsável por perda do enxerto ou óbito do paciente.

Tabela 20 - Complicações infecciosas após o transplante renal

Infeções	Número de pacientes	PO (média em dias)
Virais	8	1842
Fúngicas	3	1185
Tuberculose	2	982
Protozoários	2	613

O diagnóstico de neoplasia foi complicação pouco frequente nesse grupo de pacientes que realizou transplante renal pós DS. Uma paciente teve diagnóstico de Mieloma Múltiplo no PO 1395 (sem acometimento renal), num momento em que já apresentava disfunção crônica avançada do enxerto. Evoluiu com perda do enxerto e retorno para hemodiálise após a retirada dos imunossupressores.

4.6 Análise Multivariada

Foi realizada análise multivariada para os seguintes desfechos: rejeição (RAMA) e perda de enxerto. Foi avaliada o impacto das variáveis abaixo:

- Idade
- Raça
- Provas cruzadas antes da dessensibilização (CDC+/FACS+ vs CDC-/FACS+)
- PRA CL I e CL II antes da dessensibilização
- Número de infusões de IVIG
- Número de DSA antes da dessensibilização
- MFI antes da dessensibilização

4.6.1 Rejeição

Inicialmente foi realizada análise univariada, considerando separadamente cada uma das variáveis do estudo. Pela análise univariada, somente houve impacto significativo da idade no desfecho rejeição: quanto maior a idade, maior a incidência de RAMA (Tabela 21).

Ao se realizar a análise multivariada, considerando todas as variáveis em conjunto, o modelo ficou instável possivelmente pelo baixo tamanho da amostra, sendo necessário retirar da análise o número de DSA e sua intensidade (MFI) antes da dessensibilização (Tabela 21).

Tabela 21 - Análise de Regressão Logística para Rejeição

Variável	Univariada		Multivariada	
	Wald Qui-quadrado	p-value	Wald Qui-quadrado	p-value
IDADE	4,480	0,0343	4,166	0,0412
RACA	1,744	0,1867	0,860	0,3538
CDC/FACS	0,789	0,3744	0,813	0,3672
PRA CL I PRE	2,299	0,1295	2,532	0,1116
PRA CL II PRE	2,826	0,0927	0,012	0,9134
IVIG	1,741	0,1870	1,850	0,1738
DSA Número	1,062	0,3027	—	—
MFI Pre	0,008	0,9307	—	—

4.6.2 Perda do enxerto

Inicialmente foi realizada a análise univariada, considerando separadamente cada uma das variáveis anteriormente citadas, mas não foi possível avaliar número de DSA e intensidade (MFI) antes da dessensibilização, pois não tivemos perda de enxerto em nenhum dos pacientes em que eram conhecidas as duas informações.

Para a variável provas cruzadas, não tivemos nenhuma perda no grupo CDC -/ FACS +, portanto, não foi possível avaliar essa medida.

Pela análise univariada, temos que somente houve impacto significativo do número de infusões de IVIG no desfecho perda de enxerto: quanto maior o número de infusões de IVIG, menor a incidência de perda de enxerto.

Idade, PRA CL I e CL II (antes da dessensibilização) apresentaram *p-value* próximo do valor de corte, mas sem impacto significativo.

Na análise multivariada, observamos que nenhuma variável ficou significativa, mas fazendo a diminuição do modelo, retirando as variáveis

menos significativas, chegamos no mesmo resultado da univariada, onde somente o número de infusões de IVIG foi significativa.

Tabela 22 - Análise de Regressão Logística para Perda de enxerto

Variável	Univariada		Multivariada	
	Wald Qui-quadrado	p-value	Wald Qui-quadrado	p-value
IDADE	3,490	0,0617	0,460	0,4976
RAÇA	0,181	0,6702	1,030	0,3102
PRA CL I PRE	2,247	0,1339	0,000	0,9955
PRA CL II PRE	3,016	0,0824	0,067	0,7952
IVIG	5,069	0,0244	2,467	0,1162
Rejeição RAMA	3,015	0,0825	1,329	0,2490

5 Discussão

5 DISCUSSÃO

De acordo com dados extraídos do Censo de Diálise da Sociedade Brasileira de Nefrologia de 2016, 57% dos pacientes que realizavam diálise naquele ano eram do sexo masculino, em sua maioria apresentavam faixa etária entre 20 e 64 anos (65,7%) e realizavam hemodiálise (92,1%) como forma de terapia renal substitutiva. Na nossa análise, quase a totalidade dos pacientes que iniciaram avaliação tinham hemodiálise como forma mais frequente de TRS e eram do sexo feminino (n=38), provavelmente porque a gestação contribui como importante fator para a sensibilização contra antígenos HLA ⁽²⁾.

Em relação ao diagnóstico da doença renal primária, os mais frequentes em 2016 foram hipertensão arterial sistêmica (34%) e diabetes (30%); sendo que glomerulonefrite crônica respondeu somente por 9% dos casos ⁽²⁾. Apesar da alta prevalência de DM na nossa população, não tivemos nenhum paciente na análise que apresentasse a doença como causa etiológica de DRC. Tal achado pode estar relacionado com a alta incidência de complicações cardiovasculares que podem contraindicar o transplante nos pacientes diabéticos com longo tempo de diálise.

Atualmente, cerca de 30% dos pacientes inscritos em lista para transplante renal nos Estados Unidos apresentam algum grau de sensibilização, sendo que destes quase 8000 pacientes são considerados altamente sensibilizados, com PRA acima de 80% ⁽³⁰⁾. Informações fornecidas pela Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo (SES/SP) informam que 15,8% dos pacientes inscritos para transplante renal com doador falecido neste estado apresentam painel acima de 80% ⁽³¹⁾.

Em decorrência dos altos níveis de anticorpos anti-HLA, estes pacientes possuem chances reduzidas de realizar transplante com doador falecido, e apresentam largo tempo de espera em lista, quando comparados com aqueles pacientes não sensibilizados. De acordo com a base de dados

do UNOS, observamos uma taxa de transplantes de 6,5% ao ano para pacientes hipersensibilizados, comparados aos 18 a 20% dos pacientes não sensibilizados ⁽³²⁾.

Em nosso estudo, comparamos o tempo de espera em lista dos pacientes até o início do procedimento de dessensibilização, com o tempo entre o início do tratamento e a realização do transplante (tanto para os pacientes que realizaram transplante com doador vivo, quanto aqueles que realizaram transplante com doador falecido durante o seguimento) e observamos uma redução importante na espera para a realização da cirurgia. O tempo médio em lista até o início da dessensibilização dos pacientes que realizaram transplante com doador vivo e falecido foi de $72,33 \pm 60,37$ e $80 \pm 43,97$ meses. Após o início do tratamento, este tempo reduziu para $12,57 \pm 10,08$ meses, nos pacientes que transplantaram com doador vivo, e $23,42 \pm 7,32$ nos pacientes que transplantaram com doador falecido.

São diversos os protocolos e arsenal terapêutico utilizados para a dessensibilização e que promovem uma boa sobrevida ao enxerto. Já em 2002, Glotz realizou transplante renal após dessensibilização com IVIG em 13 pacientes, com perda de apenas dois enxertos no primeiro ano (uma trombose vascular precoce e uma perda secundária à rejeição) ⁽¹⁸⁾. Em 2004, Jordan e cols. publicaram um estudo prospectivo com 101 pacientes hipersensibilizados (PRA > 50%) divididos em dois grupos, placebo (n = 50) vs. IVIG (n = 48), com o objetivo de avaliar se o tratamento com IVIG seria capaz de aumentar as chances de realização de um transplante de sucesso nesses pacientes. No grupo placebo, 17% dos pacientes realizaram transplante, contra 35% dos pacientes que receberam IVIG como dessensibilização. Após um seguimento de 2 anos, os grupos apresentaram sobrevida de enxerto semelhante (80% no grupo IVIG vs. 75% no grupo placebo) ⁽²²⁾.

Após comprovar a eficácia da dessensibilização para a realização do transplante, fizeram-se necessários trabalhos com maior tempo de seguimento, que comprovassem a eficácia da dessensibilização. Jordan, em

2016, publicou trabalho retrospectivo com 177 transplantes com doador vivo, dos quais 66 eram hipersensibilizados e que foram transplantados após protocolo de dessensibilização que incluía Rituximabe, IVIG e plasmaferese. Os demais pacientes eram de baixo risco imunológico. Ao final de 6 anos de seguimento, a sobrevida nos grupos de pacientes sensibilizados e pacientes de baixo risco foi de 87,9% e 88,3%, respectivamente, revelando bons resultados da DS em pacientes seguidos por maior tempo ⁽²⁴⁾.

Montgomery e cols. publicaram, em 2016, um estudo multicêntrico com objetivo inédito e desafiador: mostrar que os pacientes que realizam transplante com doador vivo após dessensibilização possuíam uma sobrevida maior do que aqueles que não realizam transplante ou ficavam à espera em lista por um doador falecido HLA compatível. Trata-se de estudo multicêntrico, no qual os pacientes foram divididos em três grupos: pacientes que realizaram transplante após dessensibilização (n = 1025), pacientes que permaneceram em lista de espera por um doador falecido (n = 5125) e pacientes que se mantiveram em diálise e não realizaram transplante (n = 5125). Os pacientes dessensibilizados tiveram uma sobrevida maior do que aqueles que permaneceram em lista em diálise crônica, após um 1 (95% vs. 94% vs. 89,6%), 3 (91,7 vs. 83,6 % vs. 72,7%), 5 (86% vs. 74,4% vs. 59.2%) e 8 (76,5% vs. 62,9% vs. 43,9%) anos de seguimento (p<0,001) ⁽³³⁾.

No nosso trabalho, que tem como característica o uso isolado de imunoglobulina, observamos uma sobrevida de enxerto ainda maior do que nos relatos descritos acima: 90,5%, 90,5% e 82,3% ao final de 1, 3 e 5 anos. São números animadores que corroboram o sucesso do tratamento uma vez que são comparáveis à sobrevida de enxerto de doadores vivos, sensibilizados e não sensibilizados, descritos no Registro Brasileiro de Transplantes de 2017 (97%, 96% e 94% ao final do primeiro, terceiro e quinto ano, respectivamente) ⁽³⁴⁾.

A dessensibilização é capaz de promover a negatificação da prova cruzada necessária para a liberação do transplante (CDC ou FACS), mas na grande maioria dos casos, o anticorpo doador-específico (DSA) encontra-se

presente no momento da cirurgia. A presença do DSA antes do transplante é associada, na grande maioria dos trabalhos, a um risco elevado de rejeição aguda e/ou crônica e explica o grande receio da comunidade transplantadora com relação a esse perfil de paciente. O trabalho citado acima, de Jordan, tinha como objetivo secundário avaliar a incidência de rejeição, sendo observada uma incidência de 30% nos pacientes sensibilizados e de 23% nos pacientes de baixo risco imunológico ⁽²⁴⁾. Nos pacientes da nossa análise, não observamos RAMA nas biópsias protocolares (realizadas até o 7º PO de transplante) e ao longo do seguimento em 5 anos, observamos uma incidência de 27,27% de RAMA; semelhante àquela publicada por Jordan. Interessante chamar atenção para o fato de que 9 pacientes (quase metade da nossa amostra) não apresentou complicações imunológicas durante o período de seguimento, embora todos os pacientes tenham transplantado com anticorpo DSA contra os respectivos doadores. Possíveis explicações para a baixa incidência de rejeição nos pacientes do nosso estudo: os transplantes foram liberados somente após negativação da prova cruzada por CDC e negativação ou positividade fraca da prova-cruzada por citometria de fluxo (n=3); e uso de IVIG na indução da imunossupressão.

Na nossa análise, observamos uma redução do PRA médio de classe I e II; tal informação possui relevância para validar a dessensibilização como um tratamento capaz de reduzir os níveis dos anticorpos que compõem o painel, entretanto seria um raciocínio simplista afirmar que naqueles pacientes onde não se observou a redução do PRA a dessensibilização não foi eficaz, principalmente, no transplante com doador vivo, quando a redução isolada do anticorpo específico é suficiente para a liberação do transplante, não ocorrendo necessariamente, a redução do valor absoluto do painel.

A presença de DSA antes do transplante está relacionada com um maior risco de RAMA na maioria das publicações, e o grande desafio no seguimento após o transplante dos pacientes sensibilizados é tentar identificar fatores que poderiam ser preditores do risco desta complicação. Na literatura, não existe consenso se características relacionadas ao DSA

(número, intensidade ou classe) poderiam se relacionar ao risco de rejeição⁽³⁵⁾. Phelan publicou em 2009, uma análise retrospectiva de 64 transplantes com doadores vivos, dos quais 12 receptores apresentavam DSA no momento do transplante e não receberam ATG na sua indução. Durante a evolução, o grupo de pacientes que apresentava DSA não teve nenhum episódio de RAMA e as duas perdas de enxerto ocorreram por recorrência de GESF e morte com enxerto funcionando, após 35 e 32 meses respectivamente. Nessa série de casos, independentemente das características do DSA, não foi observado nenhum episódio de rejeição⁽³⁶⁾.

Em trabalho apresentado pelo Grupo de Sensibilizados do Serviço de Transplante Renal do HC-FMUSP no *American Transplant Congress* em 2016, foram analisados 1002 transplantes, realizados entre janeiro de 2009 e dezembro de 2013, com o objetivo de comparar a sobrevida de enxerto após um ano de transplante, entre pacientes não sensibilizados e sensibilizados (e estes últimos, com a presença ou não de DAS no momento do transplante). Nessa análise, a presença do DSA foi considerada fator de risco para rejeição aguda mediada por anticorpos. E a presença de rejeição aguda mediada por anticorpos nos pacientes sensibilizados (DSA) foi o responsável pela menor sobrevida do enxerto⁽³⁷⁾.

Em nossa análise, nem o número e nem a intensidade do DSA antes do transplante se relacionou com maior risco de RAMA. Tal achado também foi encontrado em análise retrospectiva de 86 transplantes, publicada recentemente pela UNICAMP, avaliando a incidência de RAMA nos pacientes com DSA antes do transplante. Nestes pacientes, a intensidade do DSA (MFI) não se associou com a presença de RAMA⁽³⁸⁾.

Niederhaus e cols. tem relacionado a intensidade do DSA imunodominante (iDSA) com maior risco de rejeição⁽³⁹⁾. Em nossa análise, a dessensibilização foi capaz de reduzir o iDSA médio dos pacientes, e no momento do início do protocolo de DS observamos iDSA superior a 10.000 MFI em 3 pacientes. Destes, apenas um não apresentou redução

significativa da sua intensidade (DQ5: 13.000 > 12228) e também não apresentou RAMA após o transplante.

Uma preocupação com os protocolos de dessensibilização é de maior incidência de infecções graves após o transplante, principalmente pelo uso de medicações como o Rituximabe. Jordan publicou, em 2011. Uma análise retrospectiva de 361 transplantes, com média de seguimento de 18 meses, no qual os pacientes foram divididos em dois grupos: baixo risco imunológico *versus* pacientes submetidos à dessensibilização com Rituximabe e IVIG. Os dois grupos não apresentaram diferença quanto à sobrevida de pacientes e enxertos, e chamou atenção o fato de que ambos apresentaram taxas semelhantes de infecções virais, fúngicas e bacterianas ⁽⁴⁰⁾.

No nosso trabalho, observamos uma baixa incidência de infecções; metade dos pacientes transplantados não apresentaram complicações infecciosas significativas durante o seguimento. Interessante notar, que os episódios de infecção também não estiveram relacionados ao uso de tratamento imunossupressor adicional nos pacientes que apresentaram rejeição, uma vez que 60% dos pacientes com infecção não apresentaram episódios prévios de rejeição.

A baixa incidência de complicações infecciosas e ausência de casos de óbito por infecção em nossos pacientes pode também ser explicada pelo uso isolado de IVIG em nosso protocolo de dessensibilização; uma vez que outras drogas comumente utilizadas nesse processo (Rituximabe, Bortezomibe, Tocilizumabe) estão mais relacionadas ao surgimento de quadros infecciosos graves após o transplante. Outra explicação seria o uso global de profilaxia para CMV e seguimento ambulatorial próximo para o rastreio de replicação viral (CMV e BKV) e tratamento precoce dessas patologias. É interessante lembrar, que a IVIG possui uma importante ação anti-infecciosa uma vez que possui, no seu preparado, altas taxas de imunoglobulinas anti-CMV e anti-BKV ⁽⁴¹⁾.

Em nossa análise, consideramos 4 pacientes como falha de tratamento por não conseguirem realizar o transplante renal durante o

período de seguimento. Uma paciente foi a óbito em diálise, após três infusões, com causa mortis descrita em prontuário como falência de múltiplos órgãos. Uma paciente permanece em dessensibilização, mantendo prova cruzada positiva (FACS e CDC) após 35 infusões de IVIG e uma infusão de Rituximabe; esta paciente apresenta somente um DSA de classe I (B8) com intensidade de fluorescência sempre acima de 10.000. Outra paciente interrompeu o tratamento após 4 anos em razão de ter sido diagnosticada com câncer de mama; importante salientar que a mesma não conseguia manter as infusões mensais e desta forma não seguia o protocolo corretamente; apresentava quatro DSAs (sendo o DR14 o dominante com MFI=7724,23 no início do tratamento) somente prova cruzada positiva por FACS, mantendo sempre alta positividade. A última paciente descontinuou o tratamento após treze infusões de IVIG em razão de gestação; apresentava dois DSAs (B57 e DR15) com MFI elevados (>10.000) e prova cruzada positiva pós FACS e CDC.

Em resumo, podemos observar que o transplante renal com doador vivo em pacientes altamente sensibilizados, após dessensibilização com IVIG isoladamente, é um tratamento seguro e efetivo, com baixa incidência de complicações infecciosas e imunológicas e boa sobrevida de paciente e enxerto. A importância desse estudo reside no fato de que os pacientes transplantados apresentavam níveis elevados de DSA e por esta razão eram considerados intransplantáveis com esses doadores. Além disso, a maioria esperava há muitos anos por um doador falecido em lista.

A real importância clínica da presença do DSA detectado pelos ensaios de fase sólida, mas com prova cruzada negativa ainda precisa ser melhor esclarecida por estudos prospectivos, principalmente em pacientes tratados previamente com IVIG.

6 Conclusão

6 CONCLUSÃO

- O uso de IVIG na dose mensal 2 g/kg permitiu uma alta transplantabilidade (87,87% dos casos) de pacientes altamente sensibilizados, que se apresentaram com um DV contra quem apresentavam PC positiva;
- A taxa de insucesso do protocolo de dessensibilização foi baixa de 12,13% (4 casos) após $24,8 \pm 18,21$ meses de DS com IVIG;
- O uso de IVIG em altas doses promoveu redução significativa da somatória da intensidade dos DSAs e do cPRA de Classe I e de classe II dos pacientes da amostra;
- A média de infusões mensais de IVIG entre os pacientes que realizaram transplante até a liberação da cirurgia foi de $6,72 \pm 3,8$;
- O número de DSAs e a somatória da intensidade dos DSA-MFI não se relacionaram com o número de doses de IVIG necessárias para a obtenção de provas cruzadas por CDC e FACS negativas e liberação do transplante;
- Pacientes com citotoxicidade e com citometria positiva apresentaram tempo de tratamento semelhante (número de infusões de IVIG) até a liberação do transplante;

- Não foram observados eventos adversos graves relacionados à infusão de IVIG;
- A taxa de sobrevida dos pacientes em 5 anos foi de 85%; e dos enxertos foi de 82,3%.
- A taxa de rejeição mediada por anticorpos foi de 27,27 % ao longo de $4,54 \pm 3$ anos de seguimento: 2 foram agudas (100% revertidas), e 4 foram crônicas com uma perda de enxerto (25%);
- A função renal média dos enxertos após 1, 3 e 5 anos de seguimento após o transplante, estimada pela depuração de creatinina (MDRD), foi de $66,21 \pm 14,24$ ml/min/1,73m²; $60,39 \pm 21,19$ ml/min/1,73m² e $60,59 \pm 22,80$ ml/min/1,73m²;
- 50% dos pacientes não apresentaram complicações infecciosas significativas durante o seguimento e a maior incidência de complicações infecciosas foi de etiologia viral (36,36%);
- A incidência de neoplasia foi de 5% ao longo de anos de seguimento.

7 Referências

7 REFERÊNCIAS

- 1 Collins AJ, Kasiske B, Herzog C, Chavers B, Foley R, Gilbertson D, Grimm R, Liu J, Louis T, Manning W, Matas A, McBean M, Murray A, St Peter W, Xue J, Fan Q, Guo H, Li S, Li S, Roberts T, Snyder J, Solid C, Wang C, Weinhandl E, Arko C, Chen SC, Dalleska F, Daniels F, Dunning S, Ebben J, Frazier E, Johnson R, Sheets D, Forrest B, Berrini D, Constantini E, Everson S, Frederick P, Eggers P, Agodoa L; United States Renal Data System. Excerpts from the United States Renal Data System 2004 Annual Data Report: atlas of end-stage renal disease in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2005;45(1 Suppl 1):A5-7.
- 2 Censo Brasileiro de Diálise, 2016. Disponível em: <http://www.sbn.org.br>. Acesso em: 03 abr. 2018, 11:44 h.
- 3 Port FK; Wolfe RA. Mauger EA, Berling DP, Jiang K. Comparison of survival probabilities for dialysis patients vs cadaveric renal transplant recipients. *JAMA.* 1993;270(11):1339-43.
- 4 Registro Brasileiro de Transplantes, 2016. Disponível em <www.abto.org.br>. Acesso em 03 abr. 2018, 11:44 h.
- 5 Lefaucheur C, Nochy D, Andrade J, Verine J, Gautreau C, Charron D, Hill GS, Glotz D, Suberbielle-Boissel C. Comparison of combination plasmapheresis/IVIG/anti-CD20 versus high dose IVIG in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am J Transplant.* 2009;9(5):1099-107.
- 6 Abu Jawdeh BG, Cuffy MC, Alloway RR, Shields AR, Woodle ES. Desensitization in kidney transplantation: review and future perspectives. *Clin Transplant.* 2014;28(4):494-507.

-
- 7 Heidt S, Witvliet M, Haasoot G, Claas FH. The 25th anniversary of the Eurotransplant Acceptable Mismatch program for highly sensitized patients. *Transpl Immunol.* 2015;33(2):51-7.
 - 8 Duquesnoy RJ. The antibody response to an HLA mismatch: a model for nonself-self discrimination in relation to HLA epitope immunogenicity. *Int J Immunogenet.* 2012;39(1):1-9.
 - 9 Sousa LC, Sales Filho HL, Von Ghlen CQ, da Silva AS, dos Santos Neto PA, Castro JA, Monte SJ. EpHLA: an innovative and user-friendly software automating the HLAMatchmaker algorithm for antibody analysis. *Transpl Immunol.* 2011;25(4):210-6.
 - 10 Wu DA, Robb ML, Watson CJE, Forythe JLR, Tomson CRV, Cairns J, Roderick P, Johnson RJ, Ramanan R, Fogarty D, Bradley C, Gibbons A, Metcalfe W, Draper H, Bradley AJ, Oniscu GC. Barriers to living donor kidney transplantation in the United Kingdom: a national observational study. *Nephrol Dial Transplant.* 2017;32(5):890-900.
 - 11 Kidney Paired Donation. Disponível em: United Network for Organ Sharing <<https://unos.org/>>. Acesso em 03 abr. 2018, 11:44 h.
 - 12 Montgomery RA. Renal transplantation across HLA and ABO antibody barriers: integrating paired donation into desensitization protocols. *Am J Transplant.* 2010;10(3):449-57.
 - 13 Jordan SC, Reinsmoen N, Lai CH, Cao K, Kahwaji J, Peng A, Villicana R, Vo A. Desensitizing the broadly human leucocyte antigen-sensitized patient awaiting deceased donor kidney transplantation. *Transplant Proc.* 2012;44(1):60-1.

- 14 Vo AA, Kim I, Louie S, Cisneros K, Kahwaji J, Toyoda M, Ge S, Haas M, Puliyaanda D, Reinsmoen N, Peng A, Villicana R, Jordan SC. A Phase I/II Trial of the Interleukin-6 receptor-specific humanized monoclonal (Tocilizumab) + Intravenous Immunoglobulin in difficult to desensitize patients. *Transplantation*. 2015;99(11):2356-63.
- 15 Jordan SC, Vo AA, Peng A, Toyoda M, Tyan D. Intravenous gamma globulin (IVIG): a novel approach to improve transplant rates and outcomes in highly HLA-sensitized patients. *Am J Transplant*. 2006;6(3):459-66.
- 16 Jordan SC, Cunningham-Rundles C, McEwan R. Utility of intravenous immune globulin in kidney transplantation: efficacy, safety and cost implications. *Am J Transplant*. 2003;3(6):653-64.
- 17 Zhang R. Modern Immunosuppressive therapy in kidney transplantation. *Open Journal of Organ Transplant Surgery*. 2013;3:22-31.
- 18 Glotz D, Antoine C, Julia P, Suberbielle-Boissel C, Boudjeltia S, Fraoui R, Hacen C, Duboust A, Bariety J. Desensitization and subsequent kidney transplantation of patients using intravenous immunoglobulins (IVIg). *Am J Transplant*. 2002;2(8):758-60.
- 19 Jordan SC, Vo A, Bunnapradist S, Toyoda M, Peng A, Puliyaanda D, Kamil E, Tyan D. Intravenous immune globulin treatment inhibits crossmatch positivity and allows for successful transplantation of incompatible organs in living-donor and cadaver recipients. *Transplantation*. 2013;76:631-6.
- 20 Barnett A, Hadjiianastassiou VG, Mamode N. Rituximab in renal transplantation. *Transpl Int*. 2013;26:563-75.
- 21 Zaza G, Tomel Paola, Granata S, Boschiero L, Lupo A. Monoclonal antibody therapy and renal transplantation: focus on adverse effects. *Toxins*. 2014;6:869-91.

- 22 Jordan SC, Tyan D, Stablein D, McIntosh M, Rose S, Vo A, Toyoda M, Davis C, Shapiro R, Adey D, Milliner D, Graff R, Steiner R, Ciancio G, Sahney S, Light J. Evaluation of intravenous immunoglobulin as an agent to lower allosensitization and improve transplantation in highly sensitized adult patients with end-stage renal disease: report of the NIH IGO2 trial. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(12):3256-62.
- 23 Vo A, Lukovsky M, Toyoda M, Wang Jennifer, Reinsmoen N, Lai C, Peng A, Villicana R, Jordan SC. Rituximab and Intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med.* 2008;359(3):242-51.
- 24 Kahwaji J, Jordan SC, Najjar R, Wongsaroj P, Choi J, Peng A, Villicana R, Vo A. Six-year outcomes in broadly HLA-sensitized living donor transplant recipients desensitized with intravenous immunoglobulin and rituximab. *Transpl Int.* 2016;29(12):1276-85.
- 25 Ahmed T, Senzel L. The role of therapeutic apheresis in the treatment of acute antibody mediated rejection. *J Clin Apher.* 2012;27(4):173-7.
- 26 Schwartz J, Winters J, Padmanabhan A, Balogun R, Delaney M, Linenberger M, Williams M, Wu Y, Shaz B. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice – Evidence-based approach from the writing committee of the American Society of Apheresis: the sixth special issue. *J Clin Apher.* 2013;28(3):145-284.
- 27 Montgomery RA, Lonze BE, King KE, Kraus ES, Kucirka LM, Locke JE, Warren DS, Simpkins CE, Dagher NN, Singer AL, Zachary AA, Segev DL. Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N Engl J Med.* 2011;365(4):318-26.

-
- 28 Al-Jedai A, Alsultan M, Almeshari K, Alshaibani K, Elgamal H, Alkortas D, Khurshid F, Altahi M. Hamawi Khaled. Cost analysis of kidney transplantation in highly sensitized recipient compared to intermittent maintenance hemodialysis. *Ann Transplant*. 2012;17(4):8291.
- 29 Vo AA, Petrozzino J, Yeung K, Sinha A, Kahwaji J, Peng A, Villicana R, Mackowiak J, Jordan S. Efficacy, outcomes, and cost-effectiveness of desensitization using IVIG and rituximab. *Transplantation*. 2013;95(6):852-8.
- 30 Jordan SC, Vo AA. Desensitization offers hope to highly HLA-sensitized patients for a longer life expectancy after incompatible kidney transplant. *Am J Kidney Dis*. 2012;59(6):758-60.
- 31 Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Disponível em www.saude.sp.gov.br. Acesso em 18/03/18.
- 32 United Network for Organ Sharing <unos.org>. Acesso em 03 abr. 2018
- 33 Orandi BJ, Luo X, Massie AB, Garonzik-Wang, JM, Lonze BE, Ahmed R, Van Arendonk KJ, Stegall MD, Jordan SC, Oberholzer J, Dunn TB, Ratner LE, Kapur S, Pelletier RP, Roberts JP, Melcher ML, Singh P, Sudan DL, Posner MP, El-Amm JM, Shapiro R, Cooper M, Lipkowitz GS, Rees MA, Marsh CL, Sankari BR, Gerber DA, Nelson PW, Wellen J, Bozorgzadeh A, Gaber AO, Montgomery RA, Segev DL. Survival benefit with kidney transplants from HLA-incompatible live donors. *N Engl J Med*. 2016;374(10):940-50.
- 34 Registro Brasileiro de Transplantes, 2017. Disponível em <www.abto.org.br>. Acesso em 22 out. 2018, 10:00 h.

-
- 35 Malheiro J, Tafulo S, Dias L, Martins LS, Fonseca I, Beirão I, Castro-Henriques A, Cabrita A. Analysis of preformed donor-specific anti-HLA antibodies characteristics for prediction of antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Transpl Immunol*. 2015;32(2):66-71.
- 36 Phelan D, Mohanakumar T, Ramachandran S, Jendrisak MD. Living donor renal transplantation in the presence of donor-specific human leukocyte antigen antibody detected by solid-phase assay. *Hum Immunol*. 2009;70(8):584-8.
- 37 Souza P, Aguirre AR, Bezerra G, Rodrigues H, Agena F, David D, Paula FJ, David Neto E, Castro MC. Graft survival in sensitized and non sensitized patients: role of the combination of donor-specific antibodies and acute rejection. [abstract number: D29]. In: 2016 American Transplant Congress. Boston, MA; June 11-15, 2016. *Am J Transplant*. 2016;16 (suppl 3). Disponível em: <http://atcmeeting.org>
- 38 De Sousa MV, Gonzalez AC, Zollner RL, Mazzali M. Effect of preformed or de novo anti-HLA antibodies on function and graft survival in kidney transplant recipients. *Ann Transplant*. 2018;23:457-66.
- 39 Niederhaus SV, Muth B, Lorentzen DF, Wai P, Pirsch JD, Samaniego-Picota M, Leverson GE, D'alessandro AM, Sollinger HW, Djamali A. Luminex-based desensitization protocols: the University of Wisconsin initial experience. *Transplantation*. 2011;92(1):12-7.
- 40 Kahwaji J, Sinha A, Toyoda M, Ge S, Reinsmoen N, Cao K, Lai CH, Villicana R, Peng A, Jordan S, Vo A. Infectious complications in kidney-transplant recipients desensitized with rituximab and intravenous immunoglobulin. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(12):2894-900.

- 41 Leroy F, Sechet A, AbouAyache R, Thierry A, Belmouaz S, Desport E, Bauwens M, Bridoux F, Touchard G. Cytomegalovirus prophylaxis with intravenous polyvalent immunoglobulin in high-risk renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2006;38(7):2324-6.

Anexos

ANEXO I

Classificação de Banff 2009

- Rejeição aguda/ativa mediada por anticorpos:

1. Evidência morfológica de lesão tecidual aguda, como: Tipo 1 - Necrose tubular aguda; ou

Tipo 2 - Neutrófilos e/ou células mononucleares em capilares peritubulares e/ou glomérulos, e/ou trombose capilar; ou ainda,

Tipo 3 - Arterite intimal /necrose fibrinóide / arterite intramural ou transmural

2. Evidência imunopatológica de ação de anticorpos, como:

- Deposição de C4d; e/ou,

- Deposição de imunoglobulinas nos capilares peritubulares (raro); ou ainda,

- Deposição de imunoglobulinas e complemento nas áreas de necrose arterial fibrinóide.

3. Evidência sorológica de anticorpos circulantes, como:

- Presença de anticorpos dirigidos contra antígenos HLA do doador; ou,

- Presença de anticorpos contra outros antígenos endoteliais do doador (anticorpos não-HLA).

Rejeição crônica/ativa mediada por anticorpos:

1. Evidência morfológica de lesão tecidual, como:

- Duplicação (“duplo contorno”) da membrana basal glomerular; e/ou,

- Multilaminação da membrana basal glomerular; e/ou,

- Fibrose intersticial/atrofia tubular com ou sem perda de capilares peritubulares;

- Fibrose intimal em artérias sem duplicação da camada elástica;

2. Evidência imunopatológica de ação de anticorpos, como:

- Deposição difusa de C4d em capilares peritubulares;

3. Evidência sorológica de anticorpos circulantes, como:

- Presença de anticorpos dirigidos contra antígenos HLA do doador.

O esquema atualmente proposto para rejeição crônica preconiza a exclusão de doenças crônicas específicas, tais como: hipertensão, nefrotoxicidade por inibidor de calcineurina, obstrução crônica, infecções bacterianas e virais.

ANEXO II

cPRA CL I e II, DSA, número de pulsos de IVIG e provas cruzadas antes e após dessensibilização dos pacientes que realizaram transplante

PRÉ DS									
	CLI	CLII	DSA-MFI	ΣMFI	CMT (AGH-CDC)	CMB (CDC-CM)	FACST	FACSB	IVIG
1	96	94	N/R	N/A	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	6
2	96	100	N/R	N/A	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	3
3	86	75	N/R	N/A	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	3
4	96	83	N/R	N/A	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	4
5	95	94	N/R	N/A	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	11
6	36	0	N/R	N/A	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	3
7	25	50	N/R	N/A	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	6
8	100	8	N/R	N/A	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	4
9	98	97	A1	N/A	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	6
10	89	51	B7	8160	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	9
11	93	83	B62-1844 DR17- 3452	5296	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	5
12	64	0	B27	4593	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	9
13	47	94	A24-1565 DR13- 10337	11902	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	6
14	69	68	DR4-10499	10499	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	3
15	85	83	B38-3463	3463	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	12
16	67	77	A24-2168 B27-3642 B44-17053	22863	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	16
17	87	97	B27-1666 DR8-1792	3458	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	13
18	67	20	B51-1587	1587	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	5
19	63	93	DR16-5522	5522	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	5
20	76	0	B15-4472	4472	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	7
21	56	94	A2012089 DR13	12089	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	12
22	35	97	DR10-10253 DQ-13000	23253	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	3

PÓS DS								
	CLI	CLII	DSA-MFI	ΣMFI	CMT (AGH-CDC)	CMB (CDC-CM)	FACST	FACSB
1	54	83	N/R	N/A	Negativo	Negativo	Negativo	Limítrofe
2	86	100	N/R	N/A	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
3	89	75	N/R	N/A	Negativo	Negativo	Limítrofe	Limítrofe
4	75	58	N/R	N/A	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
5	89	91	N/R	N/A	Negativo	Negativo	Limítrofe	Limítrofe
6	14	0	N/R	N/A	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
7	21	41	N/R	N/A	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
8	89	0	N/R	N/A	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
9	100	97	A1-1853	1853	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
10	58	25	B7- 8160	8160	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
11	42	12	B62- 1211 DR17- 932	2144	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
12	52	3	B27- 4673	4673	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
13	12	27	A24- 941 DR13- 5579	6520	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14	51	89	DR4-1301	1301	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
15	69	83	B38- 3768	3768	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
16	73	74	A24-1500 B44-1500 B27-1500	4500	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
17	5	63	B27- 1051 DR8-924	1976	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
18	67	20	B51-0	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
19	56	94	DR16-0	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
20	73	0	B15-0	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
21	55	94	A2- 8617 DR13- 3820	12437	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
22	72	99	DR10- 2659 DQ5- 12228	14887	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Obs.:

1. * exames com resultados indisponíveis;
2. Limítrofe = fraco positivo (até 20 canais)
3. N/R: Não realizado
4. N/A: Não se aplica

ANEXO III

Parecer Consubstanciado do CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do efeito da dessensibilização com Imunoglobulina polivalente sobre o perfil de anticorpos anti-HLA e a incidência de transplantação de pacientes hipersensibilizados candidatos a transplante renal com doador vivo.

Pesquisador: maria cristina ribeiro de castro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 55327616.4.0000.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.629.259

Apresentação do Projeto:

Estudo retrospectivo unicêntrico baseado em dados de prontuários HC sobre Avaliação do efeito da dessensibilização com Imunoglobulina polivalente sobre o perfil de anticorpos anti-HLA e a incidência de transplantação de pacientes hipersensibilizados candidatos a transplante renal com doador vivo.

Objetivo da Pesquisa:

Este estudo propõe uma análise retrospectiva daqueles pacientes em diálise que transplantaram com doador vivo após protocolo de dessensibilização (apresentavam prova cruzada positiva - presença de anticorpos específicos anti-HLA no doador contra o receptor).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não existe risco para a população estudada por ser um estudo retrospectivo baseado na análise de prontuários.

Benefícios: Ampliar a possibilidade de transplante dos paciente com doador vivo mas que possuem prova cruzada positiva.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 1.629.259

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo é muito relevante com aplicabilidade clínica imediata em pacientes de alto risco imunossuprimidos sensibilizados para Tx renal. O grupo tem recursos econômicos, humanos e técnicos para desenvolver a pesquisa e publicá-la. É um estudo retrospectivo com dados de prontuário onde serão analisados dados de pacientes sensibilizados que compareceram ao serviço de Transplante Renal dos Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo com um potencial doador vivo contra quem apresentavam prova cruzada positiva e foram submetidos ao protocolo de dessensibilização da instituição que consiste em terapia com IVIG na dose de 2g/kg por mês e monitorização trimestral do número, do título de anticorpos anti-HLA e da prova cruzada. Serão analisados os dados dos pacientes submetidos a tal protocolo no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2013.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados o PB relatório, o projeto de pesquisa, Anuência do Laboratório de Imunologia do In Cor, Folha de rosto assinada, Justificativa de ausência de TCLE, cadastro on line e Carta de esclarecimento a CAPPesq de correção de preenchimento de formulário na plataforma que declarava que haveria utilização de médicos e funcionários HC como participantes da pesquisa e retenção de material de pesquisa. Esses dados incorretos foram corrigidos.

Recomendações:

Aprovado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 1.629.259

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_680610.pdf	10/06/2016 16:04:44		Aceito
Outros	Carta_esclarecimento_parecer.pdf	10/06/2016 15:49:02	maria cristina ribeiro de castro	Aceito
Outros	Cadastro_Luiz0001.pdf	09/06/2016 17:31:09	maria cristina ribeiro de castro	Aceito
Outros	Justificativa_ausencia_TCLE_Proj_Luiz.pdf	19/04/2016 11:28:44	maria cristina ribeiro de castro	Aceito
Folha de Rosto	FR_Luiz.pdf	19/04/2016 11:27:48	maria cristina ribeiro de castro	Aceito
Outros	Carta_de_Participacao_INCOR.pdf	19/04/2016 10:21:01	maria cristina ribeiro de castro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TESE_26_02_16.doc	19/04/2016 10:19:47	maria cristina ribeiro de castro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Avaliação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 08 de Julho de 2016

Assinado por:

Joel Faintuch
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO IV

Aprovação pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CAIXA POSTAL 3671
SÃO PAULO - BRASIL

DIRETORIA CLÍNICA**Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa****APROVAÇÃO**

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 25.07.02, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº 503/02, intitulado: "Desimunização e transplante de potenciais receptores de enxerto renal de doador vivo com prova cruzada positiva através do uso de imunoglobulinas polivalentes", apresentado pelo Departamento de CLÍNICA MÉDICA, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Pesquisador(a) Responsável: **DRA. MARIA CRISTINA RIBEIRO DE CASTRO**

CAPPesq, 25 de Julho de 2002.

PROF. DR. JORGE KALIL FILHO
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

OBSERVAÇÃO: Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c").