

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PNEUMOLÓGICAS

TESE DE DOUTORADO

ANTICORPO ANTI-AT1R EM TRANSPLANTE PULMONAR E SEU POTENCIAL

RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE BRONQUIOLITE OBLITERANTE

SPENCER MARCANTONIO CAMARGO

PORTO ALEGRE

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PNEUMOLÓGICAS

ANTICORPO ANTI-AT1R EM TRANSPLANTE PULMONAR E SEU POTENCIAL

RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE BRONQUIOLITE OBLITERANTE

SPENCER MARCANTONIO CAMARGO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para a obtenção do título de Doutor.

Orientador(a): Prof. Dr. CRISTIANO ANDRADE

PORTO ALEGRE

2012

camargo, spencer

ANTICORPO ANTI-AT1R EM TRANSPLANTE PULMONAR E SEU
POTENCIAL RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE
BRONQUIOLITE OBLITERANTE / spencer camargo. --
2012.

61 f.

Orientador: cristiano andrade.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Pneumológicas, Porto Alegre, BR-
RS, 2012.

1. transplante pulmonar. 2. rejeição crônica. 3.
anticorpo anti-at1r. I. andrade, cristiano, orient.
II. Título.

DEDICATÓRIA

Ao Dr. Luiz Augusto Guazzelli (in memoriam), a primeira figura de jaleco branco de que tenho lembrança.

A todas as pessoas que acreditaram, em tempos difíceis, que o transplante pulmonar poderia dar certo, e lutaram muito para isto.

Às famílias dos doadores que, em momento de intensa dor, tem forças para enxergar muito mais distante do que podemos imaginar e, quando olhamos no fundo dos seus olhos, vemos dor, mas também esperança.

Aos familiares que doaram parte de seus órgãos em vida, e me permitiram compartilhar um momento de amor e de doação sublime.

Por fim, a toda a equipe médica e assistencial do Pavilhão Pereira Filho e do Hospital Dom Vicente Scherer, com a qual tenho convivido intensamente nos últimos anos, e que fazem do dia a dia um exercício de aprendizado.

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac: Anticorpo

AT1R: Anti-receptor de tipo 1 da angiotensina II

BO: Bronquiolite obliterante

BOV: Bronquiolite obliterante viral

CMV: Citomegalovírus

CPH: Complexo principal de Histocompatibilidade

DSA: Doador específico

DPE: Disfunção primária do enxerto

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

FiO₂: Fração Inspirada de oxigênio

HLA: Antígenos leucocitários humanos

IC: Intervalo de confiança

ISHLT: International Society of Heart and Lung Transplantation

LAM: Linfangioliomatose

PEEP: Positive end-expiratory pressure

RA: Rejeição aguda

RR: Risco relativo

SOB: Síndrome da bronquiolite obliterante

VEF₁: Volume expiratório forçado no primeiro segundo

LISTA DE FIGURAS-REVISÃO DA LITERATURA

Figura 1. Sistema Renina Angiotensina (RAS), demonstrando a cascata de formação da Angiotensina II a partir do Angiotensinogênio. O AT1 é o receptor na célula para a Angiotensina II.....25

LISTA DE FIGURAS-ARTIGO CIENTÍFICO

Figura 1. Distribuição de frequência dos anticorpos anti-AT1R, anti-HLA e anti-MICA nos momentos pré e pós-transplante, considerando o seu padrão de conversão.....50

Figura 2. Tempo de sobrevida mediano para o desenvolvimento de BO após o transplante pulmonar.....52

Figura 3. Tempo de sobrevida mediano para o desenvolvimento de BO comparando os pacientes que nunca apresentaram o anticorpo anti-AT1R e aqueles que apresentaram o anticorpo pré-formado ou desenvolveram após o transplante.....53

LISTA DE QUADROS - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Quadro 1. Critérios para definição de doador ideal.....	7
Quadro 2. Classificação do grau de severidade da disfunção primária do enxerto.	11
Quadro 3. Classificação da Síndrome da Bronquiolite Obliterante	14

LISTA DE TABELAS- ARTIGO CIENTÍFICO

Tabela 1. Características demográficas e clínicas dos receptores de transplante pulmonar com mais de 6 meses de acompanhamento ambulatorial alocados entre Setembro/1999 e Abril/2007 (N=50).....	49
Tabela 2. Proporção de pacientes livres de BO após o transplante pulmonar.....	51
Tabela 3. Proporção de pacientes com anticorpo anti-HLA e/ou anti-MICA pré-transplante, infecção ativa por CMV e/ou RA e sua significância em modelo de regressão de Cox, comparando os pacientes que nunca apresentaram anti-AT1R e aqueles que tiveram algum tipo de conversão após o transplante pulmonar.....	54

RESUMO

Introdução: A presença de anticorpos (Ac) anti-HLA específicos contra o doador representam um potencial risco para o desenvolvimento de rejeição do enxerto pulmonar. Apesar de existirem evidências sobre a importância de anticorpos anti-receptor de tipo 1 da angiotensina II (AT1R) para a sobrevivência do enxerto a longo prazo em transplante de rim e coração, não existe qualquer informação da sua frequência e relação com bronquiolite obliterante no transplante de pulmão.

Objetivos: Descrever a frequência e o impacto da presença de Ac anti-AT1R para o desenvolvimento de bronquiolite obliterante (BO) após o transplante pulmonar.

Pacientes e Métodos: Foram alocados 50 pacientes com mais de seis meses de transplante, em acompanhamento ambulatorial. Uma alíquota de soro pré-transplante e outra colhida no momento da alocação foram testadas para a presença de Ac anti-HLA e anti-MICA em plataforma Luminex® e anti-AT1R (AT1R) por ELISA. O acompanhamento médio foi de 78,3 meses. Foram avaliadas as características e desfechos clínicos, bem como o tempo de sobrevivência para o desenvolvimento de BO. Os pacientes que nunca desenvolveram anti-AT1R foram comparados com aqueles que tinham o Ac pré-formado ou que o desenvolveram após o transplante. Foi utilizada a curva de sobrevivência de Kaplan-Meier, reverse censoring method, log-rank e regressão de Cox (anti-HLA, anti-MICA, infecção por CMV e rejeição aguda). Os resultados foram descritos como risco relativo (RR) e intervalos de confiança (IC) de 95%, sendo significativos os valores de $P < 0,05$.

Resultados: A prevalência de anti-AT1R pré-formado foi de 22% e de novo 15,3%. Não se demonstrou associação entre anti-AT1R e anti-HLA pré-formados ($P=0,279$; 1,1 [0,8 a 1,7]), com tendência de associação com anti-HLA positivo pós transplante ($P=0,063$; 1,3 [0,9 a 1,8]). Cinquenta por cento (4/8) dos receptores por bronquiolite viral tinham anti-AT1R pré-formado, comparados a 16,7% (7/42) dos transplantados por outra patologia ($P=0,037$; 1,7 [0,8 a 3,4]), sem associação com anti-HLA ($P=0,716$) e anti-MICA ($P=0,659$) pré-formados. Nenhum paciente com linfangioliomatose (LAM) apresentou anti-AT1R pré

ou pós-transplante. O RR para o desenvolvimento de BO comparando-se pacientes com anti-AT1R àqueles que nunca manifestaram o Ac foi de 1,50 (0,72 a 3,14) [P = 0,282].

Conclusão: Há uma tendência mostrando a associação entre a presença de anti-AT1R e o desenvolvimento de BO após o transplante pulmonar. A doença pulmonar de base parece ter implicação no desenvolvimento de anti-AT1R, sendo a que bronquiolite obliterante viral mostra maior risco para seu aparecimento enquanto a LAM risco mínimo.

Palavras-chave: Transplante pulmonar; bronquiolite obliterante; anti-receptor de tipo 1 da angiotensina II, anticorpo anti-AT1R

ABSTRACT

Introduction: The presence of specific anti-HLA antibodies (Ab) against organ donors represent a potential risk for the development of rejection in lung grafts. There are consistent evidences about the importance of the anti-receptor for angiotensin II type 1 (AT1R) for long-term graft survival in kidney and heart transplantation. However, there is no information about AT1R in lung transplantation and its relationship with bronchiolitis obliterans.

Objectives: The aim of this study was to describe the frequency and impact of the presence of anti-Ac AT1R for the development of bronchiolitis obliterans (BO) after lung transplantation.

Patients and Methods: We studied fifty patients after six months of transplantation. All patients had an aliquot of pre-transplantation serum and other sample at the time of their selection for the study. The serum was tested for the presence of Ab anti-HLA and anti-MICA in a Luminex platform® and anti-AT1R (AT1R) by ELISA,. The mean followup was 78.3 months. We analyzed the clinical characteristics and outcomes and also survival time for the development of BO. We compared the patients who never developed anti-AT1R with those who had the preformed antibody or developed it after transplantation. We applied the survival curve of Kaplan-Meier, reverse censoring method, log-rank and Cox regression (anti-HLA anti-MICA, CMV infection and acute rejection). The results were described as relative risk (RR) and confidence intervals (CI) of 95%, with significant P values <0.05.

Results: The prevalence of preformed anti-AT1R was 22% and 15,3% *de novo*. There were no association between preformed anti-AT1R and anti-HLA (P = 0.279, 1.1 [0.8 to 1.7]), with a trend of association with positive anti-HLA post transplantation (P = 0.063; 1.3 [0.9 to 1.8]). Fifty percent (4/8) of the receptors for viral bronchiolitis (BOV) had preformed anti-AT1R, compared to 16.7% (7/42) of the all transplanted patientes for other diseases (P = 0.037, 1.7 [0.8 to 3.4]). There were no association with preformed anti-HLA (P = 0.716) and anti-MICA (P = 0.659). No patients with lymphangiomyomatosis (LAM) had anti-

AT1R pre-or post-transplant. The relative risk for developing BO when comparing patients with anti-AT1R to those who never expressed antibodies was 1.50 (0.72 to 3.14) [P = 0.282].

Conclusion: There is a trend showing the association between the presence of anti-AT1R and developing BO after lung transplantation. The underlying lung disease seems to have implications in developing anti-AT1R, and viral bronchiolitis obliterans that shows higher risk for onset while LAM minimum risk.

Keywords: lung transplantation, obliterative bronchiolitis, angiotensin type 1 receptor antibody

SUMÁRIO

Dedicatória.....	IV
Lista de abreviaturas	V
Lista de figuras.....	VI
Lista de Tabelas	VII
Resumo	VIII
Abstract	X
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1.HISTÓRICO DO TRANSPLANTE PULMONAR	2
2.2.ASPECTOS TÉCNICOS DO TRANSPLANTE PULMONAR	3
2.2.1.Seleção doReceptor	3
2.2.2.Principais Indicações.....	4
2.2.3.Contra-Indicações	5
2.2.4.Seleção do Doador	6
2.2.5.Tipos de Transplante Pulmonar	7
2.3.IMUNOSSUPRESSÃO NO TRANSPLANTE PULMONAR	8
2.3.1Terapia de Indução	9
2.3.2Terapia de Manutenção	9
2.4.DISFUNÇÃO PRIMÁRIA DO ENXERTO	10
2.5.REJEIÇÃO AGUDA.....	11

	2.6.REJEIÇÃO CRÔNICA-BRONQUIOLITE OBLITERANTE (BO)	12
	2.6.1.Patogênese da Bronquiolite Obliterante	14
	2.6.2.Fatores Aloimunes Relacionados a Bronquiolite Obliterante	14
	2.6.3.Autoimunidade e Bronquiolite Obliterante	15
	2.6.4.Diagnóstico e Manejo da Bronquiolite Obliterante	16
	2.7.IMUNOGENÉTICA DOS TRANSPLANTES	
	2.7.1.Sistema ABO	16
	2.7.2.Complexo Principal de Histocompatibilidade	17
	2.7.3.Sensibilização contra Antígenos HLA	19
	2.7.4.Importância de Anticorpos Anti-HLA em transplante	20
	2.7.5.Antígenos secundários de histocompatibilidade (MHC Class I Chain-related)23	
	2.8.ANTICORPOS ANTI-ANGIOTENSINA II(ANTI-AT1R)	24
3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DA LITERATURA ...	27
4	JUSTIFICATIVA	36
5	OBJETIVOS	36
6	ARTIGO CIENTÍFICO	37
7	CONCLUSÕES.....	60
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61

1- INTRODUÇÃO

O histórico inicial do transplante pulmonar na década de sessenta demonstrou uma grande dificuldade, principalmente com o manejo da anastomose brônquica, fazendo com que poucos grupos insistissem na realização do transplante. ^(1,2,3)

A chegada da ciclosporina, permitindo um melhor controle do evento da rejeição, e a compreensão dos problemas de isquemia envolvidos na cicatrização brônquica, permitiu, no início dos anos oitenta, a retomada dos transplantes. ⁽⁴⁾ Desde então, a prática vem crescendo em todo o mundo, com avanços nas técnicas de anastomose e tratamento das complicações brônquicas, ^(5,6) novos métodos de preservação do enxerto, ⁽⁷⁾ identificação dos fatores de risco para o transplante ⁽⁸⁾ e melhor entendimento e controle imunológico. ^(9,10) Isto tem propiciado uma melhora importante nos resultados do transplante em curto prazo. Entretanto, os resultados de sobrevida em cinco anos pouco mudaram, sendo relatos, em geral, como menores de 50%. A maior causa de perda tardia do enxerto é a ocorrência de rejeição crônica. ⁽¹¹⁾

A rejeição crônica é uma doença de etiologia multifatorial, que não só resulta em menor tempo de vida como também afeta a qualidade de vida dos pacientes transplantados com diagnóstico clínico de Síndrome da Bronquiólite Obliterante (SBO). ^(12,13)

Entre os fatores relacionados à ocorrência de BO, as causas imunológicas parecem ter um papel preponderante, e, é fato, a grande propensão imunogênica do pulmão, formado basicamente de endotélio vascular e alveolar, que o torna particularmente sensível à agressão humoral e celular.

Diversos centros demonstraram que pacientes que desenvolvem anticorpos HLA após o transplante tem maior propensão ao desenvolvimento de BO (jaramillo et al), com achados sustentando que a presença de aloanticorpos estimula o desenvolvimento de fibrose de vias aéreas. ^(14, 15,16)

No transplante renal, o reconhecimento de episódios de rejeição em transplantados HLA idênticos tem desafiado as equipes de transplantes de órgãos sólidos a identificar outros anticorpos, que não os do sistema HLA, como responsáveis pelo desencadeamento de respostas imunológicas.

Atualmente, o reconhecimento da ação de autoanticorpos no desencadeamento ou manutenção do dano tecidual tem incentivado mais estudos nesta área. ⁽¹⁷⁾

A melhor compreensão dos eventos desencadeados pelo sistema imunológico bem como o reconhecimento de cada fator envolvido, com suas particularidades, proporcionará, não só o uso de terapias específicas e, talvez, preventivas, como permitirá a personalização da terapia imune para aqueles pacientes com maior risco, havendo, em contrapartida, a possibilidade de usar menor imunossupressão em pacientes com menor risco.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTÓRICO DO TRANSPLANTE PULMONAR.

Os estudos experimentais com transplante pulmonar em animais datam da década de 1950, quando foram realizados os primeiros transplantes pulmonares em cães ⁽¹⁸⁾. Em 1963, foi realizado o primeiro transplante de pulmão em humanos, pelo dr James Hardy, em Jackson, Mississippi ⁽¹⁾. O receptor era um paciente portador de neoplasia pulmonar e a imunossupressão utilizada foi uma associação de prednisona, azatioprina e cobaltoterapia do mediastino. Nas duas décadas seguintes, alguns poucos transplantes foram realizados em diferentes partes do mundo, com resultados ruins, principalmente por complicações relacionadas à anastomose brônquica. ⁽³⁾

Alguns anos se passaram e, no início da década de 80, após a introdução da ciclosporina, reiniciaram-se os transplantes pulmonares, realizados agora, pioneiramente, pelo grupo de transplante de Toronto. ⁽¹⁹⁾ Desde, então, inúmeros centros vêm realizando o transplante pulmonar em todo o mundo, com cerca de 3000 transplantes realizados anualmente. ⁽²⁰⁾

No Brasil e na América Latina, a Santa Casa de Porto Alegre, foi pioneira no transplante pulmonar, com o primeiro transplante sendo realizado em 1989 e tendo, até hoje, mais de 400 transplantes pulmonares realizados.

No ano de 1999, outro fato marcante do grupo de transplantes da Santa Casa de Porto Alegre foi à realização do primeiro transplante pulmonar com doadores vivos. ^(21, 22,23) Esta técnica, que havia sido descrita e vinha sendo utilizada pelo dr Starnes, na Califórnia, ⁽²⁴⁾ tinha como objetivo suprir a falta de doadores, o que levava a uma mortalidade alta nos pacientes em lista de espera por transplante, principalmente naqueles pacientes pediátricos, nos quais, devido ao pequeno tamanho e a escassez de doadores pediátricos, sucumbiam com o avanço da doença.

Hoje, entre os mais de 400 transplantes pulmonares realizados na Santa Casa de Porto Alegre, 28 deles foram feitos com o uso de doadores vivos.

Desde então, inúmeras mudanças ocorreram, com avanço nas técnicas de preservação do órgão, melhor manejo intraoperatório, melhora nos cuidados intensivos, melhor entendimento do processo imunológico envolvido no transplante e surgimento de novos medicamentos para imunossupressão. Isto tudo, levou a resultados de sobrevida em um ano em torno de 80 a 90%. Entretanto, apesar destes avanços, um grande número de pacientes tem a função pulmonar comprometida pela ocorrência de Bronquiolite Obliterativa, que é a forma de manifestação da rejeição crônica no pulmão. ⁽²⁵⁾

Os estudos que buscam identificar as causas da BO descrevem uma doença de origem multifatorial, na qual o fator imunológico parece desempenhar um papel fundamental.

2.2 ASPECTOS TÉCNICOS DO TRANSPLANTE PULMONAR

2.2.1 Seleção do Receptor

O candidato a transplante pulmonar é o paciente que apresenta uma doença pulmonar avançada, para a qual se esgotaram as demais possibilidades terapêuticas, mas que esteja ainda com uma boa condição clínica que o permita tolerar um procedimento de grande porte como o transplante pulmonar.

Idealmente, o candidato a um transplante bilateral deve ter até 60 anos e para o unilateral até 65 anos, em classe funcional III ou IV da New York Heart Association (NYHA) e vir sendo acompanhado ambulatorialmente. ⁽²⁶⁾ Antes de ser incluído em lista de espera para o transplante deve passar por uma avaliação multidisciplinar, composta de médicos, fisioterapeutas, nutricionistas, psiquiatras e assistentes sociais. Somente depois de preenchida toda a avaliação, e sendo afastadas quaisquer condições negativas, o paciente é incluído na lista de espera.

A definição por um transplante unilateral ou bilateral vai depender da doença de base que indicou o transplante, idade do receptor e disponibilidade de órgãos. Inicialmente, havia uma preferência pela realização de transplante unilateral, fato que vem mudando nos últimos anos, ⁽²⁷⁾ com publicações mostrando uma melhor sobrevida nos pacientes submetidos ao transplante bilateral.

2.2.2 Principais indicações.

Segundo dados da Sociedade Internacional de Transplante de Coração e Pulmão (ISHLT), são realizados anualmente cerca de 3000 transplantes, ⁽²⁷⁾ sendo as principais indicações o Enfisema, a Fibrose Pulmonar Idiopática e a Fibrose Cística.

Interessante observar que, embora os registros internacionais mostrem um grande número de transplantes realizados por Fibrose Cística, no Brasil, esta ainda não é uma indicação frequente. Nos últimos cinco anos, com cerca de 150 transplantes realizados, apenas 10 (6%) foram realizados por Fibrose Cística no Serviço de Transplantes da Santa Casa.

O momento para inclusão do paciente em lista é orientado seguindo-se as recomendações da ISHLT específicas para cada doença: ⁽²⁸⁾

Enfisema

Índice de BODE 7 a 10 e pelo menos um dos seguintes dados:

1. Hospitalizações por exacerbação da hipercapnia($PCO_2 > 50$ mmhg)
2. Hipertensão pulmonar ou cor pulmonale
3. $VEF_1 < 20\%$ e Difusão de monóxido de carbono(DLCO) $< 20\%$

Fibrose Pulmonar Intersticial

Evidencia radiológica ou histológica de pneumonite intersticial usual e mais um dos seguintes:

1. DLCO <39% do previsto.
2. Queda >10% na CVF durante seguimento de 6 meses.
3. Dessaturação abaixo de 88% no teste caminhada 6 minutos.
4. Tomografia mostrando faveolamento.

Fibrose Cística

1. VEF₁ ≤30% ou em declínio recente.
2. Aumento da frequência das internações por infecção.
3. Hipercapnia.
4. Hipertensão pulmonar.

Hipertensão Arterial Pulmonar

1. Classe funcional III ou IV (NYHA) mesmo com terapia eficaz.
2. Teste de caminhada dos 6 minutos com menor de 350mts ou em piora.
3. Falha na terapêutica com epoprostenol.
4. Índice cardíaco <2L/min/m².
5. Pressão no átrio direito >15mmHg.

Linfangioliomiose

1. Hipoxemia em repouso.
2. Função pulmonar comprometida com baixa tolerância ao exercício.

2.2.3 Contraindicações ao Transplante Pulmonar

As contraindicações ao transplante pulmonar dividem-se em absolutas e relativas.

As contraindicações absolutas são as seguintes:

- Piora clínica severa.
- Infecção ativa extra-pulmonar.

- Disfunção de outro órgão, como rins e fígado, que serão alvos da terapia imunossupressora (importante salientar que, em alguns casos, é possível a realização de transplante combinado).
- Neoplasia tratada a menos de dois anos (exceto tumores escamoso e basocelular de pele)
- Infecção por HIV
- Hepatite C com dano hepático comprovado por biópsia
- Coronariopatia intratável.
- Tabagismo ativo.
- Ausência de estrutura social ou familiar para apoio.

As contra-indicações relativas, como osteoporose, cirurgias torácicas prévias, colonizações por germes resistentes, paciente em ventilação mecânica e outras, são bastante variáveis de acordo com a experiência dos diferentes grupos relatados na literatura.⁽²⁹⁾

2.2.4 Seleção do Doador

O doador para o transplante pulmonar é, na maioria das vezes, o doador em morte encefálica. Ao contrário do transplante renal, onde mais de 50% dos transplantes são realizados com doadores vivos relacionados, no transplante pulmonar a utilização de doadores vivos é uma exceção, com poucos centros no mundo.^(23,30)

A definição do doador em morte encefálica deve seguir as recomendações do Conselho Federal de Medicina.⁽³¹⁾

Um dos problemas enfrentados pelas equipes de transplante pulmonar é o baixo aproveitamento dos pulmões de doadores em morte encefálica. Enquanto cerca de 80 a 90% dos doadores tem seus rins e fígados aproveitados, apenas cerca de 20% dos pulmões de doadores cadavéricos são viáveis para o transplante pulmonar, sendo, a principal causa de negativa, a presença de infecção ou função pulmonar abaixo do limite considerado adequado.

A utilização do doador segue algumas características como idade, história de tabagismo, história de asma ou outra doença pulmonar, radiograma de tórax, tempo de intubação, presença de secreção nas vias aéreas inferiores e parâmetros gasométricos. Estes

dados permitem classificar o doador como ideal ou doador estendido. A utilização de doadores estendidos vem sendo utilizada como uma forma de suprir a necessidade de órgãos e evitar a morte de pacientes em lista de espera, mas deve ser vista com critérios, já que alguns estudos relatam uma maior mortalidade quando da utilização destes doadores.⁽³²⁾

Quadro 1. Critérios para definição de doador ideal (J Heart lung transp 2000)

-Idade <55 anos

-PaO₂>300mmHg quando realizada com PEEP 5 cm H₂O e FiO₂ 100%

-Tabagismo < 20 anos-maço

-Radiograma de tórax normal

-Ausência de secreção purulenta na Broncoscopia

-Ausência de trauma torácico ou cirurgia torácica prévia

2.2.5 Tipos de Transplante

A escolha pelo tipo de transplante que vai ser realizado tem, como principal fator, a doença de base do receptor.

Pacientes que tem doenças pulmonares consideradas supurativas tem, obrigatoriamente, que ser submetidos a transplante bilateral, pois a permanência de um foco potencial de infecção em um paciente que será submetido à terapia imunossupressora, é catastrófica.

Os relatos recentes demonstram que ocorreu uma mudança significativa na escolha do tipo de transplante realizado nos pacientes portadores de doenças não supurativas. Houve um aumento na realização do transplante bilateral em pacientes com enfisema e fibrose pulmonar idiopática, com a avaliação dos resultados sugerindo uma melhor sobrevida neste grupo.⁽²⁷⁾ A crítica a esta prática é que as populações submetidas aos diferentes transplantes apresentam peculiaridades próprias e, em locais onde a escassez de órgãos ainda é significativa, a realização do transplante unilateral permite utilizar um doador para dois receptores diferentes, procurando diminuir, com isto, a mortalidade em lista de espera.

Alternativa que vem ganhando espaço recentemente é a utilização de lobos de doadores falecidos para o transplante de receptores pequenos, que não encontram doadores de tamanho compatível. Esta técnica permite ainda, em alguns casos, a utilização de cada lobo do pulmão esquerdo em lados diferentes, para um transplante bilateral, permitindo, com isto, a realização de um segundo transplante unilateral com o pulmão direito em outro receptor.⁽³³⁾

Já a utilização de doadores vivos para a realização de transplante pulmonar foi descrito, inicialmente, por Starnes, na Califórnia,⁽²⁴⁾ e buscava encontrar uma solução para a realização de transplante em receptores pediátricos que não encontravam um par compatível entre os doadores falecidos. O grupo da Santa Casa foi o primeiro a realizar esta modalidade de transplante fora dos Estados Unidos e, atualmente, conta com 28 transplantes com doadores vivos.^(21,22,23) A mudança no sistema de alocação de órgãos que ocorreu nos EUA, em 2005, com a introdução do Lung Allocation Score (LAS) favoreceu a distribuição dos órgãos para os receptores pediátricos e, desta forma, o número de transplantes com doadores vivos diminuiu muito naquele país.

Por sua vez, o transplante cárdio-pulmonar, é reservado para os poucos casos em que há um dano cardíaco irreversível.

2.3 IMUNOSSUPRESSÃO NO TRANSPLANTE PULMONAR

O grande avanço nos resultados do transplante de órgãos sólidos conseguido pelas competentes drogas imunossupressoras no transplante de rins, fígado e coração, não se refletiu no transplante pulmonar, que continua apresentando altos índices de rejeição aguda e crônica.

Uma das dificuldades encontradas na adequação da imunossupressão é o fato do pulmão ser um órgão altamente imunogênico. A condição impar do pulmão, de estar em contato direto com o meio ambiente, o torna suscetível a diversas infecções, e, pelo mesmo motivo, o leva a apresentar uma atividade imunológica intensa.

Desta forma, os altos níveis de imunossupressão necessários, acabam favorecendo a ocorrência de infecção, que por sua vez, é a maior causa de mortalidade no primeiro ano.⁽³⁴⁾

Como não existem grandes trials a respeito da imunossupressão no pulmão, a maioria dos dados utilizados diz respeito à imunossupressão nos demais órgãos sólidos, variando bastante entre os centros de acordo como a experiência adquirida.

2.3.1 Terapia de indução

Terapia realizada no transcorrer do transplante e no período de pós-operatório imediato. Tem por objetivo impedir a ocorrência de rejeição aguda pelo contato com as células do doador e também permitir a introdução gradual das demais drogas imunossupressoras e, assim, aliviar o seu potencial nefrotóxico.

No transplante renal é uma pratica largamente utilizada, com dados mostrando melhora na sobrevida do enxerto.⁽³⁵⁾

Segundo dados da ISHLT, a terapia de indução é utilizada em 62% dos pacientes transplantados⁽²⁷⁾ e não há dados que suportem fortemente a sua utilização, já que esta associada a um alto custo e a ocorrência de efeitos colaterais importantes, como infecções e doenças linfoproliferativas.

No grupo de transplantes pulmonares da Santa Casa não é utilizada terapia de indução.

2.3.2 Terapia de manutenção

Os pacientes transplantados pulmonares são tratados com terapia tripla de imunossupressão, na qual consta um inibidor da calcineurina, um antimetabólito e um corticóide. Embora os esquemas contemple um agente de cada classe, não há uma definição formal de qual o melhor esquema.

A terapia de manutenção é iniciada logo após o transplante e tem como princípios básicos:

1. Manter um grau de imunossupressão considera ótima no período de pós-operatório precoce, devendo ser mantida nestes termos nos primeiros 6 meses, quando

poderá haver uma diminuição das doses buscando a melhor combinação de imunossupressão com menor toxicidade.

2. A utilização de uma combinação de drogas de diferentes classes em doses mais baixas é preferível a níveis muito altos, e tóxicos, de uma única droga. A combinação de medicamentos tem se mostrado a melhor terapia para a rejeição do enxerto

3. Procurar evitar níveis muito elevados de imunossupressão, o que aumenta o risco de doenças infecciosas e neoplásicas.

Devido a grande interferência de diversos medicamentos no metabolismo dos imunossupressores, as doses devem ser monitoradas quando o paciente estiver em terapia com outros medicamentos.

A definição sobre qual o melhor agente de cada grupo a ser utilizado no transplante pulmonar ainda é um desafio.

Embora não estatisticamente significativos, estudos comparando a Ciclosporina ou o Tacrolimus, em combinação com a Azatioprina, favorecem o uso do Tacrolimus, mostrando menor ocorrência de rejeição aguda e crônica. ⁽³⁶⁾ Quando a combinação do inibidor da calcineurina é com Micofenolato ao invés de Azatioprina, o benefício do Tacrolimus é menos evidente. ⁽³⁷⁾

Os últimos dados da revisão da ISHLT mostram que há um maior número de grupos iniciando a terapia com Tacrolimus. ⁽²⁷⁾

Em relação ao uso de Micofenolato ou Azatioprina, os dados da literatura ainda não sustentam vantagem de um sobre o outro.

2.4 DISFUNÇÃO PRIMÁRIA DO ENXERTO

A disfunção primária do enxerto (DPE) se caracteriza por um dano do pulmão transplantado que ocorre nas primeiras 72 h após o transplante provocando piora na troca gasosa, edema pulmonar e infiltrado difuso do parênquima pulmonar evidenciado no radiograma de tórax.

Mesmo com a melhora nas técnicas de preservação pulmonar, continua sendo uma causa importante de morbimortalidade precoce, afetando cerca de 20% dos pacientes transplantados. ⁽³⁸⁾

A DPE é classificada de acordo com o grau de severidade de I a III ⁽¹⁶⁾

Quadro 2. Classificação do grau de severidade da disfunção primária do enxerto.

Grau	PaO ₂ /FiO ₂	Infiltrado Radiológico compatível com edema
0	>300	Ausente
1	>300	Presente
2	200-300	Presente
3	<200	Presente

Para o diagnóstico de disfunção primária do enxerto é necessário que outras causas possíveis de infiltrado pulmonar como a sobrecarga hídrica, infecção, estenose da veia pulmonar, disfunção cardíaca ou rejeição sejam afastadas.

A mortalidade em 30 dias dos pacientes que apresentam disfunção primária do enxerto é muito acima dos que não a apresentam 63% x 9%. O mesmo ocorre com o tempo de ventilação e tempo de hospitalização. ⁽³⁸⁾

O tratamento da DPE é de suporte, e engloba medidas ventilatórias, restrição na infusão hídrica e uso de drogas vasoativas. Casos severos podem necessitar do uso de membrana de oxigenação extracorpórea.

2.5 REJEIÇÃO AGUDA

As características peculiares do pulmão o tornam o órgão mais afetado pela rejeição aguda (RA), seja em número de episódios ou na severidade dos mesmos.

Mais da metade dos pacientes transplantados pulmonares apresentarão pelo menor 1 episódio de rejeição aguda no primeiro ano. ⁽³⁴⁾

A lesão aguda causada pela isquemia e reperfusão do enxerto, somada a frequente presença de agentes infecciosos, parece estimular de forma marcante o sistema imunológico, levando a um reconhecimento de antígenos do doador por linfócitos T, que acabam estimulando mais linfócitos a agirem sobre o enxerto, provocando destruição tecidual.

A histologia da rejeição aguda revela um infiltrado mononuclear perivascular, com infiltração do endotélio. Nos graus mais acentuados, esta infiltração linfocítica pode se estender para a parede alveolar. O grau da RA varia de A0, quando não há rejeição identificada até A4, que corresponde à rejeição aguda severa. ⁽³⁹⁾

Pode ocorrer o comprometimento linfocítico da submucosa dos bronquíolos com extensão da lesão para a membrana basal, com classificação do quadro de rejeição como bronquiolite linfocítica, que pode ocorrer isolada ou concomitante a inflamação vascular.

A rejeição aguda ocorre com maior frequência nos primeiros seis meses do transplante, e o paciente pode estar completamente assintomático ou apresentar sintomas como tosse, dispnéia ou febre. O aspecto radiológico da RA é de um infiltrado perihilar, podendo estar acompanhado de derrame pleural.

A ocorrência de rejeição aguda deve entrar no diagnóstico diferencial sempre que o paciente transplantado pulmonar apresentar mudança no quadro clínico. No diagnóstico diferencial, é sempre importante afastar a presença de complicações na anastomose e infecções. A realização de broncoscopia para inspeção das vias aéreas e colheita de material é sempre pertinente. Na ausência de outra causa evidente, a broncoscopia serve também para a realização de biópsia transbrônquica, que pode ser útil no diagnóstico da RA.

2.6 REJEIÇÃO CRÔNICA-BRONQUIOLITE OBLITERANTE

Desde o início da experiência com os transplantes pulmonares, a melhora nos métodos de preservação do enxerto, melhora no manejo da isquemia de reperfusão e maior controle das infecções, tem melhorado os resultados precoces, com uma sobrevida no

primeiro ano de cerca de 70-80%. Apesar disto, a sobrevida em longo prazo continua sendo ameaçada pela ocorrência de bronquiolite obliterante (BO), a forma de apresentação da rejeição crônica no enxerto pulmonar. ⁽⁴⁰⁾

A BO foi descrita inicialmente pela universidade de Stanford na experiência com transplante de coração e pulmão. Pacientes que apresentaram declínio no VEF₁ foram biopsiados, evidenciando obliteração das pequenas vias aéreas, o que acabava levando a infecções recorrentes. ⁽²⁵⁾

Além da manifestação brônquica, que é a forma mais comum, a rejeição crônica pode ocorrer também de uma forma vascular, levando a aterosclerose da vascularização pulmonar. ⁽³⁷⁾

A rejeição crônica (BO) acomete cerca de 50% dos pacientes que sobrevivem cinco anos ao transplante pulmonar. ⁽²⁵⁾ É um processo progressivo, que não responde a medidas clínicas de imunossupressão e corresponde à cerca de 30% da mortalidade após o terceiro ano de transplante, sendo especialmente importante naqueles que desenvolvem BO nos primeiros dois anos do transplante. ⁽⁴¹⁾

O diagnóstico de BO é baseado na histologia, mas, como a comprovação é muitas vezes difícil na biópsia transbronquica, em 1993, um comitê da Sociedade Internacional de Transplante de Coração de Pulmão (ISHLT), propôs a definição clínica para a bronquiolite obliterante, que é denominada de Síndrome da Bronquiolite Obliterante(SOB), utilizando medidas da função pulmonar para o estabelecimento do diagnóstico, como o volume expiratório forçado no primeiro segundo(VEF1) e o/ou o fluxo expiratório forçado entre 25%-75%(FEF₂₅₋₇₅). ⁽⁴⁰⁾

Pacientes com VEF₁ estável após o transplante tem BOS estagio 0.

Pacientes que apresentam declínio são classificados em graus variáveis de 1 a 3.

Quadro3. Classificação da Síndrome da Bronquiolite Obliterante(Estenne M et AL, 2002)

Classificação de 1993	Classificação de 2002	
BOS 0 VEF ₁ 80% ou mais do valor basal	VEF ₁ >90% do basal e FEF ₂₅₋₇₅ >75% do basal	BOS 0
	VEF ₁ 81-90% do valor basal e/ou FEF ₂₅₋₇₅ ≤75% do basal	BOS 0p
BOS 1 VEF ₁ 66-80% do valor basal	VEF ₁ 66-80% do valor basal	BOS 1
BOS 2 VEF ₁ 51-65% do valor basal	VEF ₁ 51-65% do valor basal	BOS 2
BOS 3 VEF ₁ <50% do valor basal	VEF ₁ <50% do valor basal	BOS 3

BOS=Síndrome da Bronquiolite Obliterante

2.6.1 Patogênese da Bronquiolite Obliterante

A histopatologia da BO sugere que a injúria e a inflamação das células epiteliais e do tecido subepitelial das pequenas vias aéreas, leva a uma fibroproliferação intensa, provocando redução e obstrução destas pequenas vias aéreas. ⁽²⁵⁾

Além do conceito de injúria e reparo, a lesão da via aérea parece estar também relacionada a fatores imunológicos aloimunes, com ação independente ou combinada a outros mecanismos.

Desta forma, o conceito atual sugere que a BO é o caminho final de vários insultos independentes ou combinados.

A ocorrência incomum desta síndrome em pacientes não transplantados sugere que o mecanismo imune tem um papel fundamental.

2.6.2 Fatores Aloimunes e BO

A rejeição aguda (RA), que se caracteriza por um infiltrado peribronquico ou perivascular de linfócitos, tem sido implicada como um possível agente relacionado à ocorrência de BO, embora, muitos pacientes que desenvolvem BO não tenham apresentado episódios de RA e pacientes tratados para inúmeros episódios de RA não desenvolvam BO. ⁽²⁵⁾

Pacientes que apresentam episódios intensos de RA (grau 3 ou 4), e que são refratários ao tratamento, podem ter redução permanente da função, e progressivo desenvolvimento de BO em um curto intervalo de tempo, demonstrando que a rejeição aguda pode levar diretamente ao desenvolvimento de fibrose.⁽⁴²⁾

A demonstração da expressão de antígenos HLA classe II pelas células ciliadas epiteliais dos brônquios e sua regulação aumentada na ocorrência de BO evidenciam a importância da aloreatividade na gênese da BO.

Já ficou demonstrada, também, a expressão de linfócitos recuperados no lavado broncoalveolar de transplantados contra antígenos específicos classe I do doador.⁽⁴³⁾

Atualmente, trabalhos de diversos centros transplantadores sugerem que o desenvolvimento de anticorpos HLA após o transplante está relacionado com a ocorrência de BO e piora na sobrevida.^(14, 15, 16)

A ação de anticorpos não HLA provocando lesão no epitélio brônquico e na microvascularização da parede brônquica já está descrito entre receptores de transplantes pulmonares.^(14, 44, 45, 46) Foi demonstrado por Jaramillo et al, que a identificação de anticorpos não HLA de novo após o transplante pulmonar, com ação contra antígenos das células epiteliais dos brônquios, precede o aparecimento de BO. É interessante observar a descrição de que a ligação destes anticorpos contra antígenos leva a proliferação celular e aumento nas citocinas que estimulam a fibrose.

Estes dados suportam que, embora não seja corrente a investigação de tais anticorpos, sua descrição sugere que a resposta humoral na BO vai muito além das ações do tradicional sistema HLA.

2.6.3 Autoimunidade e Bronquiólite Obliterante

Uma área da imunidade que vem ganhando espaço e despertando interesse é a da autoimunidade. A ocorrência de rejeição alogênica ou a ocorrência de lesão tecidual desencadeada por fatores não imunológicos, como infecção ou lesões por isquemia, podem expor antígenos que estimulem o sistema de defesa e levem a uma resposta autoimune, que perpetua a lesão, mesmo na ausência de estímulo alogênico.⁽¹⁷⁾

2.6.4 Diagnóstico e manejo da Bronquiolite Obliterante

A BO é uma doença progressiva, para a qual não existe terapia eficaz. A troca ou aumento dos imunossupressores é a maneira de controlar a evolução da doença, mas, só é eficaz na fase de proliferação inflamatória. Após a instalação da fibrose, a evolução é, em geral, desfavorável. Pacientes que apresentam diagnóstico de BO, mas preservam uma boa condição clínica, sem comprometimento importante de outros órgãos, podem ser avaliados para o retransplante pulmonar. ⁽⁴⁷⁾

2.7 IMUNOGENÉTICA DOS TRANSPLANTES

Todas as estratégias envolvidas na decisão de levar ou não um determinado par doador-receptor a transplante baseiam-se em resultados estatísticos que determinam o grau de risco de um determinado transplante. Desse modo, sempre deve se considerar os riscos individualmente associados: a condição clínica do receptor, o grau de urgência do transplante, o tipo de doador e a história prévia de imunização contra antígenos do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) com sua confirmação laboratorial.

Do ponto de vista imunológico, três aspectos devem ser considerados imediatamente antes do transplante: a compatibilidade ABO, o grau de compatibilidade imunogenética (CPH) e a eventual presença de anticorpos pré-formados dirigidos contra moléculas do CPH (inespecíficos e/ou específicos contra o seu potencial doador).

2.7.1 Sistema ABO

A descrição dos anticorpos naturais anti-grupo sanguíneo ABO, responsáveis pelas reações transfusionais entre grupos sanguíneos incompatíveis, foram descritos na década de 40. Devido à presença destes anticorpos naturais circulantes, a transgressão à barreira ABO na realização de um transplante pode desencadear uma falência imediata do enxerto por rejeição hiperaguda. Desta forma, a regra é seguir as normas de transfusão sanguínea, evitando a incompatibilidade do sistema ABO. Casos excepcionais, em que o transplante

não pode ser retardado e existe incompatibilidade ABO com o doador disponível, um pré-condicionamento do receptor, realizando-se plasmaferese pré e pós-transplante e utilizando-se imunoglobulina humana em altas doses, pode permitir a realização do mesmo; porém, sempre com um risco imunológico extremamente elevado.

2.7.2 Complexo Principal de Histocompatibilidade

Na década de 50, explicando as reações que ocorriam a despeito da compatibilidade ABO, devido à contaminação do concentrado de hemácias transfundidas com leucócitos, houve a demonstração de que leucócitos apresentavam polimorfismo, que estes antígenos polimórficos estavam presentes em todos os tecidos do organismo e induziam uma reatividade específica em indivíduos da mesma espécie geneticamente distintos (aloimunoreatividade). Por terem sido descritos a partir de leucócitos, estes antígenos foram denominados *Human Leukocyte Antigens* (HLA), e a identificação da sua codificação genômica levou à descrição do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH).^(48,49)

As moléculas HLA são codificadas em uma região do braço curto do cromossomo 6, dentro do CPH. São divididas em três classes, duas com especial importância para o transplante porque são expressas na membrana celular – classes I e II. As moléculas HLA de classe I apresentam uma distribuição tissular extensa, sendo expressas na membrana de praticamente todas as células nucleadas. Seus principais loci são conhecidos como A, B e C. Os produtos de classe II têm uma distribuição mais restrita, apenas entre as células que podem funcionar como apresentadoras de antígenos (APC), e seus loci mais importantes são o DR, DQ e DP. As moléculas HLA de classe III são proteínas solúveis, em sua maioria fatores do sistema complemento.

A herança dos genes HLA, codificados no braço curto do cromossomo 6, é realizada em bloco, compreendendo na mesma região loci que codificam moléculas de classe I e outros loci que codificam moléculas de classe II. Este “pacote” de genes, incluindo genes para classe I e para classe II, é denominado “haplótipo”. O padrão de herança do Sistema HLA é mendeliana clássica, e ambos os haplótipos são expressos, ou seja, são codominantes. Deste modo, cada indivíduo herda 2 haplótipos (1 alelo A, 1 alelo B e 1DR herdados da mãe e outro conjunto com estes três alelos herdado do pai). Ambos os

haplótipos são expressos igualmente, de forma que cada célula do descendente apresenta antígenos de superfície de origem materna e paterna simultaneamente.

Outra característica importante deste sistema genético é o seu extremo polimorfismo, hoje com mais de dois mil alelos conhecidos. Isto faz com que haja grande dificuldade de se encontrar um doador na comunidade com identidade genética total ao receptor.

A busca pelo grau máximo possível de compatibilidade entre os antígenos HLA dos pares doador-receptor constitui a mais eficiente abordagem para a profilaxia das rejeições aguda e crônica e maior sobrevida do enxerto em curto e longo prazo. Já no início dos anos 60 foi observado que a sobrevida dos enxertos estava correlacionada com o grau de identidade HLA existente entre doador e receptor. As diferenças nas sobrevidas dos transplantes renais realizados com doadores vivos parentes mostravam que os melhores pares eram os que compartilhavam ambos os cromossomos nº 6 (HLA idênticos), seguidos dos que apresentavam apenas um cromossomo em comum (haploidênticos). Os pares com pior sobrevida eram os que não compartilhavam nenhum alelo (HLA distintos).

Estas observações foram confirmadas com a utilização de órgãos originários de doadores cadáveres, onde o grau de identidade HLA é o fator mais importante para o prognóstico da sobrevida. Um grande número de diferentes combinações de antígenos compatíveis em ambas as classes I (loci A e B) e II (locus DR) é possível. As estatísticas provenientes de registros internacionais de sobrevida de enxertos (UNOS, CTS e Eurotransplante) mostram uma clara hierarquia, ordenando os pares com zero diferenças HLA (0 *mismatches* - "MM") no topo da curva e os pares com 6 diferenças (dois alelos A, dois alelos B e dois alelos DR) na base da curva. As situações intermediárias, entre 1 e 5 MM, ficam estratificadas dentro do intervalo máximo e mínimo, com as mais compatíveis perto do topo e as menos compatíveis próximas da base.

Como em todo enxerto vascularizado, o efeito da compatibilidade HLA na sobrevida do transplante pulmonar é facilmente demonstrável, desde que se tenha um número suficiente de casos para ser analisado estatisticamente. O grande problema para a valorização desta informação na prática do transplante de pulmão, buscando uma melhor alocação do par doador-receptor, reside no fato de que estes pacientes resistem poucos meses na lista de espera, não tendo condições de esperar por seu doador ideal. Esta situação

é propiciada por três aspectos principais: a) a restrita indicação do transplante de pulmão após os importantes avanços na terapia clínica dos portadores de doença pulmonar crônica, estando esta modalidade terapêutica reservada aos casos de muito mau prognóstico e, pela mesma razão, pacientes em condições clínicas globais precárias; b) a inexistência de um dispositivo artificial para a substituição da função pulmonar, a exemplo da diálise para o rim, capaz de manter o paciente até que se encontre um doador com razoável compatibilidade; e c) a impossibilidade de manutenção do órgão em isquemia fria por tempo suficientemente hábil para permitir a tipificação dos genes HLA do doador e do teste direto contra os antígenos do doador antes do seu implante.

2.7.2.1 Sensibilização Contra Antígenos HLA

A aloimunização prévia ao transplante é um fator de risco importante e que deve ser avaliado em todo paciente candidato a receber um enxerto. De uma forma geral, são cinco os principais fatores diretamente relacionados à função e sobrevida do enxerto: a idade do doador, os danos de preservação, fatores relacionados à morte encefálica, características clínicas do receptor e a resposta aloimune. Desses, quatro são fatores não-imunológicos que dependem diretamente de uma boa estratégia de preservação e distribuição dos órgãos captados para transplante. A avaliação imunológica pré-transplante contribui de forma decisiva e muito objetiva para a melhor sobrevida do órgão, prolongando com isso o tempo e a qualidade de vida do receptor.

Três são as principais causas de formação de anticorpos anti-HLA. A primeira, e mais comum, são as gestações. Durante a gravidez é normal que pequenas quantidades de sangue fetal entrem na circulação materna. Como metade dos antígenos fetais é oriundo do pai, a mãe torna-se imunizada contra os antígenos paternos expressos pelo embrião.

A segunda causa são as transfusões sanguíneas, ainda muito comuns em nosso meio. Apesar de os eritrócitos não expressarem antígenos HLA, a contaminação do concentrado de hemácias com pelo menos alguns leucócitos é comum. Desta forma, é usual que pacientes politransfundidos estejam imunizados contra antígenos HLA.

Finalmente, a mais eficiente forma de imunização contra antígenos HLA são os próprios transplantes. É cada vez mais comum em nossas listas de espera a presença de pacientes esperando por seu segundo ou terceiro enxerto. Situações mais dramáticas são

encontradas em pacientes que apresentam combinações dos fatores acima relacionados, passando a desenvolver anticorpos contra diversos antígenos HLA, o que reduz a sua chance de encontrar um potencial doador contra o qual não reaja de forma deletéria. Estes anticorpos geralmente permanecem na circulação por muitos anos.

Uma quarta forma de imunização contra antígenos HLA pode ocorrer após infecções virais. O mecanismo de defesa imune aos vírus pode provocar uma ativação de múltiplos clones de linfócitos B, muitos dos quais são estimulados de forma inespecífica e podem, por acaso, produzir anticorpos anti-HLA. Esta circunstância é relativamente comum, mas estes anticorpos costumam desaparecer da circulação em algumas semanas ou meses. Isto justifica a realização periódica da pesquisa de anticorpos anti-HLA circulantes nos pacientes em lista de espera para transplante, pois embora fugazes, a realização do transplante na vigência de tais anticorpos está contra-indicada.

2.7.2.2 Importância de Anticorpos Anti-HLA em Transplantes

Em 1964, Terasaki e colaboradores descreveram a técnica de microlinfocitotoxicidade dependente de complemento (CDC) para a detecção de anticorpos pré-formados no soro do receptor dirigidos contra os antígenos HLA do doador através de um teste denominado de prova cruzada.⁽⁵⁰⁾ A partir daí, passou-se a não realizar transplantes de rim cuja prova cruzada entre as células do doador e o soro do receptor era positiva imediatamente antes do transplante. Nesse caso, a presença efetiva de anticorpo circulante no soro do candidato a receptor determinava a lise celular ao reagir com os antígenos de membrana próprios do doador e estranhos ao novo hospedeiro.

A importância clínica desta medida é que ela representa a profilaxia da rejeição hiperaguda. Nesta época, rejeição hiperaguda ocorria invariavelmente quando se realizava um transplante com incompatibilidade ABO devido à presença de anticorpos naturais anti-grupo sanguíneo, porém também se observava rejeição hiperaguda em receptor submetido previamente a uma exposição à aloantígenos. O resultado eram enxertos com trombose difusa, isquemia e infarto renal imediatamente após a realização das anastomoses vasculares. Dessa maneira, a prova cruzada constituiu a evidência *in vitro* de que esse fenômeno era mediado por anticorpo e que, portanto, deveria ser evitado.^(9,51)

Vencido o obstáculo da rejeição hiperaguda, a partir da realização sistemática de prova cruzada pré-transplante, a introdução de novos agentes imunossupressores promoveu um importante aumento na sobrevida do enxerto e redução significativa na incidência de rejeição aguda, especialmente do tipo celular, em todo o mundo. Apesar de durante muito tempo pouco se conhecer sobre aquilo que estava sendo tratado com as novas drogas que surgiam, seu desenvolvimento e a prática da sua utilização muito contribuíram para o conhecimento dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia da rejeição ao aloenxerto. ⁽⁵²⁾

A última década foi marcada pela importância da identificação de anticorpos anti-HLA pré-formados em baixos títulos, ou seja, que escapavam à detecção pela prova cruzada convencional por CDC, associadas ao desenvolvimento de rejeição humoral (mediada por anticorpos) levando a uma menor sobrevida do enxerto. Este mesmo efeito foi demonstrado em transplantes de coração, pulmão e pâncreas.

O pulmão é um órgão particularmente sensível à rejeição hiperaguda. A apresentação clínica é a perda imediata, usualmente medida em horas, do enxerto, sem achados característicos que possam distinguir o evento humoral da falha primária do enxerto causada por endotoxemia ou dano grave de isquemia-reperfusão. Por ser um órgão extremamente sensível à isquemia fria, os receptores de transplante pulmonar não são submetidos a uma avaliação com prova cruzada imediatamente antes do transplante, sendo avaliados periodicamente para a presença de aloanticorpos anti-HLA através de teste de reatividade contra painel (PRA) enquanto aguardam pelo doador. Muitos centros realizam a prova cruzada, embora não aguardem seu resultado para a decisão de realizar ou não o transplante. Neste caso, o resultado da prova cruzada é valorizado como informação prognóstica auxiliar na escolha do esquema imunossupressor e no acompanhamento pós-transplante.

É relativamente recente a demonstração de que até mesmo baixos títulos de anticorpos anti-HLA, não detectados em testes menos sensíveis utilizados na maioria dos centros de transplante, são deletérios para a evolução do transplante. Em transplante de rim, pacientes pré-sensibilizados que recebem o transplante na vigência de baixos títulos de anticorpos anti-HLA detectados somente em prova cruzada por citometria de fluxo (50 vezes mais sensível do que CDC) apresentam creatinina mais elevada ao final do primeiro ano. Além disso, estes pacientes também possuem risco para perda do enxerto e óbito ao

final do primeiro ano significativamente maior do que pacientes que transplantam na mesma condição, porém com prova cruzada negativa por citometria. Da mesma forma, pacientes que desenvolvem ou simplesmente mantêm a síntese de aloanticorpos ao longo do período pós-transplante também estão associados a desfechos clínicos desfavoráveis, independente do órgão transplantado. ^(53,54)

No transplante pulmonar, a presença de anticorpos anti-HLA específicos, pré-formados ou surgidos após o transplante, tem sido relatada em pacientes com rejeições agudas de alto grau ou refratárias ao tratamento com corticosteroides. Até mesmo a presença de baixos títulos de anticorpos anti-HLA, detectados somente por tecnologia mais sensível, como a citometria de fluxo, são deletérios para o transplante pulmonar, podendo causar inclusive rejeição hiperaguda. ⁽⁵⁵⁾

A presença de anticorpo anti-HLA após o transplante pulmonar pode ser observada em até 11% dos pacientes submetidos ao transplante com PRA negativo. Na maioria dos casos, os anticorpos são dirigidos contra as moléculas HLA de classe II do doador e a sua ocorrência está associada ao desenvolvimento de bronquiolite obliterante e à menor sobrevida do paciente após o transplante. ⁽¹⁵⁾ Existe a demonstração experimental, todavia, de que anticorpos dirigidos contra antígenos HLA de classe I também exercem papel importante na fisiopatogenia da bronquiolite obliterante, induzindo a produção de fatores de crescimento, apoptose e quimiotaxia de células inflamatórias. ⁽⁵⁶⁾

Entre os pacientes com mais de um ano de acompanhamento após o transplante pulmonar, 14% têm evidência de aloanticorpos anti-HLA circulantes. ⁽³⁹⁾ Apesar disso, em transplante pulmonar ainda é pequena a experiência com as técnicas de identificação de depósitos de C4d na biópsia para a confirmação do dano mediado por anticorpo. ^(57, 58,59) Além disso, rejeições agudas com depósitos de C4d, identificando dano mediado por anticorpo, podem ocorrer sem a evidência de anticorpo anti-HLA circulante, ou porque ocorre acúmulo dos aloanticorpos no sítio da lesão ou porque outros alvos antigênicos (não-HLA) estejam induzindo a síntese de anticorpos. De qualquer forma, depósitos de C4d na parede brônquica denunciam o envolvimento de mecanismo humoral nas lesões características de bronquiolite obliterante em pacientes com disfunção crônica do enxerto. ⁽⁴⁴⁾

2.7.3 Antígenos secundários de histocompatibilidade (*MHC Class I Chain-related*)

Os genes que codificam estas proteínas foram descritos independentemente por dois grupos de investigadores em 1994. Estes genes codificam proteínas (antígenos) similares aos produtos de genes HLA de classe I, porém não associadas a beta2-microglobulina. ⁽⁶⁰⁾ Por isso, foram denominadas MIC, uma contração de “MHC Class I Chain-related”. Este sistema está localizado dentro da região do MHC classe I no cromossomo 6.

Estudos de mapeamento já identificaram 7 loci MIC (MICA-MICG), dos quais somente os loci MICA e MICB foram codificados ⁽⁶¹⁾ até o momento. Aproximadamente 60 alelos MICA e 25 alelos MICB foram determinados pelo comitê de nomenclatura HLA em janeiro 2006. Por tratar-se de um sistema muito polimórfico e seus produtos serem expressos por células endoteliais, suspeita-se que possam estar envolvidos em processos de rejeição em transplantes. ⁽⁶⁰⁾

O estudo destes antígenos e de sua importância como indutores de aloanticorpos com potencial efeito deletério ao enxerto foi motivado pela observação de que rejeições agudas e hiperagudas ocorriam também, embora muito menos frequentemente, em transplantes realizados entre pares de doadores e receptores HLA idênticos. A presença de outros antígenos de histocompatibilidade, além do HLA, começou a ser estudada ainda nos anos 70. As primeiras observações comprovaram que o principal sistema envolvido em rejeições era o HLA (corroborando seu próprio nome “complexo principal de histocompatibilidade), mas que existiam outros sistemas antigênicos, também polimórficos chamados “secundários”. ^(62 63,64)

Estudos recentes demonstram que 11 a 20% das perdas de enxertos ocorrem em pacientes que nunca desenvolveram anticorpos anti-HLA, sugerindo que antígenos não-HLA (especialmente MICA) possam estar relacionados a isto. ^(64,65)

Anticorpos anti-MICA podem ser formados a partir de processos imunizantes como gestações e transplantes e são mais frequentemente encontrados em pacientes que perderam um enxerto do que em pacientes com o enxerto funcionando. ⁽⁶⁵⁾ Análises de sobrevivência atuarial de enxerto renal no primeiro e quarto anos também indicam resultados significativos do envolvimento de anticorpos anti-MICA como um fator deletério. ⁽⁶⁶⁾

Estudos preliminares demonstram a importância destes anticorpos também em transplante de fígado e coração. Todavia, até o momento, não se conhece a prevalência de

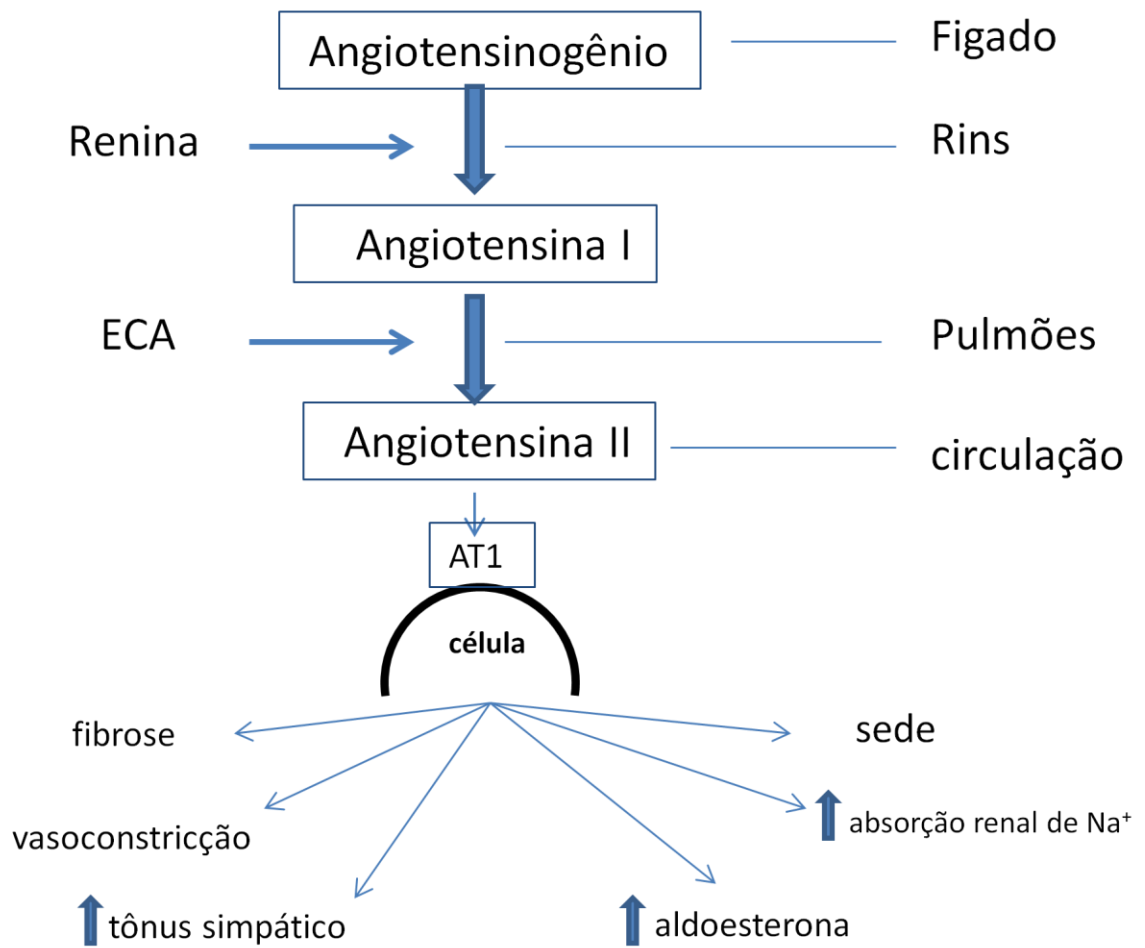
anticorpos dirigidos contra estas moléculas secundárias de histocompatibilidade (anticorpos anti-MICA) em pacientes sendo submetidos a um transplante pulmonar e tampouco a sua relevância clínica.

Existe a possibilidade de que o dano endotelial, expresso imunopatologicamente como uma síndrome de destruição de capilares septais possa também estar relacionado a anticorpos anti-MICA. A demonstração de que este fenômeno é decorrente de mecanismo humoral mediado por anticorpo anti-endotélio,^(44,45,46,58) suporta a hipótese de anticorpos anti-MICA poderiam causar o mesmo tipo de dano, considerando a alta expressão de MICA em endotélio, especialmente em momentos de estresse. Desta forma, assim como anticorpos anti-endotélio, também anticorpos anti-MICA poderiam ter alguma implicação na fisiopatologia da rejeição crônica.

2.8 ANTICORPO ANTI-ANGIOTENSINA II (ANTI-AT1R)

O sistema Renina Angiotensina (RAS) é um sistema enzimático que se inicia com a degradação do antiotensinogênio, derivado do fígado, pela renina circulante, que é secretada no rim, formando a angiotensina I. A ação enzimática da Enzima Conversora de Angiotensina(ECA), por sua vez, tem lugar nos capilares pulmonares, formando a Angiotensina II, que é o principal peptídeo efector do sistema Renina Angiotensina.^(67,68)

Figura 1. Sistema Renina Angiotensina (RAS), demonstrando a cascata de formação da Angiotensina II a partir do Angiotensinogênio. O AT1 é o receptor na célula para a Angiotensina II. Lubel JS et al,2008



Dois receptores para a Angiotensina II foram identificados, o Tipo I (AT1R), que é abundante no adulto, e o Tipo II, presente no feto e no sistema nervoso central de adultos.⁽⁶⁹⁾

O receptor AT1R é responsável por mediar uma série de efeitos no organismo, incluindo vasoconstrição e a hemostasia do sódio. A Angiotensina II também participa do processo inflamatório e cicatricial, através da liberação de citocinas.

A Angiotensina II é somente um membro da família dos peptídeos do Angiotensinogênio, produzido pelo Sistema Renina Angiotensina, que como os aminoácidos, tem um grupo amina e um grupo carboxila livre.

Estudos recentes demonstraram que o sistema Renina Angiotensina age além da parte endócrina, sendo um sistema autônomo nos órgãos, com múltiplas ações, como a proliferação e crescimento celular, apoptose, inflamação e fibrose.⁽⁷⁰⁾

No fígado, a presença do anticorpo Anti-AT1R, está associado à ocorrência de fibrogênese.⁽⁷¹⁾

No transplante renal, um Estudo demonstrou que 16 receptores renais que não apresentavam anticorpos HLA e que apresentavam anti-AT1R positivo, desenvolveram rejeição severa, com demonstração de disfunção endotelial, inflamação e hipertrofia celular.⁽⁷²⁾

No transplante cardíaco, a identificação do anticorpo Anti-AT1R foi relacionada a ocorrência de rejeição celular e mediada por anticorpos, além de levar a microvasculopatia precoce.⁽⁷³⁾

Não há estudos a respeito da presença ou efeito do AT1R no transplante pulmonar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Hardy JD, Webb W, Dalton ML, Walker GR Jr. Lung homotransplantation in man JAMA 1963 Dec 21;186:1065-74.
2. Shaw KM, Burton NA. Experimental Pulmonary Reimplantation .Thorax. 1964 Mar;19:180-4;.
3. Borrie J, Lichter I. Lung transplantation: Technical problems. Thorax. 1964 Sep;19:383-96
4. Cohen DJ, Loertscher R, Rubin MF, Tilney NL, Carpenter CB, Strom TB. Cyclosporine: a new immunosuppressive agent for organ transplantation. Ann Intern Med. 1984 Nov;101(5):667-82
5. van Berkel V, Guthrie TJ, Puri V, Krupnick AS, Kreisel D, Patterson GA, Meyers BF. Impact of anastomotic techniques on airway complications after lung transplant. Ann Thorac Surg. 2011 Jul;92(1):316-20
6. Camargo Jde J, Camargo SM, Machuca TN, Perin FA, Schio SM, Felicetti JC. Surgical maneuvers for the management of bronchial complications in lung transplantation. Eur J Cardiothorac Surg. 2008 Dec;34(6):1206-9
7. Sanchez PG, Bittle GJ, Burdorf L, Pierson RN 3rd, Griffith BP. J Heart Lung Transplant..State of art: clinical ex vivo lung perfusion: rationale, current status, and future directions. 2012 Apr;31(4):339-48.
8. Machuca TN, Schio SM, Camargo SM, Lobato V, Costa CD, Felicetti JC, Moreira JS, Camargo JJ. Prognostic factors in lung transplantation: the Santa Casa de Porto Alegre experience. Transplantation. 2011 Jun 15;91(11):1297-303

9. Neumann J: Avaliação Imunológica Pré-Transplante. In Garcia V., Abbud Filho M, Neumann J, Pestana J. Transplante de Órgãos e Tecidos. 2 Edição, Ed. Farma, São Paulo, 2006. 981p. p.225-237.
- 10 Neumann J, Tarrasconi H, Bortolotto A, Machuca T, Canabarro R, Sporleder H, Fernandes S, Schio S, Costa C, Camargo S, Sanchez L, Camargo J, Perin F, Felicetti J, Michelin T. Acute humoral rejection in a lung recipient: reversion with bortezumib. Transplantation. 2010 Jan 15;89(1):125-6.
11. Hertz M, Aurora P, Benden C, Christie J, Dobbels F, Edwards LB, Kirk R, Kucheryavaya AY, Rahmel AO, Rowe AW, Stehlik J. Scientific Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Introduction to The 2011 Annual Reports. The J of Heart and Lung Transplant. 2011;30:1071-77.
12. Gerbase MW, Socal PM, Spiliopoulos A, Nicod LP, Rochat T. Long-term health-related quality of life and walking capacity of lung recipients with and without bronchiolitis obliterans syndrome. J Heart Lung Transplant 2008;27(8):898-904.
13. van den Berg JW, Geertsma A, van der Bij W, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation and health-related quality of life. Am J Respir Crit Care Med 2000;161(6):1937-1941.
14. Jaramillo A, Smith MA, Phelan D; et al. Development of ELISA-detected anti-HLA antibodies precedes the development of bronchiolitis obliterans syndrome and correlates with progressive decline in pulmonary function after lung transplantation, Transplantation 1999 Apr 27;67(8):1155-61.
15. Palmer SM, Davis RD, Hadjiliadis D; et al. Development of an antibody specific to major histocompatibility antigens detectable by flow cytometry after lung transplant is associated with bronchiolitis obliterans syndrome, Transplantation 2002 Sep 27;74(6):799-804.

16. Smith MA, Sundaresan S, Mohanakumar T; et al. Effect of development of antibodies to HLA and cytomegalovirus mismatch on lung transplantation survival and development of bronchiolitis obliterans syndrome, *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998 116:5 812-820.
17. Sumpter TL, Wilkes DS; Role of autoimmunity in organ allograft rejection: a focus on immunity to type V collagen in the pathogenesis of lung transplant rejection, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004 Jun;286(6):L1129-39.
18. Hardin CA, Kittle CF. Experiences with transplantation of the lung *Science*. 1954 Jan 15; 119(3081):97-8.
19. Cooper JD, Patterson GA, Grossman R, Maurer J Double-lung transplant for advanced chronic obstructive lung disease. *Am Rev Respir Dis*. 1989; 139(2):303.
20. Christie JD, Carby M, Bag R, Corris P, Hertz M, Weill D, Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part II: definition. A consensus statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(10):1454.
21. Camargo JJ. Transplante pulmonar na infancia. *J Pediatr (Rio J)* 2002; 78 (Supl.2): S113-122.
22. Camargo SM, Camargo Jde J, Schio SM, Sánchez LB, Felicetti JC, Moreira Jda S, Andrade CF Complications related to lobectomy in living lobar lung transplant donors. *J Bras Pneumol*. 2008 May;34(5):256-63.
23. Machuca TN, Sidney Filho LA, Schio SM, Camargo SM, Felicetti JC, Camargo JJ. Twelve year survival of the first living-donor pediatric lung transplantation in Brazil *J Pediatr (Rio J)*. 2012 Sep;88(5):413-6.

24. Starnes VA, Bowdish ME, Woo MS, Barbers RG, Schenkel FA, Horn MV, Pessotto R, Sievers EM, Baker CJ, Cohen RG, Bremner RM, Wells WJ, Barr ML. A decade of living lobar lung transplantation: recipient outcomes *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004 Jan; 127(1):114-22.
25. Todd JL, Palmer CM. Bronchiolitis Obliterans Syndrome: The final Frontier for Lung Transplantation. *Chest* 2011; 140(2); 520-508.
26. Kreider MKotloff RM. Selection of candidates for lung transplantation. *Proc Am Thorac Soc.* 2009; 6(1):20-7
27. Christie JD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Aurora P, Dobbels F, Kirk R, Rahmel AO, Stehlik J, Hertz MI The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-seventh official adult lung and heart-lung transplant report--2010. *J Heart Lung Transplant.* 2010;29(10):1104.
28. Nathan SD .Lung transplantation: disease-specific considerations for referral. *Chest.* 2005;127(3):1006.
29. Orens JB, Estenne M, Arcasoy S, Conte JV, Corris P, Egan JJ, Egan T, Keshavjee S, Knoop C, Kotloff R, Martinez FJ, Nathan S, Palmer S, Patterson A, Singer L, Snell G, Studer S, Vachiery JL, Glanville AR, Pulmonary Scientific Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation International guidelines for the selection of lung transplant candidates: 2006 update--a consensus report from the Pulmonary Scientific Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2006; 25(7):745.
30. Date H. Update on living-donor lobar lung transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2011 Oct;16(5):453-7.

31. Diário Oficial da União, SEÇÃO I, Página 18227 RESOLUÇÃO N.º 1.4808 DE AGOSTO DE 1997 Conselho Federal de Medicina Critérios para a Caracterização de Morte Encefálica

32. Bhorade SM, Vigneswaran W, McCabe MA, Garrity ER Liberalization of donor criteria may expand the donor pool without adverse consequence in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2000; 19(12):1199.

33. Deuse T, Sill B, von Samson P, Yildirim Y, Kugler C, Oldigs M, Klose H, Meierling S, Rabe KF, Reichenspurner H. Surgical technique of lower lobe lung transplantation *Ann Thorac Surg.* 2011 Aug;92(2):e39-42.

34. Martinu T, Howell DN, Palmer SM. Acute cellular rejection and humoral sensitization in lung transplant recipients. *Semin Respir Crit Care Med.* 2010;31(2):179-88.

35. Szczech LA, Berlin JÁ, Feldman HI. The effect of antilymphocyte induction therapy on renal allograft survival. A meta-analysis of individual patient-level data. *Ann Intern Med* 1998;128:817–826.

36. Keenan RJ, Konishi H, Kawai A, Paradis IL, Nunley DR, Iacono AT, Hardesty RL, Weyant RJ, Griffith BP Clinical trial of tacrolimus versus cyclosporine in lung transplantation. *Ann Thorac Surg.* 1995;60(3):580.

37. Yousem SA, Berry GJ, Cagle PT, Chamberlain D, Husain AN, Hruban RH, Marchevsky A, Ohori NP, Ritter J, Stewart S, Tazelaar HD Revision of the 1990 working formulation for the classification of pulmonary allograft rejection: Lung Rejection Study Group. *J Heart Lung Transplant.* 1996 Jan;15(1 Pt 1):1-15

38. Christie JD, Kotloff RM, Pochettino A, et al. Clinical risk factors for primary graft failure following lung transplantation. *Chest.* 2003 Oct;124(4):1232-41.

39. Stewart S, Fishbein MC, Snell GI, et al. Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant* 2007 Dec;26(12):1229-42
40. Estenne M, Maurer JR, Boehler A, et al: Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria. *J Heart Lung Transplant* 2002;21:297-310.
41. Finlen Copeland CA, Snyder LD, Zaas DW, Turbyfill WJ, Davis WA, Palmer SM; Survival after bronchiolitis obliterans syndrome among bilateral lung transplant recipients, *Am J Respir Crit Care Med* 2010 Sep 15;182(6):784-9
42. Hertz MI, Jessurun J, King MB. Reproduction of the obliterative bronchiolitis lesion after heterotopic transplantation of mouse airways. *Am J Pathol* 1993;142:1945–1951.
43. Sharples LD, McNeil K, Stewart S, Wallwork J. Risk factors for bronchiolitis obliterans: a systematic review of recent publications. *J Heart Lung Transplant* 2002;21:271-281.
44. Magro CM, Pope-Harman A, Klinger D, Orosz C, Adams P, Waldman J, Knight D, Kelsey M, Ross P Jr. *Am J Transplant* 2003;3(9):1143-54.
- 45-Magro CM, Klinger DM, Adams PW, Oroz CG, Pope-Harman AL, Waldman WJ, Knight D, Ross P Jr. Evidence that humoral allograft rejection in lung transplant patients is not histocompatibility antigen-related. *Am J Transplant* 2003; 3(10):1264-72.
- 46-Magro CM, Ross P Jr, Kelsey M, Waldman WJ, Pope-Harman A. Association of humoral immunity and bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2003; 3(9):1155-66.
47. Brugière O, Thabut G, Castier Y, Mal H, Dauriat G, Marceau A, Lesèche G Lung retransplantation for bronchiolitis obliterans syndrome: long-term follow-up in a series of 15 recipients. *Chest*. 2003;123(6):1832.

- 48.ColombaniJ: HLA Fonctions Immunitaires et Applications Médicales. Ed. John Libbey Eurotext, Paris-França,1993; pg 285.
- 49.DaussetJ & Pla M: HLA – Complexe Majeur d’Histocompatibilité de l’Homme. Ed. Flammarion Médecine-Sciences. Paris-França,1989 pg 414.
- 50.Terasaki PI & McLelland JD: Microdroplet assay of human serum citotoxins. Nature, 1964 Dec 5;204:998-1000.
- 51.Reichel CL & Graudenz M: Patologia da Rejeição In Neumann J, Abbud Filho M & GarciaVD: Transplante de Órgãos e Tecidos, Ed Sarvier,1997; p 34-44.
- 52.Abbud F M, Campos HH & Ramalho HJ: Imunossupressão Química: Mecanismo de Ação e suas Bases Moleculares In Neumann J, Abbud Filho M & Garcia VD: Transplante de Órgãos e Tecidos, Ed Sarvier, p 34-44, 1997.
- 53.Michelon T, Schroeder R, Fagundes I, et al: Relevância clínica de baixos títulos de aloanticorpos preformados detectados em prova cruzada somente por citometria de fluxo no pré-transplante renal. JBT J Bras Transpl 2005; 8:364-371.
- 54.Terasaki PI & Osawa M: Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. Am J Transplant 2004;4(3):438-443.
- 55.Masson E, Stern M, Chabod J, Thevenin C, Gonin F, Rebibou JM, Tiberguien P. Hyperacute rejection after lunf transplantation caused by undetected low-titer anti-HLA antibodies. J Heart Lung Transplant 2007; 26(6):642-5.
- 56.Maruyama T, Jaramillo A, Narayanan K, Higuchi T, Mohanakumar T: Induction of obliterative airway disease by anti-HLA class I antibodies. Am J Transplant 2005; 5(9):2126-34.

57. Ionescu DN, Giritina AL, Zeevi A, Duquesnoy R, Pilewski J, Johnson B, Studer S, McCurry KR, Yousem SA. C4d deposition in lung allografts is associated with circulating anti-HLA alloantibody. *Transpl Immunol* 2005; 15(1): 63-8.

58. Magro CM, Deng A, Pope-Harman A, Waldman WJ, Collins BA, Adams PW, Kelsey Y M, Ross P. Humorally mediated posttransplantation septal capillary injury syndrome as a common form of pulmonary allograft rejection: a hypothesis. *Transplantation* 2002; 74(9):1273-80.

59. Wallace WD, Reed EF, Ross D, Lassman CR, Fishbein MC. C4d staining for pulmonary allograft biopsies: an immunoperoxidase study. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24(10):1565-70.

60. Stastny P. Introduction: MICA/MICB in Innate Immunity, Adaptive Immunity, Autoimmunity, Cancer, and in the immune response to transplants. *Human Immunology* 2006 Mar;67(3):141-4.

61. Collins, R.W.M. Human MHC class I Chain Related (MIC) genes: their biological function and relevance to disease and transplantation. *European Journal of Immunogenetics* 31:105, 2004.

62. Kalil J, Guilherme L, Neumann J, Rosales C, Marom M, Saldanha L, Chocair P, Ianhez L, Sabagga E: Humoral rejection in two HLA identical living related donor kidney transplants. *Transplant Proc* 1989;21(1):711-713.

63. Neumann J; Kalil J; Brasile L; Cerilli J: Immunoblot analysis of sera specific vascular endothelial cells. *Transplant Proc* 1989 21(1):700-701.

64. Park S.H.; Park K.S.; Seo Y.I.; Min,D.J.;Kin W.U.; Kin T.G.; Cho C.S.; Mok J.W.; KIM, H.Y. Association of MICA polymorphism with HLA-B51 and disease severity in Korean patients with Behcet's disease. *J Korean Med Sci* 2002; 17: 366-70

65. Mizutani, K.; Terasaki P.; Shih R.N.J, Pei, R, Ozawa M.; Lee J. Frequency of the MIC Antibody in Rejected Renal Transplant Patients without HLA Antibody. *Human Immunology* 2006, March; Vol 67, Issue 3,, Pages 223–229
66. Terasaki PI & Cai J: Humoral theory of transplantaion: further evidence. *Curr Opin Immunol* 2005;17(5):541-5.
67. Lubel JS, Herath CB, Burrell LM, Angus P. Liver disease and the rennin-angiotensin system: Recent discoveries and clinical implications. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 23(2008)1327-38.
68. Skeggs LT, Lentz KE, Gould AB, Hochstrasser H, Kahn JR. Biochemistry and kinetics of the renin-angiotensin system. *Fed. Proc.* 1967; 26: 42–7.
69. Johnston CI. Franz Volhard Lecture. Renin-angiotensin system: a dual tissue and hormonal system for cardiovascular control. *J. Hypertens. Suppl.* 1992; 10: S13–26.
70. Bataller R, Sancho-Bru P, Ginès P, Lora JM, Al-Garawi A, Solé M, Colmenero J, Nicolás JM, Jiménez W, Weich N, Gutiérrez-Ramos JC, Arroyo V, Rodés. Activated human hepatic stellate cells express the renin-angiotensin system and synthesize angiotensin II. *J. Gastroenterology.* 2003 Jul;125(1):117-25.
71. Bataller R, Brenner DA. Hepatic stellate cells as a target for the treatment of liver fibrosis. *Semin. Liver Dis.* 2011;21:437-51.
72. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007 Jan;292(1):C82-97.
73. Hiemann NE, Meyer R, Wellnhofer E, Schoenemann C, et al. Non-HLA Antibodies Targeting Vascular Receptors Enhance Alloimmune Response and Microvasculopathy After Heart Transplantation. *Transplantation*, 2012;94:00-00.

4. JUSTIFICATIVA

O fato da melhora demonstrada nos resultados em curto prazo do transplante pulmonar não se refletir na sobrevida tardia, principalmente devido à ocorrência de rejeição crônica, evidencia o quanto a compreensão da ação do sistema imunológico é importante para a função do enxerto.

O sistema HLA é o mais amplamente estudado e correlacionado aos efeitos humorais que levam a perda da função do enxerto.

Recentemente, vários estudos em transplantes de órgãos sólidos vêm demonstrando que outros anticorpos, que não do sistema HLA, estão implicados nos episódios de rejeição, entre eles, o anticorpo anti angiotensina tipo I, o anti-AT1R.

Não há relatos, até o momento, da implicância do anti-AT1R no transplante pulmonar. Propõe-se, desta forma, estudar a relação entre a presença do anticorpo anti-AT1R antes e após o transplante, com a ocorrência de rejeição crônica. Os resultados deste estudo fornecerão informações que poderão ser utilizadas não só na compreensão do perfil imunológico do paciente transplantado pulmonar, mas também para o manejo mais personalizado do tratamento imunossupressor.

5. OBJETIVO

Avaliar a presença do anticorpo anti angiotensina II (anti-AT1R) em uma população de pacientes submetidos a transplante pulmonar e descrever sua correlação com a ocorrência de rejeição crônica.

6. ARTIGO CIENTÍFICO

ANTICORPO ANTI-AT1R EM TRANSPLANTE PULMONAR E SEU POTENCIAL RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE BRONQUIOLITE OBLITERANTE

RESUMO

Introdução: A presença de anticorpos (Ac) anti-HLA específicos contra o doador representam um potencial risco para o desenvolvimento de rejeição do enxerto pulmonar. Apesar de existirem evidências sobre a importância de anticorpos anti-receptor de tipo 1 da angiotensina II (AT1R) para a sobrevivência do enxerto a longo prazo em transplante de rim e coração, não existe qualquer informação da sua frequência e relação com bronquiolite obliterante no transplante de pulmão. **Objetivos:** Descrever a frequência e o impacto da presença de Ac anti-AT1R para o desenvolvimento de bronquiolite obliterante (BO) após o transplante pulmonar. **Pacientes e Métodos:** Foram alocados 50 pacientes com mais de seis meses de transplante, em acompanhamento ambulatorial. Uma alíquota de soro pré-transplante e outra colhida no momento da alocação foram testadas para a presença de Ac anti-HLA e anti-MICA em plataforma Luminex® e anti-AT1R (AT1R) por ELISA. O acompanhamento médio foi de 78,3 meses. Foram avaliadas as características e desfechos clínicos, bem como o tempo de sobrevivência para o desenvolvimento de BO. Os pacientes que nunca desenvolveram anti-AT1R foram comparados com aqueles que tinham o Ac preformado ou que o desenvolveram após o transplante. Foi utilizada a curva de sobrevivência de Kaplan-Meier, reverse censoring method, log-rank e regressão de Cox (anti-HLA, anti-MICA, infecção por CMV e rejeição aguda). Os resultados foram descritos como risco relativo (RR) e intervalos de confiança (IC) de 95%, sendo significativos os valores de $P < 0,05$. **Resultados:** A prevalência de anti-AT1R pré-formado foi de 22% e De Novo 15,3%. Não se demonstrou associação entre anti-AT1R e anti-HLA pré-formados

($P=0,279$; $1,1$ [0,8 a 1,7]), com tendência de associação com anti-HLA positivo pós transplante ($P=0,063$; $1,3$ [0,9 a 1,8]). Cinquenta por cento (4/8) dos receptores por bronquiolite viral tinham anti-AT1R pré-formado, comparados a 16,7% (7/42) dos transplantados por outra patologia ($P=0,037$; $1,7$ [0,8 a 3,4]), sem associação com anti-HLA ($P=0,716$) e anti-MICA ($P=0,659$) pré-formados. Nenhum paciente com linfangioliomomatose (LAM) apresentou anti-AT1R pré ou pós-transplante. O RR para o desenvolvimento de BO comparando-se pacientes com anti-AT1R àqueles que nunca manifestaram o Ac foi de 1,50 (0,72 a 3,14) [$P = 0,282$]. **Conclusão:** Houve tendência mostrando a associação entre a presença de anti-AT1R e o desenvolvimento de BO após o transplante pulmonar. A doença pulmonar de base parece ter implicação no desenvolvimento de anti-AT1R, sendo que bronquiolite obliterante viral mostra maior risco para seu aparecimento enquanto a LAM risco mínimo.

Palavras-chave: Transplante pulmonar; bronquiolite obliterante; anti-receptor de tipo 1 da angiotensina II, anticorpo anti-AT1R.

ABSTRACT

Introduction: The presence of specific anti-HLA antibodies (Ab) against organ donors represent a potential risk for the development of rejection in lung grafts. There are consistent evidences about the importance of the anti-receptor for angiotensin II type 1 (AT1R) for long-term graft survival in kidney and heart transplantation. However, there is no information about AT1R in lung transplantation and its relationship with bronchiolitis obliterans.

Objectives: The aim of this study was to describe the frequency and impact of the presence of anti-Ac AT1R for the development of bronchiolitis obliterans (BO) after lung transplantation.

Patients and Methods: We studied fifty patients after six months of transplantation. All patients had an aliquot of pre-transplantation serum and other sample at the time of their selection for the study. The serum was tested for the presence of Ab anti-HLA and anti-MICA in a Luminex platform® and anti-AT1R (AT1R) by ELISA. The mean followup was 78.3 months. We analyzed the clinical characteristics and outcomes and also survival time

for the development of BO. We compared the patients who never developed anti-AT1R with those who had the preformed antibody or developed it after transplantation. We applied the survival curve of Kaplan-Meier, reverse censoring method, log-rank and Cox regression (anti-HLA anti-MICA, CMV infection and acute rejection). The results were described as relative risk (RR) and confidence intervals (CI) of 95%, with significant P values <0.05.

Results: The prevalence of preformed anti-AT1R was 22% and 15,3% *de novo*. There were no association between preformed anti-AT1R and anti-HLA (P = 0.279, 1.1 [0.8 to 1.7]), with a trend of association with positive anti-HLA post transplantation (P = 0.063; 1.3 [0.9 to 1.8]). Fifty percent (4/8) of the receptors for viral bronchiolitis (BOV) had preformed anti-AT1R, compared to 16.7% (7/42) of the all transplanted patientes for other diseases (P = 0.037, 1.7 [0.8 to 3.4]). There were no association with preformed anti-HLA (P = 0.716) and anti-MICA (P = 0.659). No patients with lymphangiomyomatosis (LAM) had anti-AT1R pre-or post-transplant. The relative risk for developing BO when comparing patients with anti-AT1R to those who never expressed antibodies was 1.50 (0.72 to 3.14) [P = 0.282].

Conclusion: There is a trend showing the association between the presence of anti-AT1R and developing BO after lung transplantation. The underlying lung disease seems to have implications in developing anti-AT1R, and viral bronchiolitis obliterans that shows higher risk for onset while LAM minimum risk.

Keywords: lung transplantation, obliterative bronchiolitis, angiotensin type 1 receptor antibody

INTRODUÇÃO

O transplante de pulmão é considerado a tratamento de escolha para pacientes com doenças pulmonares em estado terminal, sem terapia clínica alternativa eficaz. Apesar do progresso alcançado nos últimos anos, com a melhora nas técnicas de preservação pulmonar e avanços importantes nos cuidados intensivos de pós-operatório e imunossupressão, a ocorrência de rejeição crônica, continua comprometendo o resultado em longo prazo do transplante pulmonar. ⁽¹⁾ Do ponto de vista anatomopatológico, a rejeição crônica se manifesta como bronquiolite obliterante (BO) ou, quando clinicamente diagnosticada, é chamada de Síndrome da Bronquiolite Obliterante (SBO). ^(2,3,4)

A BO afeta cerca de 50% dos pacientes transplantados em cinco anos e é a maior causa de morbimortalidade tardia no transplante pulmonar. ⁽⁴⁾ A associação entre fatores imunológicos e a ocorrência de BO é bem evidente, havendo maior chance de desenvolvimento em pacientes que apresentam episódios de rejeição aguda, ⁽⁵⁾ bronquiolite linfocítica e anticorpos anti-HLA doador específico (DSA), formados no pré transplante. ^(6,7)

A importância dos anticorpos anti-HLA DSA para a ocorrência de danos imunológicos que comprometem a sobrevida do enxerto tem sido observada em transplante pulmonar, bem como nos demais transplantes de órgãos sólidos. ^(6,7) Todavia, segundo Terasaki et al, até 38% das perdas do enxerto ocorrem por fatores imunológicos não relacionados ao sistema HLA. ⁽⁸⁾ Desta forma, existem outros anticorpos, chamados não-HLA, que também têm sido implicados na fisiopatologia de eventos imunológicos em transplantes de órgãos sólidos e incluem: anti-MIC A e B (Sistema secundário de histocompatibilidade) ^(9,10) anticorpos reativos contra células endoteliais e/ou monócitos, ⁽¹¹⁾ anticorpos contra músculo liso e anti-nuclear, ⁽¹²⁾ anticorpos anti-Vimentina, anti-Miosina e anti-receptor do tipo I da angiotensina II (anti-AT1R), ^(13,14) entre outros.

Anti-AT1R foi associado a processos de rejeição mediada por anticorpo com comprometimento funcional do enxerto cardíaco e renal. ^(14,15) Não existem dados na literatura sobre anti-AT1R em transplante pulmonar.

Avaliamos a frequência e a importância da presença de anti-AT1R para a ocorrência de BO, comparando os pacientes que nunca apresentaram o anticorpo com aqueles que

transplantaram na vigência de anti-AT1R pré-formado ou o desenvolveram após o transplante.

PACIENTES E MÉTODOS

Seleção e Acompanhamento

De um total de 172 transplantes realizados no período de setembro de 1999 até abril de 2007, foram selecionados 50 receptores com mais de seis meses de transplante pulmonar que estavam em acompanhamento ambulatorial, no período de setembro/2007 a março/2008. Os pacientes colheram duas alíquotas de soro no momento da alocação e foram acompanhados até setembro de 2012. O tempo mediano de acompanhamento até a alocação para o estudo foi de 34(6,5 a 99,3) meses de transplante e, após a alocação foram acompanhados por um período mediano de 50(3,1 a 61,0) meses, até a ocorrência de óbito ou perda do enxerto. Para os propósitos deste estudo, avaliou-se o tempo de acompanhamento até o diagnóstico de BO. Foram excluídos os pacientes que foram a óbito precoce após o transplante, aqueles que não dispunham de informações clínicas e/ou de material biológico armazenado para análise imunológica retrospectiva. A tabela 1 descreve as características gerais dos pacientes alocados para o presente estudo e de seus respectivos doadores.

Transplante Pulmonar e Manejo Clínico

Os critérios para a entrada em lista de transplante obedeceram às recomendações ISHLT 1998.⁽¹⁶⁾ Para o transplante com doador em morte encefálica (42/50; 84%), foram alocados doadores considerados “ideais” e foram observados todos os critérios recomendados pela Central Nacional de Transplantes do Brasil. Na seleção dos doadores para transplante intervivos (8/50; 16%), atendeu-se à obrigatoriedade do parentesco até o quarto grau com o receptor e avaliação por equipe multidisciplinar. Nos casos de doadores menores de 18 anos de idade (2/50), foi solicitada autorização judicial para a realização do transplante.⁽¹⁷⁾

Considerando-se a avaliação imunológica, o transplante era realizado em receptores cujo resultado da avaliação de PRA (*Panel Reactivity Antibodies*) classe I era negativo

(<20% ELISA [LAT-1240, OneLambda, CA, USA] ou <10% citometria de fluxo [FlowPRA Class I Screening Test, FL1-30, One Lambda, CA]). Havendo disponibilidade de material do doador, era realizada prova cruzada contra linfócitos do doador por citotoxicidade dependente de complemento concomitante à cirurgia do transplante, conforme critérios vigentes da *American Society for Histocompatibility and Immunogenetics*, Nenhum transplante intervivos desta série foi submetido à avaliação com prova cruzada. Dois transplantes com doador falecido (2/42, 4,8%) e dois intervivos (2/8, 25,0%) foram realizados sem PRA e sem prova cruzada, baseados unicamente na informação clínica de nunca terem tido evento aloimunizante (transfusão, gestação ou transplante prévio).

Todos os pacientes foram submetidos à imunossupressão tríplice com azatioprina, ciclosporina e prednisona, sem utilização de terapia de indução. Os pacientes foram avaliados quanto à ocorrência de lesão de reperfusão no período pós-operatório pelos critérios estabelecidos pela ISHLT ⁽¹⁸⁾ e foram acompanhados com broncoscopias de vigilância em 1, 3, 6 e 12 meses e sempre quando necessário, por indicação clínica. O diagnóstico de rejeição aguda (RA) foi estabelecido através de biópsia pulmonar ou de acordo com os achados clínicos e radiológicos, e os pacientes tratados com pulsoterapia com metilprednisolona. ⁽¹⁹⁾

Todos os pacientes foram submetidos à profilaxia universal com Ganciclovir nos primeiros 3 meses pós-transplante. Infecção ativa por citomegalovírus (CMV) fora do período de profilaxia, foi definida como a presença de antigenemia pp65 positiva, sendo considerada ≥ 5 células positiva/100.000 granulócitos a indicação de tratamento com ganciclovir intravenoso durante 14 dias ou mais, até negativar o teste viral. ⁽²⁰⁾

Diagnóstico de Rejeição Crônica

O diagnóstico de BO foi definido pelo estudo anatomopatológico de biópsia transbrônquica demonstrando obliteração dos bronquíolos por tecido inflamatório e fibroproliferativo ⁽²⁾ A SBO foi definida como piora clínica sustentada dos pacientes transplantados, demonstrada pela redução do volume expiratório forçado no primeiro minuto (VEF1), maior ou igual a 20% do valor de estabilidade após o transplante, sendo afastadas as causas reversíveis, como complicações brônquicas, rejeição aguda ou

infecção.^(1,2,3) Os exames de função pulmonar eram realizados nas consultas de acompanhamento conforme protocolo do serviço ou quando havia modificação do quadro clínico.⁽²¹⁾ Para os propósitos deste estudo, ambas as condições, BO e SBO, foram designadas como rejeição crônica, sendo genericamente classificadas como BO.

Pesquisa de Anticorpo Anti-AT1R pré e pós-transplante

Anticorpo foi pesquisado em uma alíquota de soro pré-transplante armazenado a -80°C e uma alíquota colhida no momento da alocação para este estudo. Empregou-se kit comercial ELISA (ant-iAT1R, OneLambda, CA, EUA), seguindo as especificações técnicas recomendadas pelo fabricante. Foram considerados positivos os valores de anti-AT1R >17pg/ml.

Pesquisa de outros anticorpos

Os soros pré e pós-transplante dos receptores foram submetidos à pesquisa de anticorpo anti-MICA e anti-HLA, empregando-se plataforma Luminex (LABScreen®MICA Single Antigen Antibody Detection Test – LSMICA001; LABScreen®Single Antigen HLA Class I – Combi – LS1A04; LABScreen® Single Antigen HLA Class II – Antibody Detection Teste – Group 1 – LS2A01, One Lambda, CA, USA). Para fins de análise no presente estudo, foram considerados positivos os soros com anticorpo presente, detectados em intensidade de fluorescência superior aquela determinada pelo fabricante.

A especificidade antidoador para os anticorpos anti-MICA e anti-HLA não foi determinada devido à indisponibilidade de tecido armazenado para a tipificação retrospectiva dos alelos não constantes na avaliação-padrão recomendada pelo Sistema Nacional de Transplantes de Órgãos, que inclui a somente a tipificação dos loci A, B e DR HLA.

Análise Estatística

As variáveis foram descritas como porcentagem, média e desvio-padrão ou mediana. Para as comparações univariadas, empregaram-se teste exato de Fisher e t de Student, conforme o caso. Calculou-se o tempo de sobrevida mediano até o

desenvolvimento de BO e o tempo mediano de acompanhamento (Reverse Censoring Method), empregando-se curva de Kaplan-Meier. A comparação entre os pacientes livres de anti-AT1R pré e pós-transplante com aqueles que tiveram algum tipo de conversão foi realizada através de Log-rank, incluindo-se em modelo de regressão de Cox as seguintes variáveis: anti-HLA pré-transplante, anti-MICA pré-transplante, infecção ativa por CMV e RA. Foram descritos os valores de risco relativo (RR), sendo considerados significativos os valores de $P \leq 0,05$ com intervalo de confiança de 95% (IC95%).

RESULTADOS

Epidemiologia de Anti-AT1R Pré e Pós-Transplante Pulmonar

A prevalência de anticorpo anti-AT1R pré-transplante pulmonar foi de 22,0% (11/50) e a incidência de anticorpo De Novo nesta série foi de 15,3% (6/39). A Figura 1 apresenta a distribuição de freqüência dos anticorpos pesquisados nos momentos pré e pós-transplante, considerando o seu padrão de conversão. Não se demonstrou associação entre a presença de anti-AT1R e anti-HLA pré-formados ($P=0,279$; 1,1[0,8 a 1,7]). Observou-se tendência de associação entre AT1R pré-formado e anti-HLA positivo no pós-transplante ($P=0,063$; 1,3[0,9 a 1,8]). O estudo de associação com anti-MICA foi prejudicado pelo restrito número de pacientes com o anticorpo no pré- ($n=1$) e no pós-transplante ($n=4$).

Não houve associação entre gênero e anti-AT1R pré-formado (feminino 2/20 e masculino 9/30, $P=0,094$; 0,2[0,04 a 1,3]).

Observou-se uma tendência, ainda sem significância estatística, de serem os receptores mais jovens aqueles que mais freqüentemente apresentavam anticorpo anti-AT1R pré-formado (média de idade no transplante: anti-AT1R positivo= $35,8 \pm 23,4$ x negativo= $45,2 \pm 16,8$ anos, respectivamente; $P=0,077$). Este achado está relacionado com a patologia de base, onde bronquiolite de etiologia viral levou os receptores ao transplante pulmonar mais precocemente ($14,9 \pm 10,8$ x $50,3 \pm 14,0$ anos; $P=0,000$). Cinquenta por cento (50%; 4/8) dos receptores com bronquiolite viral eram portadores de anti-AT1R pré-formado, comparados a 16,7% (7/42) dos receptores transplantados por outra patologia ($P=0,037$; 1,7 [0,8 a 3,4]). Esta associação não foi observada pra anti-HLA ($P=0,716$) e

anti-MICA ($P=0,659$) pré-formados. Entre aqueles que persistiram com anti AT1R(2/8) ou desenvolveram De Novo (3/8), todos tiveram diagnóstico de BO, exceto uma paciente que fez anticorpo de novo e perdeu o enxerto por infecção por *micobacterium tuberculosis*. Houve dois pacientes que negativaram AT1R pós-transplante e uma que permaneceu sempre negativa, todos sem diagnóstico de BO no acompanhamento.

Nesta casuística houve sete casos de linfangioliomomatose como indicação do transplante e nenhum deles apresentou anti-AT1R nem no pré e nem no momento pós-transplante analisado, sendo que dois tinham anti-HLA pré-formado e nenhum tinha anti-MICA. As demais patologias não estiveram associadas a um padrão peculiar de distribuição de anti-AT1R pré-transplante, entre elas, Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) ($n=18$; $P=0,495$) e fibrose pulmonar idiopática ($n=12$; $P=0,609$).

Disfunção primária do enxerto foi diagnosticada em 19 dos 43 pacientes que dispunham de registro da informação (44,2%) e não teve associação com a ausência ou presença de anti-AT1R pré-formado (48,5% x 30,0%, respectivamente, $P=0,302$). Infecção por CMV ocorreu em 44% (22/50) e RA em 72%(36/50), ambas as condições sem associação com a presença de anti-AT1R pré-transplante($P=0,563$ e $P=0,951$, respectivamente).

Importância de Anti-AT1R para o Desenvolvimento de BO

O tempo de sobrevida mediano para o desenvolvimento de BO foi de 58,5 meses, e o tempo de acompanhamento mediano foi de 78,3 meses. A Tabela 2 apresenta a proporção de pacientes livres de BO no acompanhamento. A incidência geral de BO nesta série foi de 62% (31/50). A Figura 2 apresenta o gráfico de sobrevida mediano para o desenvolvimento de BO e a figura 3 apresenta a comparação deste gráfico de sobrevida entre pacientes que permaneceram sem anticorpo anti-AT1R e aqueles que apresentavam o anticorpo pré-formado ou desenvolveram após o transplante. A Tabela 3 apresenta a proporção de receptores com anti-HLA e anti-MICA pré-transplante, além de infecção ativa por CMV e RA e sua significância em modelo de regressão de Cox, comparando os pacientes que nunca apresentaram anti-AT1R e aqueles que tiveram algum tipo de conversão após o transplante pulmonar.

DISCUSSÃO

As peculiaridades do transplante pulmonar, especialmente relacionadas à alocação do doador e a pouca tolerância do órgão à isquemia, fizeram com que, historicamente, o emprego rotineiro das ferramentas de avaliação imunológica pré-transplante fossem retardadas. Todavia, o grande avanço no entendimento da aloimunidade específica contra o doador e a possibilidade de diagnóstico mais preciso das rejeições mediadas por anticorpo, vêm permitindo melhores resultados clínicos em transplantes de órgãos sólidos.^(22,23,24,25) Em transplante pulmonar, esse mesmo tipo de abordagem tem sido mais restrito.^(24,25) Recentemente, nosso grupo descreveu o primeiro caso de resgate de rejeição aguda mediada por anticorpo anti-HLA DSA empregando bortezomibe.⁽²⁶⁾ Estes progressos têm sido restritos aos eventos imunológicos precoces, mas não tem evitado o desenvolvimento da rejeição crônica.

Muito recentemente, outros sistemas imunológicos, além do HLA, vêm ganhando importância em transplantes, entre eles, anticorpos anti-AT1R. Em transplante renal, mesmo na ausência de anticorpos anti_HLA e anti-MICA, demonstrou-se o risco do anticorpo anti-AT1R isolado para o desenvolvimento de rejeição mediada por anticorpo.^(27,28,29) Em transplante cardíaco, o anti-AT1R, presente em até 53% dos receptores, foi associado à ocorrência de rejeição celular e humoral, e os pacientes com o anticorpo pré-formado desenvolveram microvasculopatia precoce do enxerto.⁽³⁰⁾ No fígado, demonstrou-se que este anticorpo é capaz de promover ativação das células estreladas hepáticas, com papel importante na fibrogênese do órgão.⁽³¹⁾ Até o momento, não há descrição de estudos explorando a epidemiologia e a importância de anti-AT1R em transplante pulmonar.

O presente estudo demonstra que o pulmão, em cujo leito capilar ocorre a transformação da angiotensina I em angiotensina a II, pela ação da enzima conversora, também é alvo de indução da formação de anticorpo anti-AT1R.⁽³¹⁾ Nesta série, 22% dos receptores tinha anti-AT1R pré formado. Todos estavam recebendo seu primeiro transplante. Infelizmente, a informação sobre transfusões e/ou de gestações prévias é desconhecida, de forma que não se pode confirmar se tais anticorpos eram decorrentes de

autoimunidade ou de evento aloimunizante. É particularmente interessante esta definição visto que, no contexto das doenças pulmonares que levam ao transplante, este órgão é reconhecidamente alvo de vasculites autoimunes e de processos inflamatórios associados a múltiplas infecções repetidas e/ou crônicas, podendo induzir aloanticorpo por reação cruzada. Desta forma, é possível que a doença pulmonar de base que leva à indicação do transplante tenha significado no aparecimento do anticorpo anti-AT1R. Embora ainda não significativo, este estudo sugere que os pacientes submetidos a transplante pulmonar decorrente de bronquiolite viral, apresentam um perfil de risco imunológico peculiar, com alta prevalência de anti-AT1R pré-formado (50%), sem associação com os demais aloanticorpos pesquisados. Particularmente nestes pacientes, a presença de anti-AT1R pré e/ou pós-transplante sugeriu um pior prognóstico para o desenvolvimento de BO, associação que merece ser melhor explorada em casuística maior de receptores transplantados por bronquiolite viral. Por outro lado, linfangioliomatomatose demonstrou perfil imunológico privilegiado, corroborando os bons resultados clínicos descritos após o transplante pulmonar nesta patologia. ⁽³²⁾

Considerando-se o impacto do anticorpo anti-AT1R no risco de desenvolvimento de BO, o presente estudo não permite afastar a hipótese inicial de que este anticorpo, independente dos demais fatores já conhecidos e considerados na análise, possa acelerar a ocorrência do desfecho. Estudos prospectivos, com uma maior casuística, incluindo a determinação da especificidade dos anticorpos anti-HLA e anti-MICA, bem como o nível sérico dos diferentes aloanticorpos em coletas seriadas dos mesmos, podem ratificar as hipóteses derivadas desta análise preliminar.

Concluimos que a prevalência de anti-AT1R pré-formado em receptores de transplante pulmonar estáveis após seis meses de transplante é de 22% e que 15,3% desenvolvem este anticorpo De Novo. É provável que bronquiolite viral seja uma patologia de risco para o desenvolvimento deste anticorpo antes do transplante. E, finalmente, não se pode descartar um efeito de risco determinado pela presença do anticorpo anti-AT1R e o desenvolvimento de BO em pacientes transplantados de pulmão. Estudos prospectivos podem confirmar estes achados.

É possível que a doença pulmonar de base que leva a indicação do transplante tenha significado no aparecimento do anticorpo anti-AT1R sobre o papel da imunidade humoral em transplante pulmonar.

Tabela 1. Características demográficas e clínicas dos receptores de transplante pulmonar com mais de 6 meses de acompanhamento ambulatorial alocados entre Setembro/1999 e Abril/2007 (N=50)

Características Demográficas e Clínicas (N=50)	
Doença de Base, n (%)	
DPOC	18(36)
Fibrose Pulmonar Idiopática	12(24)
Bronquite Viral	8(16)
Linfangioliomomatose	7(14)
Fibrose Cística	2(4)
Pneumoconiose	2(4)
Bronquiectasias	1(2)
Transplante Intervivos, n(%)	8(16)
Idade do Receptor, média\pmDP (mínimo-máximo)	44,6 \pm 18,7 (7 a 72) anos
Idade do Doador em Morte Encefálica, média\pmDP (mínimo-máximo)	30,9 \pm 1,1 (15 a 56) anos
Idade dos Doadores no Transplante Intervivos, média\pmDP (mínimo-máximo)	35,1 \pm 1,1 (14 a 54) anos
Causa Mortis do Doador em Morte Encefálica, n (%)	
Trauma crânio-encefálico	20/42(48%)
Acidente vascular encefálico	17/42 (40%)
Outras	5/42 (12%)
Transplante Bilateral, n (%)	10 (20)
Tempo de Isquemia	195,1 \pm 87,1 (55 a 330) minutos
Transfusão Sanguínea Intra-operatoria, n (%)	16 (32)

DPOC: doença broncopulmonar obstrutiva crônica
DP: desvio-padrão

Figura 1. Distribuição de freqüência dos anticorpos anti-AT1R, anti-HLA e anti-MICA nos momentos pré e pós-transplante, considerando o seu padrão de conversão.

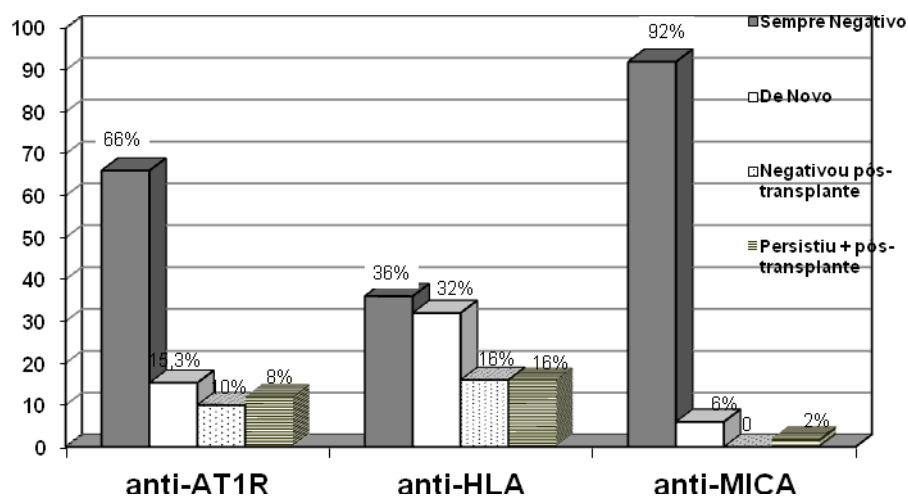


Tabela 2. Proporção de pacientes livres de BO após o transplante pulmonar.

Tempo pós-transplante	Proporção Livre de BO (%)
6 meses	100,0
12 meses	92,0
18 meses	88,0
24 meses	85,9
36 meses	63,0
48 meses	56,5
60 meses	49,3

Figura 2. Tempo de sobrevida mediano para o desenvolvimento de BO após o transplante pulmonar.

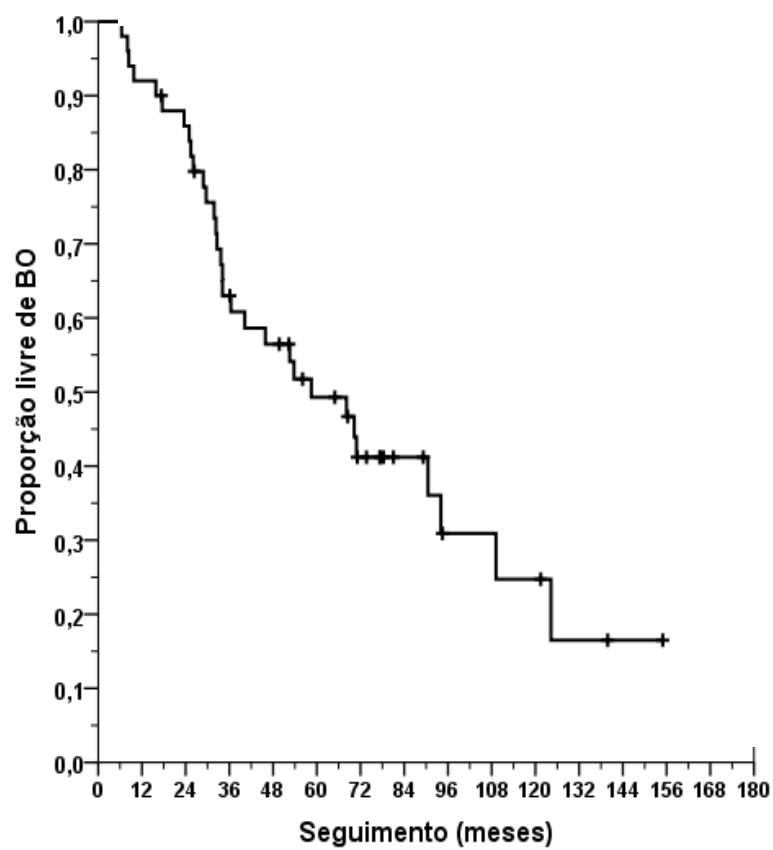


Figura 3. Tempo de sobrevida mediano para o desenvolvimento de BO comparando os pacientes que nunca apresentaram o anticorpo anti-AT1R e aqueles que apresentaram o anticorpo pré-formado ou desenvolveram após o transplante.

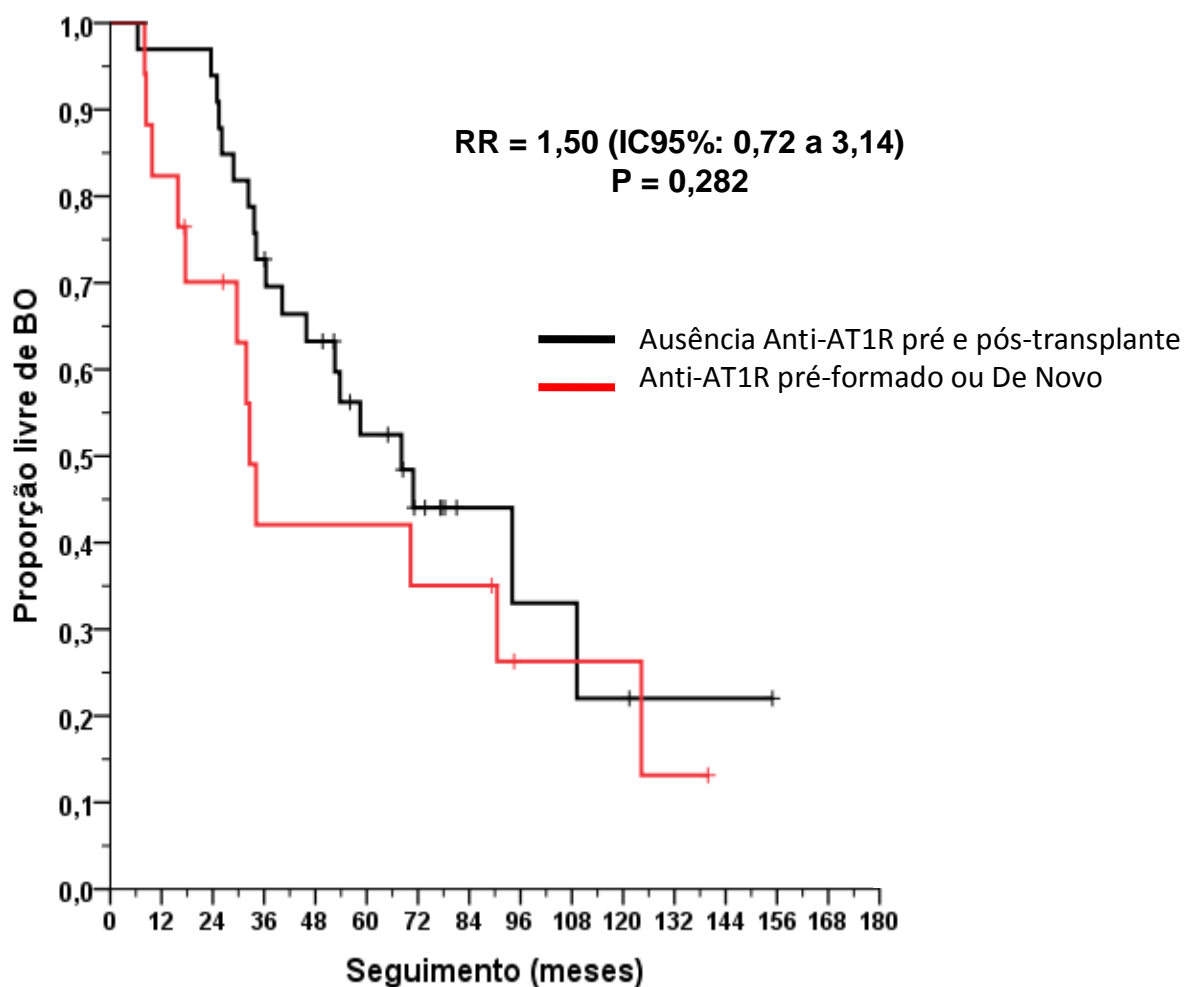


Tabela 3. Proporção de pacientes com anticorpo anti-HLA e/ou anti-MICA pré-transplante, infecção ativa por CMV e/ou RA e sua significância em modelo de regressão de Cox, comparando os pacientes que nunca apresentaram anti-AT1R e aqueles que tiveram algum tipo de conversão após o transplante pulmonar.

Fatores de Risco para	Anticorpo Anti-AT1R		P
	Sempre Negativo (n=17)	Preformado ou De Novo (n=33)	
BO			
Anti-HLA* n (%)	7 (41)	9 (27)	0,353
Anti-MICA* n (%)	1 (6)	0 (0)	0,340
CMV** n (%)	8 (47)	14 (42)	0,773
Rejeição Aguda n (%)	14 (82)	22 (67)	0,327

*pré-transplante

**infecção ativa

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1-Sato M, Keshavjee S .Bronchiolitis Obliterans Syndrome:Alloimmune-Dependent and – Independent Injury with Aberrant Tissue Remodeling Semin Thorac Cardiovasc Surg 2008;20:173-182.

2-Stewart S, Fishbein MC, Snell GI, et al: Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. J Heart Lung Transplant 2007; 26:1229-1242.

3-Estienne M, Maurer JR, Boehler A, et al: Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria. J Heart Lung Transplant , 2002.;21:297-310.

4- Trulock EP, Christie JD, Edwards LB, et al: Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult lung and heart-lung transplantation report-2007. J Heart Lung Transplant 2007;26:782-795.

5- S Heng D, Sharples LD, McNeil K, et al: Bronchiolitis obliterans syndrome: incidence, natural history, prognosis, and risk factors. J Heart Lung Transplant 1998; 17:1255-1263.

6- Girnita AL, Duquesnoy R, Yousem SA, et al: HLA-specific antibodies are risk factors for lymphocytic bronchiolitis and chronic lung allograft dysfunction. Am J Transplant, 2005. 5:131-138.

7-Sundaresan S, Mohanakumar T, Smith MA, Trulock EP, Lynch J, Phelan D, Cooper JD, Patterson GA. HLA-A locus mismatches and development of antibodies to HLA after lung transplantation correlate with the development of bronchiolitis obliterans syndrome. Transplantation, 1998 Mar 15;65(5):648-53.

8-Terasaki PI: Deduction of the fraction of immunologic and nonimmunologic failure in cadaver donor transplants. In *Clinical Transplants*. Edited by Cecka JM, Terasaki PI. Los Angeles, CA:UCLA Tissue Typing Laboratory; 2003:449-452.

9-Zou Y, Stastny P, Süsal C, Döhler B, Opelz G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med* N 2007 Sep 27;357(13):1293-300.

10.Mizutani K, Shibata L, Ozawa M, Esquenazi V, Rosen A, Miller J, Terasaki PI Detection of HLA and MICA antibodies before kidney graft failure..*Clin Transpl*. 2006:255-64.

11-Opelz G; Collaborative Transplant Study, *Lancet* 2005 Apr 30-May 6;365(9470):1570
6.Non-HLA transplantation immunity revealed by lymphocytotoxic antibodies.

12-Dubel L, Farges O, Johanet C, Sebag M, Bismuth H. *Transplantation*. 1998 Apr 27;65(8):1072-5.High incidence of antitissue antibodies in patients experiencing chronic liver allograft rejection.

13-Carter V, Shenton BK, Jaques B, Turner D, Talbot D, Gupta A, Chapman CE, Matthews CJ, Cavanagh G. Vimentin antibodies: a non-HLA antibody as a potential risk factor in renal transplantation. *Transplant Proc*. 2005 Mar; 37(2):654-7.

14-Nicola E. Hiemann,Rudolf Meyer, Ernst Wellnhofer, Constanze Schoenemann, Harald Heidecke,Nils Lachmann, Roland Hetzer, and Duska Dragun Non-HLA Antibodies Targeting Vascular Receptors Enhance Alloimmune Response and MicrovasculopathyAfter Heart Transplantation. *Transplantation* 2012;94: 00Y00.

15- Dragun D, Muller DN, Brasen JH, et al. Angiotensin II type 1 Yreceptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005;352: 558.

16-International guidelines for the selection of lung transplant candidates. The American Society for Transplant Physicians (ASTP)/American Thoracic Society(ATS)/European Respiratory Society(ERS)/International Society for Heart and Lung Transplantation(ISHLT). *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158(1):335.

17-Camargo SM, Camargo Jde J, Schio SM, Sánchez LB, Felicetti JC, Moreira Jda S, Andrade CF. Complications related to lobectomy in living lobar lung transplant donors *J Bras Pneumol.* 2008 May;34(5):256-63.

18-Christie JD, Carby M, Bag R, Corris P, Hertz M, Weill D, ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction *J Heart Lung Transplant.* 2005;24(10):1454

19-Martinu T, Pavlisko EN, Chen DF, Palmer SM Acute allograft rejection: cellular and humoral processes.*Clin Chest Med.* 2011 Jun;32(2):295-310.

20-Schroeder RB, Michelon, T, Wurdig J, Fagundes I, Schio S, Sanchez L, Suklenik T, Camargo J, Pasqualotto A, Neumann J. Incidence of Cytomegalovirus Infection in lung transplant recipients under universal prophylaxis with intravenous ganciclovir. *JBT,* 2005;8:314-17.

21-Estienne, M, Maurer, JR, Boehler, A, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21:297.

22-Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant.* 2003 Jun;3(6):665-73.

23-Slavcev A. Prediction of organ transplant rejection by HLA-specific and non-HLA antibodies - brief literature review. *Int J Immunogenet.* 2012 Jun 18.

24- Angaswamy N, Saini D, Ramachandran S, Nath DS, Phelan D, Hachem R, Trulock E, Patterson GA, Mohanakumar T. Development of antibodies to human leukocyte antigen precedes development of antibodies to major histocompatibility class I-related chain A and

are significantly associated with development of chronic rejection after human lung transplantation. *Hum Immunol.* 2010 Jun;71(6):560-5.

25-Yousem SA, Zeevi A. The histopathology of lung allograft dysfunction associated with the development of donor-specific HLA alloantibodies. *Am J Surg Pathol.* 2012 Jul;36(7):987-92.

26-Neumann J, Tarrasconi H, Bortolotto A, Machuca T, Canabarro R, Sporleder H, Fernandes S, Schio S, Costa C, Camargo S, Sanchez L, Camargo J, Perin F, Felicetti J, Michelon T. Acute humoral rejection in a lung recipient: reversion with bortezomib Transplantation. 2010 Jan 15;89(1):125-6.

27-Reinsmoen NL, Lai CH, Heidecke H, Haas M, Cao K, Ong G, Naim M, Wang Q, Miricha Mirocha J, Kahwaji J, Vo AA, Jordan SC, Dragun D. Anti Angiotensin type 1 receptor antibodies associated with antibody mediated rejection in donor HLA antibody negative patients. *Transplantation.* 2010 Dec 27; 90(12):1473-7.

28-Lukitsch I, Kehr J, Chaykovska L, Wallukat G, Nieminen-Kelhä M, Batuman V, Dragun D, Gollasch M Renal ischemia and transplantation predispose to vascular constriction mediated by angiotensin II type 1 receptor-activating antibodies. *Transplantation.* 2012 Jul 15;94(1):8-13.

29-Dragun D, Müller DN, Bräsen JH, Fritsche L, Nieminen-Kelhä M, Dechend R, Kintscher U, Rudolph B, Hoebeke J, Eckert D, Mazak I, Plehm R, Schönemann C, Unger T, Budde K, Neumayer HH, Luft FC, Wallukat G. Angiotensin II type 1 receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med.* 2005 Feb 10;352(6):558-69.

30-Hiemann NE, Meyer R, Wellnhofer E, Schoenemann C, et al. Non-HLA Antibodies Targeting Vascular Receptors Enhance Alloimmune Response and Microvasculopathy After Heart Transplantation. *Transplantation* 2012; 94:00-00)

31.Lubel JS, Herath CB, Burrel LM, Angus P. Liver disease and the rennin-angiotensin system:Recent discoveries and clinical implications. Journal of Gastroenterology and Hepatology 23(2008)1327-38

32-Machuca TN, Losso MJ, Camargo SM, Schio SM, Melo IA, Hochegger B, Felicetti JC, Camargo JJ. Lung transplantation for lymphangiomyomatosis: single-center Brazilian experience with no chylothorax. Transplant Proc. 2011 Jan-Feb;43(1):236-8.

7. CONCLUSÕES

O anticorpo anti-AT1R estava presente no pré transplante em 22% dos pacientes submetidos ao transplante pulmonar e 15,3% dos pacientes apresentaram a formação do anticorpo após o transplante.

O número pequeno de pacientes não permitiu comprovar a relação entre o anticorpo e a ocorrência de rejeição crônica, embora não se possa descartar a possibilidade de um efeito de risco.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho apresentado é um estudo inédito sobre a presença e a importância do anticorpo anti-AT1R em pacientes submetidos a transplante pulmonar.

Os dados obtidos permitem aferir que o anticorpo é prevalente entre os pacientes transplantados pulmonares e tem frequência variada de acordo com a doença que indicou o transplante, havendo maior risco de desenvolvimento de rejeição crônica.

Estudos prospectivos, com medidas seriadas do anticorpo, certamente trarão informações importantes no entendimento e manejo da rejeição crônica.