

A prova cruzada por CDC na era da prova cruzada por citometria de fluxo e grânulos de antígeno único

The CDC crossmatch in the era of flow cytometric crossmatch and single antigen beads

Autor

Grace Kao Mahowald^{1,2} 

¹Massachusetts General Hospital, Department of Pathology, Boston, MA, USA.

²Harvard Medical School, Boston, MA, USA.

A prova cruzada por citotoxicidade dependente do complemento (CDC-XM, do inglês complement-dependent cytotoxicity crossmatch), uma técnica que utiliza linfócitos T e B para detectar anticorpos doador específico (DSA, do inglês donor-specific antibodies) por meio da ativação da via clássica do complemento, tem sido amplamente utilizada para a detecção de aloanticorpos em pacientes transplantados desde que foi introduzida na década de 1960. Em seu artigo seminal publicado em 1969, Patel e Terasaki¹ demonstraram 24 das 30 falhas imediatas de enxerto em transplantes renais realizados por meio de uma prova cruzada positiva, em comparação com oito dos 195 transplantados em uma prova cruzada negativa, e concluíram que “a ética de transplantar rins sem o conhecimento prévio dos resultados do teste de prova cruzada... pode razoavelmente ser esperada que seja questionada diante desta evidência”¹. Como resultado deste estudo, a prova cruzada prospectiva tornou-se parte da prática clínica de rotina para transplante renal.

Embora a CDC-XM tenha revolucionado a prática do transplante renal, a necessidade atual da CDC-XM de rotina é menos clara com o advento de técnicas mais sensíveis. A adição de globulina anti-humana (AHG, do inglês anti-human globulin) à CDC-XM aumentou a sensibilidade em comparação com a CDC-XM padrão, mas o ensaio permaneceu relativamente insensível. A prova cruzada por citometria de fluxo (FCXM, do inglês flow cytometric crossmatch), introduzida em 1983, permitiu o aumento da sensibilidade ao detectar IgG do soro receptor ligado à superfície de linfócitos T e B, através do uso de um F(ab')₂ anti-IgG humano marcado

por fluorescência². A FCXM sofreu modificações com análise em três cores e, mais recentemente, um protocolo rápido otimizado que incorpora um formato de placa com 96 poços e outras economias de tempo (os protocolos Halifax e Halifaster)³. O desenvolvimento subsequente de técnicas de triagem de anticorpos HLA de fase sólida, incluindo grânulos de antígeno único Luminex (SAB, do inglês single antigen beads), aumentou muito a sensibilidade da detecção de anticorpos e, em conjunto com o tipo HLA de doador, permite uma avaliação virtual (ou prova cruzada virtual, se o paciente prosseguir para o transplante sem uma prova cruzada física prospectiva) que pode identificar DSA em níveis que estão abaixo do limite de detecção da FCXM.

Com a melhora da sensibilidade da prova cruzada, veio a melhora nos desfechos clínicos. Um estudo de pacientes submetidos à retransplante renal com doadores falecidos mostrou que a sobrevida do enxerto em sete anos com morte sendo tratada como censura em pacientes com FCXM de célula T negativa (68%, n=106) foi comparável à de pacientes que receberam seu primeiro transplante renal (72%, n=889), e significativamente melhor que aquela de pacientes em que apenas a CDC-XM AHG foi utilizada (45%, n=174)⁴. Um amplo ensaio multicêntrico de transplante renal de doador vivo incompatível comparando pacientes com CDC+, FCXM+/CDC-, DSA+/FCXM-, e DSA- descobriu que a perda do enxerto espelhava essencialmente cada uma dessas categorias de risco. Houve um aumento significativo na perda de enxertos no primeiro ano pós-transplante em pacientes

Data de submissão: 29/04/2021.

Data de aprovação: 10/05/2021.

Correspondência para:

Grace Kao Mahowald.
E-mail: grace.mahowald@mgh.harvard.edu

DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2021-0110>



CDC+ e FCXM+/CDC- em comparação com pacientes DSA-, com uma razão de risco ajustada de 5,01 e 1,64, respectivamente⁵. Uma meta-análise de 1119 pacientes de transplante renal com CDC e FCXM negativas mostrou que a presença de DSA detectada por ensaios de fase sólida está associada a um risco significativamente maior de rejeição mediada por anticorpos (RMA) e falência do enxerto (risco relativo 1,98 e 1,76, respectivamente)⁶, apoiando a relevância clínica de DSAs detectados apenas por ensaios de fase sólida.

Nesse assunto, Abud et al. (comparam uma coorte de pacientes com avaliação pré-transplante realizada por CDC-XM apenas a uma coorte subsequente transplantada após avaliação somente por FCXM⁷. Não houve diferença na sobrevida do paciente ou na sobrevida do enxerto em um ano entre os dois grupos, embora 2/15 das perdas de enxerto se devam a causas imunológicas no grupo CDC-XM, em comparação com 0/15 no grupo FCXM, e 3/68 pacientes no grupo CDC-XM tiveram RMA aguda na biópsia, em comparação com 0/63 no grupo FCXM. De notar que todos os pacientes de ambos os grupos foram examinados para a presença de DSA por SAB dentro de quatro meses antes do transplante, e eram em geral similares em termos de presença de DSA pré-transplante e soma de IMFs de DSAs. Os três pacientes do grupo CDC-XM que desenvolveram RMA aguda foram considerados como sendo negativos para DSA no momento do transplante. Neste estudo, a falta de diferença entre o grupo CDC-XM e o grupo FCXM não é surpreendente, dado que o teste Luminex SAB foi utilizado para a detecção de DSA em ambos os grupos. Uma vez que o método utilizado para a detecção de DSA é mais sensível do que qualquer uma das técnicas de prova cruzada estudadas, os pacientes com DSA de nível moderado a alto presumivelmente não foram transplantados com base nisso, ao invés do resultado da prova cruzada em si.

Com o uso rotineiro de ensaios de fase sólida sensíveis, a CDC-XM e mesmo a FCXM tornam-se, indiscutivelmente, de importância secundária na avaliação pré-transplante da compatibilidade doador-receptor. No entanto, há situações em que uma prova cruzada física ainda é informativa, tais como em casos com anticorpos alelo-específico ou anticorpos específicos para combinações de DQA1/DQB1 particulares, suspeita de reatividade SAB falso-positiva (anticorpo para antígeno desnaturado), ou anticorpo para um epítipo compartilhado através de múltiplos grânulos. Nessas

situações, uma prova cruzada de fluxo prospectiva pode fornecer uma visão da importância do DSA, enquanto a CDC-XM geralmente não é sensível o suficiente para dar as respostas que são necessárias. É importante, porém, ter em mente que tanto a FCXM quanto a CDC-XM também podem ser positivas na ausência de HLA DSA. Algumas CDC-XMs falso-positivas são atribuíveis a anticorpos IgM e podem ser resolvidas por meio de tratamento sérico com ditiotreitol ou calor. No entanto, outros pacientes, particularmente aqueles com doenças autoimunes, podem apresentar CDC-XM e/ou FCXM com falso positivo persistente. Além disso, terapias como o rituximab interferem em ambas as variedades de prova cruzada de células B. Não há ensaio perfeito, mas ter a capacidade de avaliar DSA por métodos ortogonais nestas situações complexas pode ser inestimável.

ABREVIÇÕES

CDC-XM - prova cruzada por citotoxicidade dependente do complemento

AHG - globulina anti-humana

FCXM - prova cruzada por citometria de fluxo

SAB - grânulos de antígeno único

DSA - anticorpos doador específico

RMA - rejeição mediada por anticorpos

CONFLITO DE INTERESSES

Nenhum conflito de interesses é declarado.

REFERÊNCIAS

1. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med.* 1969 Apr;280(14):735-9.
2. Garovoy MR, Rheinschmidt MA, Bigos M, Perkins H, Colombe B, Feduska N, et al. Flow cytometry analysis: a high technology crossmatch technique facilitating transplantation. *Transplant Proc.* 1983 Sep;15(3):1939-44.
3. Liwski RS, Greenshields AL, Conrad DM, Murphey C, Bray RA, Neumann J, et al. Rapid optimized flow cytometric crossmatch (FCXM) assays: the Halifax and Halifax protocols. *Hum Immunol.* 2017 Nov;79(1):28-38.
4. Bryan CF, Baier KA, Nelson PW, Luger AM, Martinez J, Pierce GE, et al. Long-term graft survival is improved in cadaveric renal retransplantation by flow cytometric crossmatching. *Transplantation.* 1998 Dec;66(12):1827-32.
5. Orandi BJ, Garonzik-Wang JM, Massie AB, Zachary AA, Montgomery JR, Van Arendonk KJ, et al. Quantifying the risk of incompatible kidney transplantation: a multicenter study. *Am J Transplant.* 2014 Jul;14(7):1573-80.
6. Mohan S, Palanisamy A, Tsapepas D, Tanriover B, Crew RJ, Dube G, et al. Donor-specific antibodies adversely affect kidney allograft outcomes. *J Am Soc Nephrol.* 2012 Dec;23(12):2061-71.
7. Abud J, Brasil Dal Pupo B, Silva CK, Keitel E, Garcia V, Manfro R, et al. Phasing out the pre-transplant cytotoxicity crossmatch: are we missing something?. *Braz J Nephrol.* 2021 May 21; [Epub ahead of print]. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-jbn-2019-0222>