



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Maria Izabel Neves de Holanda Barbosa

**Prevalência dos Alelos HLA numa população Lúpica e em pacientes
com Nefrite Lúpica no Rio de Janeiro**

Rio de Janeiro

2017

Maria Izabel Neves de Holanda Barbosa

Prevalência dos alelos HLA numa população lúpica e em pacientes com Nefrite lúpica no Rio de Janeiro

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Pôrto

Rio de Janeiro

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

B238 Barbosa, Maria Izabel Neves de Holanda.

A prevalência dos Alelos HLA numa população lúpica e em pacientes com nefrite lúpica no Rio de Janeiro / Maria Izabel Neves de Holanda Barbosa – 2017.

140 f.

Orientador: Prof. Dr. Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Pôrto.

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental.

1. Lúpus eritematoso sistêmico - Teses. 2. Rins - Transplante - Teses. 3. Nefrite lúpica - Teses. 4. Sondas de DNA de HLA. I. Pôrto, Luís Cristóvão de Moraes Sobrino. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 616.5-002.5

Bibliotecária: Thais Ferreira Vieira – CRB7/5302

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Maria Izabel Neves de Holanda Barbosa

Prevalência dos alelos HLA numa população lúpica e em pacientes com nefrite lúpica no Rio de Janeiro

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 01 de setembro de 2017

Orientador:

Prof. Dr. Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Pôrto
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Evandro Mendes Klumb
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof.^a Dra. Lilian Monteiro Pereira Palma
Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Flávio Victor Signorelli
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Mauricio Younes-Ibrahim
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Rio de Janeiro

2017

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho para o meu marido, Ronaldo e minhas filhas, Maya e Clara.
Eles são o estímulo diário para enfrenar os desafios da vida e nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos pacientes que participaram do estudo, sem eles nada disso seria possível.

Aos profissionais do serviço de nefrologia e transplante renal do Hospital Federal de Bonsucesso, do qual me orgulho em fazer parte.

Ao meu orientador, Luis Cristóvão Pôrto, pela dedicação e ensinamentos.

A minha mãe, Lívia, exemplo de mulher, mãe e profissional, na qual eu me espelho a minha vida toda. Sua ajuda foi fundamental, participou ativamente com suas críticas e correções. Sem a sua força em mais esta jornada, me fazendo acreditar e nunca desistir de alcançar os nossos sonhos, mesmo que o caminho não seja fácil.

Ao meu pai, Fernando, pelo seu exemplo profissional e sua dedicação. Suas explicações em estatística me ajudaram muito.

Ao John Wilkinson, um padrasto e pai também, me deu muita força e apoio em diversos momentos. Suas correções de inglês em diversos momentos foram essenciais.

Ao meu sogro, Ronaldo pai, médico no qual tenho como exemplo de seriedade, profissionalismo, dedicação e paixão pela profissão.

A minha sogra, Marília, na qual tenho como uma mãe, companheira. Mais uma vez, pude contar com ela em todas as horas. Sua dedicação a família e seu amor também me deram mais tranquilidade para conseguir chegar ao fim deste trabalho.

A Maria Tereza Mariano, minha segunda mãe, minha companheira diária, zelando por mim, me ajudando em diversos aspectos. Seu carinho diário, sua dedicação e seu amor foram essenciais para me ajudar a chegar ao fim desta jornada.

Minha irmã Ana, me ajudando sempre com sugestões, correções e força. Meus irmãos, Dico, Gerana e Sylvio me apoiando e me dando força.

Ruth, eterna amiga e companheira da família, seu suporte com a minha família também foram essenciais.

Aos vários amigos que participaram desta difícil jornada me apoiando e ajudando a não desistir, principalmente na reta final.

Ao meu marido Ronaldo, que nestes 20 anos juntos, só tem me mostrado cada vez mais a força de uma união. Seu companheirismo diário, mesmo às vezes de longe, sua tranquilidade, essencial em vários momentos difíceis, sempre me incentivando

academicamente. Seu amor e seu carinho foram imprescindíveis para chegar até aqui.

E, finalmente, as minhas filhas, Maya e Clara, elas são o meu estímulo diário para ir em frente e nunca desistir. Elas foram as que mais torceram para eu chegar ao fim desta jornada. Amo vocês.

Se a caminhada está difícil, é porque você está no caminho certo.
Nunca deixe de lutar por medo de errar ou de se machucar. As feridas com o tempo
se curam, mas as oportunidades não voltam.

Autor desconhecido

RESUMO

BARBOSA, Maria Izabel Neves de Holanda. **A prevalência dos Alelos HLA numa população lúpica e em pacientes com nefrite lúpica no Rio de Janeiro.** 2017. 140 f. Tese (Doutorado em Biologia Humana e Experimental) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença auto-imune grave que envolve múltiplos órgãos. A nefrite lúpica (LN) é uma complicação do LES e está associada a uma alta morbidade. Muitos estudos genômicos foram realizados em todo o mundo, e vários locos de histocompatibilidade de antígenos leucocitários (HLA) estão ligados à susceptibilidade ao lúpus. O presente estudo avaliou a associação de alelos HLA em uma população de pacientes lúpus, pacientes com nefrite lúpica e um grupo controle. O segundo objetivo avaliou se a presença do alelo HLA ou a incompatibilidade influenciaram a sobrevida do enxerto renal em uma população de lúpus transplantados renais. Este estudo foi um estudo retrospectivo de 2 grupos principais: pacientes com lúpus geral (GeLupus $n = 108$) e grupo controle total (CTRLT $n = 216$). Ambos os grupos também foram divididos em subgrupos. O grupo CTRLT foi dividido em dois subgrupos: um grupo de controle saudável (CTRLS) e grupo controle transplantado (TxCTRL). O grupo GeLupus foi composto de pacientes com lúpus transplantado (TxLupus) e pacientes com lúpus sem transplante (LuSTx). A comparação da demografia entre os grupos não revelou diferenças entre etnia e gênero. Foi observada uma diferença na prevalência de três alelos, B*08, DRB1*08 e DRB1*15. Estes alelos foram mais prevalentes nos subgrupos de lúpus em comparação com os grupos de controle. A sobrevida de cinco anos não foi diferente entre pacientes portadores do alelo DRB1*15 em nenhum grupo ($p = 0,075$; TxLupus $p = 0,419$; TxCTRL = $0,309$). A presença da compatibilidade com este alelo no receptor foi avaliada e também não demonstrou diferença na sobrevida do enxerto em ambos os grupos ($p = 0,144$) ou quando analisada separadamente em cada grupo (TxCTRL $p = 0,739$; TxLupus = $0,297$). Este estudo demonstrou que a presença de HLA-DRB1*5 foi um fator forte que predispôs pacientes ao desenvolvimento de LES e Nefrite lúpica, mas não influenciou a sobrevida do enxerto renal.

Palavras-chave: LES. Nefrite lúpica. HLA. Transplante renal. Perda de enxerto. HLA DRB1.

ABSTRACT

BARBOSA, Maria Izabel Neves de Holanda. **The Prevalence of HLA alleles in a lupus nephritis population in Rio de Janeiro**. 2017. 140 f. Tese (Doutorado em Biologia Humana e Experimental) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a severe autoimmune disease that involves multiple organ systems. Lupus nephritis (LN) is a complication of SLE and is associated with poor survival and high morbidity. Many genomic studies have been performed worldwide, and several histocompatibility leukocyte antigen (HLA) loci are linked to lupus susceptibility. The present study evaluated the association of HLA alleles in a lupus patient population, LN group and control group. The second objective evaluated whether HLA allele match or mismatch influenced kidney graft survival in a kidney transplanted lupus population. This study was a retrospective study of 2 major groups: general lupus patients (GSLE - n=108) and a control group (GControl - n=216). Both groups were also divided into subgroups. The control group was divided into two subgroups: a healthy control group (HeCTRL) and transplant control group (TxCTRL). The GSLE group was composed of transplanted lupus patients (TxSLE) and non-transplanted lupus patients (nTxSLE). Comparison of the demographics between groups did not reveal differences between ethnicity and gender. A difference in the prevalence of three alleles, B*08, DRB1*08 and DRB1*15, was observed. These alleles were more prevalent in the lupus subgroups compared to the control groups. Five-year survival was not different between patients carrying the allele DRB1*15 in either group (overall p=0.075; TxSLE p=0.419; TxCTRL=0.309). The presence of the match with this allele in the receptor was evaluated and did not demonstrate any difference in graft survival in both groups (p=0.146) or when analyzed separately in each group (TxCTRL p=0.739; TxSLE= 0.297). This study demonstrated that the presence of HLA-DRB1*15 was a strong factor that predisposed patients to the development of SLE and LN, but did not influence kidney graft survival.

Keywords: SLE. Lupus nephritis. HLA. Kidney transplant. Graft loss. HLA DRB1.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Fatores ambientais/externos e suscetibilidade genética X apresentação de doença.....	20
Figura 2 -	Ativação da Via Clássica do complemento na patogênese do Lúpus.....	28
Figura 3 -	Citocinas envolvidas na patogênese do Lupus e da nefrite lúpica	33
Figura 4 -	Biomarcadores e suas correlações celulares com as respectivas ações.....	34
Figura 5 -	Patogênese da nefrite lúpica.....	35
Figura 6A -	Fotomicrografias das classes histopatológicas da Nefrite Lúpica..	40
Figura 6B -	Fotomicrografias das classes histopatológicas da Nefrite Lúpica..	41
Figura 7 -	Esquema mostrando suscetibilidade das doenças autoimunes com haplótipos HLA e secreção de citocinas.....	45
Figura 8a -	Formação e distribuição de grupos	50
Figura 8b -	Grupo de pacientes lúpicos (GeLupus) e grupo controle (CTRLT)..	50
Figura 9a -	Curva de Sobrevida em 5 anos dos grupos: TxLES e TxCTRL.....	68
Figura 9b -	Curva de Sobrevida em 5 anos censurada para óbito dos grupos: TxLES e TxCTRL.....	69
Figura 9c -	Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito: Comparação HAS x Outras doenças X Lupus.....	70
Figura 10a -	Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito: etnia nos dois grupos em conjunto.....	71
Figura 10b -	Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito: etnia no grupo TxLES.....	72
Figura 10c -	Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito: etnia no TxCTRL.....	73
Figura 11a -	Sobrevida renal de todos os pacientes transplantados em 5 anos avaliando a Presença do alelo HLA DRB1*1.....	75
Figura 11b -	Sobrevida renal dos pacientes transplantados em 5 anos nos grupos nefrite lúpica (TxLES) e por outras causas (TxCTRL) de acordo com a Presença do HLA DRB1*	76

Figura 11c - Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito dos pacientes transplantados com nefrite lúpica (TxLES) comparando os pacientes que carregavam o alelo HLA DRB1*15 versus os que não carregava.....	77
Figura 11d - Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito dos pacientes transplantados no grupo por outras causas (TxCTRL) comparando os pacientes que carregavam o alelo HLA DRB1*15 versus os que não carregavam.....	78
Figura 12 - Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito dos pacientes transplantados brancos (BR) versus não brancos (NB) de acordo com a presença do alelo HLA DRB1*15.....	79
Figura 13a - Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito avaliando a compatibilidade do doador/receptor com alelo HLA DRB1*15 avaliando os dois grupos (TxLES e TxCTRL) juntos.....	80
Figura 13b - Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito avaliando a compatibilidade do doador/receptor com alelo HLA DRB1*15 – comparação dos grupos.....	81
Figura 13c - Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito avaliando a presença e ausência da compatibilidade do doador/receptor com alelo HLA DRB1*15 – grupo TxLupus.....	82
Figura 13d - Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito avaliando a presença e ausência da compatibilidade do doador/receptor com alelo HLA DRB1*15 – grupo TxCTRL.....	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Critérios de classificação de Lúpus Eritematoso Sistêmico revisados de 1982	23
Tabela 2a -	Critérios clínicos utilizados na classificação de SLICC.....	24
Tabela 2b -	Critérios imunológicos utilizados na classificação de SLICC.....	25
Tabela 3 -	Classificação da nefrite lúpica.....	39
Tabela 4 -	Dados demográficos dos grupos estudados.....	56
Tabela 5a -	Frequência Genética de Alelos HLA-A nos 4 subgrupos: CTRLS, LuSTX, TxCTRL e TxLES. Os grupos foram pareados para etnicidade e sexo.....	59
Tabela 5b -	Frequência Genética de Alelos HLA-B nos 4 subgrupos: CTRLS, LuSTX, TxCTRL e TxLES O Os grupos foram pareados para etnicidade e sexo.....	60
Tabela 5c -	Frequência genética de alelos HLA-B nos 4 subgrupos: CTRLS, LuSTX, TxCTRL e TxLES. Os grupos foram pareados para etnicidade e sexo.....	61
Tabela 6 -	Frequência de haplótipos e ordem encontrada em mais de um paciente lúpico- TxLES e LuSTx em comparação com a frequência de controles saudáveis (CTRLS) e controles transplantados (TxCTRL).....	62
Tabela 7 -	Prevalência alélica entre os grupos.....	63
Tabela 8 -	Prevalência de alelos comparando GLupus e CTRLT.....	64
Tabela 9 -	Prevalência dos alelos comparando o grupo com nefrite lúpica (LuNe) X Grupos Lúpus Sem Nefrite (LuSNe).....	65
Tabela 10 -	Prevalência de alelos comparando grupo controle saudável (CTRLS) X Lúpus sem Nefrite (LuSNe).....	65
Tabela 11 -	Prevalência dos alelos comparando TxLupus e TxCTRL.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ANCA	Anticorpo anticitoplasma de neutrófilo
BAFF	Fator de ativação de células B
CCL	Quimiocina Ligante – grupo de famílias de citocinas CC ligantes
CDC	Citotoxicidade Dependente de Complemento
CTRLS	Grupo controle saudável
CTRLT	Grupo controle total
C5-B9	Complexo de ataque a membrana
DP	Diálise Peritoneal
DRCT	Doença Renal Crônica Terminal
DRP	Doença renal policística
ECG	Eletrocardiograma
EULAR/ERA-	<i>European League Against and Transplant Rheumatism/ European</i>
EDTA	<i>Renal Association – European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association</i>
FAN	Fator Anti Nucelar
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> – órgão regulador dos Estados Unidos para medicamentos
GeLupus	Grupo geral de lupus
GESF	Glomerulo esclerose segmentar e focal
HAS	Hipertensão arteria sistêmica
HD	Hemodiálise
HFB	Hospital Federal de Bonsucesso
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
HUPE	Hospital Unversitário Pedro Ernesto
IC	Imunocomplexos
IF	Imunoflorescência
IFN	Interferon
IL	Interleucina
ISN/RPS	<i>International society of Nephrology/ Renal Pathology Society</i>

KDIGO	<i>Kidney disease: Improving Global Outcome</i>
LES	Lupus Eritematoso Sistêmico
LuNe	Grupo lúpico com nefrite
LuSNe	Grupo com lupus sem nefrite
LuSTx	Grupo lúpico sem transplante
MCP-I	Proteína quimiotática de monócitos 1
ME	Microscopia eletrônica
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MO	Microscopia óptica
NA-TLRs	Receptores <i>Toll like</i> específicos para ácidos nucleicos
NAAF	Nefropatia por Anticorpo Antifosfolípideo
NET	Neutrófilo Extracelular
PCR	Proteína C Reativa
PKC	Proteína Kinase C
PRA	Painel reativo contra anticorpos HLA
PTT	Púrpura trombocitopênica trombótica
RA	Rejeição Aguda
SAAF	Síndrome Anticorpo antifosfolípideo
SLEDAI	<i>Systemic lupus erythematosus Disease Activity Index</i>
SLICC	<i>Systemic Lupus International Collaborative Clinics</i>
TGF β	Fator de transformação de crescimento beta
TLR	Recepto <i>Toll like</i>
TNF α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TReg	Linfócitos T Regulatórios
TSR	Terapia de Substituição Renal
TxCTRL	Grupo controle transplantado
TxLES	Grupo lúpico transplantado
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
WHO	<i>World Health organization</i>

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
1	LUPUS ERTEMATOSO SISTÊMICO	18
1.1	Epidemiologia e Etiologia	18
1.2	Patogênese do Lupus	20
1.3	Manifestações clínicas e diagnóstico	22
1.4	Nefrite Lúpica	25
1.4.1	<u>Patogênese</u>	26
1.4.2	<u>Manifestações Clínicas e Classificação histopatológica</u>	36
1.5	O Transplante renal e o Lupus	42
1.6	O Sistema Antígeno Leucocitário Humano (HLA)	43
2	OBJETIVOS	47
3	MATERIAIS E MÉTODOS	48
3.1	Pacientes	48
3.1.1	<u>Grupo de Estudo</u>	48
3.1.2	<u>Grupo Controle</u>	49
3.2	Dados Avaliados	51
3.2.1	<u>Testes Laboratoriais</u>	53
3.3	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	54
4	RESULTADOS	55
4.1	Dados demográficos grupo geral do Lúpus	55
4.2	Dados demográficos grupo controle total	55
4.3	Dados demográficos dos pacientes transplantados	57
4.4	Frequência dos alelos e haplótipos HLA	58
4.5	Prevalência dos alelos HLA	63
4.6	Sobrevida renal	66
4.7	Sobrevida renal e correlação com compatibilidade hla DRB1*15	74
5	DISCUSSÃO	84
	CONCLUSÕES	88
	REFERÊNCIAS	89

APÊNDICE A - "Use of Eculizumab in a Systemic lupus erithemathosus patient presenting with thrombotic microangiopathy and Heterozygous deletion in CFHR1-CFHR3. A Case Report and Systematic Review."	107
APÊNDICE B – Soluble CD30, Acute Rejection and Graft Survival: pre- and 6 month post-transplant determinations- When is the best time to measure?	116
APÊNDICE C - Manuscrito do artigo submetido para International Urology and Nephrology	125

INTRODUÇÃO

O Lupus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença auto imune com acometimento de diversos órgãos alvos. Um dos mais acometidos é o rim, com evolução em alguns casos para perda da função renal e necessidade de terapia de substituição renal. A evolução de alguns destes pacientes para apresentação de nefrite lúpica e a evolução destes pacientes no transplante renal permanece ainda objeto de estudos.

As moléculas do complexo de histocompatibilidade Humana (HLA) estão envolvidas em diversas doenças, principalmente em afecções auto imunes. Neste estudo, a prevalência das moléculas HLA no LES e na nefrite lúpica, assim como na influência na evolução destes pacientes transplantados renais serão avaliados.

1 LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

1.1 Epidemiologia e Etiologia

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune grave, caracterizada pelo envolvimento de múltiplos órgãos, com manifestações clínicas heterogêneas. Estima-se uma incidência anual de 1-10 por 100.000 habitantes e uma prevalência de 5,8-130 por 100.000 habitantes (Chakravarty et al. 2007, Ferucci et al. 2014, Lim et al. 2014, Somers et al. 2014, Pons-Estel et al. 2017). Esta doença afeta mais as mulheres em idade fértil, com uma proporção de acometimento entre mulheres e homens de 9:1 (Lisnevskaja et al. 2014), em alguns locais esta proporção pode chegar até 13:1 (Ambrose et al. 2016). Apesar de ser uma doença mais comum em mulheres em idade fértil, 20% dos casos ocorrem durante a infância e 10-20% após os 50 anos e nestes casos, a proporção entre o sexo feminino e masculino diminui para 5:1 no lúpus juvenil e 3:1 nos casos de idade mais avançada (Ambrose et al. 2016).

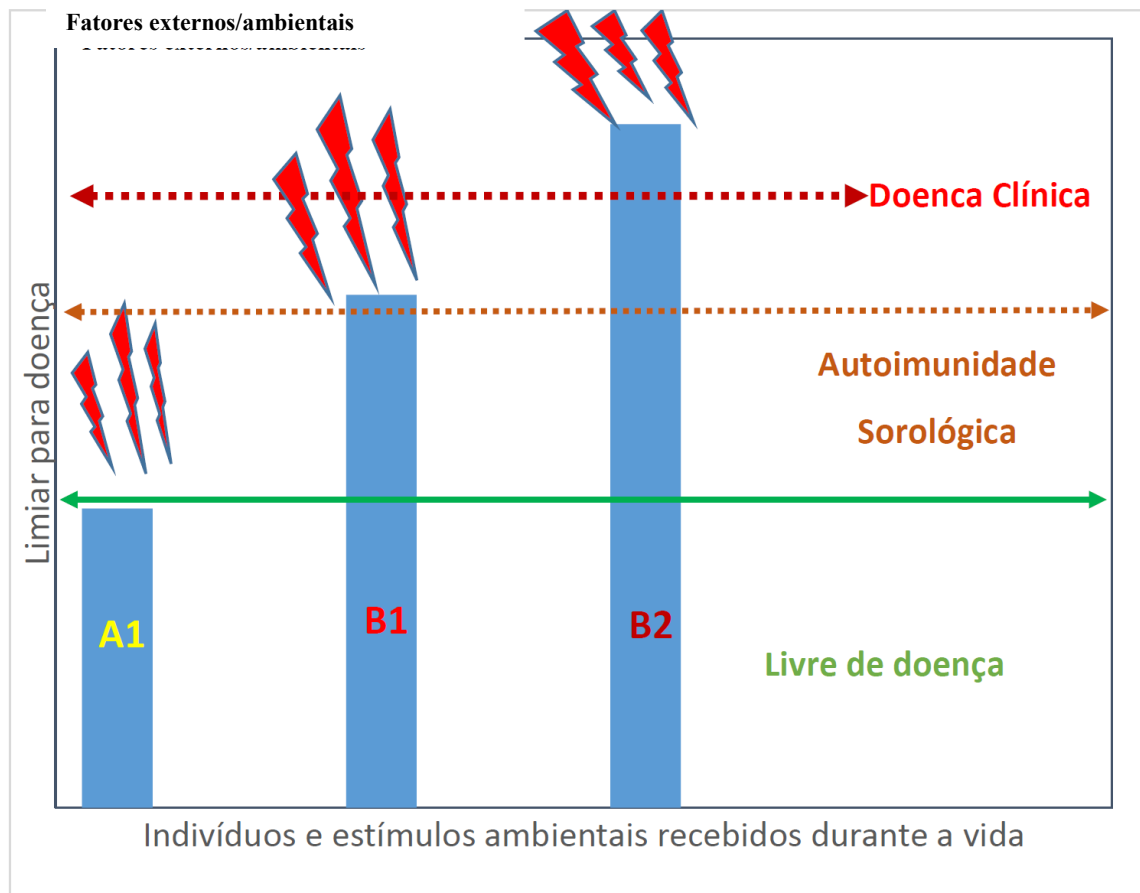
A gravidade, o acometimento de órgãos específicos e mortalidade da doença varia muito entre as faixas etárias (Mina & Brunner 2010, Morgan et al. 2013, Ambrose et al. 2016, Lopes et al. 2017). Estudo de coorte de 2016 demonstrou que pacientes com lúpus juvenil apresentam mais nefrite lúpica e acometimento neurológico comparados à pacientes que iniciam a doença na fase adulta. A taxa de mortalidade também varia entre as faixas etárias. A mesma foi maior em pacientes com lúpus juvenil, com diagnóstico abaixo de 18 anos, comparada a pacientes adultos (Tucker et al. 2008, Ambrose et al. 2016) e numa coorte em 10 centros brasileiros de reumatologia pediátrica publicado neste ano, observou-se que a taxa de mortalidade é maior em pacientes com diagnóstico abaixo dos 6 anos de idade quando comparada com os pacientes entre 7-18 anos de idade (Lopes et al. 2017).

A causa da doença é complexa, fatores ambientais, genéticos e epigenéticos estão envolvidos (Deng & Tsao 2010, Wahren-Herlenius & Dorner 2013, Schwartz et al. 2014). Vários fatores ambientais que podem favorecer o aparecimento da doença foram identificados tais como, drogas, radiação ultra violetas, tabagismo e infecções (Zandman-Goddard et al. 2012). No caso das infecções, a hipótese é que ocorra uma

reação cruzada entre as proteínas dos agentes infecciosos e os epítomos de antígenos endógenos, desencadeando as doenças autoimunes através de mecanismos de interação entre os receptores de reconhecimento como os receptores *Toll like* (Wahren-Herlenius & Dornier 2013).

Em relação à predisposição genética, existem dez vezes mais chances de gêmeos homozigóticos desenvolverem a doença quando comparados com gêmeos dizigóticos (Block et al. 1975, Deapen et al. 1992). Familiares de primeiro grau têm vinte vezes mais chances de apresentar a doença quando comparados a população saudável (Harley et al. 2006, Niewold 2015). Porém, mesmo os pacientes com predisposição genética, a apresentação fenotípica pode levar anos até seu aparecimento, dependendo muito da presença, da intensidade e da frequência dos fatores desencadeantes para o seu início. Na figura 1 exemplificamos a relação dos fatores ambientais/externos com os fatores genéticos e a apresentação clínica da doença.

Figura 1 - Fatores ambientais/externos e suscetibilidade genética X apresentação de doença



Legenda: Fatores desencadeantes ambientais (⚡) vão estabelecer como indivíduos geneticamente diferentes (A e B) e geneticamente iguais (B1 e B2) progridem para doença autoimune e apresentam sinais clínicos da doença. O Indivíduo A pode ser exposto aos mesmo fatores ambientais que os indivíduos B sem desenvolver a autoimunidade. Os indivíduos que são geneticamente suscetíveis (B1 e B2) podem progredir (ou não) para autoimunidade e/ou para apresentação clínica da doença, dependendo dos fatores externos/ambientais que eles são expostos durante a vida.

Fonte: Figura adaptada de Wahren-Herlenius & Dornier 2013.

1.2 Patogênese do Lúpus

Apesar de inúmeros avanços no entendimento desta doença, ainda permanece incerta a sua patogênese. O LES é caracterizado pela perda da tolerância de autoantígenos e resposta desregulada do interferon, produzindo assim

imunocomplexos (IC), anticorpos policlonais, anticorpos autorreativos e linfócitos T contra o núcleo, o citoplasma e a superfície celular (Ghodke-Puranik & Niewold 2015).

Várias células e moléculas em diversos mecanismos celulares têm sido implicados. Aberrâncias na apoptose celular e na imunidade inata e adaptativa já foram descritas com envolvimento de fatores genéticos, epigenéticos e hormonais. A produção de autoanticorpos durante apoptose celular e a diminuição da depuração de restos celulares são eventos centrais na patogênese, levando a atividade da doença com dano tecidual pelos autoanticorpos e IC. A ativação por IC do complemento, de algumas vias de citocinas e dos interferons estão implicadas nesta cascata de eventos patogênicos (Durcan & Petri 2016).

As citocinas geralmente estão agrupadas de acordo com os linfócitos T auxiliares (Th1 e Th2) e T regulatórios (TReg) de acordo com suas funções. Em geral, aceita-se que o predomínio de resposta Th2 e resposta Th1 e/ou Th2 estão implicados nas doenças autoimunes e no LES (Dolff et al. 2011, Talaat et al. 2015). Entretanto, as evidências recentes sugerem que além das citocinas Th1, tais como Interferon- γ , Interleucina 2 (IL-2) e fator de necrose tumoral α (TNF- α), as citocinas Th2, IL-4, IL-5, IL-6 e os linfócitos Th17 a IL-17, os TReg e a IL-10, também estão envolvidos na desregulação do sistema imune na atividade de doença destes pacientes (Koenig et al. 2012, Lu et al. 2016).

Dentre as citocinas que estão envolvidas na fisiopatologia da doença destacam-se o interferon (IFN) 1 e a α , o TNF α e a IL-6, a IL-12, a IL-10 e a IL-17 (Crispin et al. 2008). Os níveis séricos destas citocinas encontram-se elevados e associados a atividade e severidade de doença (Wen et al. 2013, Li et al. 2015).

O IFN-1 é produzido em resposta às infecções virais, mas em pacientes com LES, as células dendríticas plasmocitárias são induzidas a sintetizar o interferon via ligação com os receptores *Toll like* (TLR) derivados de ácidos nucleicos endógenos (Bave et al. 2005). O estímulo dos TLR ocorrem via -imune complexos formados pela ligação de autoanticorpos por ácidos nucleicos associados aos autoantígenos, p. ex.: as histonas, as ribonucleoproteínas - Ro/La, com subsequente produção do interferon- α (Ronblom & Pascual 2008). Foram evidenciados níveis elevados de IL-1 em pacientes lúpicos quando comparados com controles (Cigni et al. 2014). Um antagonista do receptor de IL-1 foi avaliado em um estudo com pacientes com artrite refratária e demonstrou boa tolerabilidade, com diminuição da dor nas articulações (Ostendorf et al. 2005).

O aumento da produção da IL-17 e a alta proporção células Th-17 têm sido detectados nos principais órgãos alvos no LES (pele, rim, pulmão), sugerindo um papel na inflamação local e dano tecidual (Kwan et al. 2009, Yang et al. 2009). Uma das descobertas promissoras da última década foi a identificação da via IL-23/Th17 no início, na progressão e na manutenção da doença autoimune. Recentes estudos demonstraram que tanto a IL-17 quanto a Th-17 estão positivamente correlacionadas com índice de atividade da doença no lúpus (Abdel Galil et al. 2015). Descreveremos mais a frente e com mais detalhes o papel de algumas destas citocinas tanto na patogênese do lúpus quanto da nefrite lúpica.

1.3 Manifestações Clínicas e Diagnóstico

As manifestações clínicas podem variar de leves a severas, dependendo do órgão afetado e do grau de lesão (Yung & Chan 2015). As mais comuns são observadas na pele, nas articulações, no comprometimento hematológico, na doença renal e complicações neuropsiquiátricas (Ghodke-Puranik & Niewold 2013). O curso da doença é caracterizado por fases de remissões e recidivas, e o risco de recidivas varia individualmente (Yung & Chan 2015).

Várias classificações foram propostas a fim de identificar/diagnosticar os pacientes com lúpus para estudos e publicações. A mais utilizada e a primeira a ser publicada, os critérios do *American College of Rheumatology* (ACR) (Tabela 1), foi publicada pela primeira vez em 1971 (Cohen & Canoso 1972) e revisada em 1982 (Tan et al. 1982) e 1997 (Hochberg 1997). Em 2012, o grupo *Systemic Lupus International Collaborative Clinics* (SLICC) publicou uma nova classificação com modificações no ACR1997 (Petri et al. 2012). Por essa última classificação, 11 critérios clínicos e 6 imunológicos foram caracterizados. Para o paciente fechar o diagnóstico, esse deveria preencher 4 critérios, sendo pelo menos um critério clínico e um imunológico (Tabela 2).

Tabela 1. Critérios de classificação de Lúpus Eritematoso Sistêmico revisados de 1982

CRITÉRIO	DEFINIÇÃO
1- Rash Malar	Eritema fixo, liso ou em relevo, nas eminências malares, poupando as dobras nasolabiais
2- Rash Discóide	Eritema em placas proeminentes, podendo ocorrer lesões atróficas em lesões antigas
3- Fotossensibilidade	Rash na pele decorrente de uma reação não usual com a exposição solar, de acordo com a história do paciente ou observação
4- Úlceras Orais	Úlceras orais ou na região da nasofaríngea, dolorosas, geralmente observada no exame físico
5- Artrite	Artrite não erosiva, envolvendo 2 ou mais articulações periféricas, caracterizado por dor, edema e derrame
6- Serosite	a) Pleurite- história de dor pleurítica bem evidente ou derrame pleural no exame físico b) Pericardite- documentado por ECG ou ausculta ou evidência de derrame pericárdico
7- Alteração renal	a) Proteinúria persistente acima de 500mg/24h ou mais de 3+ no exame qualitativo de urina b) Cilindros celulares- pode ser cilindros hemáticos, granular, tubular ou misto, de hemoglobina
8- Alteração Neurológica	a) Convulsões- Na ausência de drogas ou alterações metabólicas que possam causar: uremia, cetoacidose, alterações eletrolíticas b) Psicose- Na ausência de drogas e/ou alterações metabólicas ou alterações eletrolíticas
9- Alterações hematológicas	a) Anemia Hemolítica- com reticulocitose ou b) Leucopenia – menos de 4000/mm ³ total em 2 ou mais ocasiões ou c) Linfopenia – Menos de 1500/mm ³ em 2 ou mais ocasiões ou d) Trombocitopenia – Menos de 100.000/mm ³ na ausência de drogas que possam causar
10- Alterações hematológicas	a) Célula LE positiva ou b) Anti-DNA positivo ou c) Anti-Sm positivo ou d) VDRL falso positivo
11- Fator Anti Nuclear (FAN)	Título anormal de FAN pela imunofluorescência ou método semelhante

Legenda: A classificação é baseada em 11 critérios. A proposta para identificar pacientes para estudos clínicos, o paciente deve ter 4 ou mais critérios dos 11 descritos, em série ou simultaneamente, durante qualquer período de observação. ECG - eletrocardiograma

Fonte: Tabela adaptada de Tan et al. 1982

Tabela 2a- Critérios clínicos utilizados na classificação de SLICC

CRITÉRIOS CLÍNICOS
<p>Lúpus Cutâneo Agudo</p> <p>Inclui <i>rash</i> malar (excluindo o malar discoide), Lúpus Bolhoso</p> <p>Necrólise epidermóide tóxica variante do LES, <i>Rash</i> maculopapular do Lúpus, <i>Rash</i> de fotossensibilidade do Lúpus (na ausência de dermatomiosite), e/ou Lúpus cutâneo subagudo</p>
<p>Lúpus Cutâneo Crônico</p> <p>Inclui <i>rash</i> discoide clássico, localizado (acima do pescoço), generalizado (acima ou abaixo do pescoço), hipertrófico (Verrucoso), Paniculite (profundo), Lúpus mucoso, Lúpus eritematoso túmido e/ou Lúpus discóide/líquen plano sobreposição</p>
<p>Úlceras orais (palato, bucal) ou na língua) ou nasais</p>
<p>Alopécia não escarificante (difusa ou fragilidade capilar visível aos olhos)</p> <p>Na ausência de outras causas identificadas de alopecia: drogas, deficiência de ferro, androgênica</p>
<p>Sinovite – envolvendo uma ou mais articulações, caracterizado por edema, ou derrame, ou dor em 2 ou mais articulações por 30 minutos ou mais com rigidez matinal</p>
<p>Serosite</p> <p>Típica pleurosite por mais de um dia, ou derrame pleural e/ou atrito pleural</p> <p>Típica dor pericárdica por mais de um dia, ou derrame pericárdico, ou atrito pericárdico, ou alterações de pericardite no ECG, na ausência de outras causas, como infecções, uremia e pericardite de Dressler</p>
<p>Renal - Relação proteína/creatinina na urina (ou urina de 24h) maior que 500mg/24h ou cilindros de células vermelhas</p>
<p>Neurológico - Convulsões, psicose, mononeurite múltipla (na ausência de outras causas, como vasculite primária), mielite, neuropatia periférica ou central (na ausência de outras causas como diabetes, uremia) e/ou estado confusional agudo (na ausência de outras causas secundárias)</p>
<p>Anemia Hemolítica</p>
<p>Leucopenia (< 4.000/µL pelo menos uma vez)</p> <p>Na ausência de outras causas secundárias como drogas, hipertensão porta e Felty</p>
<p>Linfopenia (< 1.000/ µL pelo menos uma vez)</p> <p>Na ausência de outras causas secundárias como infecções, drogas e corticoide</p>
<p>Trombocitopenia (<100.000/ µL pelo menos uma vez)</p> <p>Na ausência de outras causas secundárias como drogas, Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) e hipertensão porta</p>

Tabela 2b- Critérios imunológicos utilizados na classificação de SLICC

CRITÉRIOS IMUNOLÓGICOS
1- FAN acima do valor de referência do laboratório
2- AntiDNAds acima do valor de referência do laboratório, exceto ELISA: 2 x o valor de referência
3- Anti-Sm
4- Anticorpos antifosfolídeos : um dos abaixo Anticoagulante lúpico VDRL Falso positivo Altos ou médios títulos de anticardiolipina (IgA, IgM, IgG) Anti- β 2 glicoproteína I (IgA, IgM, IgG)
5- Baixos níveis de complemento Baixo C3, Baixo C4 ou Baixo CH50
6- Teste direto de Coombs positivo na ausência de anemia hemolítica

Legenda: Tabelas 2a e 2b; Os critérios são cumulativos e precisam estar presentes concomitantemente

Fonte: Tabelas adaptadas de Petri et al. 2012.

Neste último, a nefrite lúpica já preenche o critério por si só para o diagnóstico de LES. Estudo publicado recentemente, comparando ambas as classificações, demonstrou uma maior sensibilidade do critério SLICC versus o critério ACR para o diagnóstico de LES. O critério SLICC pode ser mais inclusivo que o ACR para a classificação de pacientes com lúpus para estudos clínicos (Aberle et al. 2017).

1.4 Nefrite Lúpica

Dentre as principais complicações do lúpus, o acometimento renal é um dos mais severos e mais comuns, acometendo em torno de 50-60% dos pacientes nos primeiros 5 anos, a partir do diagnóstico da doença (Waldman & Appel 2006, Maroz & Segal 2013). Em coorte recente, a prevalência da nefrite lúpica foi de 38,3% em 5 anos de acompanhamento (Hanly et al. 2016).

O acometimento renal no LES está associado com pobre sobrevida e

morbidade, principalmente nos pacientes que evoluem para doença renal crônica terminal (DRCT) (Cervera et al. 2003, Bernatsky et al. 2006). Estudos recentes demonstraram uma ligação específica genética para o desenvolvimento de doença renal nos pacientes lúpicos em diferentes grupos étnicos, incluindo europeus e afroamericanos. Alguns destes fatores genéticos podem predispor a severidade da doença (Lea 2002). Gomez-Puerta et al. (2015) demonstraram que pacientes negros e africanos-americanos com lúpus apresentaram um maior risco de morte comparados aos pacientes brancos, hispânicos e asiáticos. O mesmo autor também demonstrou que em relação aos pacientes com acometimento renal no LES, os asiáticos e hispânicos tiveram uma menor mortalidade comparado aos brancos (Gomez-Puerta et al. 2015). Outros autores também demonstraram que pacientes não brancos tem maior chance de evoluir para DRCT, sendo este um fator independente (Rijnink et al. 2017).

Em coorte recente, (2016) com 1827 pacientes incluídos de outubro de 1999 a dezembro de 2012 apresentou que a melhora do arsenal terapêutico disponível para o tratamento do LES demonstrou a ocorrência de uma menor taxa de evolução para óbito e DRCT desses pacientes. Nesta coorte, 5% dos pacientes com nefrite lúpica há 10 anos evoluíram para óbito versus 3,6% dos pacientes sem nefrite. Neste mesmo estudo, a incidência cumulativa para DRCT em 5 anos foi de 3,3% e em 10 anos de 4,3% (Hanly et al. 2016). Pacientes com nefrite apresentaram maior frequência de serosite, desordens neurológicas e imunológicas e menor frequência de doença mucocutânea, artrite e FAN positivo (Hanly et al. 2016).

1.4.1 Patogênese

Em relação à patogênese do acometimento renal no lúpus, os antígenos intrínsecos como componentes da matriz extracelular e glicoproteínas das superfícies celulares servem como alvos para ligação de autoanticorpos. Além disso, a lesão renal resulta desta ligação dos autoanticorpos com os antígenos formando IC circulantes que se depositam nos glomérulos e nas paredes dos vasos (Berden 1997). Uma resposta inflamatória acontece subsequentemente com ativação do complemento e reações citotóxicas. Esta citotoxicidade pode ser detectada nos podócitos, na

presença da nefropatia membranosa (nefrite lúpica classe V), com a formação e depósitos de IC subepiteliais na membrana basal glomerular ou também pela proliferação endocapilar e reação inflamatória exsudativa, com a formação e depósitos desses IC subendoteliais, presentes nas nefrites proliferativas - nefrite lúpica III e/ou IV (Weening et al. 2004).

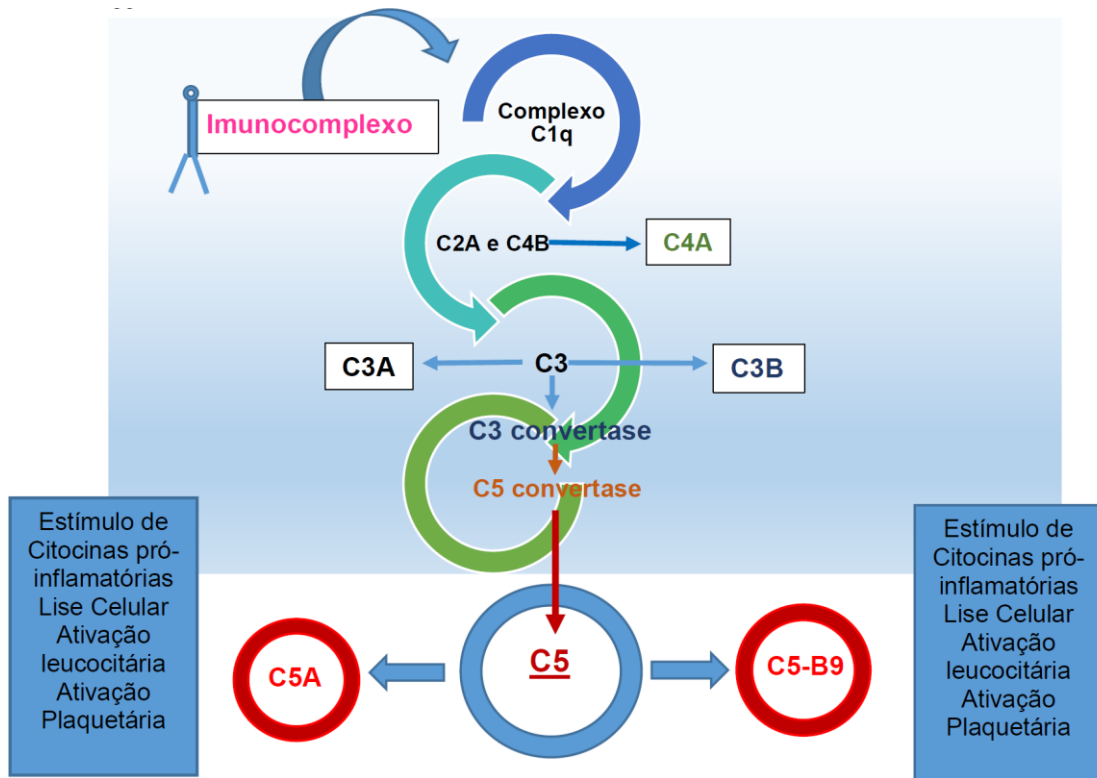
Nas doenças autoimunes sistêmicas, os IC contendo RNA-DNA atuam como veículo para transferir os ácidos nucléicos para os endossomas, onde são reconhecidos pelos TLR específicos para ácidos nucléicos (NA-TLRs), principalmente o TLR-9, desencadeando a produção do interferon tipo 1 e estimulando a indução da expressão do gene do interferon. A produção do IFN pelas células dendríticas plasmocitóides leva a respostas de autoimunidade. A presença de uma resposta de células T aberrantes, eleva tanto os níveis séricos de IC como do complexo de ataque a membrana (C5-B9). Essa reação imune forma depósitos imunes em sítios vasculares, estimulando a inflamação. Além disso, estes IC também se depositam no centro ectópico germinativo, onde se desenvolvem as células B (Chauhan 2017). Os IC estimulam a via clássica da cascata do complemento gerando C5-B9 que irá estimular citocinas inflamatórias, além de subtipos de células CD4+IFN- γ e subtipos de população Th-17. Esta ligação IC-C5-B9 coestimula o aumento da regulação do IFN e TLR (Chauhan 2017).

O sistema complemento, a chave da imunidade inata, tem um papel importante na nefrite lúpica. A formação de IC estimula a via clássica do complemento (Walport 2001), conseqüentemente leva a diminuição dos níveis séricos de C3, C4 e CH50 (Figura 2). Muitas vezes, a redução dos níveis séricos destes marcadores precede a recidiva de doença e atividade de doença. Algumas alterações genéticas nas proteínas C1q, C1r, C2, C3 e C4 do complemento que levam a deficiência destas moléculas favorecem muito o aparecimento da doença (Bryan & Wu 2014). O C1q participa do clearance das células apoptóticas pelas células dendríticas e macrófagos, aumentando a IL-6, TNF- α e IL-10 (Moroni et al. 2001, Putterman et al. 2014).

Eculizumab é um anticorpo monoclonal anti-C5, aprovado pelo FDA é usado no tratamento da síndrome hemolítica urêmica atípica e para hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) (Caprioli et al. 2006, Noris et al. 2010, Zuber et al. 2011). Em um estudo pequeno fase I com pacientes lúpicos demonstrou redução do CH50 em mais de 80% dos casos (Barilla-Labarca et al. 2013). Cerca de 19 casos relatados na literatura de pacientes diagnosticados com LES com ou sem síndrome anticorpo

antifosfolípídeo (SAAF) que utilizaram esta medicação após não responder as terapias usuais demonstraram uma resposta excelente com esse tratamento, demonstrando ser uma nova alternativa para associar no tratamento da doença para estes pacientes (Anexo I).

Figura 2 – Ativação da via clássica do complemento na patogênese do LES



Legenda: No lúpus a via clássica do complemento é ativada e amplificada. Ocorre a formação de imunocomplexos que se ligam no complexo C1q. A partir desta ligação, ocorre a clivagem e a geração de diversas outras proteínas/moléculas. O C1q irá gerar o C2A e C4B que juntos irão levar a hidrólise do C3, ativando e amplificando a via comum. O final da ativação desta cascata levará a formação de C5A, uma potente anafilatoxina e C5-B9, também chamado de complexo de ataque a membrana.

Fonte: Figura adaptada de (Walport 2001, Caprioli et al. 2006, Noris et al. 2010, Zuber et al. 2011).

O anticorpo antiDNA-ds também é um biomarcador bastante utilizado. Níveis destes anticorpos podem ser detectados até 2 anos antes do diagnóstico clínico da doença nos pacientes (Arbuckle et al. 2001, Arbuckle et al. 2003). Seus níveis elevados têm sido correlacionados com atividade de doença e lesões renais proliferativas na biópsia renal. Estes anticorpos formam IC com fixação e lesão do tecido renal, além da ativação do complemento (Cortes-Hernandez et al. 2004).

A interação de anticorpos antiDNAs em culturas de células humanas ou em culturas de células mesangiais de camundongos induziram à proliferação celular, a apoptose, a ativação de proteína cinase C (PKC), a secreção de IL-6, IL-1 β , TNF- α , Fator transformante de crescimento β 1 (TGF- β 1), síntese de fibronectina (Yung et al. 2006, Yung et al. 2009, Yung et al. 2010, Yung et al. 2015). Estes achados sugerem que estes anticorpos podem contribuir também para expansão mesangial, hiper celularidade, aumento da apoptose, inflamação e fibrogênese observada na nefrite lúpica (Yung et al. 2017).

O antiDNase I também têm sido implicada na patogênese do LES e da nefrite lúpica (Martinez-Valle et al. 2009). A enzima é uma endonuclease ativada pela caspase 3 e é responsável pela degradação da cromatina, gerando unidades nucleossomais, as quais são incluídas em corpos apoptóticos. Esses são considerados importantes na geração de autoantígenos nas doenças autoimunes (Jog et al. 2012). Várias linhas de pesquisa sugerem que a síntese de DNase I não efetiva pode estar envolvida na patogênese da lesão renal na nefrite lúpica (Madaio & Shlomchik 1996, Zykova et al. 2010). Estudos experimentais em camundongos sem DNase I apresentaram alterações semelhantes a nefrite lúpica, como a produção de autoanticorpos para cromatina, a deposição de IC e a glomerulonefrite. Alguns trabalhos demonstraram que níveis séricos de DNase I estão diminuídos em pacientes com diagnóstico de LES quando comparados a indivíduos saudáveis (Chitrabamrung et al. 1981, Napirei et al. 2000). Recentemente, Trofimenko et al. (2016) demonstraram uma correlação dos baixos níveis séricos de DNase I com maior escore do *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI), sugerindo correlação com a atividade da doença. Porém, pacientes com menores escores SLEDAI não apresentaram a atividade desta enzima diminuída. Uma correlação negativa do antiDNase I com a creatinina e a proteinúria também foi observada, especulando-se que ocorre a fixação do antiDNase I no rim nos casos de atividade de doença lúpica. Níveis extremamente baixos do antiDNase I estão correlacionados com altos níveis de anticorpos antiDNase I (Trofimenko et al. 2016). Esses resultados estão de acordo com outro estudo realizado em camundongos que, também demonstrou, que níveis extremamente baixos de antiDNase I estão correlacionados com altos títulos de anticorpos e severidade de doença renal (Jog et al. 2012). O antiDNase I é importante para manter o mecanismo de auto tolerância para antígenos nucleares. Quando esta auto tolerância é diminuída, a deficiência do antiDNase I aumenta a

produção de autoantígenos, estimulando ainda mais uma resposta autoimune (Jog et al. 2012).

A produção de citocinas no glomérulo é um evento precoce na lesão renal no lúpus e precede a infiltração celular, proteinúria e o dano renal em modelos experimentais (Perez de Lema et al. 2001). A proteína-1 quimiotática de monócitos (MCP-1) é uma das principais quimiocinas estudadas nos modelos experimentais de nefrite lúpica (Tesch et al. 1999, Perez de Lema et al. 2001). Esta proteína quimiotática induz a produção de mediadores inflamatórios, tais como IL-1, IL-6, além de aumentar o dano tecidual aumentando a adesão celular de macrófagos e monócitos. Pacientes com nefrite lúpica proliferativa apresentam níveis mais elevados de MCP-1 na urina e no sangue quando comparados com os de nefrite não proliferativa (Lan et al. 2016). Essa proteína tem sido utilizada também como parte de escores e marcadores de atividade de doença na nefrite lúpica, tanto em crianças como adultos, com boa acurácia. Anticorpos antiDNAs puderam induzir secreção de MCP-1 em cultura de células mesangiais através da ativação da PKC e aumento da secreção da IL-1 β (Zhang et al. 2015). Redução do infiltrado inflamatório e proteinúria foram demonstrados em camundongos deficientes de MCP-1, melhorando a histologia renal e prolongando a sobrevivência (Tesch et al. 1999).

Outro estudo experimental em camundongos sugeriu uma ordem de progressão do processo inflamatório da lesão renal na nefrite lúpica que também acontece durante as fases de recidiva da doença. Ocorre um aumento da expressão de várias quimiocinas renais, marcadores de ativação endotelial e quimiocinas derivadas de monócitos concomitante com o início da proteinúria. Quatro foram as quimiocinas identificadas nesse momento da doença em camundongos, CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1 α), CCL5 (RANTES) e CCL9 (MIP-1 γ). Essas quimiocinas demonstraram ter um papel importante na patogênese da nefrite lúpica tanto em camundongos quanto em humanos. Os receptores CCR5 da quimiocina CCL3, CCL5 e CCR2 e os receptores da CCL2 também se apresentaram aumentados com o início da proteinúria. Estes receptores encontravam-se elevados nos infiltrados glomerulares tanto em humanos quanto em camundongos nesta fase da doença (Schiffer et al. 2008).

Diversas citocinas estão envolvidas na patogênese do início nefrite lúpica: IL-1 β , IL-10, IL-6 e TNF- α , fator de ativação da célula B (BAFF) são algumas delas (Schiffer et al. 2008). Esta produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias

exacerba a resposta inflamatória, a apoptose e a produção de autoanticorpos no LES, além da perda da autotolerância (Tsokos et al. 2016). As IL-6, IL-12, IL-17, IFN- γ e IL-10 estão aumentadas em pacientes lúpicos e a IL-4 diminuída quando comparadas a um grupo controle (Guimaraes et al. 2017).

A IL-1 β pode iniciar e propagar respostas imunes e inflamatórias, induzindo a liberação de citocinas pró-inflamatória e moléculas de adesão (Boswell et al. 1988, Brennan et al. 1989, McHale et al. 1999, Voronov et al. 2006). A IL-1 é derivada da infiltração de monócitos e é uma citocina patogênica que induz a glomerulonefrite provocada por IC e a produção de TNF- α nas células renais (Timoshanko et al. 2004).

A IL-6 é uma citocina multifuncional com funções pró e anti-inflamatórias. Na nefrite lúpica depósitos de IL-6 são encontrados em células mesangiais, nos podócitos e nos IC (Yung et al. 2010). A IL-6 também foi correlacionada no LES com o aumento da proteína C reativa, uma proteína de fase inflamatória (Guimaraes et al. 2017).

A IL-10 é uma citocina TReg, muito associada à severidade e à gravidade da doença. Ela aumenta a secreção de anticorpos, regula o crescimento e a liberação de células B e estimula a secreção do TNF- α (Talaat et al. 2015).

A IL-12, produzida por células apresentadoras de antígenos, facilita a resposta adaptativa dos linfócitos Th1 estimulando diretamente a produção de IFN- γ e a diferenciação do Th1 (Tokano et al. 1999). Está elevada na urina e no plasma destes pacientes e presente nas células glomerulares mononucleares renais (Tucci et al. 2008).

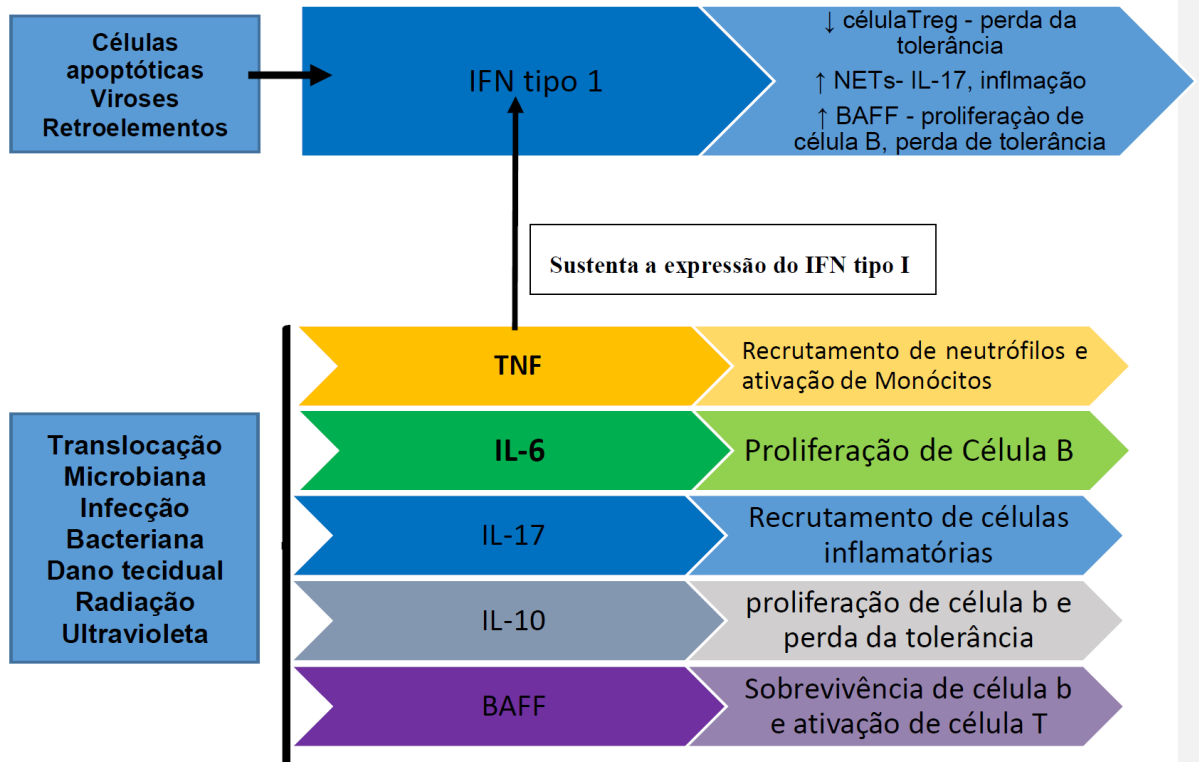
Na nefrite lúpica a IL-17 também tem demonstrado um importante papel. Está correlacionada com proteinúria e antiDNAs e seus níveis elevados estão presentes na fase de atividade de doença (Abdel Galil et al. 2015). A expressão glomerular de IL-17 está elevada em glomerulonefrite proliferativa quando comparados a rins saudáveis, correlacionando-se também com índice de atividade de doença histológica (Chen et al. 2012).

O papel do TNF- α permanece controverso (Weckerle et al. 2012). Ele apresenta ações pró e anti-inflamatórias (Aringer & Crow 2008). Em estudos realizados em modelos de camundongos com LES, o TNF- α é detectado no glomérulo, nas células do músculo liso de vasos, em infiltrados celulares perivasculares, nas células epiteliais peritubulares. Seus níveis circulantes e expressão nas células renais se correlacionam com proteinúria e atividade de doença (Malide et al. 1995, Yokoyama et al. 1995). Alguns estudos demonstraram que a depleção de TNF- α acelera o desenvolvimento

de nefrite lúpica, sugerindo um importante papel dessa citocina em suprimir o sistema imune (Kontoyiannis & Kollias 2000). Os níveis dos receptores do TNF- α (TNFR1/TNFR2) também se apresentaram elevados em uma população lúpica adolescente, assim como o TNF- α , correlacionando-se com atividade de doença (Patel et al. 2016).

Um estudo realizado com 653 pacientes lúpicos, comparativamente a um grupo de controle saudável, demonstrou que os níveis desta citocina estão elevados nos pacientes com LES (Weckerle et al. 2012). Houve uma correlação positiva entre os níveis de TNF- α e IFN- α . Os níveis elevados destas citocinas também se correlacionaram com níveis mais baixos de CH50, podendo sugerir correlação com atividade de doença (Weckerle et al. 2012). As Figuras 3, 4 e 5 descrevem algumas das citocinas envolvidas na patogênese do lúpus e na nefrite lúpica, assim como as suas respectivas funções.

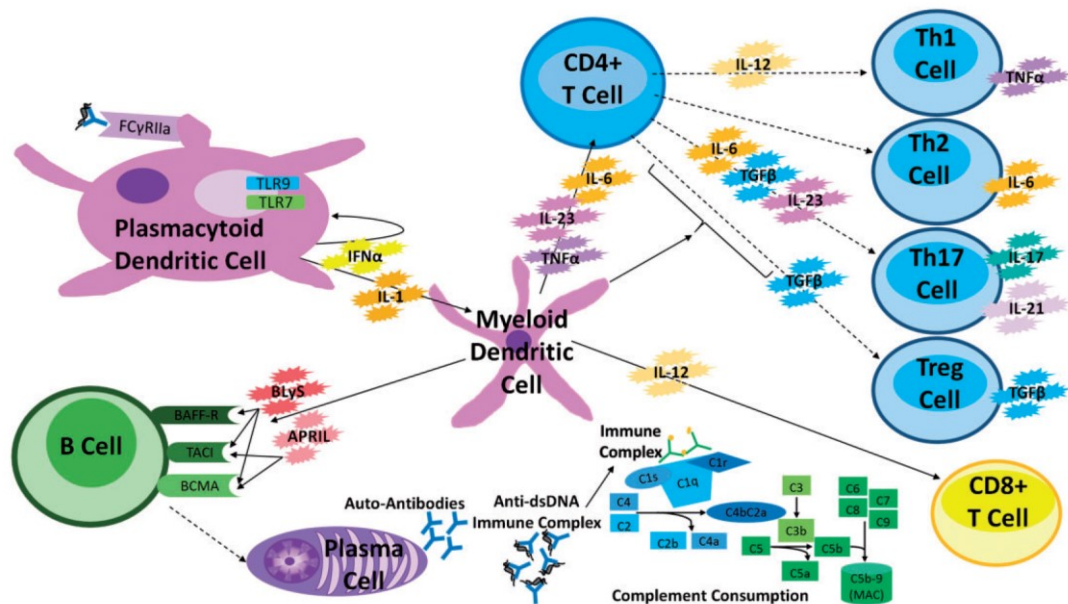
Figura 3- Citocinas envolvidas na patogênese do lúpus e da nefrite lúpica



Legenda: Vários estímulos têm sido correlacionados como fatores desencadeantes no lúpus, induzindo a expressão de citocinas. O efeito é o aumento da expressão destas citocinas inflamatórias e perda da tolerância imunológica. BAFF- fator ativador de célula B; IFN-interferon; TReg- célula T regulatória; NET- Neutrófilo extracelular.

Fonte: Figura adaptada de Tsokos et al. (2016)

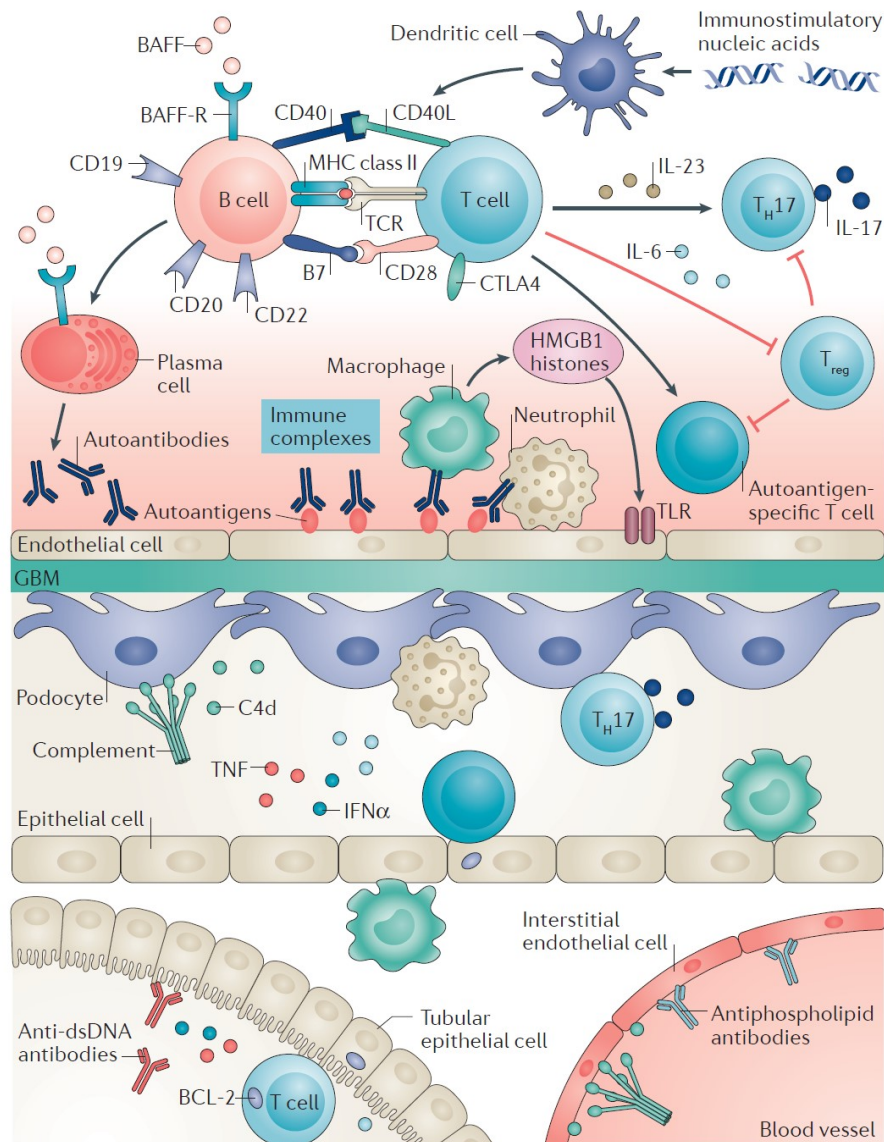
Figura 4 – Biomarcadores e suas correlações celulares com as respectivas ações



Legenda: As linhas contínuas indicam uma citocina agindo em alguma célula imune específica, gerando alguma ação. As células tracejadas indicam a diferenciação da célula T CD4+ em vários subtipos de células T. As células dendríticas plasmocitoides se ligam ao complexo imune antiDNAs com um endossoma contendo TLR7 e TLR9 que podem se ligar com DNA ou RNA ou imunocomplexos, produzindo IFN- α . As células dendríticas mielóides produzem BlyS e APRIL, que se liga a BAFF-R, TACI e BCMA. As células B se diferenciam em células plasmáticas que produz auto anticorpos. Estes autoanticorpos se ligam com os antígenos, formando imunocomplexos, ativando complemento, além disso estes IC se depositam em tecidos. As células dendríticas mielóides produzem IL-6, IL-23 e TNF- α , que ativam as células T CD4+ que se diferenciam em outras subclasses de células T.

Fonte: Arriens et al.(2016)

Figura 5 – Patogênese da nefrite lúpica



Legenda:

Os ácidos nucleicos imunostimulatórios através das células dendríticas estimulam os linfócitos B e ativam os linfócitos T para produção de autoanticorpos e autoantígenos específicos de células T, levando a injúria endotelial glomerular, vascular, tubulointersticial e vascular. Específicos tipos de leucócitos, incluindo o produtor de IL-17, linfócito Th17 leva a inflamação e contribuindo para imunopatologia renal da nefrite lúpica. O fator ativador de células B (BAFF) aumenta a geração de novas células B autorreativas, inibindo a apoptose das células B e estimulando estas células produtoras de imunoglobulinas. Esta infiltração leucocitária estimula a produção de várias citocinas, como IFN- α , TNF, IL-1, IL-6. O HMGB1, biglicana e histonas liberados das células imunes se ligam em receptores *toll like* (TLR) expressos nas células endoteliais, estimulando também uma resposta inflamatória. Além disso, os anticorpos antiDNAs podem induzir secreção de fibronectina das células epiteliais do túbulo proximal, ativando o TGF- β e síntese de colágeno. A ativação do regulador de apoptose BCL-2 pode contribuir para o desenvolvimento da inflamação tubulointersticial, os anticorpos antifosfolípídeos que induzem trombose também podem contribuir para o desenvolvimento de inflamação intersticial vascular.

Fonte:

Yu et al.(2017).

A lesão renal no lúpus também foi descrita associada à presença de anticorpos antifosfolipídeos e atividade crioglobulinêmica (Daugas et al. 2002), assim como também à presença de anticorpos antineutrófilos citoplasmáticos (ANCA), levando a alterações similares às vasculites pauci imunes evidentes na granulomatose de Wegner e poliangeíte microscópica (Koenig et al. 2014, Jarrot et al. 2016).

Anticorpos antifosfolipídeos são evidenciados em 30-50% dos pacientes com lúpus (Petri 2010, Vikerfors et al. 2013). Alterações vasculares associadas nas biópsias renais desses pacientes com coexistência de outras doenças é frequente. Pacientes com SAAF e presença de anticoagulante lúpico apresentam mais alterações de microangiopatia trombótica (Mejia-Vilet et al. 2017). A expressão de β 2 glicoproteína I, uma proteína, foi observada em biópsias de pacientes com nefrite lúpica e SAAF, principalmente em células endoteliais, sendo um marcador de doença (Gao et al. 2016).

Estudo recente de avaliação de 236 biópsias renais de pacientes com LES, 10(4,2%) biópsias apresentavam histologia compatível com nefrite lúpica e histologia compatível com nefropatia por anticorpo antifosfolipídeo (NAAF) concomitante e 10 (4,2%) somente NAAF. Neste mesmo estudo, os pacientes que apresentaram biópsia renal compatível com nefrite lúpica, 48% tinham anticorpos anticardiolipina positivos, 18% apresentaram anti β 2 glicoproteína1 positivo e 25% apresentaram anticoagulante lúpico positivo. Pacientes com NAAF, associada ou não a nefrite lúpica apresentaram o alelo HLA DRB1*13 mais prevalente quando comparados aos pacientes somente com nefrite lúpica (Gerhardsson et al. 2015).

1.4.2 Manifestações Clínicas e Classificação Histopatológica

A nefrite lúpica é caracterizada pela presença de proteinúria acima de 500mg/24h, e/ou hematúria (presença de cilindros hemáticos). A biópsia renal confirma o diagnóstico da nefrite lúpica, estabelece as alterações patológicas, o grau de atividade e cronicidade, guia a estratégia terapêutica e provê informações prognósticas, incluindo a resposta ao tratamento e progressão para DRCT (Yu et al. 2017).

A lesão renal foi classificada de acordo com a Sociedade Internacional de

Nefrologia e Sociedade de Patologia Renal (ISN/RPS) em seis classes histopatológicas em 2003. A primeira classificação de nefrite lúpica foi publicada em 1975 e 1978 pela Organização Mundial da Saúde (WHO) (McCluskey 1975, Appel et al. 1978), foi revisada em 1982 (Grishman et al. 1982) e modificada em 2003 pela ISN/RPS (Weening et al. 2004).

O objetivo da mudança da classificação de 2003 da ISN/RPS foi eliminar inconsistências e ambiguidades presentes na classificação de 1995 (Yu et al. 2017). A avaliação da correlação desta classificação com evolução e prognóstico dos pacientes foi avaliada em diversos estudos (Furness & Taub 2006, Grootsholten et al. 2008).

Recentemente, a avaliação de biópsias de pacientes lúpicas e a evolução delas ao longo de nove anos foi analisada por Rijnink et al. (2017). A classificação da ISN/RPS teve pouca correlação com a evolução clínica desses pacientes. O estudo sugere que a necrose fibrinóide, o crescente fibroso, a fibrose intersticial e a atrofia tubular merecem escores independentes na classificação da nefrite lúpica para acessar o risco de progressão e evolução da doença renal nessas pacientes (Rijnink et al. 2017).

As classes estão descritas na tabela 3. Quando a biópsia renal demonstra envolvimento mesangial puro (Classe I ou II) apresenta-se melhor prognóstico não requerendo terapias imunossupressoras mais potentes (Bertsias et al. 2012). A deposição de complexos imunes no mesângio e a expansão de sua matriz, não levam, geralmente, a dano irreversível, provavelmente pela capacidade regenerativa das células mesangiais. Por essa razão, a nefrite lúpica classe I e/ou II têm melhor prognóstico (Nowling & Gilkeson 2011). A nefrite lúpica proliferativa está associada a um pior prognóstico, com mais de 29% dos pacientes evoluindo para DRCT em 10 anos após início da doença (Mok 2006, Mok 2016).

As manifestações clínicas variam de acordo com a severidade da doença e com a classe histológica. Os pacientes que se apresentam assintomáticos ou sem alterações renais, provavelmente são sugestivos de classe I e, muitas vezes, estes pacientes nem são diagnosticados. As classes II e III são bastante variável, podendo ser assintomáticos até apresentação de alterações renais com proteinúrias desde subnefróticas até nefróticas com disfunção renal. A apresentação clínica-laboratorial que correlaciona-se com a classe IV é um sedimento urinário ativo, proteinúria pode ser severa, disfunção renal, as vezes, perda rápida de função renal, associada a hipo

complementenemia, títulos altos de antiDNAs. Em comparação com a classe IV-S a classe IV-G apresenta-se com proteinúria mais proeminente. A classe V é caracterizada por proteinúria nefrótica evidente na maioria dos casos, com hipercolesterolemia, hipoalbuminemia. Na maioria das vezes, estes pacientes apresentam níveis de complemento normais e antiDNAs negativo. Nas fases iniciais, é difícil a diferenciação da forma primária da glomerulopatia membranosa. A imunofluorescência nesses casos com padrão *full house* e a presença predominante de IgG2 sugerem o diagnóstico de glomerulopatia membranosa do lúpus. A classe VI é caracterizada histologicamente por esclerose glomerular em mais de 90% da amostra, associada a importante fibrose e atrofia intersticial, clinicamente estes pacientes apresentarão uma DRCT estágio 4-5, com alterações importantes da insuficiência renal crônica (Moroni et al. 2016).

Existem tres principais orientações de tratamento da nefrite lúpica: *American College of Rheumatology (ACR)*, *The Kidney disease: Improving Global Outcome (KDIGO)* e o *European League Against and Transplant Rheumatism/European Renal Association – European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA- EDTA)*. Mesmo com todas estas orientações, a taxa de remissão é de 50-70% e 10-20% irão evoluir para DRCT com 5 anos de diagnóstico (Bertsias et al. 2012, Hahn et al. 2012).

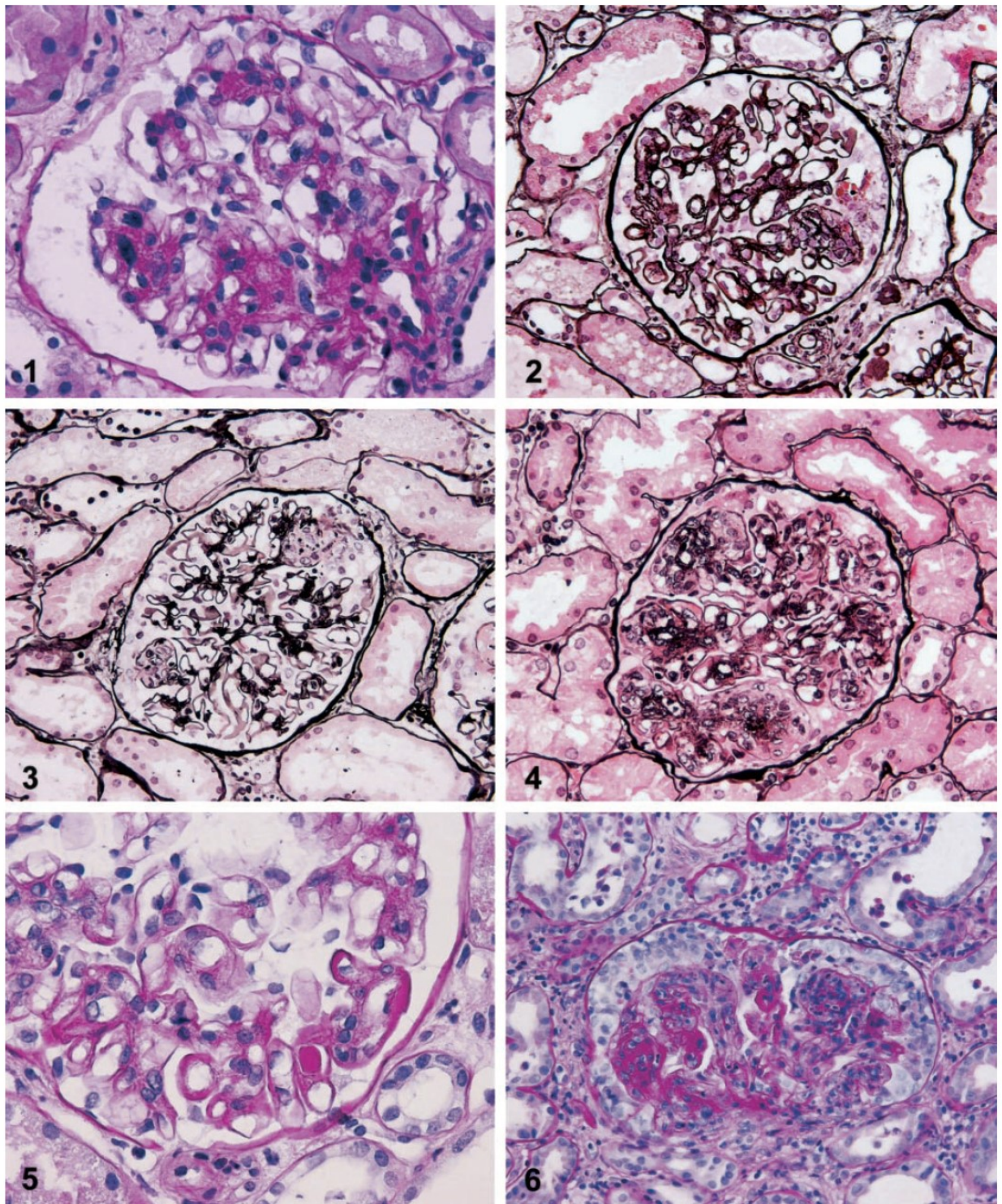
Tabela 3- Classificação da nefrite lúpica

Classificação de Nefrite Lúpica ISN/RPS 2003
<p>Classe I: Nefrite Lúpica Mesangial Mínima</p> <ul style="list-style-type: none"> • Glomérulo normal pela microscopia ótica, depósitos de imunocomplexos na região mesangial na imunofluorescência
<p>Classe II: Nefrite Lúpica Proliferativa Mesangial</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hiper celularidade mesangial de qualquer grau na matriz mesangial pela microscopia ótica, com depósitos imunes mesangiais na imunofluorescência • Poucos depósitos subepiteliais ou subendoteliais podem ser vistos na imunofluorescência e na microscopia eletrônica, mas não na microscopia ótica
<p>Classe III: Nefrite Lúpica Proliferativa Focal</p> <ul style="list-style-type: none"> • Glomerulonefrite com lesões ativas ou inativas focais, segmentares ou globais endocapilar e extracapilar envolvendo < 50% de todos os glomérulos da amostra, tipicamente com depósitos imunes subendoteliais, com ou sem alterações mesangiais
<p>Classe IV: Nefrite Lúpica Proliferativa Difusa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Glomerulonefrite com lesões ativas ou inativas difusas, segmentares ou globais, endocapilar ou extracapilar envolvendo >50% de todos os glomérulos da amostra, tipicamente com depósitos imunes subendoteliais difusos, com ou sem alterações mesangiais • Esta Classe é dividida em Segmentar Difusa (IV-S), quando mais de 50% dos glomérulos têm lesões segmentares, e Difusa Global (IV-G) quando mais de 50% dos glomérulos envolvidos têm lesões globais. Segmentar é definida como uma lesão glomerular envolve menos da metade de um tufo glomerular. Esta classe inclui casos com depósitos <i>wire loop</i>, mas com pouco ou nenhuma proliferação glomerular
<p>Classe V: Nefrite Lúpica Membranosa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Depósitos Imunes globais ou segmentares subepiteliais ou sequela morfológica deles pela MO, IF ou ME, com ou sem alterações mesangiais • Nefrite lúpica Classe V pode ocorrer em combinação com classe III ou IV, no qual as duas são diagnosticadas • Nefrite Lúpica Classe V pode demonstrar esclerose avançada
<p>Classe VI: Nefrite Lúpica com Esclerose Avançada</p> <ul style="list-style-type: none"> • ≥90% de glomérulos globalmente esclerosados sem atividade residual

MO- Microscopia Ótica; IF- Imunofluorescência; ME- Microscopia Eletrônica.

Fonte: Tabela adaptada da *International Society of Nephrology* (Weening et al. 2004).

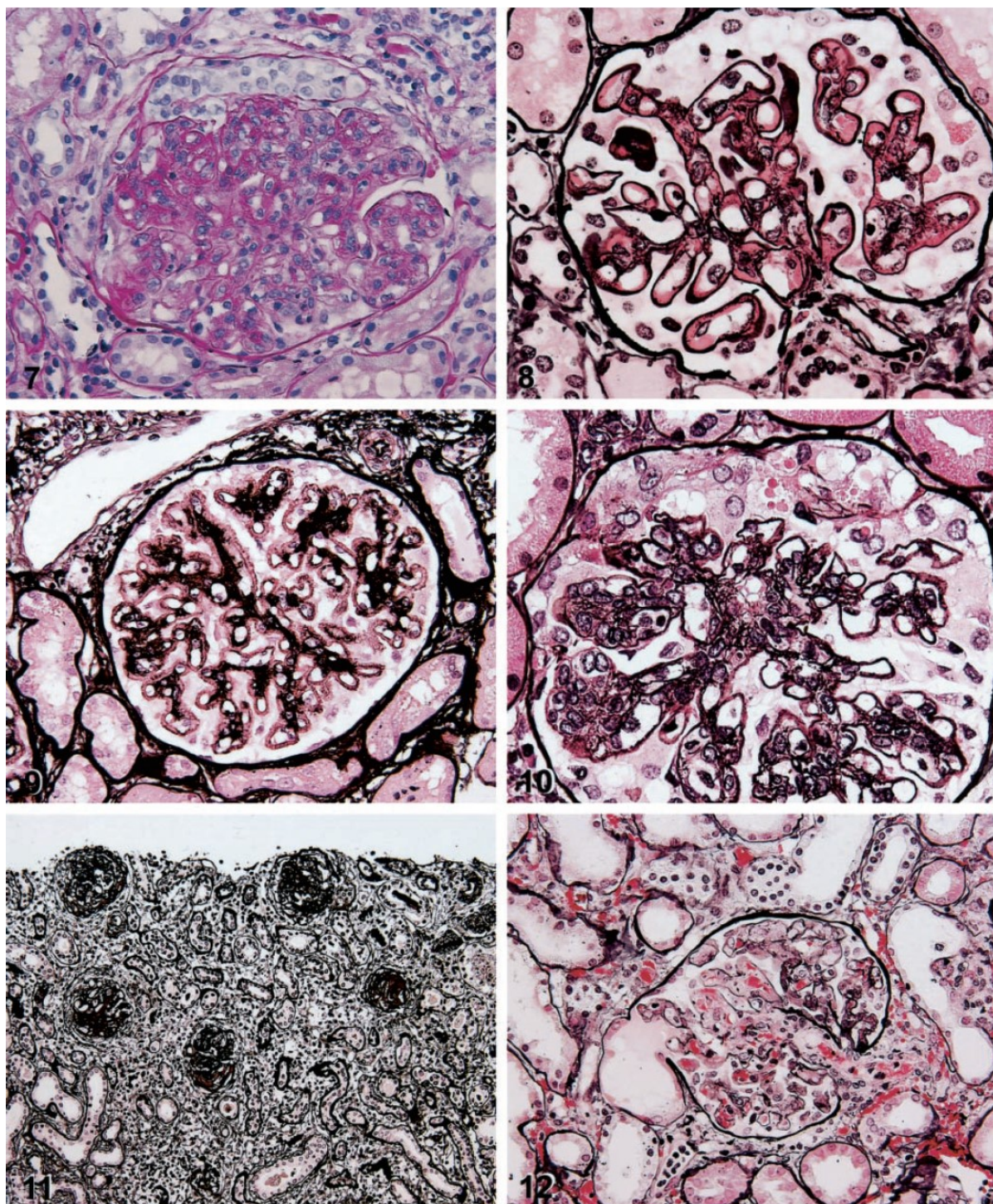
Figura 6A- Fotomicrografias das classes histopatológicas da nefrite lúpica



Legenda: 1- Nefrite lúpica classe II; 2 e 3- Nefrite lúpica classe III; 4- Nefrite lúpica classe IV-G(A); 5- Nefrite lúpica classe IV-S(A); 6- Nefrite lúpica classe IV-G(A/C).

Fonte: *The Classification of Glomerulonephritis in Systemic Lupus Erythematosus Revisited*. Weening et al. (2004).

Figura 6B- Fotomicrografias das classes histopatológicas da nefrite lúpica



Legenda: 7- Classe IV-G (A/C); 8- Classe IV G(A); 9- Classe V; 10-Classe IV e V (A/C); 11- Classe VI; 12- Microangiopatia trombótica no lúpus.
 Fonte: *The Classification of Glomerulonephritis in Systemic Lupus Erythematosus Revisited.* Weening et al. (2004).

1.5 O Transplante Renal e o Lúpus

Entre 10 e 15% dos pacientes com nefrite lúpica irão evoluir para DRCT em 15 anos com necessidade de alguma terapia de substituição renal (Yap et al. 2012, Maroz & Segal 2013).

Estudo recente demonstrou que pacientes com nefrite lúpica têm pior sobrevida tanto em hemodiálise (HR 1,28 95% IC 1,05-1,56 p=0,01) quanto em diálise peritoneal (HR 1,5 95% IC 1,08-2,08 p=0,02) comparados com os controles. Neste mesmo estudo, a recuperação da função renal ocorreu em 5% dos pacientes lúpicos e 1,7% dos pacientes controles, com outras doenças (Zhang et al. 2016).

A outra alternativa de terapia de substituição renal é o transplante renal. Considerando os pacientes lúpicos no geral, a sobrevida renal para o primeiro transplante em 1 ano e 5 anos foi semelhante quando comparado aos controles. Porém, os pacientes com nefrite lúpica, idade elevada no transplante e doador falecido foram associados com maiores taxas de mortalidade (Zhang et al. 2016). Outros autores também demonstraram que pacientes transplantados com diagnóstico de lúpus tiveram a mesma sobrevida renal em 1 ano, 5 anos e 10 anos quando comparados com os controles, numa população latino-americana. Esses pacientes apresentaram a mesma taxa de rejeição aguda e perda do enxerto (Naranjo-Escobar et al. 2017).

Quanto à etnia na população lúpica transplantada, alguns estudos demonstraram que pacientes afroamericanos tiveram pior sobrevida do enxerto renal quando comparados aos caucasianos (Chelamcharla et al. 2007, Tang et al. 2008).

A recorrência do lúpus no pós-transplante pode acontecer. Existem alguns relatos de casos com recorrências catastróficas da doença e algumas vezes associado a SAAF.

Entretanto, o maior desafio dos centros transplantadores continua sendo a rejeição ao órgão transplantador que continua sendo a principal causa de perda de enxerto no transplante renal (Williams et al. 1968, Perico et al. 2004, Opelz et al. 2008).

Em receptores de transplante renal com LES, 43% das perdas do enxerto são decorrentes de episódios de rejeições aguda (Contreras et al. 2010).

A meta dos imunologistas é desenvolver testes capazes de avaliar os riscos de rejeição imunológica dos pacientes no pré-transplante e reconhecer a rejeição pós-

transplante o mais precocemente possível (Oberbauer 2008, Kurian et al. 2009, Gong et al. 2012, Susal & Opelz 2012), bem como eventos infecciosos que possam comprometer a sobrevida do órgão em médio e longo prazo (Acott & Babel 2012, Gong et al. 2012).

Vários marcadores têm sido propostos para monitorar de forma não invasiva a alorreatividade do receptor, mas existem prós e contras na utilização de cada um deles (Aquino-Dias et al. 2008, Oberbauer 2008, Kurian et al. 2009, Susal et al. 2011). Atualmente existe uma vasta literatura médica na área de transplantes dispondo sobre fatores imunogenéticos que influenciam a sobrevida do enxerto (Ozawa et al. 2007, Claas 2012).

Dentre eles o CD30 solúvel tem sido associado ao risco de rejeição tanto no pré quanto no pós-transplante (Anexos II e III).

1.6 O Sistema Antígeno Leucocitário Humano (HLA)

O HLA é a região mais densa geneticamente, a qual engloba mais de 200 genes. Localiza-se no braço curto do cromossoma 6. A maioria destes genes é responsável pela codificação de proteínas do sistema de defesa imunológico (Mangalam et al. 2013). O HLA é subdividido em classe I, classe II e classe III. A classe I contém os locos HLA-A, -B, -C e a classe II os locos HLA-DRB1-9, -DRA1, -DQB1, -DQA1, -DPB1 e -DPA1, que são os principais responsáveis pelo processo e apresentação de peptídeos para reconhecimento pela célula T e que atualmente estão comprovadamente envolvidos na compatibilidade do transplante de órgãos, principalmente de medula óssea e renal. A classe III codifica várias proteínas importantes do sistema imune como C2, C4A, C4B, dentre outras (Ghodke-Puranik & Niewold 2015).

Existem aproximadamente 421 genes relacionados ao Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC), 60% são expressos e 22% são relacionados a funções imunorreguladoras (Fernando et al. 2008). Uma população com maior diversidade de alelos de HLA classe I e II têm maior resistência a episódios infecciosos e vantagem de sobrevida (Trowsdale 2011, Trowsdale & Knight 2013).

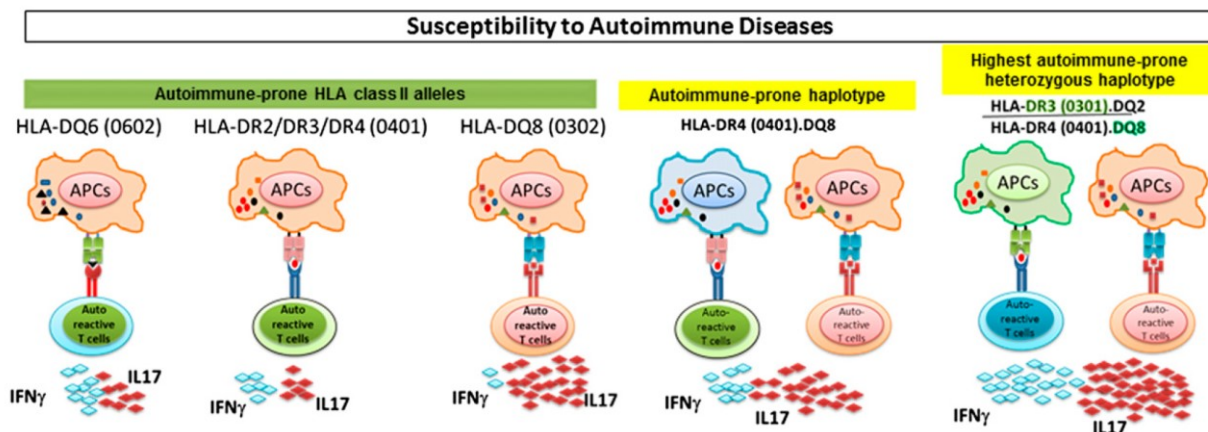
A molécula de HLA classe II é composta por 2 cadeias polipeptídicas, alfa e beta. Cada cadeia alfa e beta tem 2 domínios, com sítios altamente polimórficos. Isso confere a habilidade de reconhecer novos epítomos. As moléculas de HLA classe II são expressas nas células apresentadoras de antígenos, linfócitos B, macrófagos, células dendríticas, células endoteliais (Holoshitz et al. 2013). A população humana passou por vários episódios infecciosos na evolução da humanidade, com altas taxas de mortalidade e, apenas uma pequena porcentagem sobreviveu. Os indivíduos que sobreviveram, provavelmente o fizeram pela presença de moléculas HLA II específicas capazes de exercerem uma resposta imune efetiva e clarear a infecção. Esses alelos HLA transferidos para as gerações posteriores, passaram por mutações ou conversões genéticas, produzindo alelos HLA Classe II melhores na resposta aos patógenos (Apanius et al. 1997, Piertney & Oliver 2006, Trowsdale 2011, Oliver & Piertney 2012, Mangalam et al. 2013).

Vários estudos populacionais realizados por anos identificaram que indivíduos que carregam certos alelos ou haplótipos são mais suscetíveis a certos tipos de doenças (Holoshitz 2013). Alguns exemplos, 90% dos caucasianos com espondilite aquilosa carregam um alelo específico p. ex.: HLA-B*27:02; HLA-B*27:05 (Reveille 2006).

São três os principais passos para desenvolver doenças autoimunes. Primeiro, a predisposição e suscetibilidade à doença depende da presença de alguns alelos/haplótipos HLA classe II. Entretanto, nem todos os indivíduos que carregam este alelo/haplótipo desenvolvem a doença, indicando o envolvimento de outros fatores, como ambientais, que agem com um segundo gatilho precipitando a doença em certos indivíduos. E por último, a progressão da doença depende das diversas citocinas que são secretadas por vários subtipos de células T (Mangalam et al. 2013).

Os antígenos HLA-DR2, -DR3, -DR4, -DQ6 (DQB1*06:02), -DQ8 (DQB1*03:02) estão associados ao desenvolvimento de várias doenças autoimunes como esclerose múltipla, artrite reumatoide, diabetes tipo 1, lúpus. Essas moléculas ativam células T CD4 autorreativas, secretando citocinas pró-inflamatórias, IL-17, IFN- γ . Nos haplótipos de moléculas HLA II, ambos alelos com sinergismo induzem uma doença mais severa com produções aumentadas de citocinas pró-inflamatórias como IL-17 e IFN- γ . Nos casos de heterozigoto (Figura 7), o resultado também deflagra uma cascata de citocinas pró-inflamatórias (Mangalam et al. 2013).

Figura 7- Esquema mostrando suscetibilidade das doenças autoimunes com haplótipos HLA e secreção de citocinas



Fonte: Mangalam et al. (2013).

Vários estudos de genoma humano demonstraram uma associação de locos e alelos de HLA relacionados a uma maior suscetibilidade ao lúpus (Chung et al. 2014). Os alelos de HLA classe II são um dos responsáveis pela ativação das células T e apresentação de antígenos peptídicos exógenos, estimulando a imunidade adquirida (Furukawa et al. 2016). Além disso, produção de autoanticorpos também vêm sendo relacionados as moléculas de MHC (Morris et al. 2014, Misunova et al. 2017).

Em metanálise recente, vários alelos HLA classe II foram relacionados tanto a maior suscetibilidade para a doença, quanto para proteção da doença (Niu et al. 2015). Essa suscetibilidade também vem sendo relacionada com a severidade da doença (Tsao & Wallace 1997, Tian et al. 2000, Cortes et al. 2004).

Ainda existem muitas dúvidas sobre o real mecanismo que as moléculas HLA predispõem as doenças autoimunes. Algumas hipóteses já foram postuladas. Uma delas aventa a possibilidade de uma "identidade equivocada", em que um alelo HLA parece associar-se à doença, embora o próprio responsável pertença a um loco diferente no haplótipo, ou está associado a uma ligação de desequilíbrio (Holoshitz 2013). Outra hipótese seria implicar a reatividade imune a autoantígenos devido à seleção aberrante de repertório de células T e uma reação imune reativa com antígenos estranhos, ou ataque imune contra antígenos "alterados" (Yin et al. 2013).

Além da fisiopatologia da real correlação dos alelos HLA e certas patologias, a

falta de estudos sobre os alelos HLA e as doença auto-ímmunes em nossa população brasileira motivou a idéia da realização deste trabalho.

Como exposto acima, vários alelos podem estar relacionado a maior suscetibilidade a certos tipos de doença e a necessidade de sabermos melhor quais são esses alelos em nossa população é essencial para evolução na melhora do manejo e terapias futuras para estes pacientes.

2 OBJETIVOS

O trabalho apresenta três objetivos principais. O primeiro objetivo é o de avaliar a prevalência dos alelos HLA e sua correlação com uma população de pacientes com LES comparando-a com um grupo controle.

O segundo objetivo é avaliar a correlação destes alelos em pacientes com nefrite lúpica, também os comparando com um grupo controle e com pacientes lúpicos sem nefrite.

O terceiro objetivo é avaliar a correlação da prevalência dos alelos HLA com uma população de lúpicos transplantados renais, investigando se a presença da compatibilidade ou não com os alelos HLA mais prevalentes no LES influenciam na evolução e sobrevida do enxerto renal nessa população, também comparando-a com um grupo controle.

Os objetivos secundários foram: avaliar a sobrevida dos transplantados lúpicos, comparando com transplantado controle, avaliar se existe diferença entre estes grupos em relação a sobrevida e etnia, avaliar se existe diferença em relação ao alelo HLA específico mais prevalente, se encontrado, com relação a etnia.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Pacientes

Este é um estudo retrospectivo, observacional. Nesse trabalho foram incluídos dois grandes grupos: um grupo de pacientes lúpicos e um grupo de pacientes controles. Para uniformizar os grupos e serem realizadas comparações válidas, dentro de cada grupo existiram subgrupos.

Os critérios de inclusão dos pacientes nos grupos de lúpus foram: diagnóstico confirmado de lúpus, presença de tipagem HLA de 3 alelos (A, B e DR). No grupo de lúpus transplantados foram avaliados todos os pacientes lúpicos transplantados no Hospital Federal de Bonsucesso e só foram incluídos os que tinham a tipagem HLA completa, conforme mencionado acima.

Os pacientes lúpicos do HUPE foram incluídos o grupo que possuía tipagem HLA prévia, que já tinham sido avaliados em estudo prévio, independente do acometimento de órgão alvo.

3.1.1 Grupo de Estudo

O grupo de estudo, grupo de pacientes lúpicos (GeLupus) foi formado por dois grandes grupos. Dentro desses grupos existem subgrupos.

O primeiro grupo é um grupo de 44 pacientes transplantados renais submetidos ao transplante por ter DRCT lúpica (TxLES). Esses pacientes são provenientes do serviço de Nefrologia e Transplante Renal do Hospital Federal de Bonsucesso, Rio de Janeiro, Brasil.

O segundo grupo é composto por 64 pacientes com diagnóstico de LES que não foram submetidos a transplante renal (LuSTx). Esses pacientes são provenientes do serviço de reumatologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. Dentro desse grupo, 32 pacientes no total, nos quais 28 apresentavam nefrite lúpica comprovada por biópsia classe III, IV

ou V e 4 pacientes considerados classe III e/ou IV pelas manifestações clínicas.

Todos os pacientes incluídos preencheram os critérios estabelecidos pela classificação da Academia Americana de Reumatologia para diagnóstico de LES. (Hahn et al., 2012).

O grupo de nefrite lúpica (LuNe) foi composto pelos 44 pacientes lúpicos transplantados renais e 32 pacientes que preencheram o critério de nefrite do grupo sem transplante renal, totalizando 76 pacientes. Os pacientes sem nefrite totalizaram 32 pacientes (Figura 6), formando o grupo sem nefrite lúpica (LuSNe).

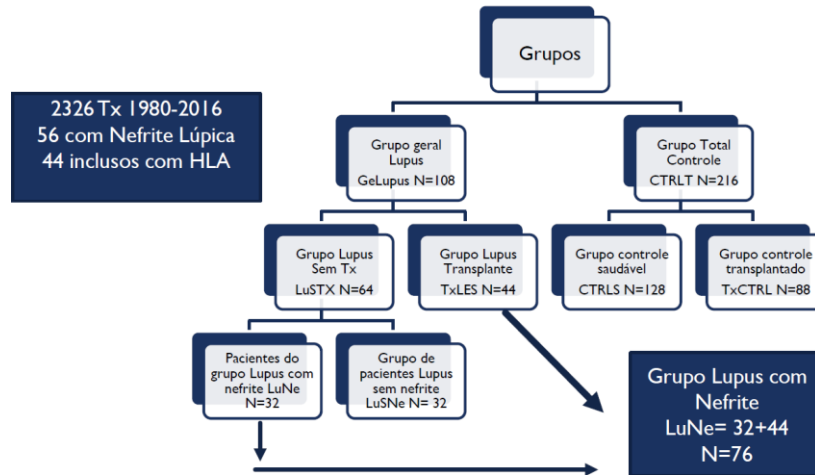
3.1.2 Grupo Controle

O grupo controle total (CTRLTotal) foi formado por 216 pacientes, numa proporção 2:1, pareados por sexo e etnia. Dentro do grupo controle existiam dois grupos: um grupo controle de pacientes saudáveis (CTRLS) e um grupo controle de pacientes transplantados (TxCTRL) com outras doenças que não fossem reumatológicas e/ou LES.

O grupo controle saudável foi formado por 128 pacientes doadores de medula óssea da lista do Estado do Rio de Janeiro que tiveram sua tipagem HLA realizada. Esses pacientes responderam a um questionário, no qual se auto declaravam saudáveis. Os pacientes selecionados desse grupo foram selecionados, pois além de serem saudáveis, não tinham indícios de doenças reumatológicas na família a partir dos questionários.

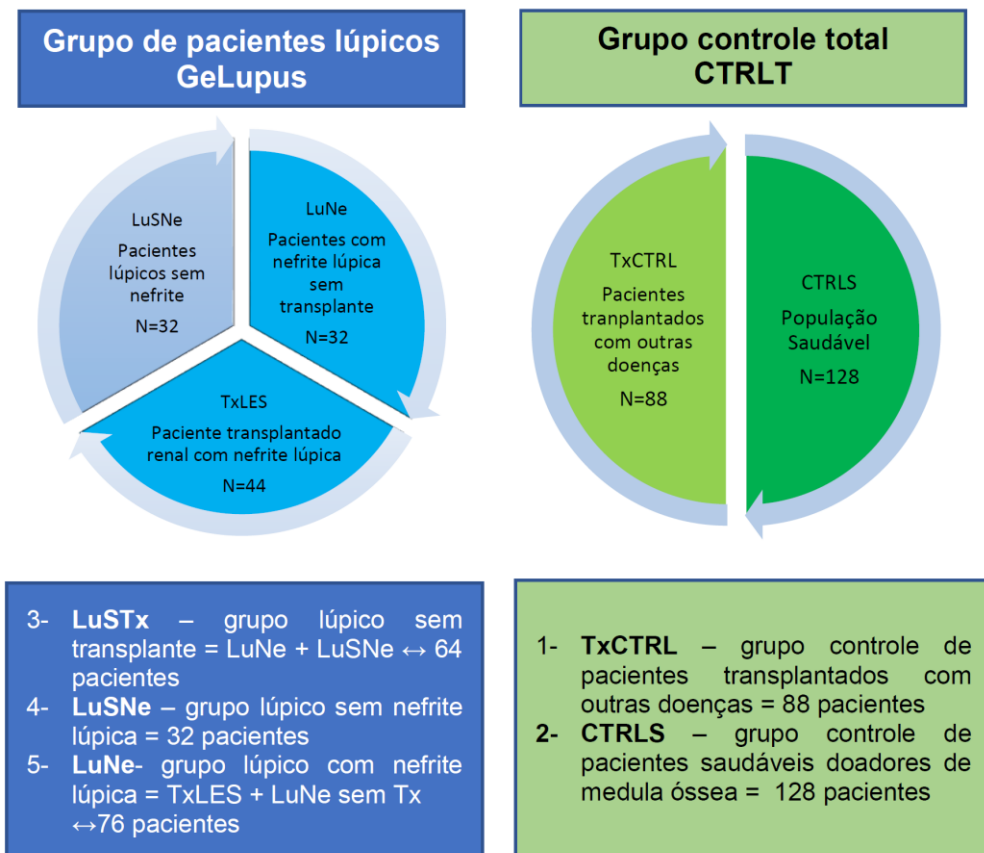
O grupo controle de transplantados renais foi formado por 88 pacientes que foram submetidos a transplante renal no período de 1981-2016 e que não tinha Lúpus e nem doenças reumatológicas e/ou indeterminadas (Figura 6).

Figura 8a- Formação e distribuição dos grupos



Fonte: A autora, 2017.

Figura 8b – Grupo de pacientes lúpicos (GeLupus) e grupo controle (CTRLT)



3.2 Dados Avaliados

Foram avaliados dados de sexo, idade, etnia para todos os grupos. No grupo de lúpicos não transplantados também foram coletados dados de comprometimento de outros órgãos e sistemas relacionados ao lúpus. No grupo de transplantados foram coletados além dos dados demográficos dados do tipo de doador, tipo de imunossupressão, HLA dos doadores, doença de base no grupo controle e desfecho renal em 5 anos. Não foram avaliados em nenhum grupo exames de anticorpos, complemento e sinais de atividade de doença.

Foram coletadas amostras de cada paciente para tipagem dos alelos HLA, locos -A, -B e -DRB1 durante o estudo. Os pacientes saudáveis do grupo controle tiveram amostras coletadas durante a visita para doação. Esses pacientes responderam a um questionário no qual se auto declaram saudáveis.

Os pacientes do serviço de reumatologia do HUPE tiveram uma amostra coletada no laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação da UERJ após assinar o termo de consentimento. Esses pacientes são acompanhados regularmente no ambulatório de reumatologia desse serviço.

Uma amostra pré-transplante foi colhida de todos os pacientes que foram submetidos ao transplante renal no Hospital Federal de Bonsucesso como rotina da preparação para o procedimento do transplante.

Os receptores e doadores do enxerto renal foram avaliados previamente pela equipe de transplante, sendo realizados todos os exames clínicos, laboratoriais e radiológicos necessários para a realização do procedimento com segurança. Sorologias de doenças infecciosas também foram realizadas para a avaliação de possíveis riscos de infecção e determinação daqueles com necessidade de profilaxias para prevenção de quadros infecciosos. Tipagem HLA, PRA e prova cruzada (*crossmatch*) foram realizados entre receptores e possíveis doadores, escolhendo-se os de melhor compatibilidade para o transplante.

O esquema imunossupressor foi definido pela equipe de transplante responsável, consistindo basicamente num inibidor de calcineurina, ciclosporina ou tacrolimus, micofenolato de mofetil e prednisona. A indução com anticorpo monoclonal antireceptor IL-2 (basiliximab, anti-CD25) ou globulina humana (timoglobulina) nos pacientes avaliados como os de maior risco de rejeição foi realizada de acordo com o

protocolo do serviço de transplante renal do hospital. Os níveis séricos dos inibidores de calcineurina foram dosados semanalmente no primeiro mês e posteriormente conforme avaliação médica, e suas dosagens foram ajustadas de acordo com a meta do valor desejado, evitando a nefrotoxicidade.

A avaliação clínica e laboratorial da função do enxerto renal foi feita periodicamente após o transplante. No presente projeto foram utilizadas as informações até maio de 2017 do pós-transplante. A ocorrência dos quadros de rejeição, de infecções, de perda do enxerto e de óbito dos pacientes inclusos durante a vigência desse projeto foram registrados. Foi considerado perda do enxerto quando o paciente retornou para um programa de diálise, hemodiálise ou diálise peritoneal.

A sobrevida avaliada no estudo foi relativa a 5 anos de acompanhamento. Foi considerada sobrevida censurada para óbito na maioria das análises. Na sobrevida censurada para óbito considera-se apenas a sobrevida do enxerto, ou seja, caso o paciente tenha evoluído para óbito com enxerto funcionante, o enxerto era caracterizado como ativo até a data do óbito, não sendo considerado o desfecho como perda do enxerto.

Os pacientes transplantados foram acompanhados ambulatorialmente de acordo com a rotina do serviço de transplante renal do HFB. Em resumo, semanalmente no primeiro mês e conforme a evolução e o passar do tempo após o transplante essas consultas foram sendo espaçadas para cada 2 semanas, depois para mensalmente, trimestralmente e no máximo de 4/4 meses em alguns casos. Em caso de intercorrências, os pacientes eram avaliados com maior regularidade.

No acompanhamento pós-transplante foram avaliados imunossupressão, episódios de rejeição aguda clínica ou rejeição aguda comprovada por biópsia renal e episódios de quadros infecciosos.

Os pacientes do grupo de pacientes do serviço de Reumatologia foram convidados a participar do estudo e assinaram um termo de consentimento informado. Os pacientes transplantados renais e do banco de medula óssea dispensaram a assinatura do termo de consentimento, já que a tipagem do HLA já fazia parte das rotinas requeridas para tais procedimentos e por se tratar de análises retrospectivas. Este projeto é a continuidade de um projeto aprovado pelo Conselho de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (1141-CEP/HUPE CAAE: 0071.228.000-5).

Os grupos foram avaliados inicialmente comparando-se a prevalência dos

Alelos HLA entre os 4 grupos: grupo de lúpicos transplantados (TxLES), grupo lúpico sem transplante (LuSTx), grupo controle saudável (CTRLS) e grupo controle transplantado (TxCTRL). Após esta análise inicial, os grupos foram comparados dois a dois. A comparação ocorreu entre o grupo geral de Lúpus (GeLupus) versus o grupo controle Total (CTRLT), entre o grupo com nefrite lúpica (NeLu) versus grupo sem Nefrite (LuSNe), entre o grupo lúpico sem transplante (LuSTx) versus grupo Controle Saudável (CTRLS) e finalmente, grupo controle transplantado (TxCTRL) versus grupo transplantado lúpico (TxLES).

3.2.1 Testes Laboratoriais

Para os testes de HLA foram colhidos 10 mL de sangue periférico de cada paciente/receptor em tubos estéreis sem anticoagulante. Os tubos foram deixados em repouso até a completa retração do coágulo. Após esta etapa, centrifugados por 10 minutos a 2000 rpm. Os soros foram alicotados em tubos do tipo Eppendorf e armazenados a -70°C até a realização dos ensaios.

A tipagem HLA foi realizada através da reação em cadeia de polimerase (PCR) com os primers de sequência específica (PCR-SSP). O método foi baseado no procedimento específico desenvolvido por Olerup e Zetterquist. A tipagem HLA foi realizada utilizando kits de análise molecular (SSP e / ou SSO) da One Lambda Inc. (Canoga Park, CA, EUA).

Os pacientes que possuíam o antígeno HLA descrito foram substituídos pelo grupo alélico correspondente de acordo com a frequência dos haplótipos e alelos descrita para a população do Rio de Janeiro do registro Brasileiro de Doadores de Medula Óssea - REDOME (www.imunogenetica.org).

Todos os transplantados foram submetidos à prova cruzada com linfócitos T e linfócitos B como parte da rotina do transplante. O teste foi realizado pelo método de citotoxicidade dependente do complemento (NIH-CDC). Foram utilizados Linfócitos T e B dos doadores e testados com o soro dos receptores a partir do sangue periférico. Os linfócitos foram obtidos por gradiente de densidade e isolados e separados por lã de nylon ou por bilhas imunomagnéticas com anticorpo específico. Para avaliar os anticorpos do isotipo (IgM ou IgG), o soro do receptor foi tratado com globulina anti-

humana ou ditiotretol nos ensaios de *crossmatch* para aumentar a sensibilidade, e detectar níveis baixos de anticorpos anti-HLA e anticorpos não-ligadores complemento (IgM), respectivamente.

Os resultados de *crossmatch* foram classificados como negativos para <10% de células não viáveis, fracamente positivas de 11-20% células não viáveis e positivas para 20% ou mais células não viáveis.

3.3 Análises Estatísticas

A distribuição genética dos alelos e haplótipos HLA foi avaliada utilizando o programa Arlequin (Excoffier & Lischer 2010).

As frequências de sexo, grupo étnico, idade, relação com os doadores, foram realizadas por contagem direta. Os dados foram analisados utilizando-se os programas Excel e EPI-INFO versão 3.5.3 e SPSS versão 22.0. As comparações das frequências e das médias das variáveis entre os grupos foram realizadas com o teste ANOVA e quando comparados os grupos dois a dois foi utilizado o teste Qui-quadrado (χ^2) com correção de teste de Yates ou exato de Fisher quando apropriado ($n < 5$) e considerando $p < 0,05$ como estatisticamente significativa. Os resultados significativos das frequências dos alelos HLA foram multiplicados pelo número total de antígenos em cada alelo HLA, com o intuito de obter um valor de p corrigido (p_c), teste de Bonferroni. O Teste T foi utilizado para avaliação e correlação da idade e desfecho em 5 anos.

A análise de sobrevida foi realizada utilizando o método de Kaplan-Meier. Foi considerado significativo $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Dados Demográficos Grupo Geral do Lúpus (GeLupus)

O grupo geral de lúpus apresenta dois grandes grupos: um grupo transplantado renal com lúpus (TxLES) (n=44) e um grupo lúpico sem transplante renal (LuSTx) (n=64).

Foram transplantados um total de 2.326 pacientes de 1980 a 2016 no Hospital Federal de Bonsucesso. Desses, 56 pacientes foram identificados como tendo nefrite lúpica. Entretanto, somente 44 pacientes foram incluídos no grupo transplante renal com Lúpus, pois 12 pacientes não possuíam a tipagem dos tres locos de HLA disponíveis no prontuário. A composição final do grupo ficou da seguinte maneira: 38 pacientes do sexo feminino, dos quais 24 eram brancos e a média de idade foi de 33 anos (12-56).

O grupo LuSTx foi composto por 64 pacientes, 54 do sexo feminino, e 23 pacientes brancos. A média de idade foi de 37,5 anos (20-59). Nesse grupo, 32 pacientes apresentavam nefrite e 13 pacientes serosite. 9 pacientes apresentavam com envolvimento neurológicos, 37 possuíam artrite e 29 tinham acometimento dermatológico.

4.2 Dados Demográficos Grupo Controle Total (CTRLT)

O grupo controle total foi composto por 2 grandes grupos. O grupo controle de pacientes saudáveis (CTRLS) e o grupo controle de pacientes transplantados (TxCTRL).

O grupo CTRLS foi composto por 128 pacientes, dos quais 111 pacientes eram do sexo feminino, 50 eram brancos e a média de idade foi de 43,2 anos (28-59).

O grupo TxCTRL foi composto por 88 pacientes. 76 pacientes eram do sexo feminino, 43 pacientes eram brancos e a média de idade foi de 39,5 anos (11-71). A

distribuição da prevalência das doenças de base era a seguinte: 46 hipertensos, 12 pacientes com glomérulo esclerose segmentar e focal (GESF), 11 portadores de doença renal policística (DRP), 14 com doenças urológicas, 3 diabéticos e 2 pacientes com história de eclampsia (Tabela 4).

O grupo de Nefrite Lúpica (LuNe) era composto por 76 pacientes, dos quais 56 eram do sexo feminino, 27 eram brancos e a idade média foi de 33,9 anos (12-56). O grupo de Lúpus sem nefrite (LuSNe) foi composto por 32 pacientes, dos quais 32 eram do sexo feminino, 16 eram brancos e a idade média foi de 38,8 anos (20-59).

A comparação demográfica dos 2 grandes grupos e dos subgrupos entre eles não apresentou diferenças quanto a sexo e etnia. Os grupos foram homogêneos (Tabela 4).

Tabela 4- Dados demográficos dos grupos estudados

Grupos	Subgrupos	N (pacientes)	Idade ^a (variação)	Sexo ^b (M/F)	Brancos ^c	Não- Brancos ^c
Grupo Controle Total	CTRLS	128	43.2 (20-59)	(17/111)	50	78
	TxCTRL	88	39.5 (11-71)	(12/76)	43	45
Grupo Geral de Lúpus (GeLupus)	TxLES	44	33 (12-56)	(6/38)	20	24
	LuSTx	64	37.8 (20-59)	(10/54)	23	41

(a - $X^2= 43,504$ $p=0,0$; b- $X^2= 0,207$, $p= 0,976$; c - $X^2=3,336$, $p=0,342$)

Legenda: comparação demográfica dos grupos, não houve diferença entre sexo e etnia, apenas idade foi diferente entre os grupos

Fonte: A autora, 2017.

4.3 Dados Demográficos dos Pacientes Transplantados

O grupo TxLES foi composto por 44 pacientes dos quais, 29 eram de transplantados com doadores vivos, 15 de doadores falecidos, 20 não fizeram terapia de indução, 18 induziram com simulect® e cinco com thymoglobulina® e um com OKT3.

Com relação as transfusões prévias, nove pacientes não receberam transfusões antes do transplante, oito receberam uma, seis receberam duas, nove receberam três e doze eram politransfundidos. O grupo TxCTRL formado por 88 pacientes, quanto a terapia de indução, quarenta não foram submetidos a nenhuma transfusão, 42 fizeram simulect® e 6 fizeram thymoglobulina®. Quarenta e nove pacientes do grupo TxCTRL tinham transfusões prévias, treze com uma transfusão, 12 tiveram 2 transfusões, seis com 3 transfusões e dezessete com múltiplas transfusões. A imunossupressão foi baseada num inibidor de calcineurina e corticoide em ambos os grupos, porém no grupo TxLupus tinham 11 pacientes usando azatioprina associado a este esquema e no grupo TxCTRL 20, comparando os grupos não observou-se diferença estatística ($p=0,347$).

Com relação ao tipo de terapia de substituição renal (TSR) prévio ao transplante, também não foi observado diferença entre os grupos. No grupo TxCTRL, 3 pacientes fizeram transplante preemptivo, 74 faziam hemodiálise (HD), 5 por diálise peritoneal (DP) e 6 fizeram as duas terapias. No grupo TxLES 37 fizeram HD antes, um paciente fez DP e 6 fizeram as duas terapias. O tempo médio de TSR antes do transplante foi de 50 meses (aproximadamente 4 anos e 2 meses, variação de 0-172 meses).

Foram considerados pacientes com rejeição aguda (RA) aqueles que apresentaram biópsia renal confirmando o diagnóstico de acordo com a classificação de Banff. Os pacientes que apresentaram aumento da creatinina e/ou diminuição da diurese, e/ou outros sinais de RA que foram submetidos a pulso de metilprednisolona e apresentaram resposta depois da terapêutica foram classificados com RA clínica.

Vinte e cinco (18,9%) pacientes tiveram episódios de rejeição aguda (RA), sendo 18 (20,4%) pacientes no grupo TxCTRL e 7 (15,9%) pacientes no grupo TxLES. Somente 10 pacientes foram submetidos a biópsia renal, cinco pacientes tiveram rejeição aguda humoral, 1 no grupo de TxLES e o restante no grupo TxCTRL, não

houve diferença entre os grupos ($p=0,353$). O tempo do diagnóstico dos episódios de RA variaram de 0-1752 dias da data do transplante, sendo que 16 pacientes apresentaram os episódios no primeiro mês após o transplante.

Vinte pacientes tiveram infecções virais, 12 pacientes no grupo TxCTRL, sendo duas infecções por herpes vírus e o restante por citomegalovírus (CMV), no grupo TxLES foram 8 pacientes com infecções virais, um por herpes e 7 por CMV. Não teve diferença entre os grupos ($p=0,763$). Nove pacientes apresentaram estas infecções no primeiro ano de transplante. Trinta e um pacientes apresentaram infecções bacterianas, sendo 53 episódios infecciosos, alguns pacientes apresentaram mais de 3 episódios. A infecção mais frequente foi a infecção do trato urinário. Os pacientes do grupo TxCTRL apresentaram mais infecções comparados ao grupo TxLES, 26 pacientes versus 5 pacientes TxLES ($p=0,048$).

4.4 Frequência dos alelos e haplótipos HLA

A comparação por pares de amostra populacional do estudo demonstrou que o grupo GeLES era geneticamente distante do grupo controle Total ($F_{ST} = 0,00409$, $p < 0,05$) e os grupos LuSTx e TxLES eram também geneticamente distantes do grupo controle saudável ($F_{ST} = 0,00463$ e $0,00425$, respectivamente). A comparação do GeLupus com o CTRLT em relação a frequência gênica de alelos não demonstrou diferenças tanto no Loco A ($p=0,914$) quanto no loco B ($p=0,072$). Entretanto, no loco DRB1 a frequência entre os grupos foi diferente ($p=0,0003$). A comparação dos 4 subgrupos também demonstrou diferença neste loco ($p=0,0009$), porém nos locos A e B não se observou diferença estatística significativa ($p=0,852$, $p=0,113$, respectivamente – Tabela 5a-c).

Tabela 5a- Frequência genética de alelos HLA-A nos 4 subgrupos: CTRLS, LuSTX, TxCTRL e TxLES. Os grupos foram pareados para etnicidade e sexo.

	CTRLS	LuSTx	TxLupus	TxCTRL
N de alelos	256	128	88	176
HLA-A				
01	0,0820	0,1172	0,0568	0,0625
02	0,2578	0,2266	0,2500	0,2614
03	0,0742	0,0938	0,0568	0,0795
11	0,0469	0,0234	0,0455	0,0455
23	0,0664	0,0625	0,0909	0,0739
24	0,0859	0,0625	0,1136	0,0852
25	0,0039	0,0313		0,0170
26	0,0313	0,0156	0,0227	0,0284
29	0,0508	0,0625	0,0227	0,0341
30	0,0859	0,0859	0,1705	0,0795
31	0,0273	0,0391	0,0341	0,0341
32	0,0195	0,0313	0,0341	0,0227
33	0,0430	0,0391		0,0284
34	0,0156	0,0078		0,0170
36	0,0117	0,0156	0,0114	0,0114
43			0,0114	0,0114
66	0,0195	0,0078	0,0114	0,0057
68	0,0430	0,0547	0,0682	0,0739
69				0,0057
74	0,0352	0,0234		0,0227

Legenda: Não houve diferença entre os grupos na frequência no locos A
 Fonte: A autora, 2017.

Tabela 5b- Frequência genética de alelos HLA-B nos 4 subgrupos: CTRLS, LuSTX, TxCTRL e TxLES. Os grupos foram pareados para etnicidade e sexo.

	CTRLS	LuSTx	TxLES	TxCTRL
N de alelos	256	128	88	176
HLA-B				
07	0,0781	0,1172	0,1136	0,0852
08	0,0313	0,1094	0,0795	0,0511
13	0,0117		0,0341	0,0170
14	0,0430	0,0469	0,0227	0,0625
15	0,1367	0,0547	0,1023	0,1080
18	0,0430	0,0469	0,0795	0,0170
27	0,0234			0,0227
35	0,0742	0,0859	0,0455	0,1307
37	0,0078	0,0078		
38	0,0156	0,0156	0,0227	0,0114
39	0,0195	0,0391	0,0341	0,0284
40	0,0313	0,0391	0,0227	0,0511
41	0,0195	0,0078		0,0114
42	0,0313	0,0156	0,0568	0,0568
44	0,1172	0,0469	0,0795	0,0795
45	0,0234	0,0156	0,0114	0,0227
47		0,0156		
48		0,0078		0,0057
49	0,0352	0,0313	0,0455	0,0057
50	0,0234		0,0341	0,0114
51	0,0742	0,1016	0,0795	0,0909
52	0,0117	0,0156	0,0114	
53	0,0547	0,0859	0,0341	0,0398
55		0,0078	0,0114	0,0170
57	0,0234	0,0234	0,0114	0,0170
58	0,0586	0,0469	0,0568	0,0455
73	0,0039			
81	0,0078	0,0156		0,0114
82			0,0114	

Legenda: Não houve diferença entre os grupos na frequência no locos B.
 Fonte: A autora, 2017.

Tabela 5c- Frequência genética de alelos HLA-B nos 4 subgrupos: CTRLS, LuSTX, TxCTRL e TxLES. Os grupos foram pareados para etnicidade e sexo.

	CTRLS	LuSTx	TxLES	TxCTRL
N de alelos	256	128	88	176
HLA-DRB1				
01	0,0703	0,0625	0,0455	0,1193
03	0,1289	0,1875	0,1364	0,1307
04	0,0898	0,0781	0,0795	0,1023
07	0,1367	0,1094	0,1477	0,0739
08	0,0391	0,1094	0,0909	0,0682
09	0,0078	0,0078		0,0170
10	0,0234	0,0078	0,0114	0,0341
11	0,1367	0,0625	0,0568	0,0909
12	0,0273	0,0156	0,0227	0,0511
13	0,1758	0,1016	0,0909	0,1420
14	0,0156	0,0156	0,0227	0,0398
15	0,1211	0,2031	0,2614	0,1250
16	0,0273	0,0391	0,0341	0,0057

Legenda: Houve diferença entre os grupos na frequência no locos DRB1
 Fonte: A autora, 2017.

Em geral, o loco B tem um desequilíbrio de ligação entre os locos A e DRB1, exceto em TxCTRL no qual o loco B mostrou desequilíbrio de ligação com loco A. O equilíbrio de Hardy-Weinberg estava ausente apenas para o loco A no subgrupo TxCTRL (heterogeneidade observada 0,78409, $p = 0,034$). Os haplótipos mais frequentes estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Frequência de haplótipos e ordem encontrada em mais de um paciente lúpico- TxLES e LuSTx em comparação com a frequência de controles saudáveis (CTRLS) e controles transplantados (TxCTRL)

HLA-A-B-DRB1	CTRLS	TxCTRL	LuSTx	TxLES
01-08-03	0,0156 (8)		0,0703 (1)	
02-07-15	0,0195 (4)			0,0681 (1)
30-07-15	0,0039 (94)		0,0156 (4)	0,0340 (2)
25-18-15			0,0234 (2)	
01-53-15			0,0234 (2)	
68-15-11				0,0227 (3)
68-08-15				0,0227 (3)
30-58-08				0,0227 (3)
30-44-15				0,0227 (3)
24-15-13				0,0227 (3)
02-51-08				0,0227 (3)
02-44-11	0,0039 (161)	0,0227 (2)	0,0156 (4)	0,0227 (3)
02-15-03	0,0117 (15)			0,0227 (3)
02-13-07				0,0227 (3)
01-51-03				0,0227 (3)
23-07-15			0,0156 (4)	
33-51-03			0,0156 (4)	
32-07-15		0,0056 (57)	0,0156 (4)	
31-51-11			0,0156 (4)	
31-35-08			0,0156 (4)	
30-57-07			0,0156 (4)	
29-53-03			0,0156 (4)	
29-35-07			0,0156 (4)	
24-44-13	0,0039 (115)		0,0156 (4)	
03-15-07			0,0156 (4)	
03-07-04			0,0156 (4)	
02-51-11	0,0117 (12)		0,0156 (4)	
02-51-04			0,0156 (4)	
02-40-11		0,0113 (22)	0,0156 (4)	
02-14-13			0,0156 (4)	
02-07-01			0,0156 (4)	
01-58-13			0,0156 (4)	
23-07-07			0,0156 (4)	

Fonte: A autora, 2017.

4.5 Prevalência dos Alelos HLA

A primeira comparação foi feita entre os quatro grupos, CTRLS, TxCTRL, TxLES e LuSTx descrito na tabela 7. Observou-se diferença na prevalência de 3 alelos, B*08, DRB1*08 e DRB1*15. Esses alelos foram mais prevalentes nos grupos lúpicos comparados aos controles. Entretanto, quando a correção de Bonferroni foi aplicada, o único alelo que permaneceu prevalente foi HLA DRB1*15.

Tabela 7 – Prevalência alélica entre os grupos

Groups	CTRLS N=128	TxCTRL N=88	LuSTx N=64	TxLES N=44	p-value	Pc- value
B*08	8(6,2%)	9(10,2%)	13(20,4%)	7(15,9%)	0,02	0,71
DRB1*08	10(7,8%)	10(11,4%)	14(21,9%)	8(18,2%)	0,03	0,42
DRB1*15	43(19,9%)	12(11,1%)	24(37,5%)	21(47,7%)	0,004	0,05

Legenda: Maior prevalência dos alelos B*08, DRB1*08, BRB1*15 nos pacientes lúpicos
 Fonte: A autora, 2017.

A segunda análise realizada foi a comparação entre o grupo GeLupus (n=128) e CTRLT (n=216). Essa análise demonstrou uma maior prevalência de oito alelos: B*08, B*15, B*27, B*44, DRB1*08, DRB1*11, DRB1*13 e DRB1*15. Os alelos mais prevalentes no GeLupus foram B*08, DRB1*08 e DRB1*15. Os outros alelos foram fator de proteção para Lúpus. Após o teste de Bonferroni o único alelo que permaneceu prevalente foi o DRB1*15 (tabela 8).

Tabela 8- Prevalência de alelos comparando GeLupus e CTRLT

Alelos	Grupo CTRLT N=216	Grupo GeLupus N=108	Odds Rate	p-value	Pc-value
B*08	17(17,9%)	20(18,5%)	2,66	0,004	0,137
B*15	51(23,6%)	15(13,9%)	0,52	0,026	0,769
B*27	10(4,7%)	0(0,0%)	0,00	0,034	0,468
B*44	42(19,4%)	12(16,7%)	0,51	0,038	1,113
DRB1*08	20(9,3%)	22(20,4%)	2,50	0,005	0,065
DRB1*11	49(22,7%)	13(12%)	0,46	0,014	0,182
DRB1*13	65(30%)	20(18,5%)	0,52	0,016	0,215
DRB1*15	50(23,2%)	45(41,7%)	2,37	0,0005	0,0067

Fonte: A autora, 2017.

A comparação dos grupos LuNe e LuSNe(tabela 9) não mostrou diferença na prevalência dos alelos, porém o alelo HLA DRB1*15 estava presente em 39,47% dos pacientes do LuNe e 46,87% no grupo LuSNe ($p=0,307$).

Outra comparação realizada foi entre o grupo LuSNe ($n=32$) e o grupo CTRLS ($n=128$). Os alelos mais prevalentes foram A*02, B*07, B*08, DRB1*08, DRB1*11, DRB1*13 e DRB1*15 como mostrado na tabela 9.

Tabela 9- Prevalência dos alelos comparando o grupo com nefrite lúpica (LuNe) X Grupos Lúpus Sem Nefrite (LuSNe)

Alelo	LuNe (n=76)	LuSNe (n=32)	OR	p-value	Pc-value
A*02	37 (48,6%)	8 (25,0%)	0,354	0,018	0,360
A*03	8(10,5%)	9 (28,1%)	3,283	0,025	0,500
A*33	1 (1,32%)	4 (12,5%)	10,452	0,026	0,520
A*74	0(0,00%)	3 (9,38%)	Undefined	0,024	0,480
DRB1*04	8(10,5)	9 (28,1%)	3,28	0,025	0,325

Legenda: Não houve diferença entre a prevalência dos alelos entre os dois grupos, quando corrigidos por bonferroni

Fonte: A autora, 2017.

Tabela 10- Prevalência de alelos comparando grupo controle saudável (CTRLS) X Lúpus sem Nefrite (LuSNe)

Alelo	CTRLS (n=128)	LuSne (n=32)	OR	p-value	Pc-value
A*02	58 (45,3%)	8 (25,0%)	0,405	0,027	0,540
B*07	20 (15,6%)	10 (31,2%)	2,43	0,042	1,638
B*08	8 (6,2%)	6 (18,7%)	3,42	0,036	1,404
DRB1*08	10 (7,8%)	7 (21,9%)	3,27	0,029	0,377
DRB1*11	33 (25,7)	3 (9,3%)	0,29	0,033	0,429
DRB1*13	43 (33,5%)	4 (12,5%)	0,28	0,013	0,169
DRB1*15	29 (22,6%)	15 (35,7%)	2,98	0,008	0,104

Legenda: Os alelos B*08 e DRB1*08 foram mais prevalentes no grupo de Lupus sem Nefrite com as maiores OR.

Fonte: A autora, 2017.

Considerando apenas os pacientes transplantados renais, avaliou-se os grupos TxCTRL (n=88) e TxLupus (n=44). O resultado mostrou maior prevalência nos alelos A*30, B*18, B*49, DRB1*07 e DRB1*15 no grupo TxLupus comparado com o TxCTRL. Após a correção de Bonferroni nenhum alelo demonstrou significância estatística,

porém do alelo DRB1*15 teve uma importante tendência de maior prevalência no grupo TxLES ($p=0,065$)(Tabela 11).

Tabela 11- Prevalência dos alelos comparando TxLES e TxCTRL

Alelos	TxLES N=44	TxCTRL N=88	Odds Rate	p-value	Pc -value
A*30	14 (31,8%)	13 (14,7%)	2,69	0,021	0,426
B*18	7 (15,9%)	3 (3,4%)	5,36	0,016	0,459
B*49	14 (9,1%)	1 (1,14%)	8,7	0,042	1,221
DRB1*07	12 (27,2%)	12 (13,6%)	2,37	0,049	0,637
DRB1*15	21 (47,7%)	21 (23,8%)	2,91	0,005	0,065

Legenda: Tendência a maior prevalência do alelo DRB1*15 no grupo Transplantado lúpico, quando comparado com transplantado controle

Fonte: A autora, 2017.

A comparação dos grupos controles entre eles não demonstrou nenhum alelo prevalente, estatisticamente significativo. A prevalência do HLA DRB1* 15 também foi avaliado de acordo com a etnia para avaliação de alguma correlação com a mesma, porém não foi evidenciado diferença estatística entre os dois grupos.

4.6 Sobrevida Renal

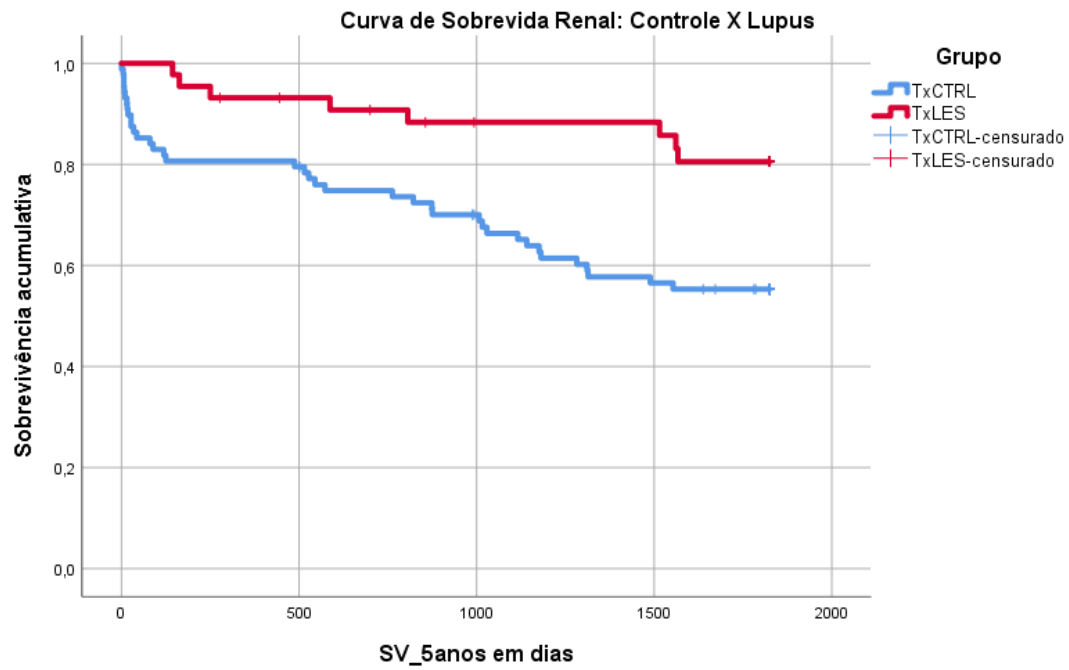
A sobrevida geral em 5 anos dos transplantados avaliados nesse trabalho foi de 65,2%, sendo 81,8% no grupo TxLES e 56,8% no grupo TxCTRL($p=0,05$, Figura 9a). Quando censuramos para óbito, ou seja, avaliando apenas a sobrevida do enxerto, a sobrevida renal total em 5 anos foi de 73,5%, no grupo lúpico foi de 90,9% e no controle de 64,8% ($p=0,01$; figura 9b). Considerando que não pareamos os grupos para idade e que o grupo TxCTRL tinha uma idade média maior que o grupo TxLupus, foi realizado um teste-t correlacionando a idade com desfecho em 5 anos e não foi observada diferença na média da idade para quem teve perda do enxerto. A média de idade para quem evoluiu com perda em 5 anos foi de 37,9 sd 12,6 versus

37,2 sd 13,4 para quem não teve perda do enxerto ($p=0,316$).

Em relação ao tipo de doador (vivo ou falecido) os grupos não apresentaram diferenças no tocante ao desfecho em 5 anos ($p=0,300$). Considerando a possibilidade da doença de base ser um fator de influência na perda do enxerto, dividimos o grupo controle em pacientes Hipertensos e com outras doenças e comparamos com os pacientes do grupo lúpico. Comparamos então 3 grupos: Lúpus, HAS e outras doenças. Os pacientes hipertensos apresentaram uma sobrevida censurada para óbito de 54,2%, comparado a 77,5% das outras doenças e de 90,2% aos lúpicos ($p=0,105$).

Quando avaliamos a curva de sobrevida em 5 anos em relação a etnia, dos 2 grupos juntos, observamos uma maior sobrevida nos brancos (76,2%) x não brancos (55,1%; $p=0,008$), censurado para óbito, a sobrevida para os brancos foi 85,7% e os não brancos de 62,3% ($p=0,001$). No grupo lúpico o resultado encontrado foi de 75% de sobrevida para os não brancos e 90% para os brancos, apesar de não ter sido significativo ($p=0,144$). Porém, quando censuramos para óbito, a sobrevida para os brancos foi de 100% e para os não brancos de 83,3% ($p=0,040$). Existe uma tendência de pior sobrevida para os não brancos. O mesmo acontecendo no grupo controle, 65,1% de sobrevida para os brancos versus 44,4% para os não brancos ($p=0,047$, Figuras 10a-10c).

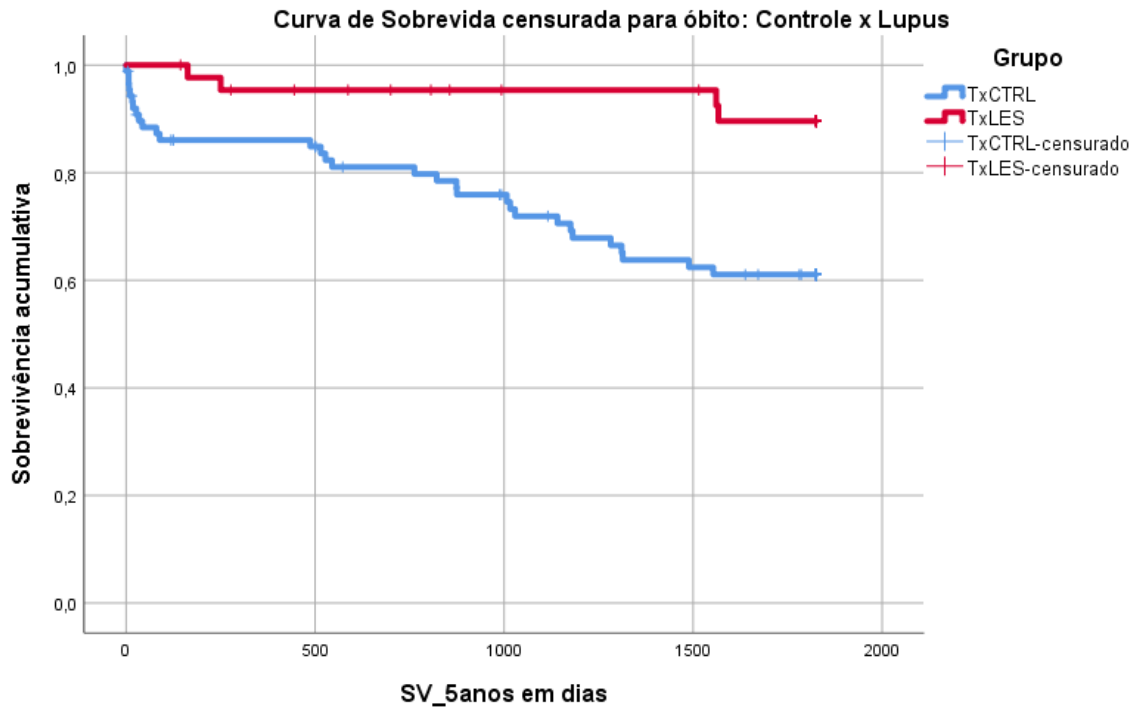
Figura 9a- Curva de Sobrevida em 5 anos dos grupos: TxLES e TxCTRL



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos comparando os grupos TxCTRL(56,8%) versus TxLES(81,8%) (P=0,05)

Fonte: A autora, 2017.

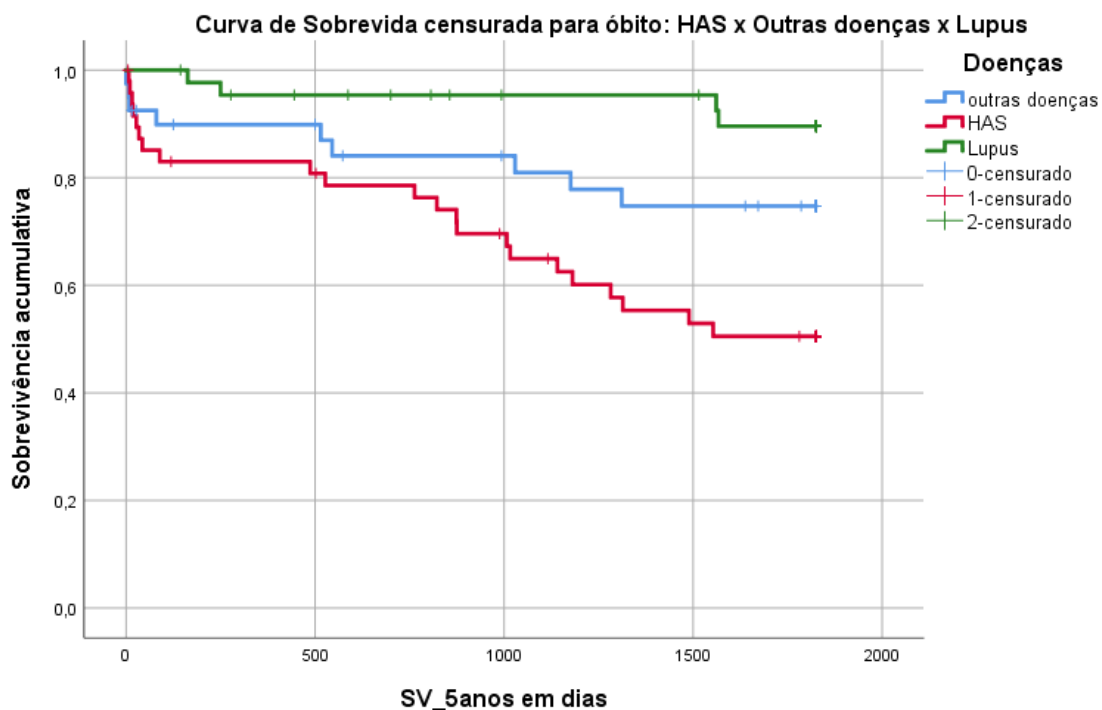
Figura 9b- Curva de Sobrevida em 5 anos censurada para óbito dos grupos: TxLES e TxCTRL



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito comparando os grupos TxCTRL(64,1%) versus TxLES(90,9%) (P=0,01)

Fonte: A autora, 2017.

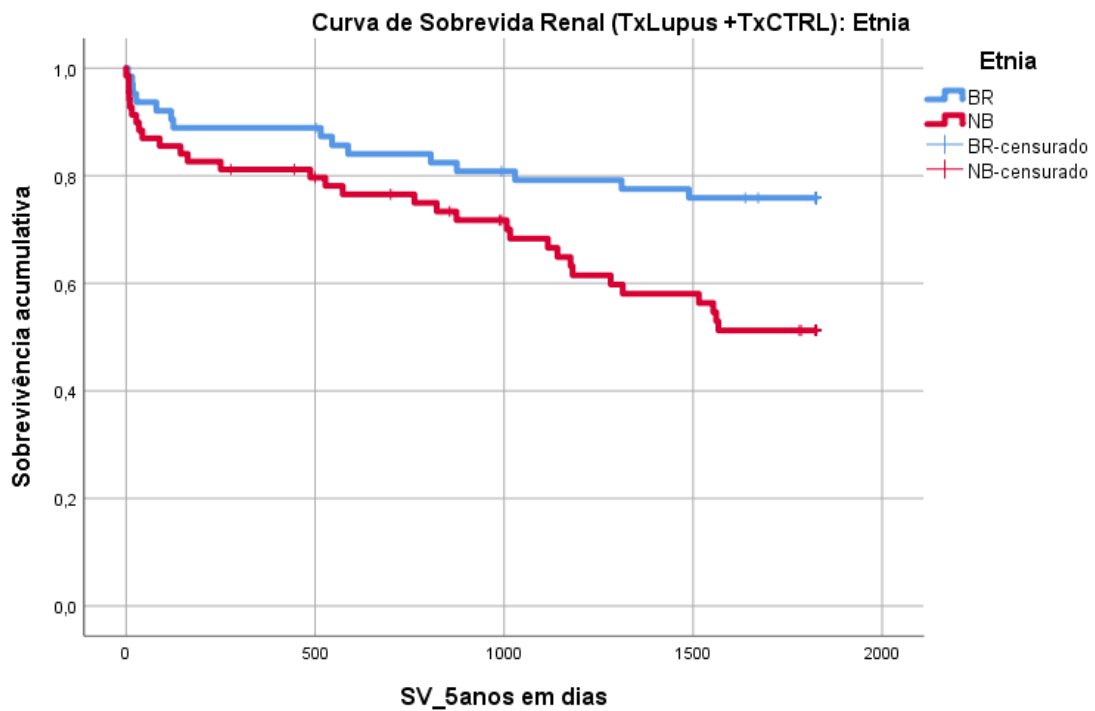
Figura 9c- Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito: Comparação HAS x Outras doenças X Lupus



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito comparando os 3 grupos: hipertensos (54,2%) versus outras doenças (77,5%) versus Lupus (90,2%) (P=0,105)

Fonte: A autora, 2017.

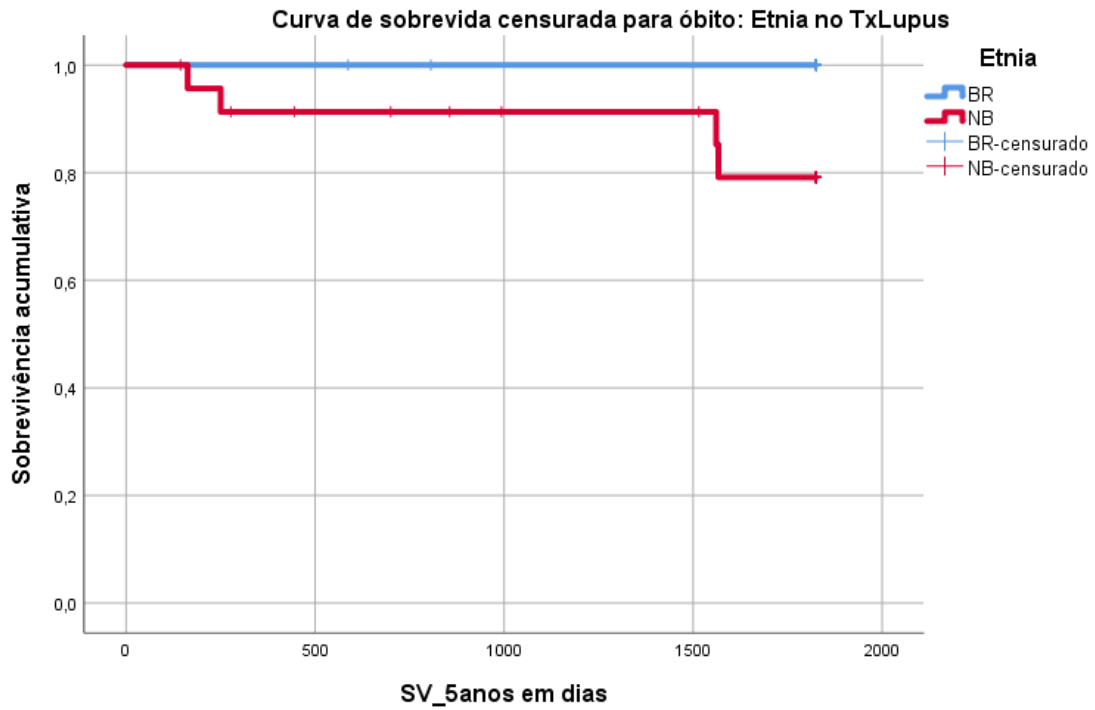
Figura 10a - Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito: etnia nos dois grupos em conjunto



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito comparando brancos(BR)(85,7%) e não brancos(NB)(62,3%) em todos os pacientes($p=0,001$).

Fonte: A autora, 2017.

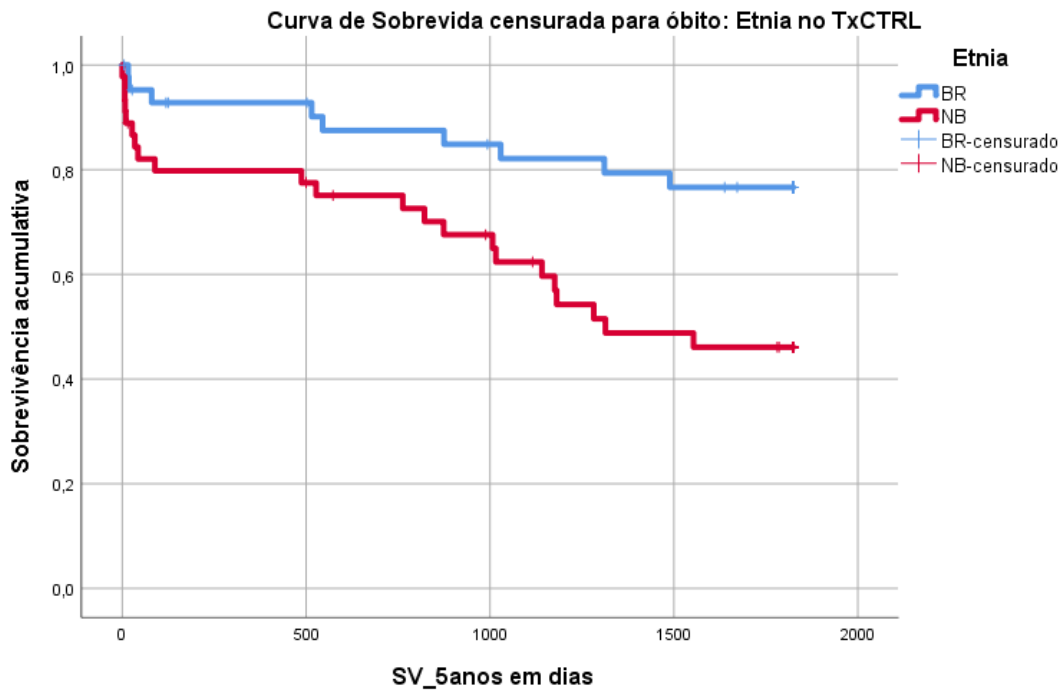
Figura 10b – Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito: etnia no grupo TxLES



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito em brancos(BR) (100%) e não brancos (NB)(83,3%) no grupo TxLupus ($p=0,040$)

Fonte: A autora, 2017.

Figura 10c – Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito: etnia no TxCTRL



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito em brancos(BR) (65,1%) e não brancos (NB)(44,4%) no grupo TxLupus (p=0,047)

Fonte: A autora, 2017.

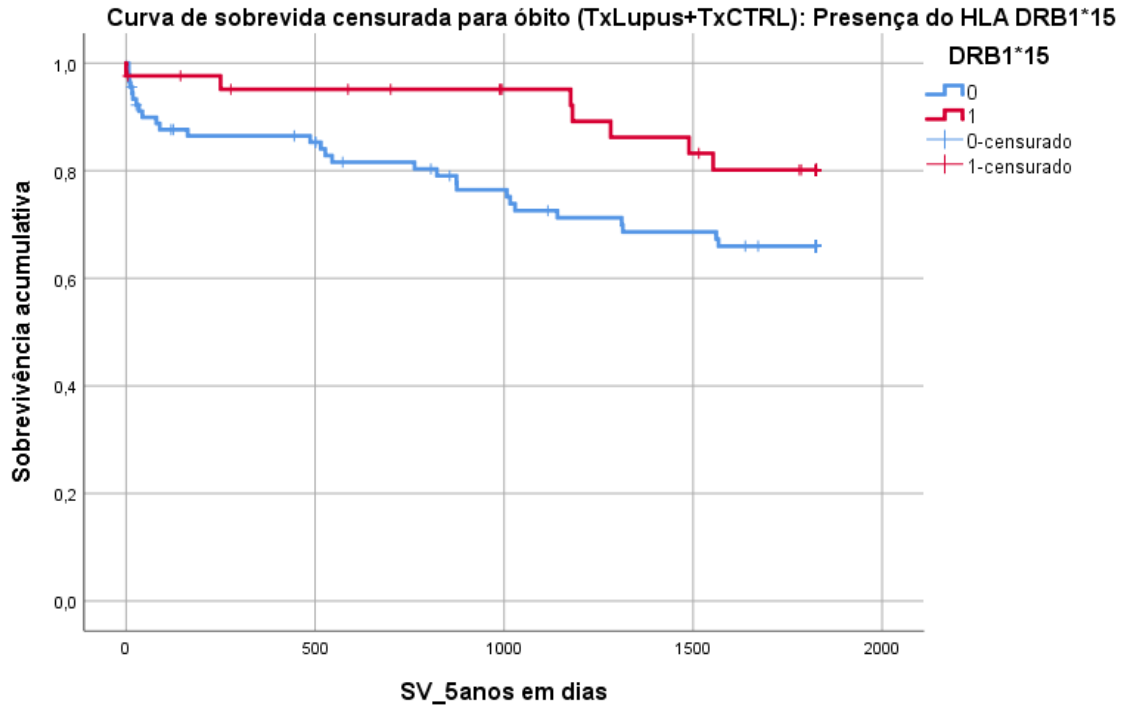
4.7 Sobrevida renal e correlação com compatibilidade HLA DRB1*15

Foram avaliados os pacientes que possuíam o alelo HLA DRB1*15 nos dois grupos e dentre esses pacientes foram identificados os pacientes que possuíam *match/compatibilidade* no seu receptor com este alelo. Comparou-se as sobrevidas dos pacientes que possuíam este alelo versus os que não possuíam, e em seguida avaliou-se os pacientes que apresentavam a *compatibilidade/match* e sem *compatibilidade/match*.

A sobrevida de todos os pacientes em 5 anos não foi diferente entre todos os grupos juntos nos pacientes que carregavam o alelo comparado aos que não carregavam ($p=0,075$) e quando os grupos foram comparados ($p=0,059$).

No grupo TxLES a sobrevida dos pacientes que carregavam o alelo DRB1*15 foi de 95,2% versus 65% no grupo TxCTRL ($p=0,419$)(Figura 11a-11d).

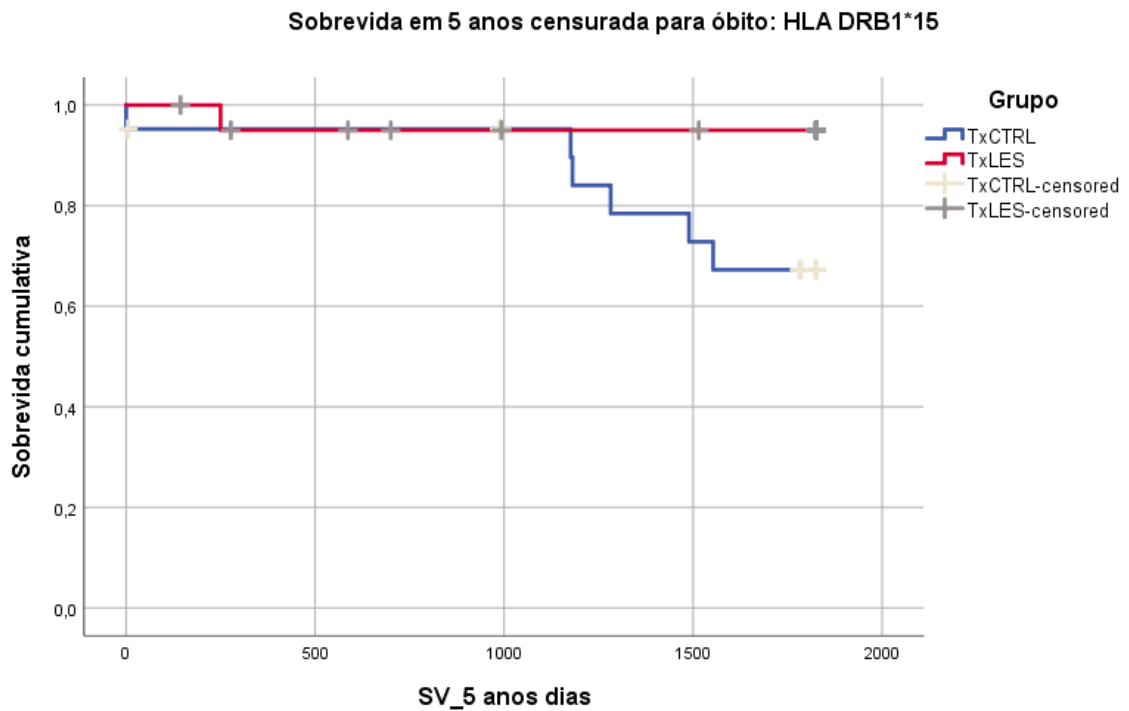
Figura 11a - Sobrevida renal de todos os pacientes transplantados em 5 anos avaliando a Presença do alelo HLA DRB1*15



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito de pacientes com presença(1) do alelo HLA DRB1*15 (80%) versus pacientes com a ausência(0) do alelo (63%) (p=0,075)

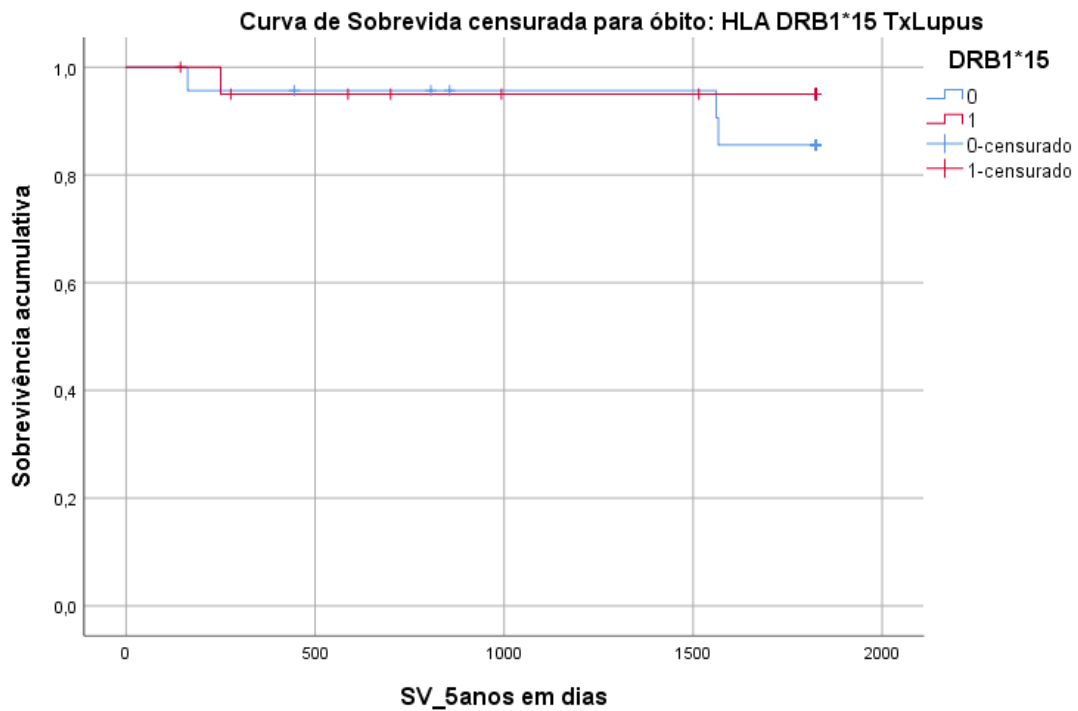
Fonte: A autora, 2017.

Figura 11b - Sobrevida renal dos pacientes transplantados em 5 anos nos grupos nefrite lúpica (TxLES) e por outras causas (TxCTRL) de acordo com a Presença do HLA DRB1*15



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito em de acordo com a presença do HLA DRB1*15 comparando os grupos, TxLES (95,2%) e TxCTRL (64%) ($p=0,059$)
 Fonte: A autora, 2017.

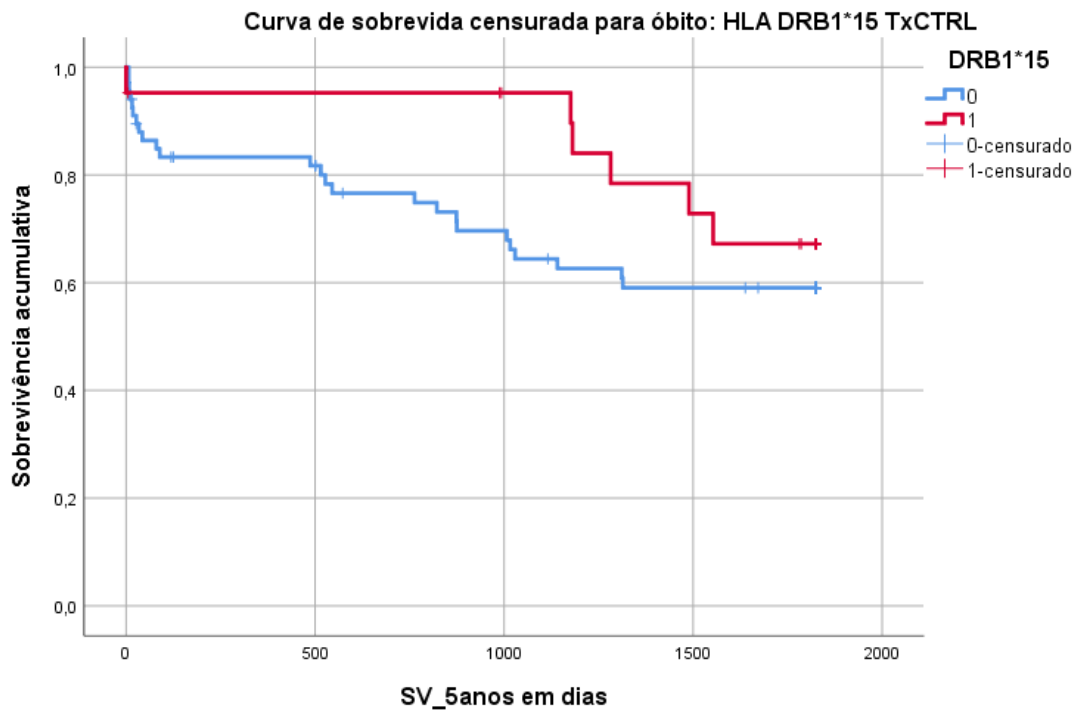
Figura 11c - Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito dos pacientes transplantados com nefrite lúpica (TxLES) comparando os pacientes que carregavam o alelo HLA DRB1*15 versus os que não carregavam



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito no grupo TxLupus de acordo com a presença(1)(95,8%) ou ausência(0)(90,9%) do alelo HLA DRB1*15. (p=NS)

Fonte: A autora, 2017.

Figura 11d - Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito dos pacientes transplantados no grupo por outras causas (TxCTRL) comparando os pacientes que carregavam o alelo HLA DRB1*15 versus os que não carregavam

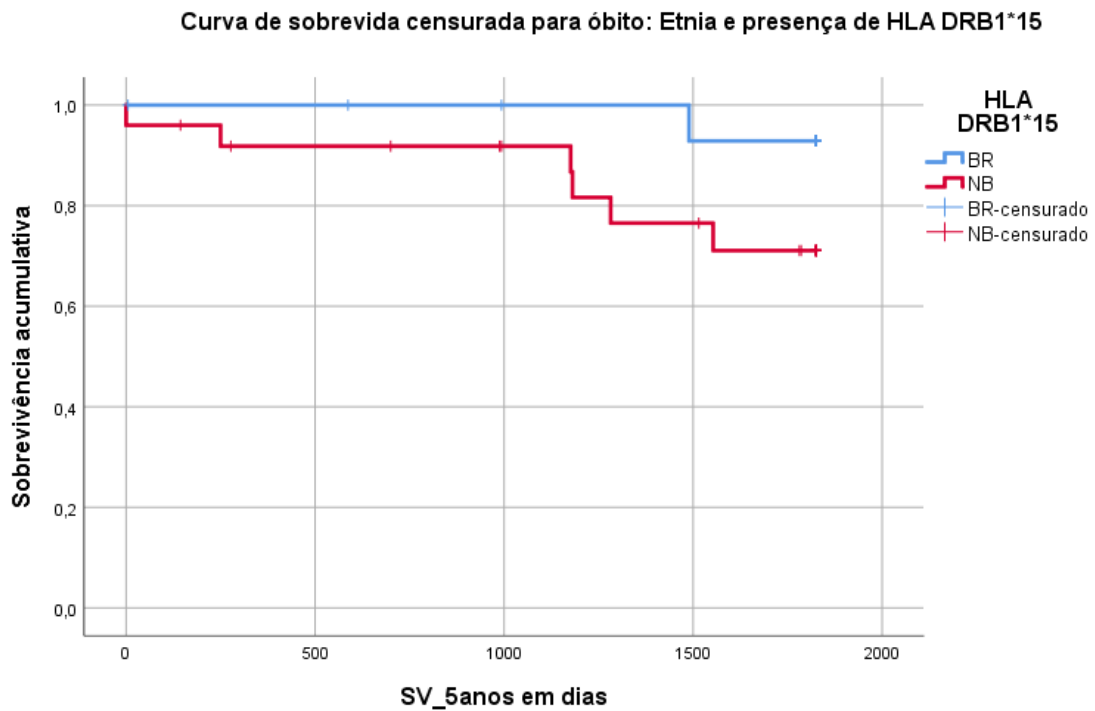


Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito de pacientes com presença(1) do alelo HLA DRB1*15 (80%) versus pacientes com a ausência(0) do alelo (63%) (p=0,075)

Fonte: A autora, 2017.

Não foi observada diferença também na sobrevida em 5 anos correlacionando a etnia (branco e não brancos) com a presença do HLA DRB1*15 (p=0,104 - Figura12).

Figura 12 – Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito dos pacientes transplantados brancos (BR) versus não brancos (NB) de acordo com a presença do alelo HLA DRB1*15



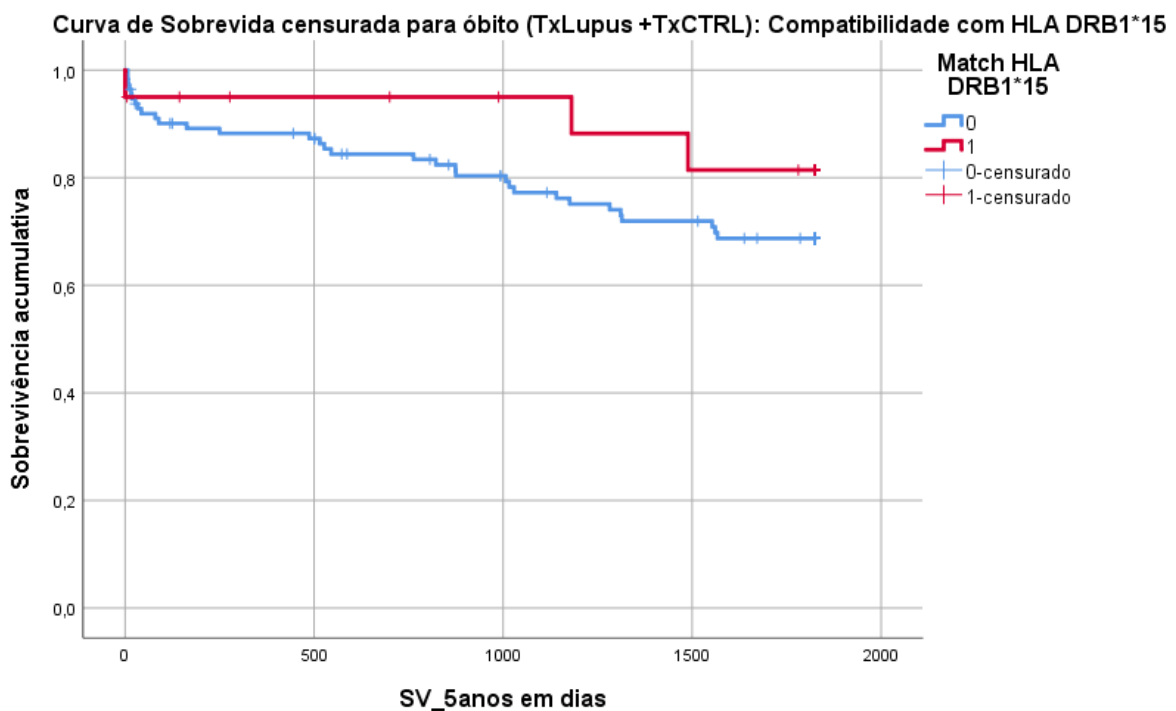
Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito de pacientes que carream o alelo HLA DRB1*15, comparando brancos(94%) e não brancos (73%) ($p=0,104$)

Fonte: A autora, 2017.

A presença da compatibilidade com o alelo DRB1*15 no receptor também foi avaliada. Não se observou diferença nos pacientes que tinham a compatibilidade com este alelo específico quando comparados com os que não tinham ($p=0,275$).

A presença da compatibilidade também não demonstrou diferença comparando-se os dois grupos ($p=0,146$). Quando os grupos foram avaliados separadamente, a compatibilidade com este alelo também não foi diferente (TxCTRL $p=0,738$ TxLES 0,297 - Figura13a-d).

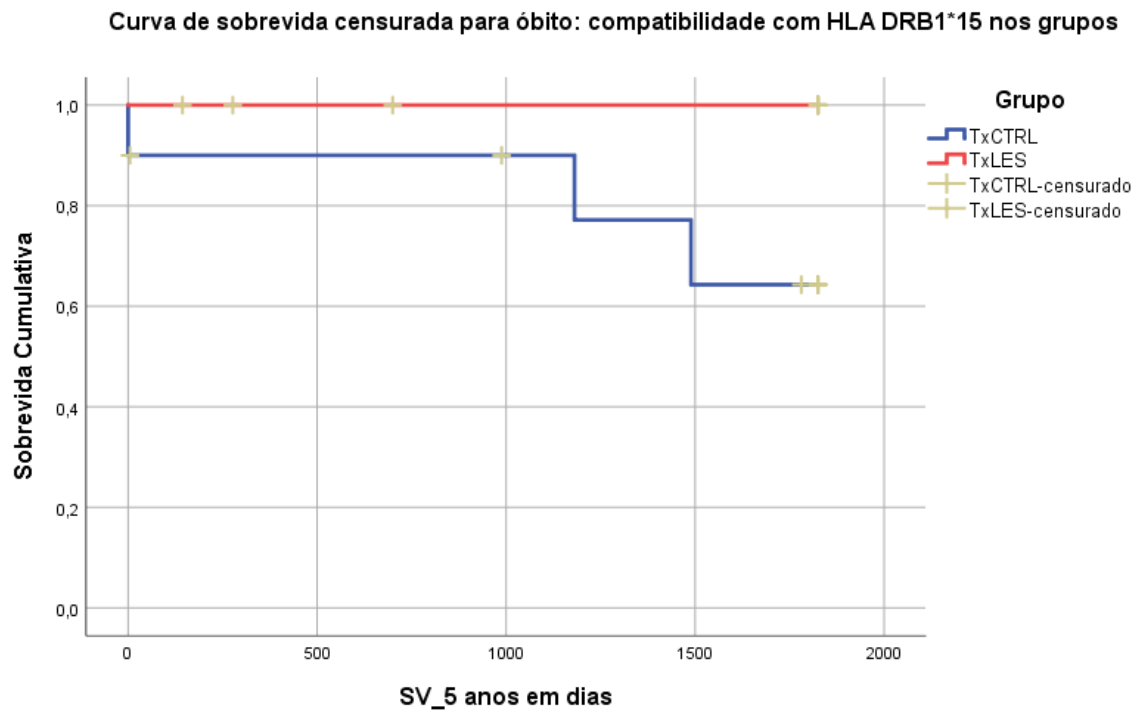
Figura 13a- Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito avaliando a compatibilidade do doador/receptor com alelo HLA DRB1*15 avaliando os dois grupos (TxLES e TxCTRL) juntos



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito de pacientes com compatibilidade doador/receptor com alelo HLA DRB1*15. Compatibilidade=1 (81%); não compatível=0(69%)($p=0,275$)

Fonte: A autora, 2017.

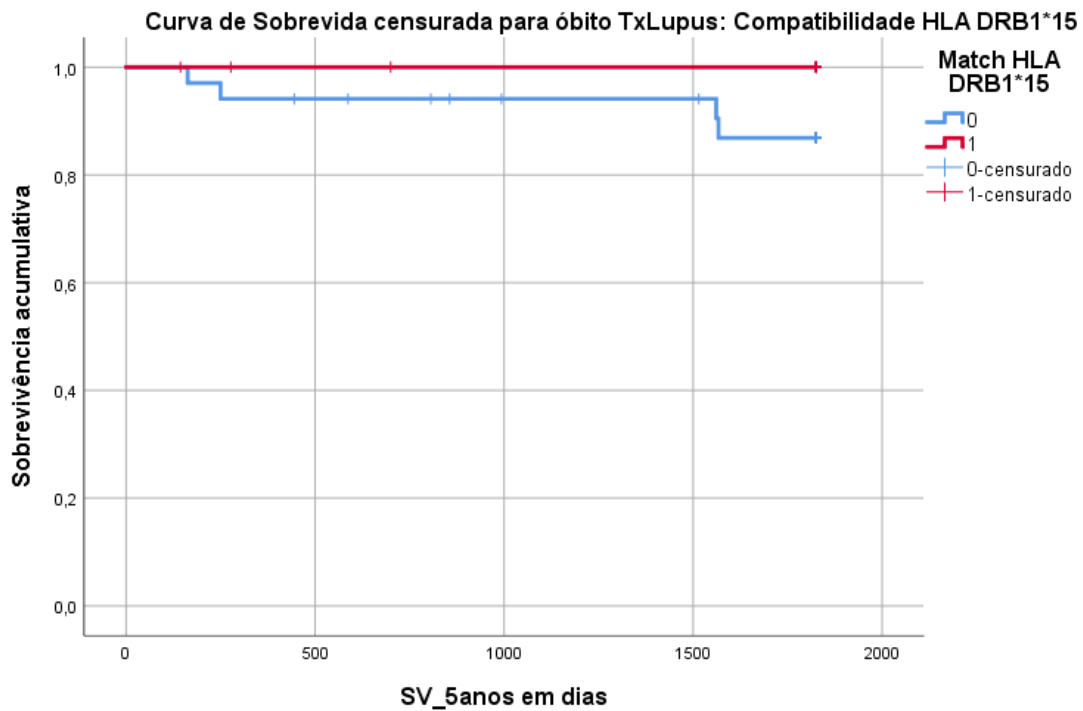
Figura 13b- Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito avaliando a compatibilidade do doador/receptor com alelo HLA DRB1*15 – comparação dos grupos



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito de pacientes com compatibilidade doador/receptor com alelo HLA DRB1*15 comparando os grupos TxLES(100%) versus TxCTRL(63%) (p=0,146)

Fonte: A autora, 2017.

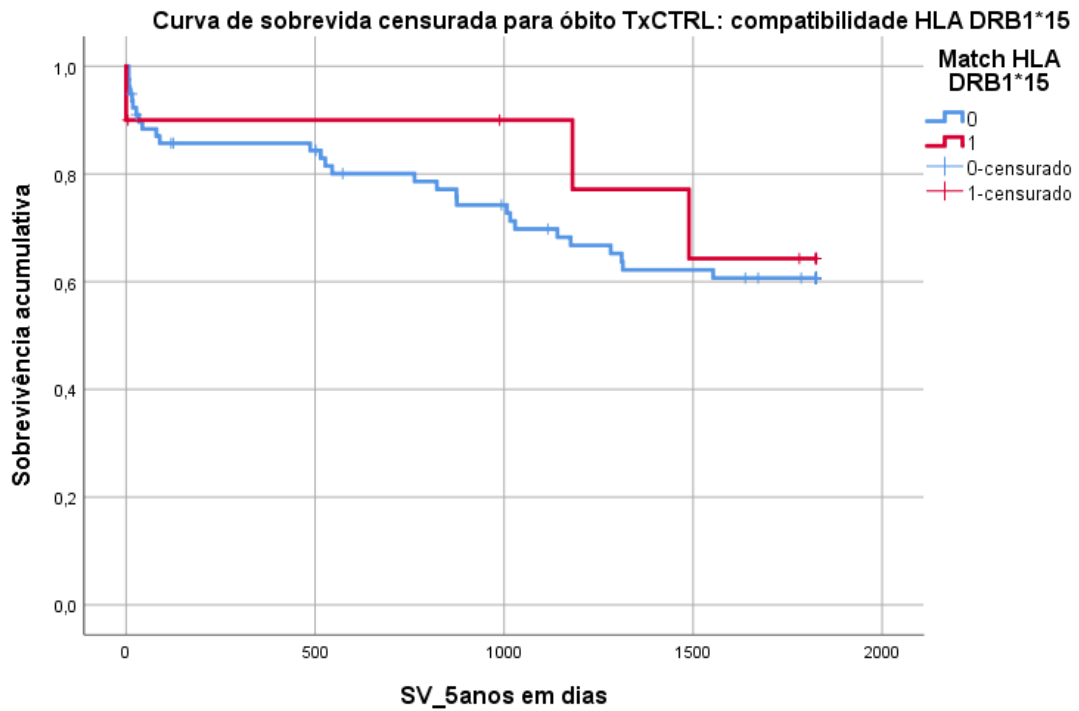
Figura 13c- Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito avaliando a presença e ausência da compatibilidade do doador/receptor com alelo HLA DRB1*15 – grupo TxLupus



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito de pacientes com compatibilidade doador/receptor com alelo HLA DRB1*15. Compatibilidade=1(100%); não compatível=0(89%)(p=0,297)

Fonte: A autora, 2017.

Figura 13d- Sobrevida renal em 5 anos censurada para óbito avaliando a presença e ausência da compatibilidade do doador/receptor com alelo HLA DRB1*15 – grupo TxCTRL



Legenda: Curva de sobrevida em 5 anos censurada para óbito de pacientes com compatibilidade doador/receptor com alelo HLA DRB1*15. Compatibilidade=1(62%); não compatível=0(60%)(p=0,738)

Fonte: A autora, 2017.

5 DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a prevalência de alelos HLA em uma população lúpica brasileira. Comparou-se uma população controle formada por dois grupos, um de pessoas saudáveis e outro de pacientes transplantados com outras doenças, *versus* uma população de pacientes lúpicos. Até o momento, não se registra na literatura um estudo que realize esse tipo de comparação.

Este estudo demonstrou uma maior prevalência dos alelos B*08, DRB1*08 e, principalmente, DRB1*15, todos já descritos previamente na literatura em algumas populações.

Uma das limitações de nosso estudo é o tamanho pequeno da amostra. Porém na literatura atual, é a maior análise de uma população brasileira. Liphaut et al. (2002) avaliaram a prevalência de alelos HLA DR em uma população de crianças e adolescentes brasileiros, totalizando 55 pacientes e a compararam com um grupo controle composto por 308 pacientes. Nesta análise, evidenciou-se a maior prevalência do HLA DR7, HLA DR13 e HLA DR15, porém depois da correção de Bonferroni, nenhum deles foi significativo, mas é importante salientar que ainda assim a porcentagem da prevalência do HLA-DR15 foi de 33% no grupo de crianças quando comparado com 18% do grupo controle.

Em outro estudo em uma população brasileira de 93 pacientes com lúpus e idade entre 13-66 anos observou-se uma maior frequência do antígeno HLA-DR3, (Silva & Donadi 1996). Outro autor em uma análise de 56 pacientes observou uma maior frequência do antígeno HLA-DR2 - correspondente sorológico tanto da DRB1*15 quanto da DRB1*16 (Fernandes et al. 1995).

A avaliação de uma população com a deficiência de C2 foi realizada em alguns pacientes e familiares com lúpus e a presença do antígeno HLA-A25-B18-DR2 demonstrou correlação com esta alteração e LES (Araujo et al. 1997). Neste mesmo estudo, o alelo HLA B*18 foi mais prevalente (55.6%) com um risco relativo de 9,2, quando comparado a população saudável.

No presente estudo, demonstrou-se a associação entre HLA DRB1*15 e HLA B*18 em conjunto com o alelo A*25 no grupo LuSTx (Tabela 5). A presença desse haplótipo (A*25-B*18-DRB1*15) pode estar relacionada a outras manifestações do lúpus, já que não foi observado este haplótipo no grupo TxLES. Por outro lado, o

haplótipo HLA-B*18-DRB1*15 esteve associado com outros alelos do Loco A no grupo TxCTRL duas vezes com o A*24 e uma com A*26.

Existem poucos estudos na literatura que avaliaram a prevalência do HLA e nefrite lúpica. Nesse estudo comparamos duas populações com nefrite lúpica (transplantada renal e não transplantada) com dois grupos controles diferentes (transplantados com outras doenças e uma população saudável). Utilizou-se uma população com nefrite lúpica para avaliar se existiria uma maior prevalência de um alelo específico nos lúpicos com comprometimento renal. Entretanto, não demonstramos isso.

Este é o primeiro estudo brasileiro que avalia a prevalência de alelos HLA em um grupo de pacientes com nefrite lúpica. Em metanálise recente, a nefrite lúpica foi associada a maior prevalência de antígenos DR3, DR15. Os antígenos DR14 e DR11 foram protetores nesta população (Niu et al. 2015). Em um estudo marroquino de uma população com nefrite lúpica, a prevalência do antígeno HLA DR15 foi elevada quando comparada a uma população normal, com uma razão de risco (odds ratio) de 2.8 (Bhallil et al. 2017).

Nosso resultado de razão de chance de lúpus com HLA DRB1*15 também foi observado em outros estudos envolvendo várias populações, como em brasileiros (Fernandes et al. 1995), de italianos (Marchini et al. 2003), europeus, (Morris et al. 2012), asiáticos (Shimane et al. 2013) e sauditas (Wadi et al. 2014). Cortes et al (Cortes et al. 2004) também demonstraram uma maior prevalência em DQB1*04:02, DQA1*01:02 e HLA DRB1*15 numa população mexicana, relacionada aos alelos dos haplótipos ancestrais HLA DQB1*0602-DQA1*01:02-DRB1*15, os quais foram encontrados juntos como resultado de um desequilíbrio de ligação.

O mecanismo pelo qual o alelo HLA DR determina o risco de desenvolver nefrite lúpica ainda não foi completamente definido. A associação entre HLA DRB1*02 e DRB1*03 e envolvimento renal foi demonstrado em populações europeias (Ceccarelli et al. 2015). Estudos mais recentes descrevem que a associação do HLA com doenças sugere que 3 posições de aminoácidos (11,13 e 26) no sulco de ligação do epítipo com a molécula de HLA-DR são cruciais e conferem risco para LES (Kim et al. 2014). Postula-se que estas posições de aminoácidos fazem uma estrutura patogênica no sulco de ligação do epítipo do HLA-DRB1, predispondo a nefrite lúpica.

O real mecanismo no qual o complexo MHC predispõe a doenças autoimunes ainda é incerto. Uma das hipóteses sugere uma quebra na tolerância imunológica para

antígenos self através da apresentação aberrantes do HLA Classe II para peptídeos próprios autorreativos a linfócitos T. O alelo específico do MHC classe II determina o alvo específico de autoantígenos, resultando numa associação de doença específica (Fernando et al. 2008).

A suscetibilidade da interação das moléculas HLA da criança com o risco materno de desenvolver a doença também foi estudado. Cruz et al (Cruz et al. 2016) publicaram um estudo demonstrando que uma criança com alelo HLA DRB1*04:01 esteve associada a duas vezes mais risco de desenvolver LES em mães que carregam pelo menos um dos alelos DRB1*03:01, DRB1*15:01 ou DRB1*08:01.

Alguns alelos demonstraram proteção para LES. Na atual análise, os alelos HLA -*B15, -B*44, -B*27, DRB1*11 e DRB1*13 foram protetores para lúpus. Recentemente, alguns autores demonstraram o efeito protetor do DRB1*13 com doenças autoimunes. O DRB1*13:01 foi protetor numa população europeia, enquanto o DRB1*13:02 conferiu proteção numa população japonesa. Várias hipóteses sobre esta proteção têm sido postuladas. Uma das explicações é o efeito dominante da molécula DRB1*13 e talvez no futuro, terapias alvos para essa molécula podem ser o caminho para tratamentos curativos para essa doença (van der Woude et al. 2009, Oka et al. 2014, Furukawa et al. 2016). Apesar de alguns estudos demonstrarem efeito protetor do alelo HLA DRB1*13, outro estudo, no qual biópsias renais de pacientes lúpicos e sua associação com NAAF foram analisados, observou-se uma maior prevalência deste alelo nos pacientes com NAAF, quando comparado aos pacientes lúpicos, podendo sugerir uma predisposição maior destes pacientes à SAAF e consequentemente, a nefropatia associada. Este mesmo estudo mostrou uma maior evolução destes pacientes para DRCT comparado aos que apresentavam o diagnóstico de nefrite lúpica somente (Gerhardsson et al. 2015).

É bem conhecido o benefício do transplante renal na população lúpica. A morbidade e a mortalidade são menores entre mulheres com DRCT após o transplante quando comparadas as pacientes que permanecem em diálise (Ward 2000). Alguns estudos mostraram que pacientes da etnia afroamericana têm uma menor sobrevida renal quando comparados com caucasianos ou hispânicos-americanos (Contreras et al. 2014, Gonzalez-Suarez & Contreras 2017). Neste trabalho, o grupo lúpico teve uma melhor sobrevida renal em 5 anos quando comparado ao grupo controle. Apesar de não termos pareados os grupos pela idade, após aplicarmos um teste t não observamos diferenças nas medias de idade associado a perda do enxerto. Também

avaliamos o desfecho comparando os grupos de doadores, que estavam distribuídos sem diferença entre os grupos e não observamos diferenças na sobrevida renal em cinco anos. O provável desfecho pior do grupo controle, provavelmente se deve ao fato deste grupo ser composto por um número grande de hipertensos e provavelmente com maior risco cardiovascular. Apesar do desfecho pior do nosso grupo controle, em nosso estudo não foi evidenciado diferenças nas taxas de rejeição aguda entre os grupos.

Outros estudos que avaliaram pacientes transplantados lúpicos com pacientes transplantados controle não observaram diferenças na sobrevida renal em 1 ano e nem em 5 anos entre os dois grupos, independente do tipo de doador (Moroni et al. 2005, Bunnapradist et al. 2006). Entretanto, Bunnaprdist et al. (2006) demonstraram uma maior taxa de RA nos pacientes lúpicos com doadores vivos quando comparados com o controle.

Com relação a etnia, todos os grupos analisados no estudo tiveram uma pior sobrevida renal os pacientes não brancos. Porém, não podemos afirmar que isso é uma tendência apenas dos pacientes lúpicos.

Este é o primeiro estudo a avaliar a influência da presença de um alelo HLA que confere maior suscetibilidade a uma doença e correlacioná-la com a sobrevida de enxerto. Foram avaliados tanto a presença deste alelo e sua correlação com a sobrevida de enxerto, como também sua presença e/ou ausência na compatibilidade com o receptor. Não foram evidenciadas diferenças na avaliação da sobrevida do enxerto com nenhum destes fatores. Porém, não foram avaliados e nem correlacionados atividade de doença, correlação com rejeição aguda e presença de anticorpo doador específico contra anticorpos HLA específicos de algum alelo que confere suscetibilidade. Estes são assuntos para estudos futuros.

CONCLUSÕES

Na população desse estudo, a presença do alelo HLA DRB1*15 é um fator que predispõe ao lúpus e a nefrite lúpica. Não foi evidenciado nenhum alelo específico que confira maior suscetibilidade apenas à nefrite lúpica.

Os transplantados lúpicos nesse estudo tiveram uma melhor sobrevida em 5 anos, comparado aos pacientes transplantados controle. Os pacientes não brancos tiveram uma pior sobrevida no Transplante renal em 5 anos, independente do grupo.

A presença do alelo DRB1*15 não influencia no transplante renal e nem na sua evolução a longo prazo. Além disso, o HLA DRB1*15 não teve influência em sua prevalência nos transplantados com relação a cor de pele.

A presença do HLA DRB1*11 e DRB1*13 são fatores de proteção.

Estudos futuros são necessários para avaliação e correlação destes alelos com atividade e gravidade de doença, assim com influência no transplante renal.

No futuro, terapias genéticas e moleculares tendo como alvo principal as moléculas HLA podem ser uma opção de tratamento no Lúpus Eritematoso Sistêmico.

REFERÊNCIAS

Abdel Galil, S. M., N. Ezzeldin & M. E. El-Boshy (2015). "The role of serum IL-17 and IL-6 as biomarkers of disease activity and predictors of remission in patients with lupus nephritis." Cytokine 76(2): 280-287.

Aberle, T., R. L. Bourn, H. Chen, V. C. Roberts, J. M. Guthridge, K. Bean, J. M. Robertson, K. L. Sivils, A. Rasmussen, M. Liles, J. T. Merrill, J. B. Harley, N. J. Olsen, D. R. Karp & J. A. James (2017). "Use of SLICC criteria in a large, diverse lupus registry enables SLE classification of a subset of ACR-designated subjects with incomplete lupus." Lupus Sci Med 4(1): e000176.

Acott, P. & N. Babel (2012). "BK virus replication following kidney transplant: does the choice of immunosuppressive regimen influence outcomes?" Ann Transplant 17(1): 86-99.

Ambrose, N., T. A. Morgan, J. Galloway, Y. Ionnoau, M. W. Beresford, D. A. Isenberg & U. J. S. Group (2016). "Differences in disease phenotype and severity in SLE across age groups." Lupus 25(14): 1542-1550.

Apanius, V., D. Penn, P. R. Slev, L. R. Ruff & W. K. Potts (1997). "The nature of selection on the major histocompatibility complex." Crit Rev Immunol 17(2): 179-224.

Appel, G. B., F. G. Silva, C. L. Pirani, J. I. Meltzer & D. Estes (1978). "Renal involvement in systemic lupus erythematosus (SLE): a study of 56 patients emphasizing histologic classification." Medicine (Baltimore) 57(5): 371-410.

Aquino-Dias, E. C., G. Joelsons, D. M. da Silva, R. H. Berdichevski, A. R. Ribeiro, F. J. Veronese, L. F. Goncalves & R. C. Manfro (2008). "Non-invasive diagnosis of acute rejection in kidney transplants with delayed graft function." Kidney Int 73(7): 877-884.

Araujo, M. N., N. P. Silva, L. E. Andrade, E. I. Sato, M. Gerbase-DeLima & P. G. Leser (1997). "C2 deficiency in blood donors and lupus patients: prevalence, clinical characteristics and HLA-associations in the Brazilian population." Lupus 6(5): 462-466.

Arbuckle, M. R., J. A. James, K. F. Kohlhase, M. V. Rubertone, G. J. Dennis & J. B. Harley (2001). "Development of anti-dsDNA autoantibodies prior to clinical diagnosis of systemic lupus erythematosus." Scand J Immunol 54(1-2): 211-219.

Arbuckle, M. R., M. T. McClain, M. V. Rubertone, R. H. Scofield, G. J. Dennis, J. A. James & J. B. Harley (2003). "Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus." N Engl J Med 349(16): 1526-1533.

Aringer, M. & M. K. Crow (2008). "A bridge between interferon-alpha and tumor necrosis factor in lupus." J Rheumatol 35(8): 1473-1476.

Arriens, C., S. Chen, D. R. Karp, R. Saxena, K. Sambandam, E. Chakravarty, J. A. James & J. T. Merrill (2016). "Prognostic significance of repeat biopsy in lupus nephritis: Histopathologic worsening and a short time between biopsies is associated with significantly increased risk for end stage renal disease and death." Clin Immunol.

Barilla-Labarca, M. L., K. Toder & R. Furie (2013). "Targeting the complement system in systemic lupus erythematosus and other diseases." Clin Immunol 148(3): 313-321.

Bave, U., G. Nordmark, T. Lovgren, J. Ronnelid, S. Cajander, M. L. Eloranta, G. V. Alm & L. Ronnblom (2005). "Activation of the type I interferon system in primary Sjogren's syndrome: a possible etiopathogenic mechanism." Arthritis Rheum 52(4): 1185-1195.

Berden, J. H. (1997). "Lupus nephritis." Kidney Int 52(2): 538-558.

Bernatsky, S., J. F. Boivin, L. Joseph, S. Manzi, E. Ginzler, D. D. Gladman, M. Urowitz, P. R. Fortin, M. Petri, S. Barr, C. Gordon, S. C. Bae, D. Isenberg, A. Zoma, C. Aranow, M. A. Dooley, O. Nived, G. Sturfelt, K. Steinsson, G. Alarcon, J. L. Senecal, M. Zimmer, J. Hanly, S. Ensworth, J. Pope, S. Edworthy, A. Rahman, J. Sibley, H. El-Gabalawy, T. McCarthy, Y. St Pierre, A. Clarke & R. Ramsey-Goldman (2006). "Mortality in systemic lupus erythematosus." Arthritis Rheum 54(8): 2550-2557.

Bertsias, G. K., M. Tektonidou, Z. Amoura, M. Aringer, I. Bajema, J. H. Berden, J. Boletis, R. Cervera, T. Dorner, A. Doria, F. Ferrario, J. Floege, F. A. Houssiau, J. P. Ioannidis, D. A. Isenberg, C. G. Kallenberg, L. Lightstone, S. D. Marks, A. Martini, G. Moroni, I. Neumann, M. Praga, M. Schneider, A. Starra, V. Tesar, C. Vasconcelos, R. F. van Vollenhoven, H. Zakharova, M. Haubitz, C. Gordon, D. Jayne, D. T. Boumpas, R. European League Against, D. European Renal Association-European & A. Transplant (2012). "Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of adult and paediatric lupus nephritis." Ann Rheum Dis 71(11): 1771-1782.

Bhallil, O., A. Ibrahimi, S. Ouadghiri, N. Ouzeddoun, N. Benseffaj, R. Bayahia & M. Essakalli (2017). "HLA Class II with Lupus Nephritis in Moroccan Patients." Immunol Invest 46(1): 1-9.

Block, S. R., J. B. Winfield, M. D. Lockshin, W. A. D'Angelo & C. L. Christian (1975). "Studies of twins with systemic lupus erythematosus. A review of the literature and presentation of 12 additional sets." Am J Med 59(4): 533-552.

Boswell, J. M., M. A. Yui, D. W. Burt & V. E. Kelley (1988). "Increased tumor necrosis factor and IL-1 beta gene expression in the kidneys of mice with lupus nephritis." J Immunol 141(9): 3050-3054.

Brennan, D. C., M. A. Yui, R. P. Wuthrich & V. E. Kelley (1989). "Tumor necrosis factor and IL-1 in New Zealand Black/White mice. Enhanced gene expression and acceleration of renal injury." J Immunol 143(11): 3470-3475.

Bryan, A. R. & E. Y. Wu (2014). "Complement deficiencies in systemic lupus erythematosus." Curr Allergy Asthma Rep 14(7): 448.

Bunnapradist, S., P. Chung, A. Peng, A. Hong, P. Chung, B. Lee, S. Fukami, S. K. Takemoto & A. K. Singh (2006). "Outcomes of renal transplantation for recipients with lupus nephritis: analysis of the Organ Procurement and Transplantation Network database." Transplantation 82(5): 612-618.

Caprioli, J., M. Noris, S. Brioschi, G. Pianetti, F. Castelletti, P. Bettinaglio, C. Mele, E. Bresin, L. Cassis, S. Gamba, F. Porrati, S. Bucchioni, G. Monteferrante, C. J. Fang, M. K. Liszewski, D. Kavanagh, J. P. Atkinson, G. Remuzzi, R. International Registry of & H. T. Familial (2006). "Genetics of HUS: the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome." Blood 108(4): 1267-1279.

Ceccarelli, F., C. Perricone, P. Borgiani, C. Ciccacci, S. Rufini, E. Cipriano, C. Alessandri, F. R. Spinelli, A. Sili Scavalli, G. Novelli, G. Valesini & F. Conti (2015). "Genetic Factors in Systemic Lupus Erythematosus: Contribution to Disease Phenotype." J Immunol Res 2015: 745647.

Cervera, R., M. A. Khamashta, J. Font, G. D. Sebastiani, A. Gil, P. Lavilla, J. C. Mejia, A. O. Aydinoglu, H. Chwalinska-Sadowska, E. de Ramon, A. Fernandez-Nebro, M. Galeazzi, M. Valen, A. Mathieu, F. Houssiau, N. Caro, P. Alba, M. Ramos-Casals, M. Ingelmo, G. R. Hughes & E. European Working Party on Systemic Lupus (2003). "Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients." Medicine (Baltimore) 82(5): 299-308.

Chakravarty, E. F., T. M. Bush, S. Manzi, A. E. Clarke & M. M. Ward (2007). "Prevalence of adult systemic lupus erythematosus in California and Pennsylvania in 2000: estimates obtained using hospitalization data." Arthritis Rheum 56(6): 2092-2094.

Chauhan, A. K. (2017). "Editorial: Immune Complexes in Disease Pathology." Front Immunol 8: 173.

Chelamcharla, M., B. Javaid, B. C. Baird & A. S. Goldfarb-Rumyantzev (2007). "The outcome of renal transplantation among systemic lupus erythematosus patients." Nephrol Dial Transplant 22(12): 3623-3630.

Chen, D. Y., Y. M. Chen, M. C. Wen, T. Y. Hsieh, W. T. Hung & J. L. Lan (2012). "The potential role of Th17 cells and Th17-related cytokines in the pathogenesis of lupus nephritis." Lupus 21(13): 1385-1396.

Chitrabamrung, S., R. L. Rubin & E. M. Tan (1981). "Serum deoxyribonuclease I and clinical activity in systemic lupus erythematosus." Rheumatol Int 1(2): 55-60.

Chung, S. A., E. E. Brown, A. H. Williams, P. S. Ramos, C. C. Berthier, T. Bhangale, M. E. Alarcon-Riquelme, T. W. Behrens, L. A. Criswell, D. C. Graham, F. Y. Demirci, J. C. Edberg, P. M. Gaffney, J. B. Harley, C. O. Jacob, M. I. Kamboh, J. A. Kelly, S. Manzi, K. L. Moser-Sivils, L. P. Russell, M. Petri, B. P. Tsao, T. J. Vyse, R. Zidovetzki, M. Kretzler, R. P. Kimberly, B. I. Freedman, R. R. Graham, C. D. Langefeld & G. International Consortium for Systemic Lupus Erythematosus (2014). "Lupus nephritis susceptibility loci in women with systemic lupus erythematosus." J Am Soc Nephrol 25(12): 2859-2870.

Cigni, A., P. V. Pileri, R. Faedda, P. Gallo, A. Sini, A. E. Satta, R. Marras, E. Carta, D. Argiolas, I. Rum & A. Masala (2014). "Interleukin 1, interleukin 6, interleukin 10, and tumor necrosis factor alpha in active and quiescent systemic lupus erythematosus." J Investig Med 62(5): 825-829.

Claas, F. H. (2012). "It takes two to tango: both donor and recipients' immune repertoire affect outcome of renal transplants." Transplantation 93(3): 247-248.

Cohen, A. S. & J. J. Canoso (1972). "Criteria for the classification of systemic lupus erythematosus--status 1972." Arthritis Rheum 15(5): 540-543.

Contreras, G., A. Mattiazzi, G. Guerra, L. M. Ortega, E. C. Tozman, H. Li, L. Tamariz, C. Carvalho, W. Kupin, M. Ladino, B. LeClercq, I. Jaraba, D. Carvalho, E. Carles & D. Roth (2010). "Recurrence of lupus nephritis after kidney transplantation." J Am Soc Nephrol 21(7): 1200-1207.

Contreras, G., J. Pagan, R. Chokshi, S. Virmani, J. M. Diego, P. Byers, T. Isakova, J. Munoz Mendoza, A. Nayer, J. R. Contreras, G. Panama, O. Lenz, M. Carpintero, T. Muchayi & D. Roth (2014). "Comparison of mortality of ESRD patients with lupus by initial dialysis modality." Clin J Am Soc Nephrol 9(11): 1949-1956.

Cortes-Hernandez, J., J. Ordi-Ros, M. Labrador, S. Bujan, E. Balada, A. Segarra & M. Vilardell-Tarres (2004). "Antihistone and anti-double-stranded deoxyribonucleic acid antibodies are associated with renal disease in systemic lupus erythematosus." Am J Med 116(3): 165-173.

Cortes, L. M., L. M. Baltazar, M. G. Lopez-Cardona, N. Olivares, C. Ramos, M. Salazar, L. Sandoval, M. G. Lorenz, R. Chakraborty, A. D. Paterson & F. Rivas (2004). "HLA class II haplotypes in Mexican systemic lupus erythematosus patients." Hum Immunol 65(12): 1469-1476.

Crispin, J. C., M. Oukka, G. Bayliss, R. A. Cohen, C. A. Van Beek, I. E. Stillman, V. C. Kytтары, Y. T. Juang & G. C. Tsokos (2008). "Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys." J Immunol 181(12): 8761-8766.

Cruz, G. I., X. Shao, H. Quach, K. A. Ho, K. Sterba, J. A. Noble, N. A. Patsopoulos, M. P. Busch, D. J. Triulzi, W. S. Wong, B. D. Solomon, J. E. Niederhuber, L. A. Criswell & L. F. Barcellos (2016). "A Child's HLA-DRB1 genotype increases maternal risk of systemic lupus erythematosus." J Autoimmun 74: 201-207.

Deapen, D., A. Escalante, L. Weinrib, D. Horwitz, B. Bachman, P. Roy-Burman, A. Walker & T. M. Mack (1992). "A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus." Arthritis Rheum 35(3): 311-318.

Deng, Y. & B. P. Tsao (2010). "Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in the genomic era." Nat Rev Rheumatol 6(12): 683-692.

Dolff, S., M. Bijl, M. G. Huitema, P. C. Limburg, C. G. Kallenberg & W. H. Abdulahad (2011). "Disturbed Th1, Th2, Th17 and T(reg) balance in patients with systemic lupus erythematosus." Clin Immunol 141(2): 197-204.

Durcan, L. & M. Petri (2016). "Immunomodulators in SLE: Clinical evidence and immunologic actions." J Autoimmun 74: 73-84.

Excoffier, L. & H. E. Lischer (2010). "Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows." Mol Ecol Resour 10(3): 564-567.

Fernandes, S. R. M., L. B. Persoli, S. B. D. Marques & e. al. (1995). "HLA antigens and susceptibility to systemic lupus erythematosus in Brazilian patients." Lupus 4.

Fernando, M. M., C. R. Stevens, E. C. Walsh, P. L. De Jager, P. Goyette, R. M. Plenge, T. J. Vyse & J. D. Rioux (2008). "Defining the role of the MHC in autoimmunity: a review and pooled analysis." PLoS Genet 4(4): e1000024.

Ferucci, E. D., J. M. Johnston, J. R. Gaddy, L. Sumner, J. O. Posever, T. L. Choromanski, C. Gordon, S. S. Lim & C. G. Helmick (2014). "Prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in a population-based registry of American Indian and Alaska Native people, 2007-2009." Arthritis Rheumatol 66(9): 2494-2502.

Furness, P. N. & N. Taub (2006). "Interobserver reproducibility and application of the ISN/RPS classification of lupus nephritis-a UK-wide study." Am J Surg Pathol 30(8): 1030-1035.

Furukawa, H., S. Oka, A. Kawasaki, K. Shimada, S. Sugii, T. Matsushita, A. Hashimoto, A. Komiya, N. Fukui, K. Kobayashi, A. Osada, A. Ihata, Y. Kondo, T. Nagai, K. Setoguchi, A. Okamoto, A. Okamoto, N. Chiba, E. Suematsu, H. Kono, M. Katayama, S. Hirohata, T. Sumida, K. Migita, M. Hasegawa, M. Fujimoto, S. Sato, S. Nagaoka, K. Takehara, S. Tohma & N. Tsuchiya (2016). "Human Leukocyte Antigen and Systemic Sclerosis in Japanese: The Sign of the Four Independent Protective Alleles, DRB1*13:02, DRB1*14:06, DQB1*03:01, and DPB1*02:01." PLoS One 11(4): e0154255.

Gao, R., W. Yu, Y. Wen & H. Li (2016). "Beta2-glycoprotein I Expression in Lupus Nephritis Patients with Antiphospholipid-associated Nephropathy." J Rheumatol 43(11): 2026-2032.

Gerhardsson, J., B. Sundelin, A. Zickert, L. Padyukov, E. Svenungsson & I. Gunnarsson (2015). "Histological antiphospholipid-associated nephropathy versus lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus: an observational cross-sectional study with longitudinal follow-up." Arthritis Res Ther 17: 109.

Ghodke-Puranik, Y. & T. B. Niewold (2013). "Genetics of the type I interferon pathway in systemic lupus erythematosus." Int J Clin Rheumatol 8(6).

Ghodke-Puranik, Y. & T. B. Niewold (2015). "Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: A comprehensive review." J Autoimmun 64: 125-136.

Gomez-Puerta, J. A., M. Barbhuiya, H. Guan, C. H. Feldman, G. S. Alarcon & K. H. Costenbader (2015). "Racial/Ethnic variation in all-cause mortality among United States medicaid recipients with systemic lupus erythematosus: a Hispanic and asian paradox." Arthritis Rheumatol 67(3): 752-760.

Gong, W., G. H. Witcher, N. Townamchai, X. Xiao & F. Ge (2012). "Biomarkers for monitoring therapeutic side effects or various supratherapeutic confounders after kidney transplantation." Transplant Proc 44(5): 1265-1269.

Gonzalez-Suarez, M. L. & G. Contreras (2017). "Lower kidney allograft survival in African-Americans compared to Hispanic-Americans with lupus." Lupus: 961203317699287.

Grishman, E., M. A. Gerber & J. Churg (1982). "Patterns of renal injury in systemic lupus erythematosus: light and immunofluorescence microscopic observations." Am J Kidney Dis 2(1 Suppl 1): 135-141.

Grootscholten, C., I. M. Bajema, S. Florquin, E. J. Steenbergen, C. J. Peutz-Kootstra, R. Goldschmeding, M. Bijl, E. C. Hagen, H. C. van Houwelingen, R. H. Derksen & J. H. Berden (2008). "Interobserver agreement of scoring of histopathological characteristics and classification of lupus nephritis." Nephrol Dial Transplant 23(1): 223-230.

Guimaraes, P. M., B. M. Scavuzzi, N. P. Stadtlober, L. F. da Rosa Santos Silva, M. A. B. Lozovoy, T. M. V. Iriyoda, N. T. Costa, E. M. V. Reiche, M. Maes, I. Dichi & A. N. C. Simao (2017). "Cytokines in systemic lupus erythematosus: Far beyond Th1/Th2 dualism." Immunol Cell Biol.

Hahn, B. H., M. A. McMahon, A. Wilkinson, W. D. Wallace, D. I. Daikh, J. D. Fitzgerald, G. A. Karpouzas, J. T. Merrill, D. J. Wallace, J. Yazdany, R. Ramsey-Goldman, K. Singh, M. Khalighi, S. I. Choi, M. Gogia, S. Kafaja, M. Kamgar, C. Lau, W. J. Martin, S. Parikh, J. Peng, A. Rastogi, W. Chen, J. M. Grossman & R. American College of (2012). "American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis." Arthritis Care Res (Hoboken) 64(6): 797-808.

Hanly, J. G., A. G. O'Keeffe, L. Su, M. B. Urowitz, J. Romero-Diaz, C. Gordon, S. C. Bae, S. Bernatsky, A. E. Clarke, D. J. Wallace, J. T. Merrill, D. A. Isenberg, A. Rahman, E. M. Ginzler, P. Fortin, D. D. Gladman, J. Sanchez-Guerrero, M. Petri, I. N. Bruce, M. A. Dooley, R. Ramsey-Goldman, C. Aranow, G. S. Alarcon, B. J. Fessler, K. Steinsson, O. Nived, G. K. Sturfelt, S. Manzi, M. A. Khamashta, R. F. van Vollenhoven, A. A. Zoma, M. Ramos-Casals, G. Ruiz-Irastorza, S. S. Lim, T. Stoll, M. Inanc, K. C. Kalunian, D. L. Kamen, P. Maddison, C. A. Peschken, S. Jacobsen, A. Askanase, C. Theriault, K. Thompson & V. Farewell (2016). "The frequency and outcome of lupus nephritis: results from an international inception cohort study." Rheumatology (Oxford) 55(2): 252-262.

Harley, J. B., J. A. Kelly & K. M. Kaufman (2006). "Unraveling the genetics of systemic lupus erythematosus." Springer Semin Immunopathol 28(2): 119-130.

Hochberg, M. C. (1997). "Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus." Arthritis Rheum 40(9): 1725.

Holoshitz, J. (2013). "The quest for better understanding of HLA-disease association: scenes from a road less travelled by." Discov Med 16(87): 93-101.

Holoshitz, J., Y. Liu, J. Fu, J. Joseph, S. Ling, A. Colletta, P. Sharma, D. Begun, S. Goldstein & R. Taichman (2013). "An HLA-DRB1-coded signal transduction ligand facilitates inflammatory arthritis: a new mechanism of autoimmunity." J Immunol 190(1): 48-57.

- Jarrot, P. A., L. Chiche, B. Hervier, L. Daniel, V. Vuiblet, N. Bardin, D. Bertin, B. Terrier, Z. Amoura, E. Andres, E. Rondeau, M. Hamidou, J. L. Pennaforte, P. Halfon, E. Daugas, B. Dussol, X. Puechal, G. Kaplanski & N. Jourde-Chiche (2016). "Systemic Lupus Erythematosus and Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis Overlap Syndrome in Patients With Biopsy-Proven Glomerulonephritis." Medicine (Baltimore) 95(22): e3748.
- Jog, N. R., L. Frisoni, Q. Shi, M. Monestier, S. Hernandez, J. Craft, E. T. Prak & R. Caricchio (2012). "Caspase-activated DNase is required for maintenance of tolerance to lupus nuclear autoantigens." Arthritis Rheum 64(4): 1247-1256.
- Kim, K., S. Y. Bang, H. S. Lee, Y. Okada, B. Han, W. Y. Saw, Y. Y. Teo & S. C. Bae (2014). "The HLA-DRbeta1 amino acid positions 11-13-26 explain the majority of SLE-MHC associations." Nat Commun 5: 5902.
- Koenig, K. F., I. Groeschl, S. S. Pesickova, V. Tesar, U. Eisenberger & M. Trendelenburg (2012). "Serum cytokine profile in patients with active lupus nephritis." Cytokine 60(2): 410-416.
- Koenig, K. F., S. A. Kalbermatter, T. Menter, M. Mayr & D. Kiss (2014). "Rapidly progressive lupus nephritis with extremely high levels of antineutrophil cytoplasmic antibodies." Case Rep Nephrol Urol 4(1): 5-11.
- Kontoyiannis, D. & G. Kollias (2000). "Accelerated autoimmunity and lupus nephritis in NZB mice with an engineered heterozygous deficiency in tumor necrosis factor." Eur J Immunol 30(7): 2038-2047.
- Kurian, S. M., R. Heilman, T. S. Mondala, A. Nakorchevsky, J. A. Hewel, D. Campbell, E. H. Robison, L. Wang, W. Lin, L. Gaber, K. Solez, H. Shidban, R. Mendez, R. L. Schaffer, J. S. Fisher, S. M. Flechner, S. R. Head, S. Horvath, J. R. Yates, C. L. Marsh & D. R. Salomon (2009). "Biomarkers for early and late stage chronic allograft nephropathy by proteogenomic profiling of peripheral blood." PLoS One 4(7): e6212.
- Kwan, B. C., L. S. Tam, K. B. Lai, F. M. Lai, E. K. Li, G. Wang, K. M. Chow, P. K. Li & C. C. Szeto (2009). "The gene expression of type 17 T-helper cell-related cytokines in the urinary sediment of patients with systemic lupus erythematosus." Rheumatology (Oxford) 48(12): 1491-1497.
- Lan, L., F. Han, X. Lang & J. Chen (2016). "Monocyte Chemoattractant Protein-1, Fractalkine, and Receptor for Advanced Glycation End Products in Different Pathological Types of Lupus Nephritis and Their Value in Different Treatment Prognoses." PLoS One 11(7): e0159964.
- Lea, J. P. (2002). "Lupus nephritis in African Americans." Am J Med Sci 323(2): 85-89.

Li, D., B. Guo, H. Wu, L. Tan, C. Chang & Q. Lu (2015). "Interleukin-17 in systemic lupus erythematosus: A comprehensive review." Autoimmunity 48(6): 353-361.

Lim, S. S., A. R. Bayakly, C. G. Helmick, C. Gordon, K. A. Easley & C. Drenkard (2014). "The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus, 2002-2004: The Georgia Lupus Registry." Arthritis Rheumatol 66(2): 357-368.

Liphaus, B. L., A. C. Goldberg, M. H. Kiss & C. A. Silva (2002). "Analysis of human leukocyte antigens class II-DR in Brazilian children and adolescents with systemic lupus erythematosus." Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo 57(6): 277-282.

Lisnevskaja, L., G. Murphy & D. Isenberg (2014). "Systemic lupus erythematosus." Lancet 384(9957): 1878-1888.

Lopes, S. R. M., N. W. S. Gormezano, R. C. Gomes, N. E. Aikawa, R. M. R. Pereira, M. T. Terreri, C. S. Magalhaes, J. C. Ferreira, E. M. Okuda, A. P. Sakamoto, A. M. E. Sallum, S. Appenzeller, V. P. L. Ferriani, C. M. Barbosa, S. Lotufo, A. A. Jesus, L. E. C. Andrade, L. M. A. Campos, E. Bonfa, C. A. Silva & G. Brazilian Childhood-onset Systemic Lupus Erythematosus (2017). "Outcomes of 847 childhood-onset systemic lupus erythematosus patients in three age groups." Lupus 26(9): 996-1001.

Lu, R., M. E. Munroe, J. M. Guthridge, K. M. Bean, D. A. Fife, H. Chen, S. R. Slight-Webb, M. P. Keith, J. B. Harley & J. A. James (2016). "Dysregulation of innate and adaptive serum mediators precedes systemic lupus erythematosus classification and improves prognostic accuracy of autoantibodies." J Autoimmun 74: 182-193.

Madaio, M. P. & M. J. Shlomchik (1996). "Emerging concepts regarding B cells and autoantibodies in murine lupus nephritis. B cells have multiple roles; all autoantibodies are not equal." J Am Soc Nephrol 7(3): 387-396.

Malide, D., P. Russo & M. Bendayan (1995). "Presence of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in renal mesangial cells of lupus nephritis patients." Hum Pathol 26(5): 558-564.

Mangalam, A. K., V. Taneja & C. S. David (2013). "HLA class II molecules influence susceptibility versus protection in inflammatory diseases by determining the cytokine profile." J Immunol 190(2): 513-518.

Marchini, M., R. Antonioli, A. Lleo, M. Barili, M. Caronni, L. Origgi, M. Vanoli & R. Scorza (2003). "HLA class II antigens associated with lupus nephritis in Italian SLE patients." Hum Immunol 64(4): 462-468.

Maroz, N. & M. S. Segal (2013). "Lupus nephritis and end-stage kidney disease." Am J Med Sci 346(4): 319-323.

Martinez-Valle, F., E. Balada, J. Ordi-Ros, S. Bujan-Rivas, A. Sellas-Fernandez & M. Vilardell-Tarres (2009). "DNase 1 activity in patients with systemic lupus erythematosus: relationship with epidemiological, clinical, immunological and therapeutical features." Lupus 18(5): 418-423.

McCluskey, R. T. (1975). "Editorial: Anti-tubular basement membrane (TBM) nephritis." N Engl J Med 292(17): 914-915.

McHale, J. F., O. A. Harari, D. Marshall & D. O. Haskard (1999). "TNF-alpha and IL-1 sequentially induce endothelial ICAM-1 and VCAM-1 expression in MRL/lpr lupus-prone mice." J Immunol 163(7): 3993-4000.

Mejia-Vilet, J. M., B. M. Cordova-Sanchez, N. O. Uribe-Uribe, R. Correa-Rotter & L. E. Morales-Buenrostro (2017). "Prognostic significance of renal vascular pathology in lupus nephritis." Lupus: 961203317692419.

Mina, R. & H. I. Brunner (2010). "Pediatric lupus--are there differences in presentation, genetics, response to therapy, and damage accrual compared with adult lupus?" Rheum Dis Clin North Am 36(1): 53-80, vii-viii.

Misunova, M., T. Svitalkova, L. Plestilova, O. Krystufkova, D. Tegzova, R. Svobodova, M. Husakova, M. Tomcik, R. Becvar, J. Zavada, H. Mann, L. Kolesar, A. Slavcev, J. Vencovsky & P. Novota (2017). "Molecular markers of systemic autoimmune disorders: the expression of MHC-located HSP70 genes is significantly associated with autoimmunity development." Clin Exp Rheumatol 35(1): 33-42.

Mok, C. C. (2006). "Therapeutic options for resistant lupus nephritis." Semin Arthritis Rheum 36(2): 71-81.

Mok, C. C. (2016). "Towards new avenues in the management of lupus glomerulonephritis." Nat Rev Rheumatol 12(4): 221-234.

Morgan, T. A., L. Watson, L. J. McCann & M. W. Beresford (2013). "Children and adolescents with SLE: not just little adults." Lupus 22(12): 1309-1319.

Moroni, G., F. Depetri & C. Ponticelli (2016). "Lupus nephritis: When and how often to biopsy and what does it mean?" J Autoimmun 74: 27-40.

Moroni, G., F. Tantardini, B. Gallelli, S. Quaglini, G. Banfi, F. Poli, G. Montagnino, P. Meroni, P. Messa & C. Ponticelli (2005). "The long-term prognosis of renal transplantation in patients with lupus nephritis." Am J Kidney Dis 45(5): 903-911.

Moroni, G., M. Trendelenburg, N. Del Papa, S. Quaglini, E. Raschi, P. Panzeri, C. Testoni, A. Tincani, G. Banfi, G. Balestrieri, J. A. Schifferli, P. L. Meroni & C. Ponticelli (2001). "Anti-C1q antibodies may help in diagnosing a renal flare in lupus nephritis." Am J Kidney Dis 37(3): 490-498.

Morris, D. L., M. M. Fernando, K. E. Taylor, S. A. Chung, J. Nititham, M. E. Alarcon-Riquelme, L. F. Barcellos, T. W. Behrens, C. Cotsapas, P. M. Gaffney, R. R. Graham, B. A. Pons-Estel, P. K. Gregersen, J. B. Harley, S. L. Hauser, G. Hom, C. D. Langefeld, J. A. Noble, J. D. Rioux, M. F. Seldin, C. Systemic Lupus Erythematosus Genetics, T. J. Vyse & L. A. Criswell (2014). "MHC associations with clinical and autoantibody manifestations in European SLE." Genes Immun 15(4): 210-217.

Morris, D. L., K. E. Taylor, M. M. Fernando, J. Nititham, M. E. Alarcon-Riquelme, L. F. Barcellos, T. W. Behrens, C. Cotsapas, P. M. Gaffney, R. R. Graham, B. A. Pons-Estel, P. K. Gregersen, J. B. Harley, S. L. Hauser, G. Hom, M. H. C. International, N. Autoimmunity Genetics, C. D. Langefeld, J. A. Noble, J. D. Rioux, M. F. Seldin, C. Systemic Lupus Erythematosus Genetics, L. A. Criswell & T. J. Vyse (2012). "Unraveling multiple MHC gene associations with systemic lupus erythematosus: model choice indicates a role for HLA alleles and non-HLA genes in Europeans." Am J Hum Genet 91(5): 778-793.

Napirei, M., H. Karsunky, B. Zevnik, H. Stephan, H. G. Mannherz & T. Moroy (2000). "Features of systemic lupus erythematosus in Dnase1-deficient mice." Nat Genet 25(2): 177-181.

Naranjo-Escobar, J., E. Manzi, J. G. Posada, L. Mesa, G. J. Echeverri, C. Duran, J. Schweneiberg, L. A. Caicedo, J. I. Villegas & G. J. Tobon (2017). "Kidney transplantation for end-stage renal disease in lupus nephritis, a very safe procedure: a single Latin American transplant center experience." Lupus: 961203317696591.

Niewold, T. B. (2015). "Advances in lupus genetics." Curr Opin Rheumatol 27(5): 440-447.

Niu, Z., P. Zhang & Y. Tong (2015). "Value of HLA-DR genotype in systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis." Int J Rheum Dis 18(1): 17-28.

Noris, M., J. Caprioli, E. Bresin, C. Mossali, G. Pianetti, S. Gamba, E. Daina, C. Fenili, F. Castelletti, A. Sorosina, R. Piras, R. Donadelli, R. Maranta, I. van der Meer, E. M. Conway, P. F. Zipfel, T. H. Goodship & G. Remuzzi (2010). "Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype." Clin J Am Soc Nephrol 5(10): 1844-1859.

Nowling, T. K. & G. S. Gilkeson (2011). "Mechanisms of tissue injury in lupus nephritis." Arthritis Res Ther 13(6): 250.

Oberbauer, R. (2008). "Biomarkers-a potential route for improved diagnosis and management of ongoing renal damage." Transplant Proc 40(10 Suppl): S44-47.

Oka, S., H. Furukawa, A. Kawasaki, K. Shimada, S. Sugii, A. Hashimoto, A. Komiya, N. Fukui, S. Ito, T. Nakamura, K. Saisho, M. Katayama, S. Tsunoda, H. Sano, K. Migita, A. Suda, S. Nagaoka, N. Tsuchiya & S. Tohma (2014). "Protective effect of the HLA-DRB1*13:02 allele in Japanese rheumatoid arthritis patients." PLoS One 9(6): e99453.

Oliver, M. K. & S. B. Piertney (2012). "Selection maintains MHC diversity through a natural population bottleneck." Mol Biol Evol 29(7): 1713-1720.

Opelz, G., B. Dohler & R. Collaborative Transplant Study (2008). "Influence of time of rejection on long-term graft survival in renal transplantation." Transplantation 85(5): 661-666.

Ostendorf, B., C. Iking-Konert, K. Kurz, G. Jung, O. Sander & M. Schneider (2005). "Preliminary results of safety and efficacy of the interleukin 1 receptor antagonist anakinra in patients with severe lupus arthritis." Ann Rheum Dis 64(4): 630-633.

Ozawa, M., P. I. Terasaki, J. H. Lee, R. Castro, J. Alberu, C. Alonso, I. Alvarez, R. Toledo, H. Alvez, M. Monterio, J. Teixeira, P. Campbell, M. Ciszek, D. Charron, C. Gautreau, F. Christiansen, R. Conca, B. Gomez, F. Monteon, H. Grosse-Wilde, F. Heinemann, I. Humar, M. Kamoun, P. Kimball, T. Kobayashi, P. Kupatawintu, S. Leech, W. LeFor, N. Mehra, A. Panigrahi, E. Naumova, D. Norman, A. Piazza, F. Poli, B. Colombo, R. Roy, C. Schonemann, G. Sireci, K. Tanabe, H. Ishida, E. Van den Berg-Loonen & A. Zeevi (2007). "14th International HLA and Immunogenetics Workshop: report on the Prospective Chronic Rejection Project." Tissue Antigens 69 Suppl 1: 174-179.

Patel, M., L. Oni, A. Midgley, E. Smith, K. Tullus, S. D. Marks, C. A. Jones, C. Pilkington & M. W. Beresford (2016). "Increased concentration of plasma TNFR1 and TNFR2 in paediatric lupus nephritis." Lupus 25(9): 1040-1044.

Perez de Lema, G., H. Maier, E. Nieto, V. Vielhauer, B. Luckow, F. Mampaso & D. Schlondorff (2001). "Chemokine expression precedes inflammatory cell infiltration and chemokine receptor and cytokine expression during the initiation of murine lupus nephritis." J Am Soc Nephrol 12(7): 1369-1382.

Perico, N., D. Cattaneo, M. H. Sayegh & G. Remuzzi (2004). "Delayed graft function in kidney transplantation." Lancet 364(9447): 1814-1827.

Petri, M. (2010). "Update on anti-phospholipid antibodies in SLE: the Hopkins' Lupus Cohort." Lupus 19(4): 419-423.

Petri, M., A. M. Orbai, G. S. Alarcon, C. Gordon, J. T. Merrill, P. R. Fortin, I. N. Bruce, D. Isenberg, D. J. Wallace, O. Nived, G. Sturfelt, R. Ramsey-Goldman, S. C. Bae, J. G. Hanly, J. Sanchez-Guerrero, A. Clarke, C. Aranow, S. Manzi, M. Urowitz, D. Gladman, K. Kalunian, M. Costner, V. P. Werth, A. Zoma, S. Bernatsky, G. Ruiz-Irastorza, M. A. Khamashta, S. Jacobsen, J. P. Buyon, P. Maddison, M. A. Dooley, R. F. van Vollenhoven, E. Ginzler, T. Stoll, C. Peschken, J. L. Jorizzo, J. P. Callen, S. S. Lim, B. J. Fessler, M. Inanc, D. L. Kamen, A. Rahman, K. Steinsson, A. G. Franks, Jr., L. Sigler, S. Hameed, H. Fang, N. Pham, R. Brey, M. H. Weisman, G. McGwin, Jr. & L. S. Magder (2012). "Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus." Arthritis Rheum 64(8): 2677-2686.

Piertney, S. B. & M. K. Oliver (2006). "The evolutionary ecology of the major histocompatibility complex." Heredity (Edinb) 96(1): 7-21.

Pons-Estel, G. J., M. F. Ugarte-Gil & G. S. Alarcon (2017). "Epidemiology of systemic lupus erythematosus." Expert Rev Clin Immunol: 1-16.

Putterman, C., R. Furie, R. Ramsey-Goldman, A. Askanase, J. Buyon, K. Kalunian, W. W. Chatham, E. Massarotti, K. Kirou, N. Jordan, I. Blanco, A. Weinstein, P. Chitkara, S. Manzi, J. Ahearn, T. O'Malley, J. Conklin, C. Ibarra, D. Barken & T. Dervieux (2014). "Cell-bound complement activation products in systemic lupus erythematosus: comparison with anti-double-stranded DNA and standard complement measurements." Lupus Sci Med 1(1): e000056.

Reveille, J. D. (2006). "The genetic basis of autoantibody production." Autoimmun Rev 5(6): 389-398.

Rijnink, E. C., Y. K. O. Teng, S. Wilhelmus, M. Almekinders, R. Wolterbeek, K. Cransberg, J. A. Bruijn & I. M. Bajema (2017). "Clinical and Histopathologic Characteristics Associated with Renal Outcomes in Lupus Nephritis." Clin J Am Soc Nephrol 12(5): 734-743.

Ronnblom, L. & V. Pascual (2008). "The innate immune system in SLE: type I interferons and dendritic cells." Lupus 17(5): 394-399.

Schiffer, L., R. Bethunaickan, M. Ramanujam, W. Huang, M. Schiffer, H. Tao, M. P. Madaio, E. P. Bottinger & A. Davidson (2008). "Activated renal macrophages are markers of disease onset and disease remission in lupus nephritis." J Immunol 180(3): 1938-1947.

Schwartz, N., B. Goilav & C. Putterman (2014). "The pathogenesis, diagnosis and treatment of lupus nephritis." Curr Opin Rheumatol 26(5): 502-509.

Shimane, K., Y. Kochi, A. Suzuki, Y. Okada, T. Ishii, T. Horita, K. Saito, A. Okamoto, N. Nishimoto, K. Myouzen, M. Kubo, M. Hirakata, T. Sumida, Y. Takasaki, R. Yamada, Y. Nakamura, N. Kamatani & K. Yamamoto (2013). "An association analysis of HLA-DRB1 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in a Japanese population: effects of *09:01 allele on disease phenotypes." Rheumatology (Oxford) 52(7): 1172-1182.

Silva, L. M. & E. A. Donadi (1996). "Is immunogenetic susceptibility to neuropsychiatric systemic lupus erythematosus (SLE) different from non-neuropsychiatric SLE?" Ann Rheum Dis 55(8): 544-547.

Somers, E. C., W. Marder, P. Cagnoli, E. E. Lewis, P. DeGuire, C. Gordon, C. G. Helmick, L. Wang, J. J. Wing, J. P. Dhar, J. Leisen, D. Shaltis & W. J. McCune (2014). "Population-based incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: the Michigan Lupus Epidemiology and Surveillance program." Arthritis Rheumatol 66(2): 369-378.

Susal, C., B. Dohler, M. Sadeghi, K. T. Salmela, R. Weimer, M. Zeier & G. Opelz (2011). "Posttransplant sCD30 as a predictor of kidney graft outcome." Transplantation 91(12): 1364-1369.

Susal, C. & G. Opelz (2012). "Posttransplant sCD30 as a biomarker to predict kidney graft outcome." Clin Chim Acta 413(17-18): 1350-1353.

Talaat, R. M., S. F. Mohamed, I. H. Bassyouni & A. A. Raouf (2015). "Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: Correlation with disease activity." Cytokine 72(2): 146-153.

Tan, E. M., A. S. Cohen, J. F. Fries, A. T. Masi, D. J. McShane, N. F. Rothfield, J. G. Schaller, N. Talal & R. J. Winchester (1982). "The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus." Arthritis Rheum 25(11): 1271-1277.

Tang, H., M. Chelamcharla, B. C. Baird, F. S. Shihab, J. K. Koford & A. S. Goldfarb-Rumyantsev (2008). "Factors affecting kidney-transplant outcome in recipients with lupus nephritis." Clin Transplant 22(3): 263-272.

Tesch, G. H., A. Schwarting, K. Kinoshita, H. Y. Lan, B. J. Rollins & V. R. Kelley (1999). "Monocyte chemoattractant protein-1 promotes macrophage-mediated tubular injury, but not glomerular injury, in nephrotoxic serum nephritis." J Clin Invest 103(1): 73-80.

Tian, W., L. X. Li & S. S. Guo (2000). "[Correlative study on HLA-DR2 allelic polymorphism and systemic lupus erythematosus in the Han nationality in Hunan province]." Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao 25(1): 15-17.

Timoshanko, J. R., A. R. Kitching, Y. Iwakura, S. R. Holdsworth & P. G. Tipping (2004). "Contributions of IL-1beta and IL-1alpha to crescentic glomerulonephritis in mice." J Am Soc Nephrol 15(4): 910-918.

Tokano, Y., S. Morimoto, H. Kaneko, H. Amano, K. Nozawa, Y. Takasaki & H. Hashimoto (1999). "Levels of IL-12 in the sera of patients with systemic lupus erythematosus (SLE)--relation to Th1- and Th2-derived cytokines." Clin Exp Immunol 116(1): 169-173.

Trofimenko, A. S., I. P. Gontar, A. B. Zborovsky & O. V. Paramonova (2016). "Anti-DNase I antibodies in systemic lupus erythematosus: diagnostic value and share in the enzyme inhibition." Rheumatol Int 36(4): 521-529.

Trowsdale, J. (2011). "The MHC, disease and selection." Immunol Lett 137(1-2): 1-8.

Trowsdale, J. & J. C. Knight (2013). "Major histocompatibility complex genomics and human disease." Annu Rev Genomics Hum Genet 14: 301-323.

Tsao, B. P. & D. J. Wallace (1997). "Genetics of systemic lupus erythematosus." Curr Opin Rheumatol 9(5): 377-379.

Tsokos, G. C., M. S. Lo, P. Costa Reis & K. E. Sullivan (2016). "New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus." Nat Rev Rheumatol 12(12): 716-730.

Tucci, M., L. Lombardi, H. B. Richards, F. Dammacco & F. Silvestris (2008). "Overexpression of interleukin-12 and T helper 1 predominance in lupus nephritis." Clin Exp Immunol 154(2): 247-254.

Tucker, L. B., A. G. Uribe, M. Fernandez, L. M. Vila, G. McGwin, M. Apte, B. J. Fessler, H. M. Bastian, J. D. Reveille & G. S. Alarcon (2008). "Adolescent onset of lupus results in more aggressive disease and worse outcomes: results of a nested matched case-control study within LUMINA, a multiethnic US cohort (LUMINA LVII)." Lupus 17(4): 314-322.

van der Woude, D., J. J. Houwing-Duistermaat, R. E. Toes, T. W. Huizinga, W. Thomson, J. Worthington, A. H. van der Helm-van Mil & R. R. de Vries (2009). "Quantitative heritability of anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum 60(4): 916-923.

Vikerfors, A., A. B. Johansson, J. T. Gustafsson, A. Jonsen, D. Leonard, A. Zickert, G. Nordmark, G. Sturfelt, A. Bengtsson, L. Ronnblom, I. Gunnarsson, K. Elvin & E. Svenungsson (2013). "Clinical manifestations and anti-phospholipid antibodies in 712 patients with systemic lupus erythematosus: evaluation of two diagnostic assays." Rheumatology (Oxford) 52(3): 501-509.

Voronov, E., M. Dayan, H. Zinger, L. Gayvoronsky, J. P. Lin, Y. Iwakura, R. N. Apte & E. Mozes (2006). "IL-1 beta-deficient mice are resistant to induction of experimental SLE." Eur Cytokine Netw 17(2): 109-116.

Wadi, W., N. E. Elhefny, E. H. Mahgoub, A. Almogren, K. D. Hamam, H. A. Al-Hamed & G. I. Gasim (2014). "Relation between HLA typing and clinical presentations in Systemic Lupus Erythematosus patients in Al-Qassim region, Saudi Arabia." Int J Health Sci (Qassim) 8(2): 159-165.

Wahren-Herlenius, M. & T. Dorner (2013). "Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease." Lancet 382(9894): 819-831.

Waldman, M. & G. B. Appel (2006). "Update on the treatment of lupus nephritis." Kidney Int 70(8): 1403-1412.

Walport, M. J. (2001). "Complement. First of two parts." N Engl J Med 344(14): 1058-1066.

Ward, M. M. (2000). "Access to renal transplantation among patients with end-stage renal disease due to lupus nephritis." Am J Kidney Dis 35(5): 915-922.

Weckerle, C. E., D. Mangale, B. S. Franek, J. A. Kelly, M. Kumabe, J. A. James, K. L. Moser, J. B. Harley & T. B. Niewold (2012). "Large-scale analysis of tumor necrosis factor alpha levels in systemic lupus erythematosus." Arthritis Rheum 64(9): 2947-2952.

Weening, J. J., V. D. D'Agati, M. M. Schwartz, S. V. Seshan, C. E. Alpers, G. B. Appel, J. E. Balow, J. A. Bruijn, T. Cook, F. Ferrario, A. B. Fogo, E. M. Ginzler, L. Hebert, G. Hill, P. Hill, J. C. Jennette, N. C. Kong, P. Lesavre, M. Lockshin, L. M. Looi, H. Makino, L. A. Moura & M. Nagata (2004). "The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited." J Am Soc Nephrol 15(2): 241-250.

Wen, Z., L. Xu, W. Xu, Z. Yin, X. Gao & S. Xiong (2013). "Interleukin-17 expression positively correlates with disease severity of lupus nephritis by increasing anti-double-stranded DNA antibody production in a lupus model induced by activated lymphocyte derived DNA." PLoS One 8(3): e58161.

Williams, G. M., D. M. Hume, R. P. Hudson, Jr., P. J. Morris, K. Kano & F. Milgrom (1968). ""Hyperacute" renal-homograft rejection in man." N Engl J Med 279(12): 611-618.

Yang, J., Y. Chu, X. Yang, D. Gao, L. Zhu, X. Yang, L. Wan & M. Li (2009). "Th17 and natural Treg cell population dynamics in systemic lupus erythematosus." Arthritis Rheum 60(5): 1472-1483.

Yap, D. Y., C. S. Tang, M. K. Ma, M. F. Lam & T. M. Chan (2012). "Survival analysis and causes of mortality in patients with lupus nephritis." Nephrol Dial Transplant 27(8): 3248-3254.

Yin, L., S. Dai, G. Clayton, W. Gao, Y. Wang, J. Kappler & P. Marrack (2013). "Recognition of self and altered self by T cells in autoimmunity and allergy." Protein Cell 4(1): 8-16.

Yokoyama, H., B. Kreft & V. R. Kelley (1995). "Biphasic increase in circulating and renal TNF-alpha in MRL-lpr mice with differing regulatory mechanisms." Kidney Int 47(1): 122-130.

Yu, F., M. Haas, R. Glasscock & M. H. Zhao (2017). "Redefining lupus nephritis: clinical implications of pathophysiologic subtypes." Nat Rev Nephrol.

Yung, S. & T. M. Chan (2015). "Mechanisms of Kidney Injury in Lupus Nephritis - the Role of Anti-dsDNA Antibodies." Front Immunol 6: 475.

Yung, S., K. F. Cheung, Q. Zhang & T. M. Chan (2010). "Anti-dsDNA antibodies bind to mesangial annexin II in lupus nephritis." J Am Soc Nephrol 21(11): 1912-1927.

Yung, S., C. Y. Ng, S. K. Ho, K. F. Cheung, K. W. Chan, Q. Zhang, M. K. Chau & T. M. Chan (2015). "Anti-dsDNA antibody induces soluble fibronectin secretion by proximal renal tubular epithelial cells and downstream increase of TGF-beta1 and collagen synthesis." J Autoimmun 58: 111-122.

Yung, S., R. C. Tsang, J. K. Leung & T. M. Chan (2006). "Increased mesangial cell hyaluronan expression in lupus nephritis is mediated by anti-DNA antibody-induced IL-1beta." Kidney Int 69(2): 272-280.

Yung, S., D. Y. Yap & T. M. Chan (2017). "Recent advances in the understanding of renal inflammation and fibrosis in lupus nephritis." F1000Res 6: 874.

Yung, S., Q. Zhang, C. Z. Zhang, K. W. Chan, S. L. Lui & T. M. Chan (2009). "Anti-DNA antibody induction of protein kinase C phosphorylation and fibronectin synthesis in human and murine lupus and the effect of mycophenolic acid." Arthritis Rheum 60(7): 2071-2082.

Zandman-Goddard, G., M. Solomon, Z. Rosman, E. Peeva & Y. Shoenfeld (2012). "Environment and lupus-related diseases." Lupus 21(3): 241-250.

Zhang, H., C. Zhao, S. Wang, Y. Huang, H. Wang, J. Zhao & N. Yang (2015). "Anti-dsDNA antibodies induce inflammation via endoplasmic reticulum stress in human mesangial cells." J Transl Med 13: 178.

Zhang, L., G. Lee, X. Liu, E. M. Pascoe, S. V. Badve, N. C. Boudville, P. A. Clayton, C. M. Hawley, J. Kanellis, S. P. McDonald, C. A. Peh, K. R. Polkinghorne & D. W. Johnson (2016). "Long-term outcomes of end-stage kidney disease for patients with lupus nephritis." Kidney Int 89(6): 1337-1345.

Zuber, J., M. Le Quintrec, R. Sberro-Soussan, C. Loirat, V. Fremeaux-Bacchi & C. Legendre (2011). "New insights into postrenal transplant hemolytic uremic syndrome." Nat Rev Nephrol 7(1): 23-35.

Zykova, S. N., A. A. Tveita & O. P. Rekvig (2010). "Renal Dnase1 enzyme activity and protein expression is selectively shut down in murine and human membranoproliferative lupus nephritis." PLoS One 5(8).

APÊNDICE A - "Use of Eculizumab in a Systemic lupus erythematosus patient presenting with thrombotic microangiopathy and Heterozygous deletion in CFHR1-CFHR3. A Case Report and Systematic Review."

Clin Rheumatol
DOI 10.1007/s10067-017-3823-2



CASE BASED REVIEW

Use of eculizumab in a systemic lupus erythematosus patient presenting thrombotic microangiopathy and heterozygous deletion in CFHR1-CFHR3. A case report and systematic review

Maria Izabel de Holanda¹ · Luis Cristóvão Pôrto² · Teresa Wagner¹ · Luis Fernando Christiani¹ · Lillian M. P. Palma³

Received: 28 June 2017 / Revised: 30 August 2017 / Accepted: 4 September 2017
© International League of Associations for Rheumatology (ILAR) 2017

Abstract The association of thrombotic microangiopathy (TMA) with systemic lupus erythematosus (SLE) has been described in 0.5 to 10% of cases, and patients present worse outcome. TMA is described as the association of microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, and an organ injury, frequently the kidney. This study describes a successful case of use of eculizumab in a patient with SLE and TMA refractory to standard therapy, and provides a literature review. Case description and search in PubMed and MEDLINE using systemic lupus erythematosus and/or antiphospholipid syndrome (APS) and eculizumab retrieved 15 case reports. Eighteen-year-old female presented acute renal failure and TMA and was diagnosed with SLE. Steroids and IV cyclophosphamide were started together with plasma exchange. After 55 days, she still persisted with microangiopathic anemia, thrombocytopenia, and anuria, and eculizumab was introduced. She had rapid improvement in hematological parameters, and dialysis was discontinued 25 days after the first dose. Genetic analysis showed large heterozygous deletion encompassing the entire CFHR1 and CFHR3, a finding previously associated with patients presenting atypical hemolytic-uremic syndrome (aHUS). Twenty patients who received eculizumab with SLE and/or APS have been

published to date: 11 were female and mean age at presentation was 31 years. Seven out of the 20 patients presented only SLE, 5 patients only APS and 8 patients both SLE and APS. Eighteen patients underwent plasma exchange, with a mean of 20 (4–120) sessions per patient. Thirteen patients received rituximab. Hematological response was evident in 100% and kidney recovery in 85% of patients. The terminal complement blockade with eculizumab is an optional treatment for patients with SLE and/or APS presenting TMA and refractory to current immunosuppression therapies. Genetic testing may help recognize patients with aHUS and SLE/APS and therefore help to determine length of treatment with eculizumab.

Keywords Antiphospholipid syndrome · Eculizumab · Systemic lupus erythematosus

Background

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a severe, autoimmune disease, characterized by involvement of multiple organ systems. The most common clinical features seen in patients with SLE involve the skin and joints, coupled often with hematologic, renal, and neuropsychiatric abnormalities [1–4]. Lupus nephritis is one of the main complications of the disease and is associated with poor survival and high morbidity. The antiphospholipid syndrome (APS) is another autoimmune disorder, associated with arterial or venous thromboses, which has a substantial morbidity when occurring during pregnancy, but often with an otherwise heterogeneous clinical presentation [5, 6]. The APS can be primary or is termed secondary when it is associated with SLE [1]. Less than 1% of cases can present a catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS) characterized by thrombosis in three or more organs less than 1 week apart and confirmed by thrombosis in small vessels.

✉ Maria Izabel de Holanda
izabeldeholanda@gmail.com

¹ Department of Nephrology and Kidney Transplant, Hospital Federal de Bonsucesso, Av. Londres 616, Prédio 1, segundo andar, Departamento de Nefrologia e Transplante Renal, Rio de Janeiro, Brazil

² Histocompatibility and Cryopreservation Laboratory, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

³ Department of Pediatric Nephrology, Unicamp, State University of Campinas, Campinas, Brazil

The traditional treatment approach is to use both immunosuppression and anticoagulation, but it nevertheless remains a challenge to treat these patients [7]. More recent reports have demonstrated successful treatment with eculizumab in otherwise refractory cases of CAPS [6, 8, 9].

A thrombotic microangiopathy (TMA) may be present in SLE and/or APS [10]. When such patients present a TMA, the morbidity is high. Plasmapheresis is one of the optional treatments; however, the response to plasmapheresis is still not ideal [11].

Eculizumab is an anti-complement drug approved by the FDA for treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and atypical hemolytic-uremic syndrome (aHUS). This drug is a humanized monoclonal antibody that prevents the cleavage of the human complement component C5 into its pro-inflammatory components (C5a and C5b). The efficacy of eculizumab has been shown in patients presenting aHUS [12]. More recently, case reports have been published regarding the action of eculizumab in patients with both SLE and APS presenting with thrombotic microangiopathy [8, 9, 13–25].

In this paper, we describe a patient presenting SLE and TMA treated with eculizumab, and then carry out a systematic review of the literature of patients presenting SLE and/or APS treated with this anti-complement drug.

Methods

We performed a literature search of case reports with patients presenting SLE and/or APS who used eculizumab, with or without TMA, and with or without renal involvement. The search was conducted using the following keywords: (“eculizumab”[all fields]) AND (“Systemic Lupus Erythematosus”[all fields] OR “Lupus”[all fields] OR “SLE”[all fields] OR “Systemic Lupus”[all fields]) AND/OR (“Antiphospholipid Syndrome”[all fields] OR “APS”[all fields] OR “Phospholipid”[all fields] or “Phospholipid syndrome”). The PubMed and MEDLINE databases were used for this search and were last accessed on May 2, 2017. The studies that met these criteria were analyzed by two reviewers. Disagreements were resolved by consensus. The criteria for inclusion were case report papers where patients were given eculizumab to treat lupus and/or APS with or without TMA. The criteria for exclusion were review papers, editor letters, clinical trials papers, and papers in languages other than English.

Case report

Our index patient was an 18-year-old female, who developed fever, abdominal pain, dysuria, skin rash, and oligo-anuria. She was admitted with uremic symptoms and hemodialysis

was immediately initiated. Initial exams demonstrated thrombocytopenia, anemia, elevated lactate dehydrogenase (LDH), low haptoglobin, schistocytes on blood smear, negative direct Coombs test, and urinalysis with hematuria and proteinuria characterizing TMA (Table 1). Auto-antibodies (ANA and anti-double stranded DNA) were positive; serum complement levels were low but with negative anti-cardiolipin IgG/IgM, lupus anticoagulant, and VDRL. ADAMST13 activity was 58%.

SLE was diagnosed and the patient received pulse of methylprednisolone followed by prednisone and IV cyclophosphamide monthly. Plasmapheresis was initiated aimed at improving TMA.

After 55 days of treatment, the patient remained with overt hemolysis, anemia despite RBC and fresh plasma transfusions, and remained anuric on intermittent hemodialysis. Given that she persisted with TMA despite immunosuppression, we decided to start eculizumab in the FDA-approved dosage of four weekly IV infusions of 900 mg, followed by 1200 mg every 2 weeks from week 5. The platelet count increased after 1 week, and a renal biopsy was then feasible compatible with lupus nephritis class IV and thrombi in glomeruli and arterioles. After the third dose of eculizumab, there was an improvement of hemoglobin with no further need for RBC transfusions. Dialysis was discontinued 25 days after the first dose of eculizumab. She was discharged from the hospital 1 week after discontinuation of hemodialysis, with a serum creatinine of 2.3 mg/dL and decreased proteinuria.

Currently, 3 years after starting eculizumab, her serum creatinine is 2.1 mg/dL (eGFR); she has reduced proteinuria and showed complete hematologic recovery (Table 1). The levels of her auto-antibodies are undetectable, and complement levels were within the normal range. Genetic analysis for aHUS panel was performed at Centogene (Rostock, Germany) using next-gene sequencing and showed a heterozygous deletion in CFHR1-CFHR3 (proteins related to factor H of the alternative complement pathway). The kidney biopsy after 1 year showed no signs of TMA and no disease activity under continuous treatment with terminal complement blockade.

Results: systematic review

The initial search yielded 290 references. After exclusion of duplicates, 76 papers were evaluated. The other papers were excluded for the following reasons: letter to the editor ($n = 1$), clinical trial papers ($n = 3$), reviews ($n = 34$), and papers related to PNH ($n = 17$). All the papers included were case reports describing patients who used eculizumab for SLE and/or APS. There are three case series with more than one case described. The final number of papers was 15, with 20 patients described.

Table 1 Evolution of exams before and after treatment with eculizumab

	Cyclophosphamide, corticosteroid + Plasma ↓					Eculizumab treatment ↓						
	Admission	Day 10	Day 15	Day 30	Day 65 Ecu	Day 7 Ecu	Day 14 Ecu	Day 28 Ecu	Discharge	After 1 year	After 2 years	
Hb	6.2	8.3	7.3	6.1	7.4	8.3	7.9	8.5	10.6	10.5	10.6	
Htc	18.5	23.4	20.9	18.6	21.5	26.9	24.8	26.3	31.6		33.2	
Plt	50,000	40,000	57,000	22,000	81,000	113,000	138,000	183,000	146,000	313,000	235,000	
Cr	4.8(HD)	5.6(HD)	4.8(HD)	4.2(HD)	2.0(HD)	2.0(HD)	2.6(HD)	2.8	2.6	2.1	2.3	
SUN	191	99	110	195	52	92	125	166	100	100	95	
LDH	972	ND		1241	ND	ND	ND	788U/L	ND	200U/L	210U/L	
Direct coombs	Neg	ND	Neg	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
Hapto	ND	ND	ND	<6mg/dl	<6mg/dl	ND	ND	ND	<6mg/dl	ND	Normal	
ANA	ND	1:1280	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Negative	Negative	
AntiDNA	ND	1:80	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Negative	Negative	
AAcI	ND	Negative	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Negative	Negative	
ACL	ND	Neg/neg	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Negative	Negative	
IgG/IgM												
C3 (79-152mg/dl)	ND	21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	87mg/dl	86.3	Normal	
C4 (12-36mg/dl)	ND	5mg/dl	ND	ND	ND	ND	ND	ND	13mg/dl	17.7	Normal	
Urinalysis	Ptn3+Hb4+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Ptn2+/Hb-	Ptn2+/Hb-	
Proteinuria (g/24h)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.68	2	1.8	
Diuresis (mL/d)	100	100	100	100	100	100	300	700	1300	2000	2000	

ACL anti body anti coagulant lupic, AAcI anti body anti cardiolipin, ANA anti nuclear antibody, CF cyclophosphamide, Cr creatinine, Hapto haptoglobin, Hb hemoglobin, Htc hematocrit, HD hemodialysis, ND not determined, SUN serum urea, Plt platelet, Ptn proteinuria

All the papers were published between 2011 and 2017. The demographic characteristics were as follows: 20 patients: 11 were female, 6 male, and 4 were not described. The mean age was 32 (range 4–58 years). There were seven patients with SLE, five with APS, and eight with both SLE and secondary APS (Table 2).

Systemic TMA (characterized as those with anemia, thrombocytopenia, low haptoglobin, and/or high LDH and/or schistocytes on peripheral blood smear associated with an organ involvement) was present in 14/20 (75%) patients. Six patients did not have a systemic TMA but two of them had a TMA restricted on the kidney graft biopsy. One patient had refractory lupus nephritis without TMA, and three patients used eculizumab prophylactically for a kidney transplant. Only seven out of the 20 patients had ADAMTS13 determined, all in the normal range, excluding thrombotic thrombocytopenic purpura. The patients' profile of antibodies and laboratory exams described in the papers are presented in Tables 3 and 4, respectively.

Regarding kidney transplant, nine patients used eculizumab after transplant, five had SLE and secondary APS, three had primary APS, and one had lupus. Three transplanted patients started eculizumab prophylactically

before kidney transplant and had primary APS, two of whom were re-transplants, and all had an uneventful outcome. Six patients began treatment after transplant: five had SLE and secondary APS and one had lupus. They presented refractory TMA and other secondary causes were ruled out. Table 5 shows the characteristics of these patients.

All the 20 patients had renal involvement. Seventeen patients underwent a kidney biopsy. In eight, TMA was present in biopsy (Table 3). Five patients had pulmonary involvement related to the disease and three patients had neurological impairment. Patients with pulmonary involvement had more severe disease, two did not recover renal function, and one had a relapse after discontinuing medication.

Eighteen patients underwent plasmapheresis sessions; the mean number of sessions was 20 (range 2–120) sessions per patient. Thirteen patients received rituximab (range 1–4 doses). Eculizumab was started at a mean time of 70 days after initial presentation, with a hematological response in 100% and kidney recovery in 85% of patients undergoing eculizumab therapy.

Of the patients who did not recover renal function, three initially presented severe pulmonary symptoms, and one patient began eculizumab 200 days after the onset of the

Table 2 Papers and patient's characteristics

Case report studies	Gender	Ethnicity	Age	Diag	TMA/s (y/N)	Plz/session	RxMab	Igg	Time (days) of start ECU	Hemato resp	Renal resp	Genetics	STOP ECU/doses	Relapses
Hadya et al. 2011 [13]	F	ND	27	SLE	N/in the graft	Y/8	Y/1 dose pre α	N	12	Y	Y/21 days	No Mutation	Y/5	N
Shapira et al. 2012 [14]	M	ND	28	SLE/APS	Y	Y/60	Y	Y/5doses	300	Y	Y	ND	N	N
Canard et al. 2013 [15]	F	Caribbean	36	SLE/APS	Y	Y/60	N	N	14	Y/10 days	Y/21 days	ND	Y/28	N
	F	Caucasian	35	SLE/APS	Y	Y/14	N	N	14	Y/10 days	Y/14 days	ND	Y/9	N
	M	ND	33	SLE/APS	Y	Y/30	N	N	30	Y/10 days	Y/14 days	ND	Y/8	N
Kronbichler et al. 2014 [16]	F	ND	30	SLE/APS	Y	Y/12	Y/4 doses	N	35	Y	N	Mutation exon 13 C3 gene	Y/9	N
	F	ND	36	APS	Y	Y/15	N	N	56	Y	Y	Not done	N/10	N
Lonze et al. 2014 [9]	ND	ND	51	APS	Y	N	Y/1 dose	N	-1	Y	Y	ND	N	N
	ND	ND	39	APS	N	Y/4 before	Y/1 dose	N	-1	Y	Y	ND	N	N
	ND	ND	38	APS	N	Y/4 before	Y/1 dose	N	-1	Y	Y	ND	N	N
Bakhtiar et al. 2014 [18]	M	ND	26	SLE/APS	Y	Y/5	N	N	7	Y	Y	No Mutation	N	N
Coppo et al. 2014 [7]	F	Moroccan	4	SLE	Y	Y/9	Y/2 doses	N	60	Y/7 days	Y/21 days	No mutation	Yredaps/continuous	Y
Zikos et al. 2015 [19]	M	ND	46	APS	Y	Y/24	Y/3 doses	Y/1 dose	72	Y	N	No mutation	Y/35	N
Wig et al. 2015 [20]	F	ND	48	APS	Y	Y/120	Y/2 doses	Y/5doses	180	Y/42 days	NI	ND	N	N
El-Harsheli et al. 2015 [21]	F	AA	24	SLE	Y	Y/8	N	N	37	Y	Y/14 days	Not done	Y/14	N
Pickering et al. 2015 [22]	F	Caucasian	17	SLE	N	N	Y/4 doses	N	300	Y	Y/30 days	Not done	Y/6	N
Rauf et al. 2016 [23]	F	Vietnamese	25	SLE	Y	Y/18	Y/2 doses	N	49	Y/56 days	Y/90 days	No mutation	ND	ND
Bermon et al. 2016 [24]	F	AA	30	SLE	Y	Y/5	Y/1 dose doses	Y/3	200	Y/44 days	N	ND	Y/6	N
	M	Hispanic	21	SLE	Y	Y/20	Y/3 doses	Y/3	40	Y/7 days	N	ND	N	N
Geethakumari et al. 2017 [25]	M	Caucasian	58	SLE/APS	N	Y/2	N	N	15	Y/60 days	Y/60 days	No mutation	N	N

AA African American, Diag diagnoses, d days, ECU eculizumab, F female, Hemato hematological, Igg immunoglobulin, M male, ND not described, N no, Plz plasmapheresis, RxMab rituximab, Resp response, SLE systemic lupus erythematosus, Y yes

Table 3 Patient's autoimmunity profile and renal biopsies

Case report studies	ANA	anti-DNA	Cardiolipin IgG/IgM	acl	Anti-beta2	C3	C4	sTMA	Renal biopsy	Immunofluorescence
Hadaya et al. 2011 [13]	1:640	NI	Pos/neg	Pos	Pos	Low	Low	N/graft	TMA	C4d-; C5b9 and C3
Shapira et al. 2012 [14]	Pos	NI	Pos/pos	NI	Pos	NI	NI	Yes	NI	NI
Caruad et al. 2013 [15]	Pos	NI	Pos/pos	Pos	Pos	NI	NI	Yes	TMA not present	C5b9+, C3+, C105+
	Pos	NI	NI	NI	Pos	NI	NI	Yes	TMA not present	C5b9+, C4+, C105+
	NI	NI	Neg/neg	Pos	Pos	NI	NI	Yes	TMA not present	C5b9+, C4+, C105+
Knoblichler et al. 2014 [16]	NI	NI	Pos/pos	Pos	Pos	Low	Low	Yes	TMA not present	NI
Sraikhan et al. 2014 [8]	Neg	Neg	Neg/neg	Pos	Neg	N	N	Yes	TMA	NI
Louze et al. 2014 [9]	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	No	Y/NI	NI
	NI	NI	Pos/pos	Pos	Pos	NI	NI	No	TMA and AR not present	NI
	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	No	Y/NI	C5b9+ granular
Bakhtiar et al. 2014 [18]	Neg	Neg	Pos/pos	Pos	Pos	Normal	Normal	Yes	LN Class V, TMA Not present	NI
Coppo et al. 2014 [17]	1:400	1:640	Neg/neg	Neg	Neg	20	Undetectable	Yes	TMA and LN Class V	NI
Zikos et al. 2015 [19]	Neg	N	Pos/ND	Pos	Pos	NI	NI	Yes	NI	NI
Wig et al. 2015 [20]	Pos	Pos	Pos/ND	Pos	Pos	NI	NI	Yes	NI	NI
El-Husseini et al. 2015 [21]	Pos	Pos	Neg/neg	Neg	NI	63	12	Yes	Class III-V and TMA	Full house in the mesangium and capillary loops
Pickering et al. 2015 [22]	Pos	Pos	Neg/neg	Neg	NI	Low	Low	No	Class IV-G	NI
Bermea et al. 2016 [24]	Pos	1:160	Neg/neg	Neg	Neg	55	11	Yes	LN class IV-V	NI
	Pos	80	Neg/neg	Neg	Neg	41	4	Yes	LN Class II	NI
Raufi et al. 2016 [23]	1:320	5120	Neg/neg	Neg	Neg	3	13.9	Yes	LN Class IV	NI
Geebhakumari et al. 2017 [25]	NI	NI	Pos/ND	Pos	Pos	NI	NI	No	TMA	C4d-

ANA antibody antinuclear, AR acute rejection, acl anticardiolipin IgG, F female, IF immunofluorescence, LN lupus nephritis, M male, neg negative, NI not informed, pos positive, sTMA systemic thrombotic microangiopathy

symptoms. Overall, the mean time for starting eculizumab in these four patients who did not recover renal function was 86 days. Seven out of the 20 patients underwent a genetic analysis of the alternative complement pathway genes, and one had a pathogenic finding of the C3 gene. Nine patients discontinued eculizumab, and one patient (with no genetic abnormality detected) had two subsequent TMA relapses, with good response after eculizumab was resumed.

Discussion

We describe a successful case of eculizumab treatment in a patient with lupus nephritis and TMA which was refractory to standard treatment using plasmapheresis and

immunosuppressive therapies. We undertook a systematic review of the literature to analyze similar or related cases using eculizumab.

TMA is associated with lupus in 0.5 to 10% of cases. The incidence of class IV lupus nephritis with TMA ranges from 5 to 9% in the literature [1, 4, 26]. In some studies, the presentation and evolution of these patients are worse than those of patients with lupus nephritis without TMA [4, 27, 28]. Other studies, however, did not demonstrate this [2, 29, 30]. The pathophysiology of TMA associated with systemic or autoimmune diseases is still unclear, but there is evidence of involvement of the alternative complementary pathway [31].

TMA has been related to the APS [2-4, 27, 30, 32-39] in some studies, while other authors have not demonstrated this correlation ([26, 27, 30, 40]. In the present case we report,

Table 4 Patient's laboratory exams

Case report studies	Hb (g/dL)	Cr (mg/dL)	Platelet count	L.DH (U/L)	Haptoglobine (mg/dL)	Urine	ADAMTS13
Hadaya et al. 2011 [13]	NI	1.9	NI	NI	NI	NI	NI
Shapira et al. 2012 [14]	7.8	NI	35,000	1282	< 3	NI	NI
Canaud et al. 2013 [15]	7.2	4.5	50,000	NI	Undetectable	NI	NI
	NI	3.3	100,000	NI	Undetectable	NI	NI
	6.2	5.6	70,000	NI	Undetectable	NI	NI
Kronbichler et al. 2014 [16]	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Strakhan et al. 2014 [8]	12.3	7	44,000	3720	NI	NI	58%
Lonze et al. 2014 [9]	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
	NI	NI	50,000–160,000	NI	NI	NI	NI
Bakhtiar et al. 2014 [18]	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Coppo et al. 2014 [17]	9.3	Elevated (NI)	55,000	1000	< 20	Pm ^a /Hem	Normal (NI)
Zikos et al. 2015 [19]	NI	4.6	20,000	549/368	N	NI	Normal (NI)
Wig et al. 2015 [20]	NI	Elevated (NI)	25,000	NI	NI	pm ^b	Normal (NI)
El-Husseini et al. 2015 [21]	6.4	3.9	25,000	1577	<10	Pm ^c	Normal (NI)
Pickering et al. 2015 [22]	NI	2.4	NI	NI	NI	Pm ^d	NI
Bermea et al. 2016 [24]	NI	NI	NI	NI	NI	Pm/Hem	NI
	6.9	6.9	18,000	759	< 20	2 + Pm/3 + Hem	67%
Raufi et al. 2016 [23]	8.7	2.6	50,000	341/1681(12)	< 30	Pm/Hem	99%
Gaethakumari et al. 2017 [25]	NI	7.3	52,000	NI	NI	NI	NI

NI not informed

^a Proteinuria, 6 g/day

^b Proteinuria, 1 g/day

^c UPCr, 4.9 mg/mg

^d UPCr, 2540 mg/mmol

anti-phospholipid antibodies were negative on admission and after 12 weeks.

A putative explanation for the association of lupus nephritis and TMA is that auto-antibodies may have primed the endothelium, unmasking a complement alternative pathway defect. The activation of both classic and alternative complement

pathways may play a role in the pathogenesis of TMA in patients with lupus nephropathy [30].

Some authors have suggested that the development of SLE, especially lupus nephritis, is closely associated with immune complex-induced complement activation via the classical pathway, but there is also a hypothesis that the activation of

Table 5 Transplanted patients

Case report studies	Diagnoses	Pre Tx	Post Tx	Hematological response	Renal response	STOP eculizumab
Hadaya et al. 2011 [13]	SLE	No	Yes/12 days	Yes/7 days	Yes/21 days	Yes
Canaud et al. 2013 [15]	SLE/APS	No	Yes/12 days	Yes/10 days	Yes/21 days	Yes
	SLE/APS	No	Yes/12 days	Yes/10 days	Yes/14 days	Yes
	SLE/APS	No	Yes/12 days	Yes/10 days	Yes/14 days	Yes
Lonze et al. 2014 [9]	APS	Yes	Yes/– 1 day	Yes	Yes	No
	APS	Yes	Yes/– 1 day	Yes	Yes	No
	APS	Yes	Yes/– 1 day	Yes	Yes	No
Bakhtiar et al. 2014 [18]	SLE/APS	No	Yes/7 days	Yes	Yes	No
Gaethakumari et al. 2017 [25]	SLE/APS	No	Yes/15 days	Yes/60 days	Yes/60 days	No

APS antiphospholipid syndrome, SLE systemic lupus erythematosus, Tx transplant

the alternative complement pathway could reflect disease activity and also might play a role in activation-induced self-injury and inflammatory response in SLE [30, 31].

Patients with a deficiency of complement regulators of the alternative pathway, such as factor H, may be susceptible to the development of SLE. Recent studies have found that homozygous deletion of CFHR3-CFHR1 conferred a significantly increased risk of SLE compared to no deletion. Jonsen et al. [41] described no association between mutations in CFH and CD46, as found in aHUS, and SLE expression, but found instead that these mutations are likely to affect the timing of onset of lupus nephritis. Patients who develop SLE and TMA may have activation of the alternative complement pathway by mechanisms still unknown, which may include mutations on genes that regulate alternative pathways, auto-antibodies, and those of the classical pathways of complement activation.

In a recent publication, Hernandez-Molina et al. [30] showed that lupus nephritis in patients with chronic TMA had a worse kidney prognosis than that in patients without TMA, and this data was taken into account when we decided to start eculizumab in the patient described.

In a review of plasmapheresis in patients with lupus nephritis and TMA, the authors demonstrated that patients who underwent plasmapheresis had a better response than the group which did not undergo this treatment [11]. The plasmapheresis group, however, had a high relapse rate. This poor response to plasmapheresis and other therapies raises the question whether we are reaching the target in the treatment of these patients. Probably, the pathophysiology in the non-responsive patients is beyond the simple activation of classic complement pathways, perhaps involving immune complex and endothelial inflammation [11]. Atypical hemolytic-uremic syndrome is a prototypical TMA, caused by an inability to stop alternative pathway complementary activation of the terminal membrane attack complex (MAC, C5b-9), thereby leading to damage of the endothelial cell beds throughout the body, as well as an inability to block platelet and white blood cell activation in the circulation, which adds further to the microangiopathic process [12]. Additional cases of aHUS may be seen in a variety of circumstances that lead to alternative complement over-activity coupled with the absence of sufficient regulation, including SLE, scleroderma, malignant hypertension, and pregnancy, among other conditions. A recent study of 193 patients employing a high-throughput genetic screening process demonstrated the ability to find most mutations and, also, raised the question of novel genetic variants in the pathogenesis of aHUS [42].

Eculizumab is a humanized monoclonal antibody, directed against complement C5, that blocks the terminal alternative complementary pathway and is FDA-approved for treatment of patients with PNH and aHUS. This antibody binds to the C5 convertase site, avoiding C5b-9 (membrane attack

complex) and C5a (a potent anaphylatoxin) formation [43]. The safety and efficacy of eculizumab in patients with aHUS has been demonstrated in prospective trials [12] and extensively reviewed in a recent publication [44].

From our systematic review, we found that all the case reports described above demonstrated good response using eculizumab in cases of TMA and SLE and/or APS. One case described a lupus nephritis patient refractory to standard therapy and without a systemic TMA who had a successful response [17]. The severity of the disease and the time to start treatment seem to predict a worse renal outcome.

In the case reported by El-Husseini et al. [21], there was an improvement in a patient with TMA and SLE when treated with eculizumab after failure of a more classical immunosuppressive treatment approach. Some other case reports of patients with CAPS showed a successful response using eculizumab when patients were refractory to other treatments [16, 19, 45]. Nevertheless, this topic is still under debate since other authors could not identify a benefit in the use of eculizumab in patients with CAPS [6].

Similar to our patient, Hu et al. [4] demonstrated a poor renal and patient survival rate of 1, 3, and 5 years in an analysis of patients with class IV lupus nephritis and TMA when compared with patients in previous studies with class IV lupus nephritis and no TMA [46]. This corroborates that the presence of TMA adds severity to lupus nephritis and frequently a poor response to conventional therapies.

More studies with eculizumab are necessary to provide further information about its use in SLE and/or APS and TMA, but given the rareness of the disease with both associations, multicenter and collaborative group studies will be difficult to conduct with a reasonable number of patients. Case reports are helpful to share the experience of different centers and provide the background for bigger trials.

A genetic analysis may reveal a mutation in the regulatory factors of the alternative complement pathway or auto-antibodies against factor H or I or CD46, among others. Eculizumab may be an option for the treatment of refractory lupus nephritis/APS with TMA when classical treatment is not effective [47], but a response does not depend on the presence of finding a frank mutation.

This case report and the cases analyzed from the systematic review above demonstrated that terminal complement blockade can be an effective treatment for patients with SLE and/or APS presenting or not TMA, who are resistant to classical and potent immunosuppression therapies. Genetic testing may help identify patients with aHUS and SLE/APS and therefore inform on long-term treatment plans.

Acknowledgments We sincerely thank Craig B. Langman, MD, from the Northwestern University, for his assistance in our report review and his important critiques. We are also grateful to Renato Eick and John Wilkinson for reviewing the English.

Authors' contributions MIH—designed the study, followed up patient, collected the data, analyzed results, and wrote manuscript; TW and LFC—followed up patient and analyzed results; LCP—analyzed results and revised manuscript; LMP—designed the study, analyzed results, and revised manuscript.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors MIH and LMPP declare that they receive fees as speakers and consultants from Alexion Pharmaceuticals, Brazil.

TW, LFC, and LCP declare no conflicts of interest.

References

- Appel GB, Pisani CL, D'Agati V (1994) Renal vascular complications of systemic lupus erythematosus. *J Am Soc Nephrol* 4(8):1499–1515
- Banfi G, Bertani T, Boeri V et al (1991) Renal vascular lesions as a marker of poor prognosis in patients with lupus nephritis. Gruppo Italiano per lo Studio della Nefrite Lupica (GISNEL). *Am J Kidney Dis* 18(2):240–248
- Tsumagari T, Fukumoto S, Kirjio M, Tanaka K (1985) Incidence and significance of intrarenal vasculopathies in patients with systemic lupus erythematosus. *Hum Pathol* 16(1):43–49
- Hu WX, Liu ZZ, Chen HP, Zhang HT, Li LS, Liu ZH (2010) Clinical characteristics and prognosis of diffuse proliferative lupus nephritis with thrombotic microangiopathy. *Lupus* 19(14):1591–1598
- Vieregge GB, Harrington TJ, Andrews DM, Capintero MF, Green DF, Nayer A (2013) Catastrophic antiphospholipid syndrome with severe acute thrombotic microangiopathy and hemorrhagic complications. *Case Rep Med* 2013:915309
- Erkan D, Aguiar CL, Andrade D et al (2014) 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies: task force report on antiphospholipid syndrome treatment trends. *Autoimmun Rev* 13(6):685–696
- Rodriguez-Pinto I, Espinosa G, Cervera R (2015) Catastrophic APS in the context of other thrombotic microangiopathies. *Curr Rheumatol Rep* 17(1):482
- Strakhan M, Hurtado-Sbordoni M, Galeas N, Bakirhan K, Alexis K, Elrafei T (2014) 36-year-old female with catastrophic antiphospholipid syndrome treated with eculizumab: a case report and review of literature. *Case Rep Hematol* 2014:704371
- Lonze BE, Zachary AA, Magro CM et al (2014) Eculizumab prevents recurrent antiphospholipid antibody syndrome and enables successful renal transplantation. *Am J Transplant* 14(2):459–465
- Nesher G, Hanna VE, Moore TL, Hersh M, Osborn TG (1994) Thrombotic microangiopathic hemolytic anemia in systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 24(3):165–172
- Li QY, Yu F, Zhou FD, Zhao MH (2016) Plasmapheresis is associated with better renal outcomes in lupus nephritis patients with thrombotic microangiopathy: a case series study. *Medicine (Baltimore)* 95(18):e3595
- Legendre CM, Licht C, Loirat C (2013) Eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 369(14):1379–1380
- Hadaya K, Ferrari-Lacraz S, Fumeaux D et al (2011) Eculizumab in acute recurrence of thrombotic microangiopathy after renal transplantation. *Am J Transplant* 11(11):2523–2527
- Shapiro I, Andrade D, Allen SL, Salmon JE (2012) Brief report: induction of sustained remission in recurrent catastrophic antiphospholipid syndrome via inhibition of terminal complement with eculizumab. *Arthritis Rheum* 64(8):2719–2723
- Caruad G, Kamar N, Anglicheau D et al (2013) Eculizumab improves posttransplant thrombotic microangiopathy due to antiphospholipid syndrome recurrence but fails to prevent chronic vascular changes. *Am J Transplant* 13(8):2179–2185
- Kronbichler A, Frank R, Kirschfink M et al (2014) Efficacy of eculizumab in a patient with immunoadsorption-dependent catastrophic antiphospholipid syndrome: a case report. *Medicine (Baltimore)* 93(26):e143
- Coppo R, Peruzzi L, Amore A et al (2015) Dramatic effects of eculizumab in a child with diffuse proliferative lupus nephritis resistant to conventional therapy. *Pediatr Nephrol* 30(1):167–172
- Bakhtar O, Thajudeen B, Braunhut BL et al (2014) A case of thrombotic microangiopathy associated with antiphospholipid antibody syndrome successfully treated with eculizumab. *Transplantation* 98(3):e17–e18
- Zikos TA, Sokolove J, Ahuja N, Bembe C (2015) Eculizumab induces sustained remission in a patient with refractory primary catastrophic antiphospholipid syndrome. *J Clin Rheumatol* 21(6):311–313
- Wig S, Chan M, Thachil J, Bruce I, Barnes T (2016) A case of relapsing and refractory catastrophic antiphospholipid syndrome successfully managed with eculizumab, a complement 5 inhibitor. *Rheumatology (Oxford)* 55(2):382–384
- El-Husseini A, Hamran S, Awad A, Jennings S, Cornea V, Sawaya BP (2015) Thrombotic microangiopathy in systemic lupus erythematosus: efficacy of eculizumab. *Am J Kidney Dis* 65(1):127–130
- Pickering MC, Ismajli M, Condon MB et al (2015) Eculizumab as rescue therapy in severe resistant lupus nephritis. *Rheumatology (Oxford)* 54(12):2286–2288
- Raufi AG, Scott S, Darwish O et al (2016) Atypical hemolytic uremic syndrome secondary to lupus nephritis, responsive to eculizumab. *Hematol Rep* 8(3):6625
- Bermea RS, Sharma N, Cohen K, Liarski VM (2016) Use of eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome, complicating systemic lupus erythematosus. *J Clin Rheumatol* 22(6):320–323
- Geethakumari PR, Mille P, Gulati R, Nagalla S. (2017) Complement inhibition with eculizumab for thrombotic microangiopathy rescues a living-donor kidney transplant in a patient with antiphospholipid antibody syndrome. *Transfus Apher Sci* 56(3):400–403
- Frampton G, Hicks J, Cameron JS (1991) Significance of antiphospholipid antibodies in patients with lupus nephritis. *Kidney Int* 39(6):1225–1231
- Cheursuchon B, Rungkaew P, Chawanasantopaj R, Pattaragum A, Panichatikanond P (2007) Prevalence and clinicopathologic findings of antiphospholipid syndrome nephropathy in Thai systemic lupus erythematosus patients who underwent renal biopsies. *Nephrology (Carlton)* 12(5):474–480
- Espinosa G, Bucciarelli S, Cervera R et al (2004) Thrombotic microangiopathic haemolytic anaemia and antiphospholipid antibodies. *Ann Rheum Dis* 63(6):730–736
- Teltonidou MG, Setsiou F, Nakopoulou I, Vlachoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM (2004) Antiphospholipid syndrome nephropathy in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibodies: prevalence, clinical associations, and long-term outcome. *Arthritis Rheum* 50(8):2569–2579
- Hernandez-Molina G, Garcia-Tréjo LP, Uribe N, Cabral AR (2015) Thrombotic microangiopathy and poor renal outcome in lupus patients with or without antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 33(4):503–508
- Watanabe H, Garnier G, Circolo A et al (2000) Modulation of renal disease in MRL/lpr mice genetically deficient in the alternative complement pathway factor B. *J Immunol* 164(2):786–794
- Pierangeli SS, Espinola RG, Liu X, Harris EN (2001) Thrombotic effects of antiphospholipid antibodies are mediated

- by intercellular cell adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1, and P-selectin. *Circ Res* 88(2):245–250
33. Daugas E, Nochy D, Huang DL et al (2002) Antiphospholipid syndrome nephropathy in systemic lupus erythematosus. *J Am Soc Nephrol* 13(1):42–52
 34. Nochy D, Daugas E, Droz D et al (1999) The intrarenal vascular lesions associated with primary antiphospholipid syndrome. *J Am Soc Nephrol* 10(3):507–518
 35. Jordan N, Chaib A, Sangle S et al (2014) Association of thrombotic microangiopathy and intimal hyperplasia with bleeding post-renal biopsy in antiphospholipid antibody-positive patients. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 66(5):725–731
 36. Erre GL, Bosincu L, Faedda R et al (2014) Antiphospholipid syndrome nephropathy (APSN) in patients with lupus nephritis: a retrospective clinical and renal pathology study. *Rheumatol Int* 34(4):535–541
 37. Song D, Wu LH, Wang FM et al (2013) The spectrum of renal thrombotic microangiopathy in lupus nephritis. *Arthritis Res Ther* 15(1):R12
 38. Pierangeli SS, Harris EN (2003) Probing antiphospholipid-mediated thrombosis: the interplay between anticardiolipin antibodies and endothelial cells. *Lupus* 12(7):539–545
 39. Cervera R, Tektonidou MG, Espinosa G et al (2011) Task force on catastrophic antiphospholipid syndrome (APS) and non-criteria APS manifestations (I): catastrophic APS, APS nephropathy and heart valve lesions. *Lupus* 20(2):165–173
 40. Cohen D, Koopmans M, Kramer-Hovinga JC et al (2008) Potential for glomerular C4d as an indicator of thrombotic microangiopathy in lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 58(8):2460–2469
 41. Jansen A, Nilsson SC, Ahqvist E et al (2011) Mutations in genes encoding complement inhibitors CD46 and CFH affect the age at nephritis onset in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 13(6):R206
 42. Bu F, Bosa NG, Jones MB et al (2016) High-throughput genetic testing for thrombotic microangiopathies and C3 glomerulopathies. *J Am Soc Nephrol* 27(4):1245–1253
 43. Legendre CM, Licht C, Muus P et al (2013) Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 368(23):2169–2181
 44. Palma LM, Langman CB (2016) Critical appraisal of eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome. *J Blood Med* 7:39–72
 45. Lonæ BE, Singer AL, Montgomery RA (2010) Eculizumab and renal transplantation in a patient with CAPS. *N Engl J Med* 362(18):1744–1745
 46. Najafi CC, Korbet SM, Lewis EJ et al (2001) Significance of histologic patterns of glomerular injury upon long-term prognosis in severe lupus glomerulonephritis. *Kidney Int* 59(6):2156–2163
 47. Licht C, Greenbaum LA, Muus P et al (2015) Efficacy and safety of eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome from 2-year extensions of phase 2 studies. *Kidney Int* 87(5):1061–1073

APÊNDICE B – Soluble CD30, Acute Rejection and Graft Survival: pre- and 6 month post-transplant determinations- When is the best time to measure?



Soluble CD30, Acute Rejection, and Graft Survival: Pre- and 6-Month Post-Transplant Determinations—When Is the Best Time to Measure?

M.I. de Holanda^a, T. Matuck^{a,b}, D.d.B.M. de Carvalho^{a,b}, E.M.F.L. Domingues^c, R. Curvo^c, D.S. Glasberg^a, A.M.G. Santos^c, Á.M. Borela^a, and L.C. Pôrto^{c,*}

^aNephrology Service, Hospital Federal de Bonsucesso, Rio de Janeiro, Brazil; ^bNephrology Service, Hospital de São Francisco da Providência de Deus, Rio de Janeiro, Brazil; and ^cHistocompatibility and Cryopreservation Laboratory, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

ABSTRACT

Background. Pretransplantation soluble CD30 (sCD30) has been shown to be a good predictor of acute rejection (AR) and graft loss. This study aimed to evaluate the effectiveness of sCD30 measured pretransplant and up to 6 months after transplantation as a predictor of AR, graft loss, and survival at 5 years post-transplantation. Subjects were patients receiving living donor renal transplants at Bonsucesso Federal Hospital (Rio de Janeiro) in 2006 and between August 2010 and May 2011.

Methods. sCD30 was analyzed in samples collected pretransplantation and 7, 14, and 21, 28 days and 3, 4, 5, and 6 months post-transplantation from 73 kidney recipients.

Results. Patients in the AR group did not present a positive correlation with the sCD30 levels pretransplant ($P = .54$); in the post-transplant period, the 7- to 14-day samples showed patients with AR had higher levels of this biomarker ($P = .036$). The graft survival in 5 years of follow-up was not different between groups.

Conclusions. The best time to predict AR using sCD30 is the 7- to 14-day sample; however, identifying and following the decrease of this biomarker from pre- to post-transplant seems to be better than just 1 measurement. The sCD30 post-transplant is another tool that may be used in monitoring patients after renal transplantation.

ACUTE REJECTION (AR) remains a major challenge in kidney transplantation [1–4]. Pretransplant determination of a recipient's risk of graft rejection is an important prerequisite for deciding on immunosuppression therapy [5]. In clinical practice, panel-reactive antibody (PRA) is an immunologic parameter that provides clinically useful information regarding the outcome of kidney allograft [6,7].

Associated with this feature is the search for a donor-specific antibody (DSA), which is increasingly used to provide a more accurate diagnosis of acute antibody-mediated rejection, and concomitantly constitutes an approach in the treatment of early AR [8]. CD30, which is a member of the tumor necrosis factor family, is a 120-kDa transmembrane glycoprotein that is preferentially expressed on the surface of T cells [9]. CD30 was originally identified on the surface of cells by Hodgkin and Reed Stenberg and is only identified in low levels in normal individuals [10]. CD30

expression increases when cells are stimulated and activated. A proteolytic reaction releases soluble CD30 (sCD30), which has been detected in the serum of patients with several conditions, including viral infections (human immunodeficiency virus, Epstein-Barr virus, human T-cell lymphotropic virus type 1, and hepatitis B virus), autoimmune diseases (lupus erythematosus, atopic dermatitis, and rheumatoid arthritis), and some tumors [11]. Several studies

L.C.P. was a recipient from grants of FAPERJ—Rio de Janeiro Research Foundation Agency and CNPq—National Council for Scientific and Technological Development.

*Address correspondence to Prof Luís Cristóvão Pôrto, Laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação, Pav. José Roberto Feresin Moraes, Av Marechal Rondon 381, São Francisco Xavier 20950-003, Rio de Janeiro, Brazil. Tel: +552123342426. E-mail: lcporto@uefj.br

0041-1345/18
<https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2018.02.025>

© 2018 Elsevier Inc. All rights reserved.
 230 Park Avenue, New York, NY 10169

report that sCD30 is an important molecule for T-cell memory that regulates the balance between the Th1 and Th2 immune response [12,13]. Martinez et al [14] observed that CD30+ T cells were the major source of cytokine production by T lymphocytes after stimulation with alloantigens, suggesting a specific role of CD30+ T cells in alloimmunity. At higher concentrations, CD30 increases the response of T cells [13]. Activated CD30+ T cells *in vivo* and *in vitro* release sCD30 into the circulatory system, leading to speculation that sCD30 levels may be closely associated with T-cell CD30 expression, and therefore may be used as a marker for the immune status of patients [15].

sCD30 was also associated with immunologic events in renal transplantation, such as acute and chronic rejection [16,17]. Previous studies have suggested that pretransplant levels of sCD30 are a good predictor of kidney graft outcome [18–21].

The association of PRA, DSA, and sCD30 in the pre- and post-transplant period may provide more accurate data to assess the risk of AR in these patients [21–23]. Our group also showed that sCD30 levels pretransplant and at day 7 and month 6 were associated with PRA in the first 2 months and identify kidney transplant patients at risk for early AR [24].

This study aimed to evaluate the effectiveness of sCD30 measured pretransplant, at 7, 14, 21, 28 days, and at 2, 3, 4, 5, and 6 months after transplantation as a predictor of AR, graft loss, and survival at 5 years post-transplantation and to evaluate the CD30 variability among these patients.

PATIENTS AND METHODS

Ethics

All patients were invited to participate in the study and signed a written informed consent form. This study was performed in accordance with standards of our hospital's Ethics Committees (1141 CEP/HUPE-CAAE:0071-0-228.000405).

Study Population—Patients

We evaluated 73 renal transplant subjects with living donors (42 men and 31 women), with a mean age of 39 ± 12 years. In 2006, 37 patients were transplanted and 36 were transplanted between August 2011 and August 2012 at Bonsucesso Federal Hospital, Rio de Janeiro, Brazil (HFB). Transplanted subjects were followed up for a period of 5 years post-transplant.

Immunosuppression

The immunosuppressive regimen defined by the transplant team predominantly consisted of a calcineurin inhibitor, cyclosporine or tacrolimus, mycophenolate mofetil, and prednisone. Rapamycin was administered in specific patients in place of mycophenolate. Induction was performed with monoclonal anti-interleukin-2 receptor (basiliximab, anti-CD25) or anti-human globulin (thymoglobulin) in patients assessed as having the greatest risk of rejection according to the protocol of the renal transplant team.

Acute Rejection

The criteria for AR included those in the clinical routine established by the Service of Nephrology of HFB. Rejection episodes

were diagnosed from clinical, laboratory, and pathologic aspects, including weight gain, decreased urine output, fever ($>37^\circ\text{C}$), graft pain, enlargement of the graft, and the presence of elevated creatinine level in the absence of infection or drug-induced nephrotoxicity. The diagnosis of rejection was defined by a correlation of clinical signs or renal biopsy by Banff classification. Subjects who developed AR episodes were treated with methylprednisolone (1 g) intravenously daily for 3 days. Two refractory cases were treated with antithymocyte globulin or plasmapheresis.

Patient's Follow-Up

All the patients enrolled in this study were routinely followed up on outpatient clinic until 5 years post-transplantation or death. During the follow-up period, blood and urine samples were collected to evaluate graft function. If there were any signs of infections or other disease, the patients were treated following the protocol of the transplant team. Information on rejection episode, infection episode, graft function, and patient survival was documented.

Samples

The sCD30 levels and PRA were determined before transplantation and sCD30 levels at 7, 14, 21, and 28 days and 2 to 6 months after transplantation at the follow-up consultations. In the case of any hospitalization for a suspected infection or rejection, a blood sample was collected. PRA lab screen and mixed screening were obtained pretransplant.

All subjects underwent T- and B-lymphocyte cross-matching. Tests were conducted via the conventional method of complement-dependent cytotoxicity (National Institutes of Health Centers for Disease Control and Prevention). T- and B-lymphocyte donors and serum recipients from peripheral blood were used.

Cross-matching results were classified as negative for $<10\%$ nonviable cells, weakly positive for 11% to 20% nonviable cells, and positive for $>20\%$ nonviable cells. HLA typing was performed using molecular analysis kits LabType™ SSP and/or SSO from One Lambda Inc (Canoga Park, Calif, United States).

PRA was performed pretransplant using a commercial kit via 2 methodologies: (1) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) LATM 20X5 and 10X5 and LAT1240 (One Lambda Inc) containing precalibrated ELISA reagents for the detection of IgG antibody to HLA class I or class II in human serum. In separate wells of a Terasaki plate, defined amounts of affinity purified HLA, or (2) flow cytometry—Mixed LABScreen, LABScreen PRA Class I and Class II (One Lambda Inc) were used sequentially when tested positive with Mixed LABScreen. The results of PRA screening were expressed in relation to the normalized background ratio and levels up to 6.0 were considered negative. HLA Fusion 2.0 software was used to interpret the samples. The count value of beads must be ≥ 100 . The value of the negative control should be <500 (Mixed LABScreen) and 1500 (LABScreen PRA); the value of the positive control should be $>1,000$ (Mixed LABScreen) and 3,000 (PRA LABScreen).

Measurement of sCD30

The sCD30 measurements were performed with an ELISA, according to the manufacturer's protocol (BMS240inst kit of human sCD30 eBioscience). Samples were collected and stored at -20°C to avoid loss of bioactivity. Upon analysis, samples were thawed at room temperature and gently mixed for testing. Patient serum and standard dilutions of sCD30 were pipetted into wells in duplicate and incubated in the presence of horseradish peroxidase conjugate

for 3 hours at room temperature. Following washing and the addition of substrate solution (10 minutes, 20°C), color intensity was measured at 450 nm. Concentrations of sCD30 were determined by comparing the optical density of the sample wells with the optical density of wells containing standard dilutions of sCD30 (standard curve).

Renal Biopsies

A total of 15 ultrasound-guided biopsies were performed for suspected rejection by the Nephrology Service of the HFB. The collected material was typically taken from the lower pole of the transplanted kidney. The material was fixed in 4% paraformaldehyde and embedded in paraffin. Analysis and diagnosis were performed by the Pathology Department of HFB following the Banff classification (2007). Immunohistochemistry was performed to assess the presence of C4d, which was considered positive if deposits were observed in >10% of peritubular capillaries [25,26].

Statistical Analysis

Categorical data are described by number and percent. The frequency of sex, ethnicity, ABO blood type, age, and relationship with donors were performed by direct counting. Data were analyzed using Excel (Microsoft, Redmond, Wash, United States) and SPSS (SPSS, Chicago, Ill, United States) version 23.0. Comparisons of frequencies and averages between sets of variables and groups were performed by χ^2 or Fisher test. $P < .05$ was considered statistically significant. sCD30 levels and their association with AR were analyzed using the Fisher test, Kruskal-Wallis test and the results were expressed as the means \pm standard deviations. The paired t test was used to evaluate the samples, comparing the collection times. To validate a sCD30 effect on AR episodes and graft survival, we defined an operational cutoff sCD30 level with the highest specificity and sensitivity for the risk of AR and graft loss (receiver operating characteristic [ROC] curve analysis) that allowed a differentiation between subject groups with and without rejection. All statistical analyses were carried out using SPSS software and MedCalc software (Version 9.3.6; MedCalc, Mariakerke, Belgium). Results were significant at the level of $P < .05$.

We also used a cutoff point of sCD30 pretransplant set at >100 ng/mL [17,24] and after transplantation at > 40 ng/mL [27] to consider positive sCD30, described previously in the literature. Survival analysis was carried out by the Kaplan-Meier method. P values < .05 were considered significant.

RESULTS

Baseline Characteristics

In this study, 31 were female patients, and 58 patients were white, 6 black, and 9 of mixed ethnicity. Regarding previous underlying diseases, 4 patients were diabetic, 6 were diagnosed with focal segmental glomerulosclerosis, 26 had glomerulonephritis, 19 had hypertension, 3 had systemic lupus erythematosus, 5 had urological problems, and 7 had undetermined causes. In the evaluation of patient immune sensitization, 12 had PRA class I > 20% and 9 patients exhibited PRA class II > 20%. A total of 38 patients (52%) had a history of prior blood transfusions. Three patients were previously transplanted (4%). Fifteen patients had previous pregnancies. HLA results were as follows: 9 patients were HLA identical, 37 patients were haplo-identical, and 8

patients had no match. Immunosuppression was performed with basiliximab in 34 patients and with thymoglobulin in 2 patients; 18 (24.6%) patients had episodes of AR, 2 with humoral AR. Only 15 underwent a renal biopsy, and 3 patients were considered as exhibiting clinical AR. They presented worsening graft function, with increased creatinine; other causes for this were ruled out and methylprednisolone pulse was carried out. During 4-year follow-up, 8 patients developed graft loss, 2 died, both with infection (Table 1).

The 2 series were compared (2006 vs 2011–2012) and no statistical differences between the demographic variables were observed. The median of sCD30 levels in the 2006 series was 85 ng/mL and the 2010 to 2011 series was 106 ng/mL ($P = .09$). Rejection episodes ($P = .38$) and graft loss ($P = .20$) showed no statistically significant difference.

Samples Analysis

sCD30 levels were determined in 483 samples: before transplant ($n = 73$); at 7 ($n = 72$), 14 ($n = 54$), 21 ($n = 51$), and 28 ($n = 49$) days; and at 3 ($n = 41$), 4 ($n = 26$), 5 ($n = 28$), and 6 ($n = 39$) months after transplantation. The analysis demonstrated that the samples from 7 to 14 days, from 21 to 28 days, and from 2 months to 6 months had a good correlation and did not demonstrate differences on the paired t test. We defined 4 post-transplant time points for the analysis: 7 to 14 days, 21 to 28 days, 3 to 4 months, and 5 to 6 months. If a sample at 7 days was not available, we used the 14-day sample; we followed the same procedure for 21 to 28 days and for the others to complete the samples analysis. We compared samples using the paired t test, and these tests did not show differences in these collecting times.

Acute Rejection

Eighteen patients presented an AR episode. The mean time of AR episodes was 16.2 days (range 1–129 days).

One patient who presented humoral rejection lost the graft because of the AR. In the clinical rejection group, 1 patient evolved to death because of a long-time infection after the episode of AR and 1 lost the graft and was diagnosed as interstitial fibrosis and tubular atrophy. In the group of cellular rejection, 4 lost the graft; the cause and the time of loss are detailed in Table 2.

Pretransplant sCD30 Levels Acute Rejection and Graft Loss

There was no difference in the mean values of sCD30 pretransplant, when comparing patients with AR and patients without AR. Pretransplant sCD30 levels of patients with AR was 110.5 ± 59.9 ng/mL, compared with 97.9 ± 51.7 ng/mL in patients without AR ($P = .389$). Considering the cutoff value of sCD30 > 100 ng/mL at pretransplant, 44.4% of the group with AR presented higher levels of sCD30 compared with 43.6% of non-AR group ($P = .582$). In the analysis of graft loss in 5 years and sCD30 pretransplant, the mean was 111.2 ± 80.4 for patients who lost the graft and 99.7 ± 50.2 for patients that did not lose the

Table 1. Demographic Data of Living Kidney Transplant Recipients

	n (%)
Sex	
Male	42 (57.6)
Female	31 (42.4)
Age (y)	
<18	1 (1.3)
18-30	20 (27.3)
31-59	49 (67.1)
>60	3 (4.1)
Ethnic group	
White	58 (79.5)
Black	6 (8.2)
Mexizo	9 (12.3)
Previous diseases	
Diabetes	4 (5.5)
FSSG	6 (8.2)
GN	26 (35.6)
HTN	19 (26.0)
Polycystic disease	3 (4.1)
Urological causes	5 (6.8)
Lupus	3 (4.1)
Unknown	7 (9.6)
Blood type	
A	25 (34.2)
B	9 (12.3)
O	36 (49.3)
AB	3 (4.1)
PRA I	
0%-20%	61 (83.7)
>20%	12 (16.3)
PRA II	
0%-19%	64 (87.7)
>20%	9 (12.3)
Previous sensitization	
Transfusion	38 (52.1)
Transplant	3 (4.1)
Pregnancy	15 (48.4)*
Mismatches A, B, and DRB1	
0	9 (12.3)
1-3	42 (57.5)
4-6	22 (30.1)
Induction	
Yes	36 (49.3)
No	37 (50.7)
Acute rejection episodes	18 (25.0)
Graft losses	8 (10.9)
Acute rejection	2 (25.0)
IFTA	5 (62.5)
Urologic	1 (12.5)

Abbreviations: HTN, hypertension; FTA, interstitial fibrosis and tubular atrophy; PRA, panel-reactive antibody.

graft ($P = .280$). Using the cutoff of 100 ng/mL for sCD30 and graft loss, the analysis did not demonstrate statistical significance ($P = .503$).

An ROC curve was applied to evaluate the best level to predict AR pretransplant, and the area under the curve was 0.561 ($P = .415$; 95% confidence interval 0.439-0.677).

Table 2. Patients With AR

Patient	Rejection	Time of AR (d)	Graft Loss (Length of Survival)	Cause of Loss
1	Clinic	5	No	
2	Cellular	7	No	
3	Humoral	7	No	
4	Clinic	10	No	
5	Cellular	10	Yes (10 d)	AR
6	Cellular	10	No	
7	Humoral	1	Yes (1 d)	AR
8	Cellular	14	No	
9	Clinic	5	No	
10	Cellular	7	No	
11	Cellular	17	Yes (873 d)	FTA
12	Cellular	129	No	
13	Cellular	10	Yes (234 d)	Urologic
14	Cellular	7	Yes (482 d)	FTA
15	Clinic	7	Death (294 d)	Infection
16	Cellular	23	No	
17	Cellular	14	No	
18	Cellular	9	No	

Abbreviations: AR, acute rejection; IFTA, interstitial fibrosis and tubular atrophy.

Post-Transplant sCD30 Levels, Acute Rejection, and Graft Loss

The mean post-transplant analysis on the 7- to 14-day samples between both groups (rejection vs nonrejection) was 58.1 ± 51.6 and 58.9 ± 53.2 ng/mL, respectively, ($P = .186$); considering a cutoff level above 40 ng/mL as positive, 61.1% of patients with AR had positive sCD30 levels, compared with 15.5% of patients that did not present AR in this time ($P = .036$; odds ratio = 3.73). The ROC curve demonstrated an area under the curve of 0.725 ($P = .004$; 95% confidence interval 0.607-0.824). The best cutoff in our study was 25 ng/mL (specificity 46.3% and sensibility 88.8%; Fig 1). When the cutoff of 25 ng/mL was applied as positive in the post-transplant 7- to 14-day samples comparing both groups, 88.8% of patients with AR presented levels of sCD30 above this cutoff and 3.7% of patients were without rejection ($P = .013$). The mean of sCD30 of patients that lost graft in this time was 66.5 ± 75.9 ng/mL compared with 40.9 ± 49.7 ng/mL from patients who did not lose the graft ($P = .138$).

The analysis between 21- to 28-day post-transplant samples showed a mean of sCD30 of 33.3 ± 29.0 in the AR patients and 26.5 ± 18.8 ng/mL in patients without AR ($P = .293$). The cutoff of 40 ng/mL was applied and did not demonstrate a difference between the groups ($P = .182$). The ROC curve to evaluate the best value to predict AR was applied and the area under the curve was 0.534 ($P = .714$; 95% confidence interval 0.401-0.664). The correlation of sCD30 in this time with graft loss in 5 years presented a mean of 37.6 ± 36.8 ng/mL for patients who lost the graft and 26.9 ± 18.8 ng/mL for patients with functioning graft, which was statistical significant ($P = .009$). The comparison between the 3 times samples described showed that the 7- to 14-days sample were the best time to predict AR with sCD30 levels (Fig 1).

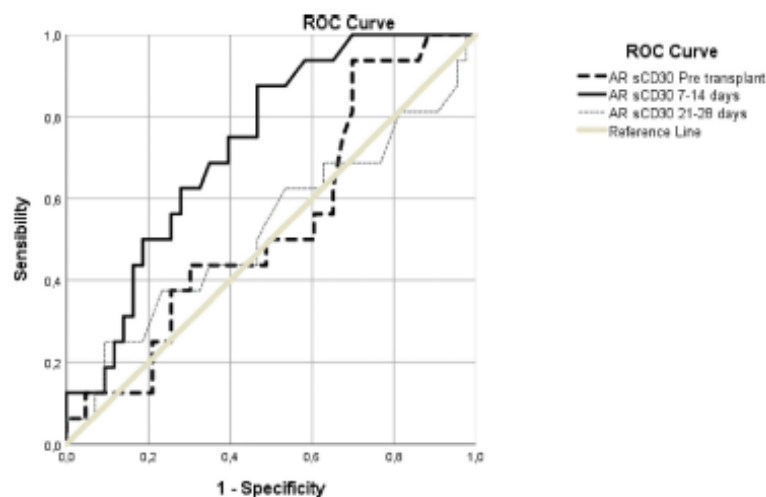


Fig 1. Receiver operating characteristic (ROC) curve of soluble CD30 (sCD30) in the pretransplant, 7- to 14-day, and 21- to 28-day samples for acute rejection (AR). The better area was for the 7- to 14-days samples (area under the curve = 0.775; $P = .004$). The comparison between the ROC curves showed statistical difference for the 7- to 14-days samples in comparison with the pretransplant ($P = .0179$) and the 7- to 14-day samples in comparison with the 21- to 28-day samples ($P = .0205$).

Analysis of the sCD30 mean levels at 3 to 4 months and at 5 to 6 months post-transplant were not significant between the 2 groups regarding AR ($P = .057$, $P = .365$, $P = .492$, respectively). The same occurred for graft loss in 5 years; comparison between patients who lost the graft and patients who did not lose the graft was not significant in these collecting times ($P = .346$, $P = .454$, $P = .444$, respectively).

CD30 and Creatinine

We evaluated the correlation of sCD30 levels at 7 to 14 days and at 21 to 28 days and the creatinine in the same period. The aim of this analysis was to evaluate if an increase in creatinine can correlate to higher levels of sCD30. We calculated the Pearson correlation coefficient. The correlation was weak in both analysis ($r^2 = 0.151$, $R = 0.388$, $P = .001$; $r^2 = 0.048$, $R = 0.220$, $P = .111$, respectively; Fig 2).

sCD30 Variability

The variation of sCD30 levels from pretransplant to post-transplant demonstrated an important decrease in the first post-transplant sample. After this, until 2 months the levels increased and from 2 months until 6 months they stayed stable, as other authors have already demonstrated. The mean of the percentage decrease of sCD30 levels from the pretransplant to post-transplant did not demonstrate a difference between both groups; however, patients that presented AR had a lower percentage decrease

(49.7% \pm 22.3% patients with AR vs 57.9% \pm 36.9% patients without AR; $P = .159$). We applied an ROC curve and noted a 59% decrease from the pretransplant to post-transplant that had a sensitivity of 77.7% and sensibility of 70.9%; the area under the curve was 0.690 and $P = .004$. Considering 59% as a positive value to compare both groups (AR and no AR), the analysis showed a 74.5% decrease more than 59% from the basal value in non-AR group, compared with 33.3% of the decrease in the rejecting group ($P = .002$; odds ratio = 5.85).

The CD30 variability in patients that were submitted to a methylprednisolone pulse was also evaluated. We compared the sCD30 levels before and after the pulse and the mean sCD30 levels before and after the steroids. Nineteen patients received steroid pulse; we evaluated the sCD30 before pulse and the sample subsequent to this. Only in 16 patients was this possible. The mean of sCD30 levels before was 98.5 \pm 53.0 ng/mL and after the pulse 35.6 \pm 35.7 ng/mL ($P = .0001$), and the mean decrease was 63% after the steroid pulse. In this group, there was no difference between patients who lost the graft and the sCD30 after pulse ($P = .731$). The type of immunosuppression did not demonstrate correlations with sCD30 levels post-transplant.

sCD30 and Graft Survival After 5 Years

During the 5 years of follow-up, 2 patients died with pulmonary infection or sepsis, all with a functioning graft. Eight had

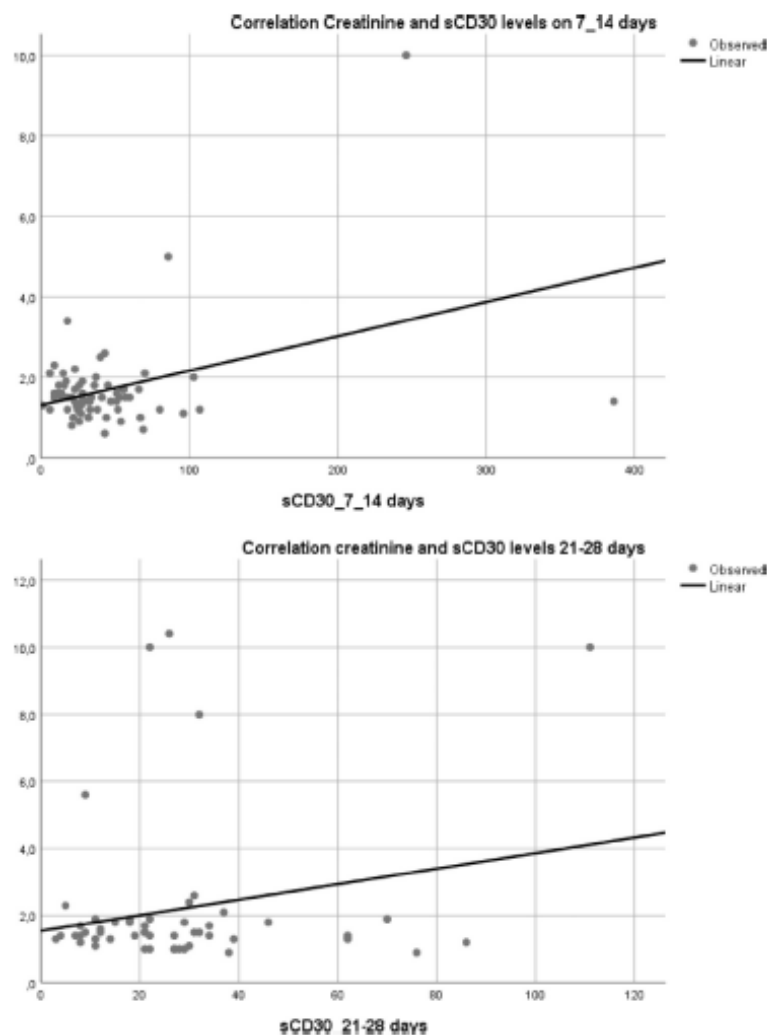


Fig 2. Correlation of creatinine and soluble CD30 (sCD30) (linear regression) at 7 to 14 days post-transplant was $r^2 = 0.048$, $R = 0.220$, $P = .043$. At 21 to 28 days, the correlation was $r^2 = 0.068$, $R = 0.260$, $P = .111$.

graft loss. In 2 cases, the cause was AR and humoral rejection, and 6 revealed chronic nephropathies. The overall graft survival at 5-year follow-up was 89.04%. Patients presenting sCD30 levels above 100 ng/mL had a survival rate of 93.75% versus 85.37% survival rate of patients with lower pretransplant sCD30 levels ($P = .231$). When we considered post-transplant sCD30 levels with a cutoff above 40 ng/mL, on the 7- to 14-day samples, we found 93.33% graft survival for patients with lower sCD30 levels and 81.48% for patients

presenting higher sCD30 levels ($P = .133$). On 21- to 28-day samples, the graft survival of patients with sCD30 above 40 ng/mL was 77.77% and 88.24% for patients with lower sCD30 ($P = .452$; Fig 3A, 3B, 3C).

DISCUSSION

We have presented 2 series of patients transplanted in different years at the same transplant center. The year series

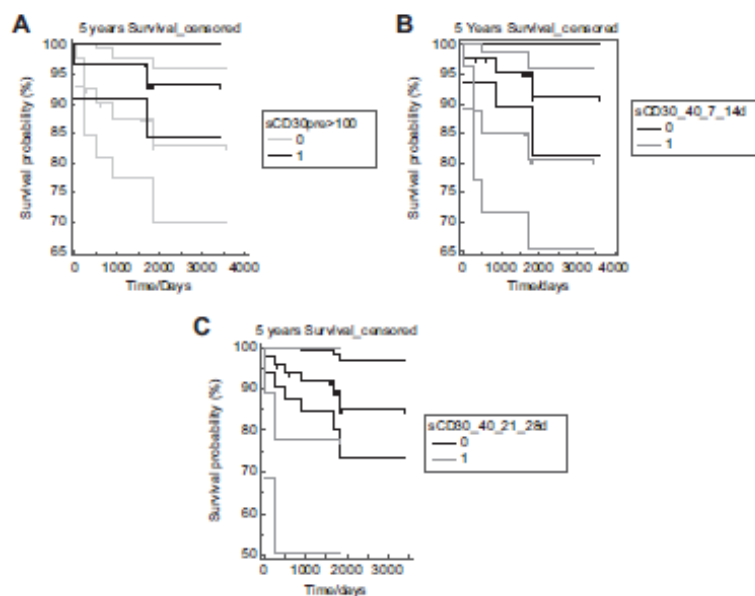


Fig 3. Five-year graft survival and soluble CD30 (sCD30) levels: pretransplant (A), 7 to 14 days (B), 21 to 28 days (C) (Kaplan-Meier survival). Patients presenting higher levels of sCD30 (1) had a better graft survival, compared with patients with lower levels (0). However, the difference was not statistically significant ($P = .231$). (B) Patients presenting sCD30 < 40 ng/mL (0) on the 7- to 14-day post-transplant samples had better 5-year graft survival, compared with patients presenting sCD30 > 40 ng/mL. However, the difference was not statistically significant ($P = .133$). (C) Patients presenting sCD30 < 40 ng/mL (0) on the 21- to 28-day post-transplant samples had better 5-year graft survival, compared with patients presenting sCD30 > 40 ng/mL. However, the difference was not statistically significant ($P = .452$).

(2006 vs 2011–2012) were similar regarding the census data of recipients and their donors. All patients evaluated in our study were living donors, allowing for a less-sensitized population with improved compatibility between donors and recipients, which is a better prognosis factor of renal transplant. The evaluation of these markers in patients transplanted with deceased donors will be necessary in our population, because most kidney transplants in Brazil and around the world are from deceased donors.

In this study, we observed a correlation between sCD30 levels and immunologic events in transplantation. Patients who developed AR episodes and graft loss exhibited elevated levels of sCD30 post-transplant, when compared with patients without rejection events. As described in other studies, sCD30 may be a marker for AR and graft loss. We also confirm no correlation between the levels of pretransplant sCD30 and AR and graft loss [7,17,19,28]. However, all patients who had AR in this analysis exhibited mean sCD30 levels greater than those of patients without AR events. It is suggested that these patients have greater immune reactivity.

Pretransplant sCD30 levels and predisposition to immunologic events remains a controversial subject [29]. A

multicenter study of >2,000 patients showed that pretransplant sample levels >100 ng/mL was a good predictor of AR [17]. Our group also recently demonstrated that patients with pretransplant sCD30 levels >100 ng/mL were more likely to present AR [23,24]. The same correlation was not observed in the present study. Other authors, however, did not indicate the same results [29,30]. In a recent meta-analysis of 12 major studies on the evaluation of pretransplant sCD30 as a predictor of AR episodes, the authors demonstrated that the accuracy of this marker in predicting AR is limited [31].

Few studies have proposed protocols of this marker during post-transplantation monitoring. In 2011, Susal et al [27] demonstrated that patients who progressed in the first month after transplantation with levels >40 ng/mL were more likely to develop graft loss and AR. When we used this cutoff, we found a good correlation in the 7- to 14-day samples and AR, but not for graft loss. However, our analysis found that patients who lost grafts in 5 years had a higher mean of sCD30 levels in the samples taken at 21 to 28 days after transplant when compared with patients who did not lose the graft; this is in agreement with Susal et al [32].

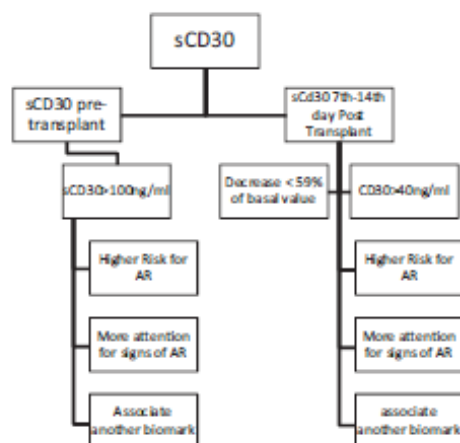


Fig 4. Suggested algorithm for soluble CD30 (sCD30) determinations in kidney transplant follow-up. This algorithm suggests a follow-up measurement of sCD30 before and after transplant. Patients with higher values or values that do not decrease after transplant are at higher risk for acute rejection (AR) and need more attention for signs of AR. The association of another biomarker, donor-specific antibody (DSA), can be another tool to obtain a more accurate evaluation.

Immunosuppression following transplantation results in reduced initial levels of sCD30 in the first days after transplantation; however, it was observed that some patients who maintain higher levels have more rejection, confirming the hypothesis of the study by Susal et al [27].

The variation of sCD30 levels were studied before, and like other authors [33], we also showed this important decrease after transplant, but no difference was demonstrated between patients presenting AR and those without AR. In our study, we found a cutoff value of 59% decrease from pretransplant to 7 to 14 days post-transplant to be a good predictor for AR. Patients that did not have this decrease from the presample to this time postsample had higher chance to have AR episode; the odds rate was higher when compared when the cutoff level of 25 ng/mL or 40 ng/mL was used. Susal et al [32] and Wang et al [33] showed that during the first month post-transplant the levels of this biomarker decrease and from then it stabilizes like health controls. We suggest an algorithm of the measurement of sCD30, including when to measure and how to interpret results (Fig 4). In this algorithm, it is important to measure sCD30 before transplant, and between days 7 and 14 another measurement is necessary to evaluate the decrease or if the level of this biomarker is above 40 ng/mL. If one or both of these options are present, it is necessary to closely follow the patients and evaluate DSA and other signs of AR. These patients are at higher risk for AR and their immune system is probably more reactive.

We also studied the variation of CD30s after methylprednisolone pulse and confirmed that after this therapy the trend of sCD30 is to decrease. Billing et al [34] also showed patients after steroid withdraw had higher levels of sCD30 post-transplant compared with patients on steroids. Steroid use is one important factor that has an influence on sCD30 levels, and we suggest monitoring this decrease after steroid pulse can be another tool to evaluate the response for AR treatment.

High PRA I and II are already established in the literature as factors predisposing patients to ARE and graft loss. The combination of PRA I and II and DSA with pre- and post-transplant sCD30 levels is the next step required to evaluate the study population [17].

Recently, Schaefer et al [35] showed that the combination of pretransplant T-cell activation and pretransplant DSA was significantly associated with antibody-mediated graft loss. Susal et al [36] demonstrated that the presence of pretransplant DSA is associated with a high rate of graft rejection only if patients have high levels of pretransplant sCD30.

In conclusion, pretransplant sCD30 levels have not been demonstrated as a good predictor for AR and graft loss in this study with living donors. However, post-transplant sCD30 can be another biomarker for predicting AR and graft loss. The best time to predict AR using sCD30 is the 7- to 14-day sample; however, identifying and following the decrease of this biomarker from pre- to post-transplant seems to be better than just using one measurement. To predict graft loss in 5 years, the best time to measure was 21 to 28 days post-transplant. The survival trend of patients with higher post-transplant sCD30 levels was worse than those with lower levels. sCD30 in post-transplantation evaluation can demonstrate an activated immune system. This marker may be another tool not only to direct the management of immunosuppression in high-risk patients, but also to guide the clinicians in identifying those patients who should undergo more detailed immunologic monitoring after transplantation. Nonetheless, the cutoff levels and the best collection time must be defined. Probably the use of the sCD30 together with DSA will give more accurate information of patient's immunologic status for therapeutic management.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to John Wilkinson for the English review and critique.

REFERENCES

- [1] Kissmeyer-Nielsen F, Olsen S, Petersen VP, Fjeldborg O. Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells. *Lancet* 1966;2: 662-5.
- [2] Ordonez I, Bernard I, Chahod M, et al. A higher risk of acute rejection of human kidney allografts can be predicted from the level of CD45RC expressed by the recipients' CD8 T cells. *PLoS One* 2013;8:e69791.

- [3] Ekberg H, Johansson ME. Challenges and considerations in diagnosing the kidney disease in deteriorating graft function. *Transpl Int* 2012;25:1119-28.
- [4] Chehade H, Pascual M. The challenge of acute antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 2016;100:264-5.
- [5] Liapis H, Gaut JP, Klein C, et al. Banff histopathological consensus criteria for preimplantation kidney biopsies. *Am J Transplant* 2017;17:140-50.
- [6] Tait BD, Susal C, Gebel HM, et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation* 2013;95:19-47.
- [7] Cinti P, Pretagostini R, Arpino A, et al. Evaluation of pre-transplant immunologic status in kidney-transplant recipients by panel reactive antibody and soluble CD30 determinations. *Transplantation* 2005;79:599-601.
- [8] Mujtaba MA, Goggins W, Lohashevsky A, et al. The strength of donor-specific antibody is a more reliable predictor of antibody-mediated rejection than flow cytometry crossmatch analysis in desensitized kidney recipients. *Clin Transplant* 2011;25:E96-102.
- [9] Zinzani PL, Corradini P, Gianni AM, et al. Brentuximab vedotin in CD30-positive lymphomas: a SIE, SIES, and GITMO position paper. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2015;15:507-13.
- [10] Chetty R, Biddolph S, Gatter K. An immunohistochemical analysis of Reed-Sternberg-like cells in posttransplantation lymphoproliferative disorders: the possible pathogenetic relationship to Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease and Reed-Sternberg-like cells in non-Hodgkin's lymphomas and reactive conditions. *Hum Pathol* 1997;28:493-8.
- [11] Muta H, Podack ER. CD30: from basic research to cancer therapy. *Immunol Res* 2013;57:151-8.
- [12] Lane PJ, Gaspal FM, McConnell FM, Kim MY, Anderson G, Withers DR. Lymphoid tissue inducer cells: innate cells critical for CD4+ T cell memory responses? *Ann NY Acad Sci* 2012;1247:1-15.
- [13] Velasquez SY, Garcia LF, Opelz G, Alvarez CM, Susal C. Release of soluble CD30 after allogeneic stimulation is mediated by memory T cells and regulated by IFN-gamma and IL-2. *Transplantation* 2013;96:154-61.
- [14] Martínez OM, Villanueva J, Abtahi S, Beatty PR, Esquivel CO, Krams SM. CD30 expression identifies a functional alloreactive human T-lymphocyte subset. *Transplantation* 1998;65:1240-7.
- [15] Pellegrini P, Berghella AM, Contasta I, Adorno D. CD30 antigen: not a physiological marker for TH2 cells but an important costimulator molecule in the regulation of the balance between TH1/TH2 response. *Transpl Immunol* 2003;12:49-61.
- [16] Schlaf G, Altermann WW, Rothhoff A, Seliger B. Soluble CD30 serum level—an adequate marker for allograft rejection of solid organs? *Histol Histopathol* 2007;22:1269-79.
- [17] Susal C, Peld S, Dohler B, Opelz G. Identification of highly responsive kidney transplant recipients using pretransplant soluble CD30. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1650-6.
- [18] Susal C, Peld S, Simon T, Opelz G. Advances in pre- and posttransplant immunologic testing in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2004;36:29-34.
- [19] Rajakariar R, Jivanji N, Varagunam M, et al. High pre-transplant soluble CD30 levels are predictive of the grade of rejection. *Am J Transplant* 2005;5:1922-5.
- [20] Dong W, Shunliang Y, Weizhen W, et al. Prediction of acute renal allograft rejection in early post-transplantation period by soluble CD30. *Transpl Immunol* 2006;16:41-5.
- [21] Platt RE, Wu KS, Poole K, Newstead CG, Clark B. Soluble CD30 as a prognostic factor for outcome following renal transplantation. *J Clin Pathol* 2009;62:662-3.
- [22] Wang D, Wu GJ, Wu WZ, et al. Pre- and post-transplant monitoring of soluble CD30 levels as predictor of acute renal allograft rejection. *Transpl Immunol* 2007;17:278-82.
- [23] Delgado JC, Pavlov IY, Shihab FS. Post-transplant increased levels of serum sCD30 is a marker for prediction of kidney allograft loss in a 5-year prospective study. *Transpl Immunol* 2009;22:1-4.
- [24] Domingues EM, Matuck T, Graciano ML, et al. Panel reactive HLA antibodies, soluble CD30 levels, and acute rejection six months following renal transplant. *Clin Transplant* 2010;24:821-9.
- [25] Kedainis RI, Koch MJ, Brennan DC, Liapis H. Focal C4d+ in renal allografts is associated with the presence of donor-specific antibodies and decreased allograft survival. *Am J Transplant* 2009;9:812-9.
- [26] David-Neto E, Souza PS, Panajiotopoulos N, et al. The impact of pretransplant donor-specific antibodies on graft outcome in renal transplantation: a six-year follow-up study. *Clinics (Sao Paulo)* 2012;67:355-61.
- [27] Susal C, Dohler B, Sadeghi M, et al. Posttransplant sCD30 as a predictor of kidney graft outcome. *Transplantation* 2011;91:1364-9.
- [28] Yang JL, Hao HJ, Zhang B, Liu YX, Chen S, Na YQ. Level of soluble CD30 after kidney transplantation correlates with acute rejection episodes. *Transplant Proc* 2008;40:3381-3.
- [29] Giannoli C, Bonnet MC, Perrat G, et al. High pre-transplantation soluble CD30 level: impact in renal transplantation. *Transplant Proc* 2007;39:2574-5.
- [30] Altermann W, Schlaf G, Rothhoff A, Seliger B. High variation of individual soluble serum CD30 levels of pre-transplantation patients: sCD30 a feasible marker for prediction of kidney allograft rejection? *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:2795-9.
- [31] Chen Y, Tai Q, Hong S, et al. Pretransplantation soluble CD30 level as a predictor of acute rejection in kidney transplantation: a meta-analysis. *Transplantation* 2012;94:911-8.
- [32] Susal C, Opelz G. Posttransplant sCD30 as a biomarker to predict kidney graft outcome. *Clin Chim Acta* 2012;413:1350-3.
- [33] Wang D, Wu W, Yang S, Wang Q, Tan J. Post-transplant monitoring of soluble CD30 level as predictor of graft outcome: a single center experience from China. *Transpl Immunol* 2012;27:146-50.
- [34] Billing H, Sander A, Susal C, et al. Soluble CD30 and ELISA-detected human leukocyte antigen antibodies for the prediction of acute rejection in pediatric renal transplant recipients. *Transpl Int* 2013;26:331-8.
- [35] Schaefer SM, Susal C, Opelz G, et al. Pre-transplant soluble CD30 in combination with total DSA but not pre-transplant C1q-DSA predicts antibody-mediated graft loss in presensitized high-risk kidney transplant recipients. *HLA* 2016;87:89-99.
- [36] Susal C, Dohler B, Rubenstam A, et al. Donor-specific antibodies require preactivated immune system to harm renal transplant. *EBioMedicine* 2016;9:366-71.

APÊNDICE C- Manuscrito do artigo submetido para International Urology and Nephrology

- 1 sCD30 as a Biomarker Post-Kidney Transplant for Acute Rejection: A Systematic
- 2 Review
- 3 *Maria Izabel de Holanda¹, Arnaldo Couto², Luis Cristovao Porto³*
- 4 Affiliations
- 5 1 - Nephrology Service, Hospital Federal de Bonsucesso
- 6 2 - Centro Universitário Estadual da Zona Oeste
- 7 3 - Histocompatibility and Cryopreservation Laboratory, Rio de Janeiro State University
- 8 Corresponding Author
- 9 Prof Luís Cristóvão Pôrto
- 10 Laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação
- 11 Pav. Jose Roberto Feresin Moares
- 12 Av. Marechal Rondon 381
- 13 São Francisco Xavier 20950-003
- 14 Rio de Janeiro
- 15 Brazil
- 16 Tel +552123342426
- 17 lcporto@uerj.br

18 Abstract

19 **Background:** The biggest challenge for a longer graft survival is still the early detection
20 of acute rejection (AR). Several biomarkers have been studied for years, but none of
21 them is pathognomonic for AR, and all have limitations. Several papers have been
22 published correlating higher levels of sCD30 in the pre-transplant phase with AR and
23 graft survival.

24 **Objective:** The aim of this study was perform a systematic review of sCD30 levels up
25 to 30 days post-kidney transplant and their correlation with acute rejection in kidney
26 transplant.

27 **Methods:** A detailed literature search was carried out to identify papers that reported
28 only the correlation between acute rejection and sCD30 levels post-kidney transplant
29 in PUBMED, Cochrane, EMBASE and MEDLINE accessed on june 28th, 2017.

30 **Results:** We included papers that correlated sCD30 post-kidney transplant with AR,
31 but measurement of this biomarker was considered only up to 30 days after the
32 transplant. All studies used ELISA in the sCD30 method. Based on these
33 considerations, we included fourteen studies. The chosen papers involved 1147
34 patients, of whom 238 had AR, and in ten of the papers, AR was confirmed by biopsy.
35 The follow-up varied from 20 days to 60 months. Most of these were composed of low
36 immunological risk patients, considering PRA under 20%-5% to be low. The
37 immunosuppressions were based on the calcineurin inhibitor, mycophenolate and
38 prednisone for most of the patients, but a number were treated with azathioprine,
39 rapamycin and induction therapy. The analyses of sCD30 at-seven days (first week)
40 after the transplant were established in nine papers. There was a total of 798 patients
41 and 162 patients with AR in these papers. The sCD30 collected on the third-seventh
42 day was associated with Acute Rejection, and the same result was observed on the
43 14th day. Different results were found with sCD30 one month after transplant.

44 **Conclusions:** The sCD30 post-transplant can be a useful biomarker to predict AR, but
45 more studies need to be conducted to elucidate if the correlation of this molecule with
46 DSA is more accurate than when this measurement is used on its own and, finally, to
47 define which measurement times after transplant are best.

48 **Key-words:** kidney; sCD30; acute rejection, transplant, systematic revision

49 Abbreviations:

50 AR - Acute Rejection; ATN - acute tubular necrosis; AZA- Azathioprine; BP – biopsy
51 proven; CsA- Cyclosporine; DD- deceased Donor; DSA- Donor Specific Antibody; LD-
52 Live Donor; MMF- Mycophenolate; NAR - No Acute Rejection; NI- Not Informed; NI-
53 Not Informed; PRA- Panel reactive antigens; Pred- Prednisone. Rapa- Rapamycin;
54 sCD30 - CD soluble form; SEM – Standard error of the mean; TAC- Tacrolimus.

55 Funding: This work was partially supported by L.C. Porto grants from the FAPERJ (Rio
56 de Janeiro State Research Agency) and CNPq (Brazilian Research Agency).

571. Introduction

58 Kidney transplant is the best treatment for end-stage renal disease. The biggest
59 challenge for a longer graft survival is still the early detection of Acute Rejection (AR).
60 Several biomarkers have been studied for years, but none are pathognomonic for AR
61 and all have limitations [1-4].

62 CD30 is a 120 Ka transmembrane glycoprotein and a member of the Tumor Necrosis
63 Factor superfamily. CD30 is expressed preferentially on the surface of T Lymphocytes,
64 and when it is activated, this molecule is cleaved and released into the circulation in a
65 soluble form (sCD30). This molecule can be detected in normal healthy patients.
66 Different situations can influence this release. Some diseases have been associated
67 with high levels of this biomarker, including Systemic Lupus erythematosus, HIV, atopic
68 dermatitis, and rheumatoid arthritis [5-8].

69 The AR in transplanted Kidney patients is another situation in which this biomarker can
70 be elevated. Several papers have been published correlating these higher levels pre-
71 transplant with AR [9-13]. In 2012, Chen et al [14] published a meta-analysis that did
72 not identify a good correlation between sCD30 pre-transplant and Acute Rejection. The
73 conclusion of this study was that the clinical value of pre-transplant sCD30 for guiding
74 immunosuppression therapy to avoid AR is limited. However, other papers have been
75 published to demonstrate a good correlation between sCD30 post-transplant and AR
76 [9, 10, 13, 15-17].

77 However, no systematic review has addressed this biomarker and its correlation with
78 AR in the post-transplant period.

792. Objective

80 The aim of this study is to review systematically the literature to evaluate the
81 measurement of sCD30 up to the 30th day post-kidney transplant and its correlation
82 with Acute Rejection.

833. Methods

84 A detailed literature search was carried out to identify papers that reported only the
85 correlation between Acute Rejection and sCD30 levels up 30 days post-kidney
86 transplant in PUBMED, MEDLINE, Cochrane and EMBASE accessed on June 28th,
87 2017. The following keywords were used: 1) (sCD30[All Fields] or CD30 soluble[All
88 Fields]; and 2) or CD30[All Fields] AND (Renal[All Fields] OR Kidney[All Fields]). To
89 identify more studies on sCD30, we carried out a complementary search with CD30[All
90 Fields] AND (Graft[All Fields] OR Transplant [All Fields]). The studies that met these
91 criteria were systematically analyzed by two reviewers. Disagreements were resolved
92 by consensus. When this was not possible, we resorted to a third-party decision. The
93 exclusion criteria were papers that correlated sCD30 with graft survival, correlation with
94 other transplants, reviews, meta-analyses, papers with a lack of data.

954. Results

96 The search revealed 993 papers after eliminating the duplicate papers. The steps of
97 the review were first to choose the papers by title, later by the abstracts and finally by
98 the full texts. The review process is demonstrated in Figure 1. We included papers that
99 correlated sCD30 post-transplant with AR, but the measurement of this biomarker was
100 considered only up to 30 days after the transplant. All studies used ELISA in the sCD30
101 method.

102 After concluding these steps, we included 14 papers, all of which were published from
103 2003 to 2012 (Table 1). The chosen papers involved 1147 patients, of which 238 had
104 AR. In ten papers, AR was confirmed by biopsy, and 3 papers did not provide this
105 information. The follow-up varied from 20 days to 60 months. Most of these were
106 composed of low immunological risk patients, considering PRA under 20-5% as low;
107 the purpose of this was to avoid confounding factors with anti-HLA antibodies in the
108 patients studied (Table 2). The immunosuppression was based on the calcineurin
109 inhibitor, mycophenolate and prednisone for most of the patients, but some were
110 treated with azathioprine, rapamycin and induction therapy.

111 **sCD30 levels and acute rejection**

112 The pre-transplant sCD30 levels were evaluated in eleven studies. Seven studies
113 showed good correlation between pre-transplant levels with Acute Rejection, with the
114 exception of Susal et al [18]; however, Nafar et al [17] and Slavcev et al [19] and Kamali
115 et al [20] did not show this positive correlation.

116 The analyses of sCD30 in the period of three- seven days after transplant were
117 determined in 11 papers. There was a total of 928 patients and 195 patients with AR
118 these papers, and the sCD30 collected during the first week(3-7d) was associated with
119 Acute Rejection in seven papers (Table 3).

120 When sCD30 was analyzed on the 14th day, ten papers presented significant results.
121 Nine of these papers showed a significant statistical correlation with AR. A total of 803
122 patients were included in these studies (Table 4). Different results were found
123 regarding sCD30 collected one month after transplant. The biomarker on this occasion
124 did not correlate with AR. There were 5 papers that analyzed this period, involving a
125 total of 468 patients. None of these analyses on the thirtieth day after transplant
126 showed statistical significance (Table 5).

127 **sCD30 and demographic factors**

128 The evaluation of the influence of clinical and demographic factors on sCD30 levels
129 was analyzed in some papers. Nafar et al [17] demonstrated that the recipient's age
130 was inversely correlated with pre-transplant sCD30 levels ($r=0.191$; $p=0.007$) but not
131 with the post-transplant levels ($p=0.75$). In this study, the other factor that was
132 associated with post-transplant sCD30 levels was its greater prevalence in women.
133 Other parameters did not show any correlation with the sCD30 level. None of the
134 papers analyzed if exist differences between the donor type, AR and sCD30 levels.

135 **CD30 and immunosuppression**

136 Sengul et al [10], Wang et al [13] and Slavcev et al [19] analyzed the effect of the type
137 of immunosuppression and the post-transplant sCD30 levels. These studies did not
138 show differences between the groups of the type of immunosuppression and sCD30
139 levels, and there was no difference in sCD30 levels related to induction therapy. Billing
140 et al [21] analyzed a steroids withdrawal group comparing with the other group using
141 steroids. Patients off steroids presented higher levels of sCD30 compared with patients
142 on steroids in days 7, 14 and 60 after transplant, however just on days 14 and 60 it
143 was statistical significant ($p=0.003$, $p=0.002$, respectively).

144 **sCD30 and acute necrosis tubular and creatinine levels**

145 Slavcev et al [19] analyzed the correlation of the presence of acute tubular necrosis
146 (ATN) on graft biopsy and the correlation with sCD30 levels. The analysis showed no
147 differences in the biomarker levels between patients presenting ATN, compared to
148 without ATN. However, when the sCD30 levels of patients with graft biopsy ATN-/AR+
149 and ATN+/AR- were compared, the authors found higher levels of sCD30 post-
150 transplant in the group presenting only AR.

151 The creatinine levels on day 7 demonstrated a positive correlation with sCD30 level on
152 days 5, 14 and creatinine on day 14, this positive correlation was demonstrated on
153 days 14 and 30 according to Solgi et al [16]. Nafar et al [17] evaluated the serum
154 creatinine values and the correlation of sCD30 level post-transplant and the time of
155 increase in Cr. At this time, serum levels of sCD30 did not significantly correlate with
156 serum creatinine levels. No other papers correlated the creatinine and sCD30 levels
157 post-transplant. Billing et al [21] did not demonstrate correlation between the post-
158 transplant serum sCD30 concentration and eGFR ($R^2=0.017$ $p=0.952$).

159 **sCD30 and Infection**

160 Regarding the correlation of sCD30 levels post-transplant and infection episodes, just
161 one study [13] showed that patients presenting pneumonia had lower levels on days
162 5, 14, 30 days and 3 months after transplant compared with patients without
163 pneumonia. Nafar et al [17] suggested that patients with lower levels of sCD30 levels
164 post-transplant had more CMV infections but did not present a statistical analysis.

165 **Variation of sCD30 levels**

166 The variation of sCD30 post-transplant and this correlation with AR was reported by
167 Pelzl et al [22] Wang et al [15] and Billing et al [21]. The latter demonstrated a sharp
168 decline in serum sCD30 by 75% of baseline from pre-transplant to day 7 [21], Wang et
169 al [15] showed a significant decrease in the 10 days post-transplant and a stable level
170 after day 10 post-transplant. After statistical analysis, the difference of sCD30 levels
171 between the AR and Non-AR groups was significant ($p<0.001$). Patients with AR
172 presented a delayed decrease within the first two weeks post-transplant. In the other
173 paper of the same group, it was reported that sCD30 levels decreased to a nadir on
174 day 30 post-transplant; then a significant increase of the sCD30 level was observed
175 until month 12 post-transplant. Discussion

176 The feasibility of sCD30 levels as a good predictor of AR pre-transplant was published
177 in several studies [9-11, 15]. Susal et al [26] demonstrated that the sCD30 pre-

178 transplant can also predict graft survival, mainly when this is associated with Donor
179 Specific Antibody (DSA). However, a meta-analysis recently published in 2012
180 concluded that sCD30 was limited in predicting this correlation [14].

181 After a detailed search, we selected 14 papers that correlated AR and sCD30 post-
182 transplant. The different measurement times for the collection of the samples were one
183 of the limitations. All the papers had different collection times. Another limitation was
184 the low number of patients.

185 We decided to include only papers that had samples collected from 3-7 days to one
186 month after transplant, given that in this period, patients have a higher chance of
187 acquiring AR. However, there is no consensus in the literature on the best time to
188 collect the sCD30 levels to predict AR, nor which cut-off value is the best in both the
189 pre-transplant and post-transplant periods.

190 Analysis of these 14 papers showed that the seventh and the fourteenth days were
191 more relevant to predict acute rejection than the thirtieth day. Most of the patients with
192 Acute Rejection on these days had higher sCD30 post-transplant. Susal et al [27]
193 published a prospective multicenter study that showed that sCD30 decreased post-
194 transplant and reached a nadir on day 30, similar to Wang et al [13], and demonstrated
195 that sCD30 in this time was correlated with graft survival; the cut-off level used in the
196 thirty day post-transplant was 40U/ml.

197 The role of sCD30 in the transplant is still a subject of research. The physiology is
198 unclear. This is expressed on T cells secreting Th2 type cytokines, which suggests that
199 there is a co-stimulatory role in regulating the balance between Th1 and Th2 immune
200 responses.

201 This molecule results from cleavage of the extracellular domain of the Cd30 molecule
202 on activated lymphocytes by the metalloproteinases ADAM17 [28] and ADAM 10 [29].
203 CD30 affects the function of CD4- and CD8-positive cells leading to the increased
204 production of Th2 cytokines. sCD30 also correlates positively with the number of
205 CD30+ T cells [26, 30]. The sCD30 levels may reflect the activation of the immune
206 system [31].

207 End Stage Renal Disease patients present more activated immune systems and higher
208 levels of sCD30; the uremia itself is likely responsible for this [32, 33]. The higher
209 sCD30 levels reflect the changes of the immune system with a spectrum of immune
210 deregulation that includes Th1-mediated chronic inflammation, defective antigen
211 presentation, and variation in Th2-type cytokine production [9]. The creatinine level
212 also does not influence the sCD30 level [31, 34]. There is no consensus on cutoff in
213 this population.

214 In this analysis, none of the studies demonstrated correlations with sCD30 levels post-
215 transplant and the type of immunosuppression and induction therapy. One of the
216 explanations was the short follow-up for these patients, and these studies collected
217 samples only at a few collection times. However, Weimer et al [35] reported that
218 sCD30's effects on graft survival seemed to be less pronounced in patients who were
219 treated with antilymphocyte antibodies than in patients who were not treated. The
220 positive correlation with creatinine levels was observed by Solgi et al [16]. Nafar et al

221 [17] did not demonstrate the same results. Some papers also correlated sCD30 levels
222 with infections, but in this analysis, only one paper really demonstrated the inverse
223 correlation of these levels in post-transplantation with pneumonia [13].

224 The lack of cut-off values and the use of different measurements (mean/median) make
225 it difficult to reach a consensus about which value/level is most useful in clinical
226 practice. Susal et al in 2011 [27] demonstrated that using a cut off of sCD30 of 40U/mL
227 in the post-transplant period could be a good method to predict graft survival; patients
228 with sCD30 above 40U/mL on the thirtieth day after transplant had a Hazard Rate (HR)
229 of graft loss in 3 years of 2.02. Domingues et al [9] found that a value above 37.55U/mL
230 had a good correlation with AR episodes on days 7, 14 and 21 after transplant.

231 In the post-transplant phase, it is known that there is a decrease in this molecule after
232 transplant, probably related to immunosuppressive drugs [21, 36-38]. Some authors
233 suggested that the degree of decrease of sCD30 after transplantation in combination
234 with the presence of detectable HLA antibodies can be a good tool to predict the
235 relative risk of acute Rejection. In this scenario, the management of
236 immunosuppression can help to avoid these episodes [19].

237 The follow-up of the variation of sCD30 is another useful tool. The decrease in the
238 sCD30 level after transplant and the correlation of AR was reported by Pelz et al [22],
239 Wang et al [13, 15], Billing et al [21] and Slavcev et al [19] but was not studied in other
240 reports. This can also be correlated to AR, and the percentage of decrease in levels
241 may be more accurate to predict acute rejection. The putative explanation is that
242 patients that are not capable of decreasing sCD30 levels after transplant with
243 immunosuppression therapy probably have more activated T lymphocytes and present
244 a higher risk to AR and graft loss [38].

245 Langan et al [39] demonstrated that post-transplant sCD30 levels and post-transplant
246 class II antibodies measured at least 1 year after transplantation are independent
247 indicators of impending graft failure. Other authors also studied the correlation of
248 sCD30 and DSA. Vaidya s et al [40] showed that patients positive for sCD30 contents
249 are at high risk the development of DSA and AVR posttransplant regardless of their
250 pre-transplant PRA.

251 Recently, Susal et al [38] also demonstrated that the presence of Donor Specific
252 Antibody (DSA) pre-transplant is associated with a higher rate of graft rejection only if
253 patients concomitantly have high levels of pre-transplant sCD30, which reflects a pre-
254 activated immune response. More studies are necessary to identify this correlation in
255 the post-transplant phase.

2565. Conclusions

257 The sCD30 post-transplant can be a very good biomarker to predict AR, the seventh
258 and the fourteenth days can be good collecting times to measure this biomarker.
259 However, more studies need to be conducted to elucidate if the degree of decrease
260 after transplant is more important than a cut-off level, if the correlation of this molecule
261 with DSA is more accurate than when this measurement is used on its own and which
262 measurement times after transplant are the best.

263 Acknowledgments

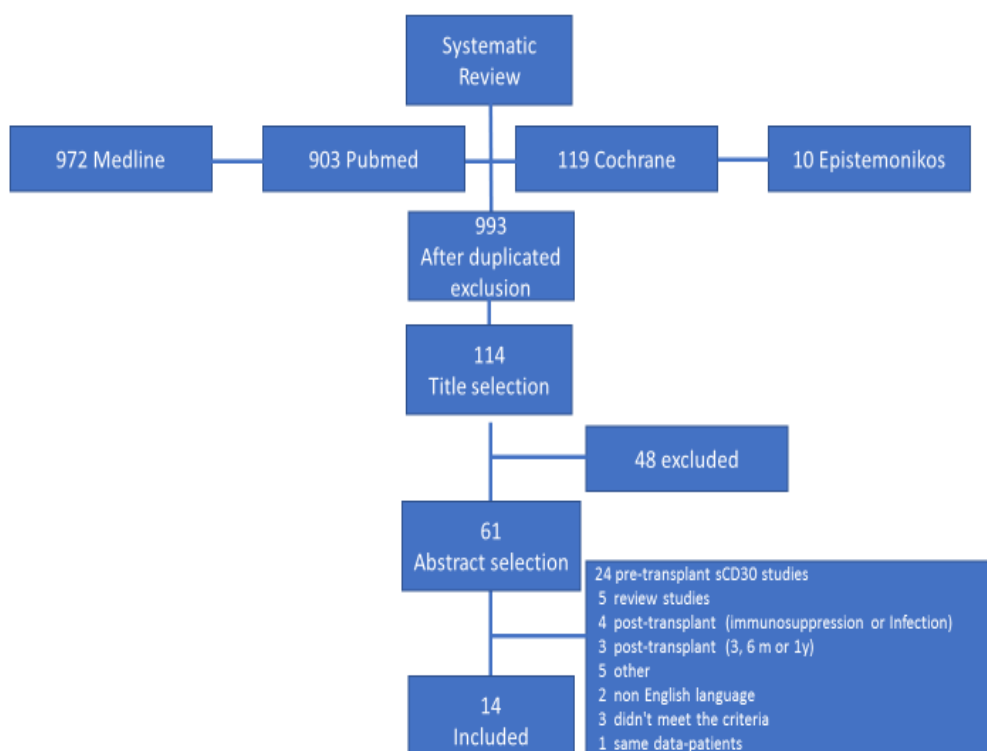
264 LCP was a recipient from grants of FAPERJ – Rio de Janeiro Research Foundation
265 Agency and CNPq – National Council for Scientific and Technological Development.
266

2676. References

- 268 [1] A.H. Banham, F.M. Powrie, E. Suri-Payer, FOXP3+ regulatory T cells: Current
269 controversies and future perspectives, *Eur J Immunol* 36(11) (2006) 2832-6.
- 270 [2] A. Zeevi, J.A. Britz, C.A. Bentelejewski, D. Guaspari, W. Tong, G. Bond, N. Murase,
271 C. Harris, M. Zak, D. Martin, D.R. Post, R.J. Kowalski, K.A. Elmagd, Monitoring
272 immune function during tacrolimus tapering in small bowel transplant recipients,
273 *Transplant immunology* 15(1) (2005) 17-24.
- 274 [3] B.J. van der Mast, N.M. van Besouw, M.D. Witvliet, P. de Kuiper, P. Smak Gregoor,
275 T. van Gelder, W. Weimar, F.H. Claas, Formation of donor-specific human leukocyte
276 antigen antibodies after kidney transplantation: correlation with acute rejection and
277 tapering of immunosuppression, *Transplantation* 75(6) (2003) 871-7.
- 278 [4] O. Bestard, P. Cravedi, Monitoring alloimmune response in kidney transplantation,
279 *J Nephrol* 30(2) (2017) 187-200.
- 280 [5] A. Frezzolini, M. Paradisi, M. Ruffelli, S. Cadoni, O. De Pita, Soluble CD30 in
281 pediatric patients with atopic dermatitis, *Allergy* 52(1) (1997) 106-9.
- 282 [6] R. Horie, T. Watanabe, CD30: expression and function in health and disease, *Semin*
283 *Immunol* 10(6) (1998) 457-70.
- 284 [7] G. Del Prete, M. De Carli, F. Almerigogna, C.K. Daniel, M.M. D'Elis, G. Zancuoghi,
285 F. Vinante, G. Pizzolo, S. Romagnani, Preferential expression of CD30 by human
286 CD4+ T cells producing Th2-type cytokines, *FASEB J* 9(1) (1995) 81-6.
- 287 [8] G. Schlaf, W.W. Altermann, A. Rothhoff, B. Seliger, Soluble CD30 serum level--an
288 adequate marker for allograft rejection of solid organs?, *Histology and histopathology*
289 22(11) (2007) 1269-79.
- 290 [9] E.M. Domingues, T. Matuck, M.L. Graciano, E. Souza, S. Rioja, M.C. Falci, D.B.
291 Monteiro de Carvalho, L.C. Porto, Panel reactive HLA antibodies, soluble CD30 levels,
292 and acute rejection six months following renal transplant, *Clinical transplantation* 24(6)
293 (2010) 821-9.
- 294 [10] S. Sengul, K. Keven, U. Gormez, S. Kutlay, S. Erturk, B. Erbay, Identification of
295 patients at risk of acute rejection by pretransplantation and posttransplantation
296 monitoring of soluble CD30 levels in kidney transplantation, *Transplantation* 81(8)
297 (2006) 1216-9.
- 298 [11] R. Rajakariar, N. Jivanji, M. Varagunam, M. Rafiq, A. Gupta, M. Sheaff, P. Sinnott,
299 M.M. Yaqoob, High pre-transplant soluble CD30 levels are predictive of the grade of
300 rejection, *Am J Transplant* 5(8) (2005) 1922-5.
- 301 [12] J.L. Yang, H.J. Hao, B. Zhang, Y.X. Liu, S. Chen, Y.Q. Na, Level of soluble CD30
302 after kidney transplantation correlates with acute rejection episodes, *Transplant Proc*
303 40(10) (2008) 3381-3.
- 304 [13] D. Wang, W. Wu, S. Yang, Q. Wang, J. Tan, Post-transplant monitoring of soluble
305 CD30 level as predictor of graft outcome: a single center experience from China,
306 *Transplant immunology* 27(4) (2012) 146-50.
- 307 [14] Y. Chen, Q. Tai, S. Hong, Y. Kong, Y. Shang, W. Liang, Z. Guo, X. He,
308 Pretransplantation soluble CD30 level as a predictor of acute rejection in kidney
309 transplantation: a meta-analysis, *Transplantation* 94(9) (2012) 911-8.

- 310 [15] D. Wang, G.J. Wu, W.Z. Wu, S.L. Yang, J.H. Chen, H. Wang, W.H. Lin, Q.H.
311 Wang, Z.X. Zeng, J.M. Tan, Pre- and post-transplant monitoring of soluble CD30 levels
312 as predictor of acute renal allograft rejection, *Transplant immunology* 17(4) (2007) 278-
313 82.
- 314 [16] G. Solgi, D. Furst, J. Mytilineos, G. Pourmand, A.A. Amirzargar, Clinical relevance
315 of pre and post-transplant immune markers in kidney allograft recipients: anti-HLA and
316 MICA antibodies and serum levels of sCD30 and sMICA, *Transplant immunology* 26(2-
317 3) (2012) 81-7.
- 318 [17] M. Nafar, F. Farrokhi, M. Vaezi, A.E. Entezari, F. Pour-Reza-Gholi, A. Firoozan,
319 B. Eniollahi, Pre-transplant and post-transplant soluble CD30 for prediction and
320 diagnosis of acute kidney allograft rejection, *Int Urol Nephrol* 41(3) (2009) 687-93.
- 321 [18] C. Susal, S. Pelzl, T. Simon, G. Opelz, Advances in pre- and posttransplant
322 immunologic testing in kidney transplantation, *Transplant Proc* 36(1) (2004) 29-34.
- 323 [19] A. Slavcev, J. Lacha, E. Honsova, H. Sajdlova, A. Lodererova, S. Vitko, J. Skibova,
324 I. Striz, Soluble CD30 and HLA antibodies as potential risk factors for kidney transplant
325 rejection, *Transplant immunology* 14(2) (2005) 117-21.
- 326 [20] K. Kamali, M.A. Abbasi, B. Farokhi, A. Abbasi, P. Fallah, M.H. Seifee, N. Ghadimi,
327 A.R. Rezaie, Posttransplant soluble CD30 as a predictor of acute renal allograft
328 rejection, *Exp Clin Transplant* 7(4) (2009) 237-40.
- 329 [21] H. Billing, A. Sander, C. Susal, J. Ovens, R. Feneberg, B. Hocker, K. Vondrak, R.
330 Grenda, S. Friman, D.V. Milford, M. Lucan, G. Opelz, B. Tonshoff, Soluble CD30 and
331 ELISA-detected human leukocyte antigen antibodies for the prediction of acute
332 rejection in pediatric renal transplant recipients, *Transpl Int* 26(3) (2013) 331-8.
- 333 [22] S. Pelzl, G. Opelz, V. Daniel, M. Wiesel, C. Susal, Evaluation of
334 posttransplantation soluble CD30 for diagnosis of acute renal allograft rejection,
335 *Transplantation* 75(3) (2003) 421-3.
- 336 [23] K. Ayed, T.B. Abdallah, R. Bardi, E. Abderrahim, A. Kheder, Plasma levels of
337 soluble CD30 in kidney graft recipients as predictors of acute allograft rejection,
338 *Transplant Proc* 38(7) (2006) 2300-2.
- 339 [24] K. Abbas, R. Muzaffar, M.N. Zafar, M. Mubarak, S.A. Naqvi, S.A. Rizvi, Evaluation
340 of pre transplant T-cell activation status by soluble CD 30 determination, *J Pak Med*
341 *Assoc* 59(4) (2009) 212-5.
- 342 [25] N. Azarpira, M.H. Aghdaie, Z. Malekpour, Soluble CD30 in renal transplant
343 recipients: is it a good biomarker to predict rejection?, *Saudi J Kidney Dis Transpl* 21(1)
344 (2010) 31-6.
- 345 [26] C. Susal, S. Pelzl, G. Opelz, Strong human leukocyte antigen matching effect in
346 nonsensitized kidney recipients with high pretransplant soluble CD30, *Transplantation*
347 76(8) (2003) 1231-2.
- 348 [27] C. Susal, B. Dohler, M. Sadeghi, K.T. Salmela, R. Weimer, M. Zeier, G. Opelz,
349 Posttransplant sCD30 as a predictor of kidney graft outcome, *Transplantation* 91(12)
350 (2011) 1364-9.
- 351 [28] H.P. Hansen, A. Recke, U. Reineke, B. Von Tresckow, P. Borchmann, E.P. Von
352 Strandmann, H. Lange, H. Lemke, A. Engert, The ectodomain shedding of CD30 is
353 specifically regulated by peptide motifs in its cysteine-rich domains 2 and 5, *FASEB J*
354 18(7) (2004) 893-5.
- 355 [29] D.A. Eichenauer, V.L. Simhadri, E.P. von Strandmann, A. Ludwig, V. Matthews,
356 K.S. Reiners, B. von Tresckow, P. Saftig, S. Rose-John, A. Engert, H.P. Hansen,
357 ADAM10 inhibition of human CD30 shedding increases specificity of targeted
358 immunotherapy in vitro, *Cancer Res* 67(1) (2007) 332-8.

- 359 [30] G. Del Prete, M. De Carli, M.M. D'Elia, K.C. Daniel, F. Almerigogna, M. Alderson,
360 C.A. Smith, E. Thomas, S. Romagnani, CD30-mediated signaling promotes the
361 development of human T helper type 2-like T cells, *J Exp Med* 182(6) (1995) 1655-61.
- 362 [31] M. Tarkowski, Expression and a role of CD30 in regulation of T-cell activity, *Curr*
363 *Opin Hematol* 10(4) (2003) 267-71.
- 364 [32] G. Barbano, F. Cappa, I. Prigione, V. Pistoia, A. Cohen, S. Chiesa, R. Gusmano,
365 F. Perfumo, Plasma levels of soluble CD30 are increased in children with chronic renal
366 failure and with primary growth deficiency and decrease during treatment with
367 recombination human growth hormone, *Nephrol Dial Transplant* 16(9) (2001) 1807-13.
- 368 [33] G. Beaurain, C. Naret, L. Marcon, G. Grateau, T. Druke, P. Urena, D.L. Nelson,
369 J.F. Bach, L. Chatenoud, In vivo T cell preactivation in chronic uremic hemodialyzed
370 and non-hemodialyzed patients, *Kidney Int* 36(4) (1989) 636-44.
- 371 [34] K. Nakao, Y. Nagake, A. Okamoto, H. Ichikawa, M. Yamamura, H. Makino, Serum
372 levels of soluble CD26 and CD30 in patients on hemodialysis, *Nephron* 91(2) (2002)
373 215-21.
- 374 [35] R. Weimer, C. Susal, S. Yildiz, S. Steller, S. Pelzl, A. Staak, F. Renner, H. Dietrich,
375 V. Daniel, E. Feuring, S. Kamali-Ernst, W. Ernst, W. Padberg, G. Opelz, sCD30 and
376 neopterin as risk factors of chronic renal transplant rejection: impact of cyclosporine A,
377 tacrolimus, and mycophenolate mofetil, *Transplant Proc* 37(4) (2005) 1776-8.
- 378 [36] C. Susal, S. Pelzl, B. Dohler, G. Opelz, Identification of highly responsive kidney
379 transplant recipients using pretransplant soluble CD30, *J Am Soc Nephrol* 13(6) (2002)
380 1650-6.
- 381 [37] S. Pelzl, G. Opelz, M. Wiesel, P. Schnulle, C. Schonemann, B. Dohler, C. Susal,
382 Soluble CD30 as a predictor of kidney graft outcome, *Transplantation* 73(1) (2002) 3-
383 6.
- 384 [38] C. Susal, B. Dohler, A. Ruhstroth, C. Morath, A. Slavcev, T. Fehr, E. Wagner,
385 B. Kruger, M. Rees, S. Balen, S. Zivcic-Cosic, D.J. Norman, D. Kuypers, M.P. Emonds,
386 P. Pisarski, C. Bosmuller, R. Weimer, J. Mytilineos, S. Scherer, T.H. Tran, P. Gombos,
387 P. Schemmer, M. Zeier, G. Opelz, R. Collaborative Transplant Study, Donor-specific
388 antibodies require preactivated immune system to harm renal transplant, *EBioMedicine* 9 (2016) 366-71.
- 390 [39] L.L. Langan, L.P. Park, T.L. Hughes, A. Irish, G. Luxton, C.S. Witt, F.T.
391 Christiansen, Post-transplant HLA class II antibodies and high soluble CD30 levels are
392 independently associated with poor kidney graft survival, *Am J Transplant* 7(4) (2007)
393 847-56.
- 394 [40] S. Vaidya, D. Partlow, T. Barnes, K. Gugliuzza, Pretransplant soluble CD30 is a
395 better predictor of posttransplant development of donor-specific antibodies and acute
396 vascular rejection than panel reactive antibodies, *Transplantation* 82(12) (2006) 1606-
397 9.



398

399

400

401

402

403

404

405

Figure 1 – Outline of the systematic review process. Search of CD30 soluble or sCD30 or soluble CD30 resulted in total 2,004 studies, after duplicated exclusion 993 references were selected. The titles were then screened with the selection of 114 abstracts. After that, 61 papers were accessed for full text review. Data of post-transplant sCD30 determination in association with acute rejection up to the first month post-transplant were available in 18 articles, of which 14 were selected, three have lack of data and one has data also presented in another same group publication.

Table 1- Basic Characteristics of the studies and patients.

Study	Year	Country	N (patients)	Gender (M/F)	Age	DD/LD	follow up	Time
Pelzl et al [22]	2003	Germany	56	34/22	48±3(N); 47±3(AR)	50/6	20 days	3-5, 7-9, 12-14, 17-19 d
Slavcev et al [19]	2005	Czech Republic	117	73/44	49±13 46±13	115/2	12 months	0, 14 d
Sengul et al [10]	2006	Turkey	50	37/13	34±10	14/36	6 months	0, 15, 30 d
Ayed et al [23]	2006	Tunis	52	32/20	29+/-10	14/38	6 months	7, 15, 21 d
Wang et al [15]	2007	China	70	49/21	39±9 36±10	NI	6 months	0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 30 d
Yang et al [12]	2008	China	58	28/30	45.2±8.3	NI	NI	0, 7, 28 d
Nafar et al [17]	2009	Iran	203	132/71	37.3±14.3	203/0	6 months	0, 5 d
Kamali et al [20]	2009	Iran	80	47/33	39.8±12.1(AR) 41.1±9.8(NAR)	0/80	12 months	0, 14 d
Abbas et al [24]	2009	Pakistan	50	38/12	31.6±10.2	0/50	6 months	0,3,14 d
Domingues et al [9]	2010	Brazil	73	44/29	37±11.6	0/73	6 months	0, 7, 14, 21, 28 d, 2, 3, 4, 5, 6 m
Azarpira et al [25]	2010	Iran	48	25/23	32.6±11.2(AR) 34.1±12.3(NAR)	12/36	24 months	5 d
Solgi et al [16]	2012	Iran	40	27/13	41.4±10.6	0/40	36 months	0, 5, 14, 30 d
Wang et al [13]	2012	China	250	186/64	39.3±10.4 40.5±12.1	250/0	60 months	0, 5, 14 d, 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60 m
Billing et al [21]	2013	Germany	28	19/9	40.5±12.1	21/7	6 months	0,7,14,60 d

NI- Not Informed; DD- deceased Donor; LD- Live Donor

Table 2- Immunological risk and Immunosuppression Therapy

Study	Immunological risk	Immunosuppression
Pelzl et al [22]	Low and High (PRA>5%)	CsA
Slavcev et al [19]	Low and High (PRA>5%)	CsA or TAC, MMF, Pred
Sengul et al [10]	Low (PRA<10%)	CsA or TAC, MMF, Pred, Rapa, AZA
Ayed et al [23]	Low and High (PRA NI)	CsA or TAC, MMF, Pred
Wang et al [15]	Low (PRA<10%)	CsA or TAC, MMF, Pred
Yang et al [12]	Low (PRA<10%)	CsA or TAC, MMF or AZA, Pred, Rapa
Nafar et al [17]	Low and High (PRA>20%)	CsaA, MMF, Pred
Kamali et al [20]	Low and High (PRA NI)	CsA, MMF, Pred
Abbas et al [24]	Low (PRA 0%)	CsA, AZA, Pred
Domingues et al [9]	Low and High (PRA>20%)	CsA or TAC, MMF or AZA, Pred, Rapa
Azarpira et al [25]	Low (PRA<10%)	CsA, MMF, Pred
Solgi et al [16]	Low (PRA<10%)	CsA or TAC, MMF or AZA, Pred, Rapa
Wang et al [13]	Low (PRA NI)	CsA or TAC, MMF or AZA, Pred, Rapa
Billing et al [21]	Low and High (anti HLA positive in 9 patients)	TAC, MMF, Pred and no Pred

PRA- Panel reactive antigens; CsA- Cyclosporine; TAC- Tacrolimus; MMF- Mycophenolate; AZA- Azathioprine; Rapa- Rapamycin; Pred- Prednisone.

Table 3- sCD30 3-7 days after transplant – Acute rejection (AR) x No Acute Rejection (NAR)

Paper	N (patients)	AR	BP	Cutoff	AR 3-7d sCD30 (U/mL)	NAR 3-7d sCD30 (U/mL)	p-value
Pelzl et al [22]	56	25	yes	sCD30 values (mean+/-SE) relative to pre-transplantation baseline	76±13 %	33±4 %	p<0.0001
Ayed et al	52	18	yes	Mean	188±44 U/ml	171±81U/ml	P=0.025
Wang et al	70	11	Yes	Mean	55±29 U/ml	16±14 U/ml	p<0.001
Yang et al [12]	58	20	Yes	Mean	107±68 U/ml	23.0±20.6 U/ml	P<0.01
Nafar et al [17]	203	23	NI	Median	52 (11.2-334) U/ml	29.4 (7-158.2) U/ml	p<0.001
Abbas et al [24]	50	8	Yes	Mean	42±19.8 U/ml	37±26.2 U/ml	P=0.591
Domingues et al [9]	73	17	NI	Median and 37.55 [#]	40 U/ml	78 U/ml	p=0.0004
Azarpira et al [25]	48	18	yes	Mean	81±41 U/ml	78±31 U/ml	P= NS
Solgi et al [16]	40	9	Yes	Mean	63.2±13.7 U/ml	41.6±6.1 U/ml	p=0.15 (mean±SEM)
Wang et al [13]	250	39	Yes	Mean	88.4±20.6 U/ml	43.2±13.1 U/ml	P<0.001
Billing et al [21]	28	7	Yes	Area Under the ROC curve (95%CI)	0.511(0.257-0.764)	NI	P=0.934

AR – acute rejection, BP – biopsy proven; NI- Not Informed; SEM – Standard error of the mean

Table 4 – sCD30 14 days after transplant – Acute Rejection (AR) x No Acute Rejection (NAR)

Paper	Acute Rejection sCD30 14 Days	Non-Acute Rejection sCD30 14 Days	<i>p-value</i>
Pelzl et al [22]	49±12%	19±3%	P<0.0001
Slavcev et al [19]	72.1 U/ml	31.3 U/ml	P<0.02
Sengul et al [10]	53.3±33.1 U/ml	35.5±17.5 U/ml	p <0.05
Ayed et al [23]	210.2±66.5 U/ml	59.3±39.0 U/ml	P=0.03
Kamali et al [20]	28.3±5.2 U/ml	19.8±4.7 U/ml	P=0.02
Abbas et al [24]	37.7±10.8 U/ml	22.0±21.2	P=0.095
Wang et al [15]	18±10 U/ml	8±10 U/ml	P<0.01
Solgi et al [16]	46.6±10.6 U/ml	17.8±7.7 U/ml	p=0.001
Wang et al [13]	20.2±12.2 U/ml	13.5±5.2 U/ml	p=0.002
Billing et al [21]	58.6±21.5 U/ml	50.0±39.6 U/ml	P=0.041

Table 5 – sCD30 30 days after transplant – Acute Rejection x Non-Acute Rejection

Paper	Acute Rejection sCD30 30dayss	Non-Acute Rejection sCD30 30 days	<i>p</i>-value
Sengul et al [10]	47±19.6 U/ml	42±24.5 U/ml	NS [#]
Wang et al [15]	8±3 U/ml	6±1 U/ml	NS [#]
Yang et al [12]	28.2±25.5 U/ml	13.5±2.12 U/ml	NS (p>0.05)
Solgi et al [16]	39.0±14.8 U/ml	17.3±4.2 U/ml	NS (p=0.22)
Wang et al [13]	NI	NI	NS [#]

NS- not significant; NI- Not Informed; # - p value not informed.