

Renato de Marco¹; Alberto Cardoso Martins Lima²; Maria Gerbase-DeLima¹

1 - Instituto de Imunogenética, Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa, São Paulo, SP, Brasil
2 - Laboratório de Imunogenética do CHC/UFPR

INTRODUÇÃO

- A correta interpretação dos resultados do teste Luminex *Single Antigen* (LSA) é fundamental para a identificação precisa dos anticorpos e, conseqüentemente, para a definição da presença ou não de anticorpos específicos contra o doador (DSA).
- Para análise do LSA, consideramos que o paciente não pode formar anticorpos contra o HLA próprio. Também, consideramos que, na maiorias das vezes, os anticorpos reconhecem uma porção conservada dentro do grupo de alelos. Mas, não raramente, observamos também a presença de anticorpos anti-alelo.
- Em busca de entendermos como um paciente pode formar anticorpos anti-alelos, procuramos determinar, através das ferramentas de análise de epítomos existentes, a provável região reconhecida pelo anticorpo.

OBJETIVO

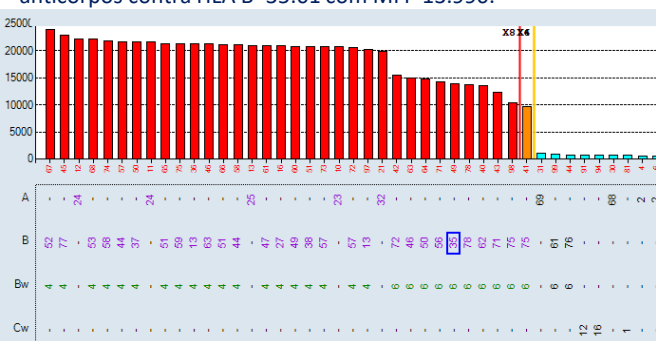
- O objetivo desse caso é mostrar a descrição e análise de anticorpo contra HLA-B*35:01 em uma paciente que expressa o HLA-B*35:02.

MATERIAL/METODOS & RESULTADOS

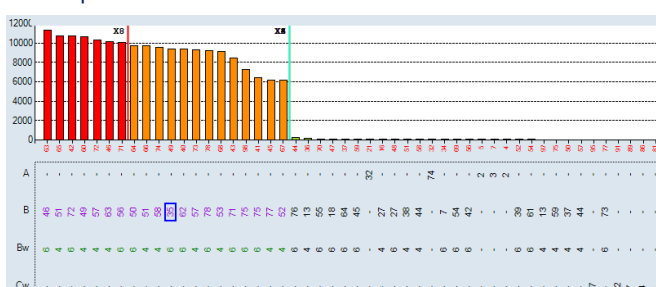
Paciente mulher, 4 gestações prévias, tipificada como A*01:CUSGH A*02:52 B*35:02 B*39:03 DRB1*11:CVFZV, DRB1*14:CCJFN. A pesquisa de anticorpos com LSA revelou positividade contra HLA B*35:01 e B*35:08, tanto com o kit da One Lambda (Figura 1) quanto da Immucor. Devido a esse resultado pouco comum, realizamos a pesquisa de anticorpos com o kit complementar Explex da One Lambda e não observamos reação contra o HLA B*35:02. Como o padrão de reação encontrado não era justificado por nenhuma base de epítomos (HLA MatchMaker ou epítomos de Terasaki) realizamos o protocolo de absorção/eluição com uma célula que expressa o HLA A* B*35:08, para tentar determinar qual o epítopo que estava sendo reconhecido. O resultado do teste LSA utilizando o kit da One Lambda com o eluato revelou os anticorpos demonstrados na figura 2. Exceto pela ausência da reação contra o HLA Cw9,10 e por ser um eplet próprio, o padrão observado no eluato poderia ser justificado pelo eplet 163L+167W. O resíduo 173E poderia justificar a ausência de detecção de anticorpos contra HLA- Cw9,10. Além das três posições, o resíduo 109L seria o que justificaria a formação de anticorpos contra o HLA B*35:01 por um indivíduo portador de B*35:02 (figura 3). Verificamos, utilizando o programa Cn3D, que os resíduos 109L, 163L, 167W e 173E, que estão presentes somente nas reações positivas observadas com o eluato, estão a uma distância inferior a 15Å (Figura 4).

RESULTADOS

1. LSA da amostra de soro da paciente: foram detectados anticorpos contra HLA B*35:01 com MFI=13.990.



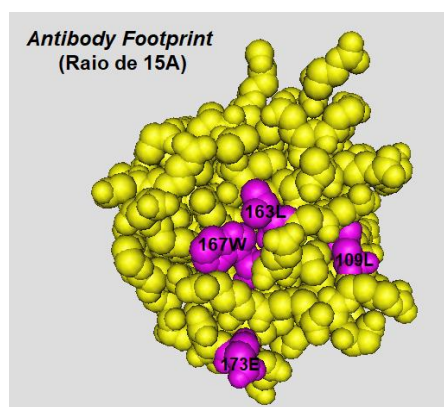
2. LSA do eluato após a absorção do soro com uma célula HLA-A*29:01,31:01 B*35:08,40:02 C*04:01: foram detectados anticorpos contra HLA-B*35:01 com MFI = 9419.



3. Comparação dos aminoácidos presentes nos HLAs próprios com os do HLA B*35:01: todos os amino ácidos determinados no novo epítopo estão presentes em HLA próprios.

HLA	Aminoácidos			
	109	163	167	173
A*01:01	F	R	G	E
A*02:52	F	T	W	E
B*35:02	F	L	W	E
B*39:03	L	T	W	E
B*35:01	L	L	W	E

4. Porção da molécula HLA B*35:01: em amarelo, a região compreendida dentro do raio de 15Å do eplet 163L; em rosa, os resíduos 109L, 163L 167W e 173E que compõem o novo epítopo.



COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

As atuais bases de epítomos são falhas em determinar todos os padrões de anticorpos encontrados em soros de pacientes. Com isso, seu uso deve ser feito de forma cautelosa.

Em conclusão, definimos um novo epítopo formado por configurações em posições próprias, mas que juntas formam uma configuração não própria.