



Acta Scientiarum. Health Sciences

ISSN: 1679-9291

eduem@uem.br

Universidade Estadual de Maringá

Brasil

Coan Boian, Elisiane; Marques de Andrade, Renato; Nakamura, Lílian Yurie; Medeiros, André Luiz;

Coan Boian, Marciele; Donizete Borelli, Sueli

Quantificação de antígenos HLA classe I solúveis pela técnica de ELISA

Acta Scientiarum. Health Sciences, vol. 31, núm. 2, 2009, pp. 95-99

Universidade Estadual de Maringá

Maringá, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=307226625002>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Quantificação de antígenos HLA classe I solúveis pela técnica de ELISA

Elisiane Coan Boian, Renato Marques de Andrade, Lílían Yurie Nakamura, André Luiz Medeiros, Marciele Coan Boian e Sueli Donizete Borelli*

Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: sdborelli@uem.br

RESUMO. As moléculas HLA (*Human Leucocyte Antigens*) são consideradas, principalmente, estruturas de superfície celular envolvidas em uma variedade de reações imunes associadas com transplante, infecções e doenças autoimunes. Os antígenos HLA também podem ser encontrados, em forma solúvel, no soro e em diferentes fluidos do organismo humano. Este trabalho teve como objetivo desenvolver a técnica imunoenzimática (ELISA) para quantificar os níveis séricos de antígenos HLA classe I, específicos e totais, em indivíduos normais e em pacientes renais. A técnica de ELISA foi desenvolvida para demonstrar a presença, no soro, de antígenos HLA classe I totais (sHLA-I) e as especificidades HLA-A2 (sHLA-A2) e HLA-B7 (sHLA-B7). Oitenta e oito amostras de soro foram envolvidas neste estudo, sendo 61 amostras provenientes de indivíduos sadios cadastrados no Hemocentro Regional de Maringá, Estado do Paraná, e 27 pacientes renais, provenientes dos centros de diálise da cidade de Maringá, Estado do Paraná. As concentrações médias de sHLA para as especificidades -A2 e -B7, detectadas somente em indivíduos sadios, foram $504.06 \text{ ng mL}^{-1} \pm 142.10$ e $427.33 \text{ ng mL}^{-1} \pm 140.73$, respectivamente. Resultados preliminares mostraram que sHLA-I, em indivíduos sadios, foi de $253.77 \text{ ng mL}^{-1}$ e, em indivíduos renais em diálise, de $381.67 \text{ ng mL}^{-1}$. A técnica de ELISA para detecção de antígenos HLA solúveis poderá ser útil em estudos comparativos, em diferentes populações saudáveis, diferentes patologias e no monitoramento das rejeições em transplantes.

Palavras-chave: antígenos solúveis, HLA, ELISA.

ABSTRACT. Quantification of soluble HLA class I antigens by ELISA assay. HLA (*Human Leucocyte Antigens*) molecules are regarded mainly as cell surface structures involved in several immune reactions associated with transplants, infections and auto-immune diseases. HLA antigens can be also found in soluble form in serum and in different fluids of the human body. The aim of this work was to develop the immunoenzymatic assay (ELISA) to quantify serum levels of specific and total soluble HLA class I antigens in normal individuals and in kidney patients. ELISA assay was developed to demonstrate the presence, in serum, of HLA-A2 (sHLA-A2), HLA-B7 (sHLA-B7) and total class I (sHLA-I) antigens. Eighty-eight serum samples were involved in this study, 61 from healthy individuals registered in the Regional Blood Center of the city of Maringá, Paraná State, and 27 kidney patients from dialysis centers of Maringá. The mean concentrations of sHLA-A2 and sHLA-B7, in healthy individuals, were respectively, $504.06 \text{ ng mL}^{-1} \pm 142.10$ and $427.33 \text{ ng mL}^{-1} \pm 140.73$. Preliminary results showed that sHLA-I in healthy individuals was $253.77 \text{ ng mL}^{-1}$, and $381.67 \text{ ng mL}^{-1}$ in kidney dialysis patients. The ELISA assay could be useful to detect soluble HLA antigens in comparative studies in different healthy populations, in several pathologies and in monitoring rejection in transplantation.

Key words: soluble antigens, HLA, ELISA.

Introdução

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH ou MHC, do inglês, *Major Histocompatibility Complex*) consiste em um conjunto de genes situado no braço curto do cromossomo 6 humano. Muitos dos genes do CPH estão envolvidos em funções imunológicas. Em particular, o CPH contém um

grupo de genes que codificam diversas proteínas que são expressas na superfície de vários tipos celulares. Nos seres humanos, tais moléculas são conhecidas como Antígenos Leucocitários Humanos, ou sistema HLA, do inglês *Human Leucocyte Antigens* (PEAKMAN; VERGANI, 1999).

As moléculas do sistema HLA são classificadas, basicamente, em moléculas classe I (HLA-A, -B e -C) e

classe II (HLA-DR, -DQ e -DP). Tais moléculas são glicoproteínas altamente polimórficas que diferem entre si quanto à distribuição em tecidos e funções. As moléculas classe I estão presentes na superfície de todas as células nucleadas do organismo. As moléculas classe II têm distribuição celular mais restrita, estando presentes na superfície de células que participam diretamente da resposta imune, tais como macrófagos, monócitos, células dendríticas, células de Langerhans, linfócitos B e linfócitos T ativados. Tanto as moléculas classe I quanto as moléculas classe II participam da resposta imune como apresentadoras de peptídeos aos receptores de superfície dos linfócitos T (PAMER; CRESSWELL, 1998).

Por estarem presentes em todas as células do organismo, tais moléculas funcionam como aloantígenos. Desta forma, o sistema HLA é considerado um potente marcador de sobrevida em transplantes, apresentando papel de destaque entre os sistemas biológicos envolvidos no processo de rejeição (KRENSKY et al., 1990).

A presença das moléculas HLA sob forma solúvel no soro (sHLA) foi detectada na década de 70 (VAN ROOD et al., 1970; CHARTON; ZMIJEWSKI, 1970) e demonstrado por Reisfeld et al. (1974) que tais moléculas eram semelhantes, na sua composição, às moléculas HLA associadas à membrana, sendo compostas por uma cadeia pesada polimórfica (cadeia α codificada pelo MHC), associada não-covalentemente à β_2 -microglobulina (β_2m).

Mais tarde, foi verificado que várias formas de cadeias pesadas de moléculas HLA classe I solúveis (sHLA-I) associavam-se à β_2m , diferindo apenas quanto ao peso molecular, entre elas, as cadeias de 44 kDa intactas, que circulam associadas a lipídios; cadeias de 39 kDa que perderam sua porção transmembrana e são geradas possivelmente por um *splicing* alternativo ao nível de RNA; e cadeias de 37 e 35 kDa, que representam produtos de quebra proteolítica das cadeias pesadas de HLA classe I de 44 kDa celulares ou séricas. Além disso, são encontradas cadeias pesadas livres de β_2m , sem que se conheça, até o momento, sua origem (celular ou sérica) e seu perfil molecular (DOBBE et al., 1988).

Inicialmente, as aloespecificidades HLA classe I presentes no soro foram detectadas pela capacidade do soro em inibir a citotoxicidade dependente de complemento de aloantissoros anti-HLA contra células-alvo específicas (BILLING et al., 1977; BORELLI et al., 1998).

Como a atividade inibitória era baseada na diluição do soro que causava inibição de 50% da atividade citotóxica de uma diluição do aloantissoro anti-HLA selecionado (título pré-determinado) com

células-alvo, os resultados destas quantificações eram interpretados com extremo cuidado. O resultado era influenciado pelas características do aloantissoro anti-HLA, pela interferência do fator anticomplementar presente no soro testado e pela concentração do antígeno solúvel presente no soro. No entanto, apesar da existência destes fatores, houve a concordância, entre os resultados demonstrados, de que os níveis séricos do antígeno HLA-A9 eram mais elevados em relação às outras aloespecificidades HLA classe I analisadas (BILLING et al., 1977; BORELLI, 1998).

Com a disponibilidade dos anticorpos monoclonais tornou-se viável o desenvolvimento da reação imunoenzimática ELISA, tornando-se esta metodologia mais precisa na quantificação de moléculas sHLA no soro (RUSSO et al., 1987; WU et al., 2002). O princípio da reação de ELISA se baseia na ligação de anticorpos monoclonais em suportes sólidos (placas de ELISA), denominados de anticorpos de captura, os quais possibilitam a captura de moléculas HLA provenientes do soro e outros fluidos biológicos. A presença da molécula HLA capturada é detectada pela adição de um segundo anticorpo marcado com uma enzima. A atividade desta enzima é medida pela adição de um substrato apropriado. A intensidade da cor desenvolvida é proporcional à concentração das moléculas HLA presentes nos fluidos biológicos (McDONALD et al., 1992).

O papel biológico das moléculas sHLA não está bem definido, no entanto, sua função parece estar relacionada com situações imunomodulatórias como infecções (MIGLIARESI et al., 2000; TABAYOYONG; ZAVAZAVA, 2007), processos inflamatórios e episódios de rejeições em transplantes (DE VITO-HAYNES et al., 1994; INOSTROZA et al., 1997; BORELLI et al., 1999; SMITH et al., 2000; ADAMASHVILI et al., 2005).

A detecção de sHLA, em receptores transplantados, requer a quantificação dos diferentes alótipos sHLA nos doadores e receptores de órgãos. Os estudos nessa área são bastante limitados devido ao elevado polimorfismo destas moléculas. Davies et al. (1989) foram os primeiros a demonstrar que, em receptores de fígado, os alótipos HLA-A2 e -B7 do doador eram detectados no soro do receptor imediatamente após o transplante e desapareciam quando o fígado era removido.

A rejeição aguda, em transplante de órgãos, é caracterizada pela resposta imune do hospedeiro contra o enxerto, levando à deterioração da função renal. Clinicamente, a rejeição se manifesta com febre, dor local, elevação do peso corporal. Em

alguns casos, manifesta-se de forma silenciosa, sendo diagnosticada pelo aumento dos níveis séricos de creatinina e muitas vezes a rejeição aguda pode ser diagnosticada somente através da biópsia renal (DAHAN et al., 2006).

A quantificação das moléculas HLA no soro do receptor, pelo método de ELISA, pode ser útil no monitoramento pós-transplante de órgãos, uma vez que o órgão enxertado, quando lesado, libera moléculas sHLA da membrana dos tecidos para o soro. O estudo quantitativo dessas moléculas, nos períodos pré e pós-transplante, pode ser utilizado como método não-invasivo no monitoramento dos episódios de rejeição.

Este trabalho teve como objetivo quantificar os antígenos HLA solúveis específicos para -A2 (sHLA-A2) e -B7 (sHLA-B7) no soro de indivíduos normais e antígenos HLA solúveis classe I totais (sHLA-I) no soro de indivíduos normais e em pacientes renais em hemodiálise.

Metodologia

Casística

Indivíduos saudáveis

As amostras de soro foram obtidas a partir do sangue periférico de 61 indivíduos saudáveis cadastrados como doadores voluntários de medula óssea no Hemocentro Regional de Maringá, Estado do Paraná (Figura 1).

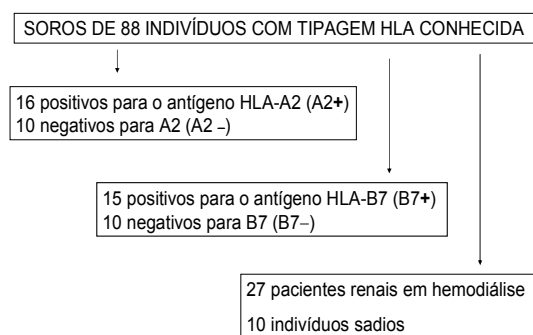


Figura 1. Amostras de soro.

Pacientes renais

As amostras de soro foram obtidas a partir do sangue periférico de 27 pacientes renais (Figura 1), em tratamento dialítico, provenientes de vários centros de diálise da cidade de Maringá, Estado do Paraná. No Laboratório de Imunogenética da Universidade Estadual de Maringá, as amostras de soro foram separadas por centrifugação a 1.500 rpm durante 10 min. Em seguida, o material foi aliquotado e armazenado a -20°C. No momento do uso, as

amostras foram descongeladas e novamente centrifugadas a 11.000 rpm durante 15 min. para eliminação de plaquetas.

Reação de ELISA para detecção de sHLA

A reação de ELISA, específica para a detecção de antígenos sHLA-I, foi desenvolvida conforme descrito por De Vito-Haynes et al. (1994), com modificações. Placas de ELISA (NUNC™ Brand Products, Nalge Nunc International) foram utilizadas para dispensar os anticorpos monoclonais de captura, PA2.1 (2 µg mL⁻¹), ME-1 e MB40.2 (2 µg mL⁻¹) e w6/32 (5 µg mL⁻¹), para a detecção dos antígenos solúveis -A2, -B7 e classe I totais, respectivamente. As amostras de soro foram diluídas em solução salina fosfatada (PBS) acrescida de 0,05% de Tween 20 e 0,5% de albumina sérica bovina (PBS-T/BSA). As amostras de soro assim diluídas foram incubadas por 60 min. a 22°C. As moléculas sHLA foram detectadas por meio do soro de coelho anti-β₂ microglobulina humana (Accurate Chemical & Scientific Corp., Westbury, NY, USA), seguida da adição do segundo anticorpo marcado com a enzima peroxidase (soro de carneiro anti-β₂ microglobulina de coelho (Biosource, Camarillo, Ca, USA). Após lavagens das placas de ELISA, o substrato ABTS (2,2'-diazino do ácido etilbenzotiazolino sulfônico – Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) e H₂O₂ foram adicionados e a cor desenvolvida foi lida a 405 nm em leitor de ELISA (FL600 Microplate Fluorescence Reader, Bio-Tek) após 30 min. a 22°C. A curva-padrão foi obtida pela diluição seriada do antígeno solúvel padrão sB7 (HIRAKI et al., 1994). Para o cálculo das concentrações de sHLA foi utilizado o programa Sigma Plot software.

Anticorpos monoclonais

Os anticorpos monoclonais utilizados no desenvolvimento da reação de ELISA para a detecção de sHLA-A2, sHLA-B7 e sHLA-I encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Anticorpos monoclonais de captura e suas especificidades HLA.

Anticorpos monoclonais	Especificidades
ME1	HLA-B7, 27, 22
MB40.2	HLA-B7, 40
PA2.1	HLA-A2, 28
W6/32	HLA CLASSE I

Resultados e discussão

A presença de sHLA-I no soro foi descrita há mais de 30 anos (VAN ROOD et al., 1970; CHARTON;

ZMIJEWSKI, 1970). Nestes estudos, os autores sugeriram a possibilidade de sHLA-I representar algum papel na modulação da resposta imune, no entanto, nos anos seguintes, as pesquisas voltaram-se para sua utilização na tipagem HLA, no desenvolvimento de xenoantissoros anti-HLA e nos estudos estruturais destas moléculas.

Neste trabalho, utilizando-se a técnica de ELISA, pudemos demonstrar a presença das moléculas sHLA-A2, sHLA-B7 e sHLA-I no soro.

Conforme demonstrado na Tabela 2, o valor mínimo detectado de sHLA-A2 no soro, utilizando-se o anticorpo monoclonal de captura PA2.1, foi de 300 ng mL⁻¹, o máximo, de 835 ng mL⁻¹, sendo o valor médio da concentração de 504,06 ng mL⁻¹ ± 142,10. Estes resultados corroboram com o estudo realizado por De Vito-Haynes et al. (1994) que utilizaram a combinação de anticorpos monoclonais CR11-351 e MA2.1 na captura do antígeno -A2. Ficou demonstrado, neste trabalho, que, na ausência dos anticorpos CR11-351 e MA2.1, o anticorpo PA2.1 também poderá ser utilizado na reação de ELISA para a detecção da especificidade -A2 solúvel.

Em relação à concentração do antígeno sHLA-B7, o valor médio encontrado foi de 427,33 ng mL⁻¹ ± 140,73. A concentração mínima foi de 155 ng mL⁻¹ e a máxima, de 675 ng mL⁻¹ (Tabela 2).

Tabela 2. Concentração de sHLA-A2, sHLA-B7 (média e desvio-padrão) em indivíduos normais com tipagem HLA positiva para HLA-A2 e HLA-B7.

sHLA-	n	Ng mL ⁻¹ ± dp	amplitude
A2 +	16	504,06 ± 142,1	300-835
A2 -	10	5,7 ± 4,2	0-12
B7 +	15	427,33 ± 140,73	155-675
B7 -	10	nd	nd

nd (não-detectado).

O soro dos indivíduos que não apresentavam o antígeno -A2 em suas tipagens HLA apresentaram reatividade cruzada mínima com o anticorpo de captura PA2.1 e nenhuma reatividade foi observada no soro de indivíduos negativos para o antígeno -B7. As reações mínimas observadas no soro de indivíduos negativos para o antígeno -A2 pode ser pelas reações cruzadas com outros antígenos HLA como o antígeno -A28 (WAYS; PARHAN, 1983).

Os níveis séricos de sHLA-I encontrados em indivíduos sadios foi de 253,77 ng mL⁻¹ e, em indivíduos renais, em diálise, de 381,67 ng mL⁻¹ (Tabela 3).

Alguns trabalhos têm demonstrado que os níveis séricos de sHLA-I encontram-se elevados no decorrer dos episódios de rejeição em transplante alogênicos de órgãos e durante a doença do enxerto contra o hospedeiro, nos casos de transplante de medula óssea

(TSUJI et al., 1985; PUPPO et al., 1994; LIEM et al., 1997). Como os níveis de sHLA totais encontram-se elevados no soro dos receptores (durante os períodos de rejeição), ficou evidenciado que este aumento poderia ser proveniente das aloespecificidades sHLA-I provenientes do doador. As correlações de aumento de sHLA e rejeição foram demonstradas em transplantes de fígado (TILG et al., 1992), rim (BORELLI et al., 1999) e coração (TABAYOYONG; ZAVAZAVA, 2006).

Tabela 3. Concentração de sHLA-I (média e desvio-padrão) em indivíduos sadios e pacientes renais em hemodiálise.

sHLA-I	n	ng mL ⁻¹ ± dp	amplitude
Sadios	10	253,77 ± 154,07	80-582
Renais	27	381,67 ± 152,21	80-447

Conclusão

Pela utilização da reação de ELISA, pudemos demonstrar no soro a presença das moléculas sHLA-A2, sHLA-B7 e sHLA-I.

Ficou demonstrado que o anticorpo monoclonal PA2.1 também pode ser utilizado na captura do antígeno sHLA-A2, além dos anticorpos monoclonais já descritos na literatura, CR11-351 e MA2.1.

A detecção precoce de antígenos sHLA doador específico, sHLA-A2 e/ou sHLA-B7, no receptor com tipagem HLA negativa para estas especificidades, pode vir a ser uma valiosa alternativa para a monitorização da rejeição em transplantes renais sem a necessidade de biópsia.

Conhecendo-se os níveis séricos de sHLA-A2, sHLA-B7 e sHLA-I em indivíduos saudáveis, a detecção quantitativa destas moléculas poderá ser útil em estudos comparativos, entre diferentes grupos étnicos e em diferentes situações patológicas.

Referências

- ADAMASHVILI, I.; KELLEY, R. E.; PRESSLI T.; McDONALD, J. C. Soluble HLA: patterns of expression in normal subjects, autoimmune diseases, and transplant recipients. **Rheumatology International**, v. 25, n. 7, p. 491-500, 2005.
- BILLING, R. J.; SAFANI, M.; PETERSON P. Soluble HLA antigens present in normal human serum. **Tissue Antigens**, v. 10, n. 2, p. 75-82, 1977.
- BORELLI, S. D. **Detecção de antígenos HLA sob forma solúvel no soro**. 1998. 105f. Dissertação (Mestrado em Imunologia)-Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1998.
- BORELLI, S. D.; FERREIRA E.; OLIVEIRA A. M.; KRISHNASWAMY, S.; HIRAKI, D. D.; GRUMET, F. C. Specific sHLA in healthy donors and donor-specific sHLA in renal transplant patients. **Human Immunology**, v. 60, n. 5, p. 430-434, 1999.

- CHARTON, R.; ZMIJEWSKI, C. Soluble HL-A7 antigen: localization in the β -lipoprotein fraction of human serum. **Science**, v. 170, n. 3958, p. 636-637, 1970.
- DAHAN, K.; AUDARD, V.; ROUDOT-THORAVALL, F.; DESVAUX, D.; ABTAHI, M.; MANSOUR, H.; KUMAL, M.; LANG, P.; GRIMBERT, P. Renal allograft biopsies with borderline changes: predictive factors of clinical outcome. **American Journal of Transplantation**, v. 6, n. 7, p. 1725-1730, 2006.
- DAVIES, H. S.; POLLARD, S. G.; CALNE, R. Y. Soluble HLA antigens in the circulation of liver graft patients. **Transplantation**, v. 47, n. 3, p. 524-527, 1989.
- DE VITO-HAYNES, L. D.; JANKOWSKA-GAN, E.; SOLINGER, H. W.; KENECHTLE, S. J.; BURLINGHAN, W. J. Monitoring of kidney and simultaneous pancreas-kidney transplantation rejection by release of donor-specific soluble HLA class I. **Human Immunology**, v. 40, n. 3, p. 191-201, 1994.
- DOBBE, L. M.; STAM, N. J.; NEEFJES, J. J.; GIPHART, M. J. Biochemical complexity of serum HLA class I molecules. **Immunogenetics**, v. 27, n. 3, p. 203-210, 1988.
- HIRAKI, D. D.; SEE-THO, K.; FILVAROFF, E.; KRISHNASWAMY, DE BELLO, W.; TAIDILASKOSWSKI, B.; GRUMET, F. C. Bioengineered soluble HLA-B7. Genesis, characterization, and occurrence of dimerization. **Human Immunology**, v. 40, n. 3, p. 235-246, 1994.
- INOSTROZA, J.; MUÑOZ, P.; ESPINOZA, R.; MILLAQUEO, L.; DIAZ, P.; LEIVA, L.; SORENSEN, R. Quantification of soluble HLA class I heterodimers and beta 2-microglobulin in patients with active pulmonary tuberculosis. **Human Immunology**, v. 40, n. 3, p. 179-182, 1997.
- KRENSKY, A. M.; WEISS, A.; CRABTREE, G.; DAVIS, M. M.; PARHAN, P. T-lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection. **New England Journal of Medicine**, v. 322, n. 8, p. 510-517, 1990.
- LIEM, L. M.; KOELMAN, C. A.; DOXIADIS, I. I.; VAN HOUWELINGEN, J. C.; GOULMY, E.; CLAAS, F. H. Elevated serum HLA class I levels coincide with acute and chronic graft-versus-host disease. **Bone Marrow Transplant**, v. 20, n. 3, p. 227-234, 1997.
- MCDONALD, J. C.; GELDER, F. B.; AULTMAN, D. F.; LANDRENEAU, M. D.; McMILLAN, R. W.; SINGH, I.; SORRELLS, D.; LIOU, W. H. HLA in human serum: quantitation of class I by enzyme immunoassay. **Transplantation**, v. 53, n. 2, p. 445-449, 1992.
- MIGLIARESI, S.; BRESCIANI, A.; AMBROSONE, L.; SPERA, M.; BARBARULO, D.; LOMBARI, V.; PIROZZI, G.; BORGIA, G.; LOMBARDI, M. L.; TIRRI, G.; MANZO, C. Increased serum concentrations of soluble HLA-class I antigens in hepatitis C virus related mixed cryoglobulinaemia. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 59, n. 1, p. 20-25, 2000.
- PAMER, E.; CRESSWELL, P. Mechanisms of MHC class I-restricted antigen processing. **Annual Review of Immunology**, v. 16, p. 323-358, 1998.
- PEAKMAN, M.; VERGANI, D. **Imunologia básica e clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
- PUPPO, F.; PELLICI, R.; BRENCI, S.; NOCERA, A.; MORELLI, N.; DARDANO, G.; BERTOCCHI, M.; ANTONUCCI, A.; GHIO, M.; SCUDELETTI, M. HLA class-I-soluble antigen serum levels in liver transplantation. A predictor marker of acute rejection. **Human Immunology**, v. 40, n. 3, p. 166-170, 1994.
- REISFELD, R. A.; POULIK, M. D.; FERRONE, S.; PELLEGRINO, M. A.; SEVIER, D. E.; OH, S. K. Association of HLA antigens and β 2 microglobulin at the cellular and molecular level. **Transplantation Review**, v. 21, p. 106-125, 1974.
- RUSSO, C.; FOTINO, M.; CARBONARA, A.; FERRONE, S. A double-determinant immunoassay for HLA class I typing using serum as an antigen source. **Human Immunology**, v. 19, n. 1, p. 69-77, 1987.
- SMITH, M. A.; NAZIRUDDIN, B.; POINDEXTER, N. J.; HAYNES, A. E.; HOWARD, T.; MOHANAKUMAR, T. Liver transplant recipient sera derived soluble HLA mediates allele specific CTL apoptosis. **Transplantation**, v. 69, n. 1, p. 157-162, 2000.
- TABAYOYONG, W. B.; ZAVAZAVA, N. Soluble HLA revisited. **Leukemia Research**, v. 31, n. 2, p. 121-125, 2007.
- TILG, H.; WESTHOFF, U.; VOGEL, W.; AULITZKY, W. E.; HEROLD, M.; MARGREITER, R.; HUBER, C.; GROSSE-WILDE, H. Soluble HLA class I serum concentrations increase with transplant-related complications after liver transplantation. **Journal of Hepatology**, v. 14, n. 2, p. 417-419, 1992.
- TSUJI, K.; KUSAMA, M.; NAKATSUJI, T.; KATO, S. Biological significance of Ss. (serum soluble) HLA class I antigens in bone marrow transplantation. **Tokai Journal of Experimental and Clinical Medicine**, v. 10, n. 2, p. 169-174, 1985.
- VAN ROOD, J. J.; VAN LEEUWEN, A.; VAN SANTEN, M. C. Anti HL-A2 inhibitor in normal human serum. **Nature**, v. 226, n. 5243, p. 366-367, 1970.
- WAYS, J. P.; PARHAN, P. The binding monoclonal antibodies to cell surface molecules. **The Biochemical Journal**, v. 216, n. 2, p. 423-432, 1983.
- WU, T.; LAN, J. C.; ZHANG, H.; WANG, C. R.; MAO, G. C. Detection of soluble HLA class I antigens by ELISA and determination of its reference value in population of Guangdong province. **Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao**, v. 22, n. 10, p. 931-933, 2002.

Received on March 25, 2009.

Accepted on April 21, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.