

Jornal Brasileiro de Transplantes

Jornal Oficial da Associação Brasileira de
Transplante de Órgãos - ABTO
Volume 11, Número 1, Jan - Mar 2008



APRESENTAÇÃO DE PROGRAF®XL

O NOVO PROGRAF® UMA VEZ AO DIA



Nenhuma razão para pensar duas vezes

Material destinado exclusivamente à classe médica. Julho/2009.

1
UMA
VEZ
AO DIA

PROGRAF®XL
(tacrolimo cápsula de liberação prolongada)

Contraindicações: é contraindicado para pacientes com hipersensibilidade ao tacrolimo ou a qualquer componente da fórmula do medicamento
Interações medicamentosas: Deve-se tomar cuidado ao administrar **Prograf®** com medicamentos que podem estar relacionados com disfunções renais.

Prograf® XL cápsulas de liberação prolongada (tacrolimo) Forma farmacêutica e apresentações: cápsulas em blister, em caixas com 50 cápsulas de 1 mg ou 50 cápsulas de 5 mg. **Uso oral adulto e pediátrico. Indicações e posologia:** indicado para a profilaxia da rejeição de órgãos em pacientes que sofreram transplantes alógenicos de fígado e rins, concomitantemente com corticosteróides de acordo com prescrição médica. **Prograf® XL** deve ser administrado uma vez ao dia, pela manhã. A dose inicial depende do órgão transplantado e de outros agentes imunossupressores. **Resumo das recomendações de dose oral inicial e as concentrações no sangue total respectivamente: Adultos - Transplante renal:** 0,2 mg/kg/dia, mês 1 - 3: 7-16 ng/mL, mês 4 - 12: 5-15 ng/mL. **Adultos - Transplante hepático:** 0,10 - 0,15 mg/kg/dia, mês 1 - 12: 5-20 ng/mL. **Crianças - Transplante hepático:** 0,15 - 0,20 mg/kg/dia, mês 1 - 12: 5-20 ng/mL. Para a conversão de pacientes estáveis, usar o mesmo monitoramento do intervalo alvo de concentração mínima e concentração no sangue total usado para **Prograf®**. A dose deve ser titulada com base na avaliação clínica de rejeição, tolerabilidade e para manter a concentração mínima no sangue total mencionada acima. Os pacientes convertidos de **Prograf®** para **Prograf® XL** devem receber uma dose única de **Prograf® XL** pela manhã, equivalente à dose total em mg diária que ele utilizava de **Prograf®**. Doses menores de **Prograf® XL** podem ser suficientes para manutenção, a critério médico. As doses subsequentes de **Prograf® XL** devem ser ajustadas para manter as concentrações mínimas em nível similar àquelas anteriores à conversão. **Transplantes Hepáticos - dose inicial de Prograf® XL** não deve ser administrada antes de 6 horas depois do transplante. Dose oral inicial recomendada de **Prograf® XL** cápsulas é de 0,10-0,15 mg/kg/dia administrado uma vez ao dia pela manhã. **Transplantes Renais:** A dose oral inicial recomendada de **Prograf®** é 0,2 mg/kg/dia uma vez ao dia pela manhã. A dose inicial de **Prograf® XL** pode ser administrada 24 horas depois do transplante, mas deve ser adiada até a função renal se recuperar (como indicado por exemplo pela creatinina sérica \leq 4mg/dL). **Pacientes Pediátricos:** Pacientes pediátricos receptores de transplante hepático sem disfunção renal ou hepática preexistente requereram e toleraram doses proporcionalmente mais elevadas de **Prograf®** que os adultos para alcançar concentrações sanguíneas similares. Portanto, é recomendado que em pacientes pediátricos a terapia seja iniciada com uma dose inicial de 0,15-0,20 mg/kg/dia, pela manhã. Ajustes na dose podem ser necessários. A experiência em pacientes pediátricos receptores de transplante de rim é mais limitada do que em adultos. **Pacientes com Disfunção Renal ou Hepática:** Devido a depuração reduzida e a meia-vida prolongada, os pacientes com insuficiência hepática grave (Pugh \geq 10) podem necessitar de doses menores de **Prograf® XL**. É obrigatório monitorar as concentrações de tacrolimo no sangue. Devido ao potencial de nefrotoxicidade, pacientes com disfunção renal ou hepática devem receber doses no limite inferior das faixas de dose intravenosa e oral recomendadas. Reduções adicionais na dose abaixo dessas faixas podem ser necessárias. Em geral, a terapia de **Prograf® XL** deve ser adiada em até 48 horas ou mais em pacientes com oligúria pós-operatória. **Conversão de um Tratamento Imunossupressivo para Outro: Prograf® XL** não deve ser usado simultaneamente com ciclosporina. **Prograf® XL** ou ciclosporina devem ser descontinuados no mínimo 24 horas antes de iniciar o outro. Na presença de concentrações elevadas de **Prograf® XL** ou ciclosporina, a administração do medicamento deve, em geral, ser adiada. Os pacientes receptores de transplante renal ou hepático podem ser convertidos de **Prograf®** para **Prograf® XL** uma vez ao dia, com base na dose total diária (1:1, mg/mg) para obter as concentrações adequadas de tacrolimo no sangue. **Contraindicações:** é contraindicado para pacientes com hipersensibilidade ao tacrolimo ou a qualquer componente da fórmula do medicamento. **ADVERTÊNCIAS:** medicamentos imunossupressores podem aliviar focos primários de tuberculose; a susceptibilidade aumentada a infecções e o possível desenvolvimento de linfoma podem ser resultado da imunossupressão. O tacrolimo tem sido associado a hiperglicemia, diabetes mellitus pós-transplante e aparecimento de intolerância à glicose, definida como glicemia em jejum \geq 126 mg/dL, uso de insulina \geq 30 dias ou uso de hipoglicemiantes oral. **Prograf®** pode causar neurotoxicidade e nefrotoxicidade, particularmente em doses elevadas. Deve-se tomar cuidado ao utilizar tacrolimo com outros medicamentos nefrotóxicos. Hipopotassemia leve a grave foi relatada. Os níveis séricos de potássio devem ser monitorados e diuréticos poupadores de potássio não devem ser utilizados durante a terapia com **Prograf® XL**. Neurotoxicidade, incluindo tremores, dores de cabeça, e outras alterações na função motora, no nível mental, e nas funções sensoriais foram relatadas. Convulsões ocorreram em pacientes adultos e pediátricos. Coma e delírios foram associados com elevada concentração plasmática de tacrolimo. Como em pacientes recebendo outros imunossupressores, pacientes recebendo **Prograf® XL** tiveram um risco aumentado de desenvolver linfomas e outras doenças malignas, particularmente da pele. O risco parece estar relacionado à intensidade e duração da imunossupressão ao invés de estar relacionado à utilização de algum agente específico. Um distúrbio linfoproliferativo relacionado à infecção pelo vírus Epstein-Barr (EBV) foi relatado em receptores de órgãos transplantados imunossuprimidos, sendo que o risco é maior em crianças mais novas que estão sob o risco da infecção primária por EBV enquanto estão imunossuprimidas ou que passam a receber **Prograf®** após um longo período de terapia de imunossupressão. **PRECAUÇÕES:** Gerais: hipertensão. **Pacientes com Disfunção Renal e Hepática:** devem ser utilizadas doses menores. **Hipertrofia do miocárdio:** se a hipertrofia do miocárdio for diagnosticada, a redução da dose ou a descontinuação do uso de tacrolimo devem ser consideradas. **Gestação e Lactação:** Categoria C. Não existem estudos adequados e bem controlados em mulheres grávidas. O tacrolimo é transferido através da placenta. O uso de tacrolimo durante a gravidez foi associado com hipoplasia neonatal e disfunção renal. **Prograf® XL** deve ser usado durante a gravidez somente se o benefício para a mãe justificar o risco potencial ao feto, a amamentação deve ser evitada. **Pacientes pediátricos:** para receptores de transplante renal a experiência é limitada. Para receptores de transplante hepático foram observados casos bem sucedidos. **Interações Medicamentosas:** Deve-se tomar cuidado ao administrar **Prograf®** com medicamentos que podem estar relacionados com disfunções renais. **Fármacos que podem alterar as concentrações de tacrolimo:** Drogas que podem aumentar as concentrações de tacrolimo no sangue: Bloqueadores de canal de cálcio: (diltiazem, nifedipina, verapamil). Antibióticos macrolídeos (claritromicina, eritromicina, toleandomicina). Agentes antifúngicos (clotrimazol, fluconazol, itraconazol, cetoconazol, voriconazol). Outros fármacos (promopridina, clarifenicol, cimetidina, danazol, etilestradiol, metilprednisolona, omeprazol, inibidores de protease, nefazodona, hidróxido de magnésio e alumínio). **Fármacos que podem diminuir a concentração do tacrolimo no sangue:** Anticonvulsivantes (carbamazepina, fenobarbital, fenitoína). Antimicrobianos (rifabutina, caspofungina, rifampicina). Fitoterápicos (Erva de São João). Outras drogas (sildenafil). Deve-se ter cuidado quando medicamentos que são nefrotóxicos (ex. ganciclovir) ou que são metabolizados pelo CYP3A (ex. nefirnavir, ritonavir) são administrados concomitantemente com tacrolimo. O tacrolimo pode afetar a farmacocinética de outros medicamentos, como a fenitoína. Suco de "GRAPE FRUIT" (POMELO) afeta o metabolismo mediado por CYP3A e deve ser evitado. **Outras Interações Medicamentosas:** o uso de vacinas vivas deve ser evitado. **Reações Adversas: Transplantes Hepáticos: Prograf® XL** por um ano: hipertensão, diarreia, insuficiência renal, hiperglicemia, anemia, ascite, insônia, cefaleia, tremor, efusão pleural, lombalgia, diabetes mellitus insulino dependente, leucopenia, dor abdominal e náusea. **Transplante renal:** pacientes de novo tratados com **Prograf® XL** + MMF: transtornos gastrointestinais (diarreia, náusea, constipação, vômito e dispepsia), lesão, envenenamento e complicações do procedimento (Dor pós-procedimento e Complicações no local da incisão), transtorno metabólico e nutricional (hipomagnesemia, hipofosfatemia, hipercalemia, hiperglicemia, hiperlipidemia, hipocalcemia), infecção do trato urinário, transtornos gerais e condições no local de administração (edema periférico e fadiga), transtorno do sistema nervoso (tremor e cefaleia), aumento da creatinina sanguínea, transtornos do sistema hematológico e linfático (anemia e leucopenia), transtornos vasculares (hipertensão), lombalgia e insônia. **SUPERDOSE:** A experiência disponível com superdose é limitada. Superdoses agudas até 30 vezes a dose pretendida foram relatadas. Quase todos os casos foram assintomáticos e todos os pacientes se recuperaram sem sequelas. Tacrolimo não é dialisável; não existe nenhuma experiência com hemoperfusão com carvão. Em geral, medidas de suporte e tratamentos de sintomas específicos devem ser seguidos em todos os casos de superdoses. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** Ao persistirem os sintomas, o médico deverá ser consultado. Janssen-Cilag Farmacêutica. Reg. MS: 1.1236.3347. Informações adicionais para prescrição: vide bula completa. INFCO 0800.7013017 - www.janssencilag.com.br. *Marca de Astellas Pharma Inc. Não há direitos de patente concedidos nos Estados Unidos. Cód: Jul09RDC96

JBT - Jornal Brasileiro de Transplantes

Jornal Oficial da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos - ABTO
Avenida Paulista 2001 - 17º andar - cj. 1704/07 - CEP 01311-300 - São Paulo - SP - Brasil
Fone/Fax: (11) 3283 1753 / 3262 3353 / 3289 3169 - e-mail: abto@abto.org.br - www.abto.org.br

Periodicidade: trimestral

JBT - J Bras Transpl, São Paulo. V.11, n.1, p. 841-888, jan/mar 2008

Editor Chefe

Mário Abbud Filho - SP

Editores Assistentes

Andy Petroianu - MG
Nicolas Panajotopoulos - SP

Editores Adjuntos

Henry de Holanda Campos - CE
José Osmar Medina Pestana - SP
Valter Duro Garcia - RS
Walter Antonio Pereira - MG
Maria Cristina R. Castro - SP

Conselho Editorial Nacional

Adriano Fregonesi - SP
Adriano Miziara Gonzalez - SP
Alexandre Bakonyi Neto - SP
Bartira de Aguiar Roza - SP
Ben-Hur Ferraz-Neto - SP
David Saitovitch - RS
Elcio Hideo Sato - SP
Érika Bevilaqua Rangel - SP
Euler Pace Lasmar - MG
Huda Noujaim - SP
Ilka de Fátima S. Ferreira Boin - SP
João Eduardo Nicoluzzi - PR
Jorge Milton Neumann - RS

Julio Cesar Wiederkehr - PR
Karina Dal Sasso Mendes - SP
Katherine A. Teixeira de Carvalho - PR
Marcelo Moura Linhares - SP
Marilda Mazzali - SP
Niels Olsen S. Camara - SP
Paulo M. Pêgo Fernandes - SP
Paulo Massarollo - SP
Rafael Fábio Maciel - PE
Renato Ferreira da Silva - BA
Roberto Ceratti Manfro - RS
Tércio Genzini - SP
Valquiria Bueno - SP

Conselho Editorial Internacional

Domingos Machado (Lisboa-Portugal)
Presidente

B. D. Kahan (Houston-USA)
F. Delmonico (Boston-USA)
G. Opelz (Heidelberg-Alemanha)
H. Kreis (Paris- França)
J. M. Dubernard (Lyon-França)
J. Kupiec-Weglinski (Los Angeles-USA)
J. P. Soullillou (Nantes-France)
N. L. Tilney (Boston-USA)
P. N. A. Martins
T. B. Strom (Boston-USA)

*Representantes da Societé
Francophone de Transplantation*
D. Glotz (Paris-França)
Y. Lebranchu (Tours-França)

*Representantes da Organización
Catalana de Trasplantes*
J. Lloveras (Barcelona-Espanha)
M. Manyalich (Barcelona-Espanha)

Diretorias Anteriores

1987/1988 - Diretor Executivo - Jorge Kalil
1987/1990 - Presidente do Conselho Deliberativo - Emil Sabbaga
1989/1990 - Diretor Executivo - Ivo Nesralla
1991/1992 - Diretor Executivo - Mário Abbud Filho
1991/1992 - Presidente do Conselho Deliberativo - Silvano Raia
1993/1994 - Diretor Executivo - Luiz Estevam Ianzeh

1995/1996 - Presidente - Elias David-Neto
1997/1998 - Presidente - Valter Duro Garcia
1999/2001 - Presidente - Henry de Holanda Campos
2002/2003 - Presidente - José Osmar Medina Pestana
2004/2005 - Presidente - Walter Antonio Pereira
2006/2007 - Presidente - Maria Cristina Ribeiro de Castro

JBT - Jornal Brasileiro de Transplantes

Jornal Oficial da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos - ABTO

Periodicidade: trimestral

JBT - J Bras Transpl, São Paulo. V.11, n.1, p. 841-888, jan/mar 2008

Diretoria (Biênio 2008 - 2009)

Presidente	Valter Duro Garcia - RS
Vice-Presidente	Ben-Hur Ferraz-Neto - SP
Secretário	Irene de Lourdes Noronha - SP
2º Secretário	Henry de Holanda Campos - CE
Tesoureiro	Lucio Filgueiras Pacheco Moreira - RJ
2º Tesoureiro	Euler Pace Lasmar - MG

Conselho Consultivo	Walter Antonio Pereira - MG (Presidente)
	Maria Cristina Ribeiro de Castro - SP (Secretário)
	José Osmar Medina Pestana - SP
	Deise De Boni Monteiro de Carvalho - RJ
	Elias David-Neto - SP
	Jorge Milton Neumann - RS

Redação e Administração

Avenida Paulista, 2001 - 17º andar - cj. 1704/07 - CEP 01311-300 - São Paulo - SP

Secretária

Sueli Benko

Capa

Steen 1626-1679, Jan, Leiden, Netherlands, A young woman leans over weakly in her chair

Tiragem

2800 exemplares

Sede

Associação Brasileira de Transplante de Órgãos - ABTO

Avenida Paulista, 2001 - 17º andar - cj. 1704/07 - CEP 01311-300 - São Paulo - SP

Fone/Fax: (11) 3283 1753 / 3262 3353 / 3289 3169 • e-mail: abto@abto.org.br • www.abto.org.br

Projeto Visual Gráfico • Produção • Revisão • Publicidade

LADO A LADO comunicação & marketing

Alameda Lorena, 800 - 14º andar - Cj. 1407 - Jardim Paulista • CEP 01026-001 - São Paulo - SP

Fone: (11) 3888 2222 • e-mail: ladoalado@ladoalado.com.br

Impressão e Acabamento

Van Moorsel Gráfica e Editora

O JBT - Jornal Brasileiro de Transplantes, ISSN 1678-3387 é um Jornal Oficial da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos - ABTO, tem uma tiragem de 2800 exemplares por edição e é publicada quatro vezes por ano.
Copyright 2004 by Associação Brasileira de Transplante de Órgãos

Todos os direitos em língua portuguesa reservados à Associação Brasileira de Transplante de Órgãos - ABTO.
É proibida a duplicação ou reprodução deste volume, ou de partes do mesmo, sob quaisquer meios, sem autorização expressa desta associação.

SUMÁRIO

EDITORIAL	846
ARTIGOS ORIGINAIS	
Importância de anticorpos anti-mica pré-formados para a sobrevida do enxerto renal de doador falecido	848
<i>Tatiana Michelon, Cristiane Sandri, Regina Schroeder, Márcia Graudenz, Elizete Keitel, Valter Garcia, Miyuki Ozawa, Paul Terasaki, Jorge Neumann</i>	
Expressão de moléculas imunorreguladoras em rins não-funcionantes com rejeição aguda	854
<i>Erika Lamkowski Naka, Viviane Campos Ponciano, Erika Beviláquia Rangel, Marcos Antônio Cenedeze, Alvaro Pacheco-Silva, Niels Olsen Saraiva Câmara</i>	
Anticorpos não-HLA reativos contra as células endoteliais podem estar envolvidos na perda precoce do enxerto renal	861
<i>Carla Regina da Silva Correa Ronda, Denis Glotz, Daisa Silva Ribeiro David, Luis Estevam Ianhez, Hélcio Rodrigues, Carlos Sergio Viggiani, William Nahas, Elias David-Neto, Maria Cristina Ribeiro de Castro, Jorge Kalil, Nicolas Panajotopoulos</i>	
Isolated pancreatic transplantation in a brazilian centre	869
<i>João Eduardo Nicoluzzi, Fábio Silveira, Fábio Porto, Matheus Macri</i>	
ARTIGOS DE REVISÃO	
Cuidados de enfermagem na administração de medicamentos imunossupressores no transplante de fígado: revisão da literatura.....	874
<i>Karina Dal Sasso-Mendes, Renata Cristina de Campos Pereira Silveira, Patrícia Abrahão Curvo, Cristina Maria Galvão</i>	
RELATO DE CASO	
Experiência inicial em transplante de intestino delgado em Hospital Escola de São José do Rio Preto	878
<i>Renato Ferreira da Silva, Andréia Cristina de Paula, Paulo César Arroyo Júnior, Adriano Miziara Gonzales, Julio Sérgio Marchine, William José Duca, Márcia Fumiê Rocha, Helen de Felício, Mario Abbud-Filho e Rita de Cássia M. A. da Silva</i>	
IMAGEM TX	
Neuroartropatia de Charcot após o transplante simultâneo de pâncreas-rim (TSPR)	882
<i>Erika Beviláquia Rangel, Samirah Gomes, João Roberto de Sá, Cláudio Santiago Melaragno, Aluizio Carvalho, Adriano Miziara Gonzalez, Marcelo Moura Linhares, Alcides Salzedas, José Osmar Medina-Pestana</i>	
Normas de Publicação	884

EDITORIAL

Anticorpos não-HLA em Transplante: Inimigos ou Não?

Candidatos a transplante renal (Tx) com anticorpos anti-HLA são considerados como um risco para rejeição aguda, acelerada ou hiperaguda.¹

Também a produção desses anticorpos, “*de novo*”, após o Tx está associada à rejeição humoral e menor sobrevida do enxerto.²

Recentemente foi identificada outra família de genes localizados dentro da região do complexo de histocompatibilidade (MHC), conhecida por MIC (Major Histocompatibility Class-I related chain) e dois genes dessa família, *MICA* e *MICB*, são moléculas estruturalmente homólogas às clássicas moléculas do MHC, expressas nas superfícies das células renais, que podem ser reconhecidas como alogênicas e desencadearem a resposta imunológica pós-Tx, afetando negativamente a sobrevida do enxerto.^{3,4}

Zou e cols demonstraram que receptores com *anti-MICA* apresentaram menor sobrevida do Tx quando comparados aos paciente negativos para *anti-MICA*.⁵ Outros estudos também relataram episódios de rejeição irreversível ou perda do Tx associados com a presença dos *anti-MICA*.⁶⁻⁸

Neste número do JBT, *Michelon e cols* verificaram a importância dos *anti-MICA* na sobrevida de 339 receptores de rim de doador falecido.

Com 26% de prevalência de *anti-MICA*, os autores não observaram diferenças significativas da função renal e taxa de não-função primária entre os grupos estudados (*anti-MICA* negativo, fracamente positivo (FP) ou *anti-MICA* positivo). Infelizmente não foi relatada nem a frequência nem a severidade dos episódios de rejeição nos grupos estudados. Porém, a sobrevida do enxerto não diferiu entre os grupos durante o período analisado, embora a sobrevida após 4 anos favorecesse em 12% o grupo *anti-MICA* negativo (80% vs 72%), levantando a possibilidade de que o poder de análise do estudo pudesse ser comprometido pela reduzida quantidade de pacientes, em risco, avaliada.

Curiosamente, a prevalência desses anticorpos foi semelhante nos gêneros masculino e feminino, embora não tenha sido relatada a história transfusional e gestacional dos grupos. Esse fato parece corroborar observações que gestações não constituem fator importante para formação dos *anti-MICA*. Contrariamente, retransplantes e pacientes mais jovens foram significativamente mais prevalentes no grupo *anti-MICA* positivo.

Michelon e cols não ousaram afirmar que os anticorpos *anti-MICA* tenham sido deletérios ao Tx e cautelosamente, não excluíram essa possibilidade.

Ainda neste número, na área de anticorpos não-HLA, *Ronda e cols* investigaram o papel dos anticorpos anti-célula endotelial (*AACE*) na rejeição humoral.

Sempre lembrados como uma possibilidade para explicar fenômenos de rejeição não detectada pelos testes de citotoxicidade, o papel dos antígenos do endotélio humano ainda permanece pouco esclarecido.

Ronda e cols analisaram o eluato de rins e o soro de 12 pacientes nefrectomizados por rejeição humoral, sem anticorpos anti-HLA específicos do doador.

Utilizando a citometria de fluxo os autores encontraram os *AACE* em 75% dos eluatos, todos do tipo IgG e em dois casos IgM. Interessante que em nenhum dos soros pré-Tx esses anticorpos foram encontrados quando testados nas mesmas condições do eluato. Somente após o Tx e no período pré-rejeição, 75% dos soros mostraram-se positivos para *AACE*, fato que ressalta a possibilidade de monitoramento desses anticorpos.

Visando possível terapia para os *AACE*, os autores utilizaram de forma inédita, in vitro, a imunoglobulina intravenosa (IVIg) e conseguiram bloquear a ligação dos anticorpos à célula endotelial em todos oito casos testados.

Além da detecção precoce dos *AACE* esses achados sugerem um possível benefício da IVIg no tratamento de rejeições mediadas por esses anticorpos.

Examinando diferentes tipos de anticorpos, mas de forma semelhante, os trabalhos de *Michelon e cols* e *Ronda e cols*, chamam atenção do clínico transplantador para os antígenos não-HLA que podem afetar negativamente a sobrevida do enxerto.

Ambos ainda necessitando de futura confirmação de seus reais papéis no fenômeno da rejeição mediada por anticorpos, os *anti-MICA* e *AACE*, aparecem no cenário como potenciais inimigos a serem combatidos no drama do transplante renal.

BIBLIOGRAFIA:

1. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969;280:735–739
2. Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant* 2003;3:665–673.
3. Bahram S, Bresnahan M, Geraghty DE, Spies T. A second lineage of mammalian major histocompatibility complex class I genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:6259–6263.
4. Quiroga I, Salio M, Koo DD et al. Expression of MHC class I related chain B (MICB) molecules on renal transplant biopsies. *Transplantation* 2006;81:1196–1203.
5. Zou Y, Stastny P, Susal C, Dohler B, Opelz G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med* 2007;357:1293–1300.
6. Sumitran-Holgersson S, Wilczek HE, Holgersson J, Soderstrom K. Identification of the nonclassical HLA molecules, mica, as targets for humoral immunity associated with irreversible rejection of kidney allografts. *Transplantation* 2002;74:268–277.
7. Mizutani K, Terasaki P, Rosen A et al. Serial ten-year follow-up of HLA and MICA antibody production prior to kidney graft failure. *Am J Transplant* 2005;5:2265–2272.
8. Zou Y, Heinemann FM, Grosse-Wilde H et al. Detection of anti- MICA antibodies in patients awaiting kidney transplantation, during the post-transplant course, and in eluates from rejected kidney allografts by luminex flow cytometry. *Hum Immunol* 2006;67:230–237.

Mario Abbud Filho
Editor Chefe do JBT

IMPORTÂNCIA DE ANTICORPOS ANTI-MICA PRÉ-FORMADOS PARA A SOBREVIDA DO ENXERTO RENAL DE DOADOR FALECIDO

Clinical relevance of preformed anti-mica antibodies for survival of kidney graft from deceased donor

Tatiana Michelon^{1,3}, Cristiane Sandri¹, Regina Schroeder^{1,3}, Márcia Graudenz¹, Elizete Keitel^{1,4}, Valter Garcia⁴, Miyuki Ozawa², Paul Terasaki², Jorge Neumann³

RESUMO

Introdução: Anticorpos anti-HLA pré-formados ou desenvolvidos após o transplante estão associados à menor sobrevida do enxerto. A importância de anticorpos contra aloantígenos MICA ainda não é clara. **Objetivo:** Determinar a prevalência de anticorpos anti-MICA pré-transplante em receptores de rim de doador falecido e analisar seu efeito na sobrevida do enxerto. **Pacientes e Métodos:** Foram estudados 339 transplantados renais de doador falecido realizados após prova cruzada negativa contra linfócitos T+AGH e B. A pesquisa de anticorpos anti-MICA foi realizada através de tecnologia Luminex, categorizada como: negativa (Neg, n=251; 74%), fraco-positiva (FP, n=39; 11,5%) e positiva (Pos, n=49; 14,5%). Foram comparadas as características clínicas e do transplante (qui-quadrado, Fisher, t Student, Mann-Whitney), conforme o padrão sorológico para MICA. A sobrevida atuarial do enxerto foi analisada em modelo de cox-regression, incluindo os seguintes fatores: idade, sexo, teste de PRA pré-transplante, re-transplante, uso de terapia de indução e imunossupressão incluindo rapamicina, micofenolato mofetil e/ou tacrolimo x tríplice convencional (CyA+Aza+Pred). P<0,05 e IC95%. **Resultados:** A prevalência de anticorpos anti-MICA pré-formados foi de 26% (n=88). Pacientes anti-MICA positivos eram mais jovens (36,9±12,0 x 44,1±12,8anos; P=0,00), recebendo mais frequentemente re-transplante (20,4% x 7,6%; P=0,01). O padrão sorológico anti-MICA pré-transplante não atingiu significância estatística para a sobrevida do enxerto (Negativo: HR=1; Fraco Positivo: HR=0,71; P=0,25; Positivo: HR=0,94; P=0,88); todavia, um efeito deletério moderado não pode ser excluído entre os receptores de um primeiro transplante (Fraco Positivo: HR=1,4[0,8-2,7], P=0,28 e Positivo: HR=1,6[0,9-3,1], P=0,14). Nesse grupo, a intensidade da sensibilização anti-MICA demonstrou tendência linear (Ptrend=0,09). **Conclusão:** A prevalência de anticorpos anti-MICA pré-formados em transplante renal de doador falecido foi de 26%, mais freqüente entre jovens recebendo re-transplante. Um efeito deletério na sobrevida do enxerto renal não pode ser excluído entre receptores de um primeiro enxerto, necessitando estudos com maior número de pacientes.

Descritores: Anticorpos, Mica, Transplante Renal, Sobrevida de Enxerto.

Instituições:

¹ Programa de Pós-Graduação em Patologia - Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, Porto Alegre / RS – Brasil

² Terasaki Foundation Laboratory, Los Angeles, CA – USA

³ Santa Casa de Porto Alegre – Laboratório de Imunologia de Transplantes, Porto Alegre / RS – Brasil

⁴ Santa Casa de Porto Alegre – Serviço de Transplante Renal, Porto Alegre / RS – Brasil

Correspondência:

Tatiana Michelon

Hospital Dom Vicente Scherer

Av. Independência, 75 – CEP 94035-075 – Porto Alegre / RS – Brasil

Tel/Fax: (51) 3214 8670 / (51) 3214 8629

E-mail: tatimich@yahoo.com

Fontes de auxílio à pesquisa:

- CAPES: programa PRODOC
- CNPq: programa BIC
- Terasaki Foundation Laboratory

Conflito de Interesse:

Paul Terasaki; acionista majoritário do Terasaki Foundation Laboratory

Recebido em: 10.10.2007

Aceito em: 28.01.2008

INTRODUÇÃO

A profilaxia da rejeição hiperaguda, através da realização de prova cruzada contra linfócitos de doador pré-transplante, e a profilaxia e tratamento eficaz dos eventos de rejeição celular com fármacos imunossupressores possibilitaram uma importante redução da morbidade associada aos transplantes de rim.^{1,2} No entanto, somente na última década vêm se desenvolvendo as possibilidades de profilaxia e de diagnóstico específico de eventos humorais no período pós-transplante precoce e tardio.^{3,4} Rejeições mediadas por anticorpo determinam menor sobrevida do enxerto e costumam ser irreversíveis, a menos que diagnosticadas muito precocemente e tratadas eficientemente com protocolos especiais, incluindo imunoglobulina humana endovenosa e plasmáfereze.^{3,4,5,6}

O diagnóstico de eventos humorais em transplante depende de ferramentas específicas, tais como a identificação de aloanticorpos e a demonstração de depósitos do subproduto C4d no endotélio de capilares peritubulares.^{7,8,9} Os anticorpos anti-HLA pré-formados, ainda que em baixos títulos, hoje são valorizados não apenas em transplante renal.¹⁰ Seu potencial deletério já foi também demonstrado

em transplantes de coração, pulmão e pâncreas.¹¹ Anticorpos anti-HLA formados após a exposição ao enxerto também ganharam importância no acompanhamento em longo prazo, após a demonstração de que estão associados à menor sobrevida do enxerto, podendo ser identificados na circulação periférica até mesmo anos antes da perda do enxerto.^{11,12}

Além das moléculas HLA funcionando como aloantígenos em transplante, na última década, foram descritos os genes que codificam outras proteínas similares aos produtos de genes HLA de classe I. Essas moléculas apresentam uma distribuição peculiar, e são conhecidos como “marcadores de estresse”. Os genes que as codificam também possuem moderado polimorfismo, apresentam co-dominância e localizam-se na região do HLA de classe I no cromossomo 6; porém, não são associadas a beta2-microglobulina e não apresentam peptídeo.¹³⁻¹⁵ Por possuírem essas características, foram denominadas “MIC”, uma contração de “*MHC Class I Chain-related*”.¹⁶

Estudos de mapeamento já identificaram sete loci MIC (MICA-MICG), dos quais os loci MICA e MICB são os mais estudados. Mais de 60 alelos MICA e 30 alelos MICB foram identificados até o momento. Por tratar-se de um sistema polimórfico e seus produtos serem expressos por células endoteliais, monócitos e linfócitos T ativadas (além de fibroblastos, queratinócitos, epitélio do trato gastrointestinal e células trofoblásticas), suspeita-se que moléculas MIC possam estar envolvidas em processos de rejeição em transplantes.^{15,16}

O presente estudo tem como objetivo determinar a prevalência de pacientes submetidos a transplante renal com doador falecido em nosso meio com anticorpos anti-MICA pré-formados e analisar seu efeito na sobrevida do enxerto.

PACIENTES E MÉTODOS

Todos os transplantes renais com doador falecido realizados na Santa Casa de Porto Alegre entre Janeiro de 1998 e Dezembro de 2003 foram alocados para o presente estudo (n=404), sendo excluídos (n=65; 16,1%): a) receptores pediátricos (n=30), b) ausência de alíquota do soro testado no pré-transplante para os estudos propostos (n=13) e c) ausência de células congeladas do doador (n=12) por impedir sua inclusão em estudos complementares posteriores. Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido no momento da sua internação para a realização do transplante e estudos laboratoriais pertinentes.

Os 339 receptores incluídos no estudo foram acompanhados desde a realização do transplante até dezembro de 2007 (1791±997 dias). Todos foram submetidos a transplante renal após prova cruzada negativa por técnica de citotoxicidade dependente de complemento, com adição de anti-globulina humana e ditiotreitól (CDC-AGH-DTT) contra linfócitos T e CDC-DTT contra linfócitos B, realizados conforme recomendações da Associação Americana de Histocompatibilidade e Imunogenética (*American Society for Histocompatibility and Immunogenetics* –ASHI). A avaliação da reatividade contra painel (PRA) pré-transplante foi realizada através de técnica de imunoenensaio enzimático (ELISA, *screening* LAT-M, One Lambda Inc., Canoga Park, CA, USA). O soro considerado positivo na avaliação de triagem por ELISA foi submetido à análise quantitativa através de citometria de fluxo (PRA-LS1, OneLambda Inc., Canoga Park, CA, USA). Neste último caso, foram considerados positivos os soros com reatividade >10% e hipersensibilizados os receptores com reatividade maior ou igual

a 75% dos antígenos HLA testados. Ambas as técnicas empregadas para PRA avaliaram apenas a presença de anticorpos dirigidos contra moléculas HLA de classe I.

As análises para determinação dos anticorpos anti-MICA e suas respectivas especificidades foram realizadas por Tecnologia Luminex em uma alíquota do mesmo soro testado na prova cruzada CDC, imediatamente antes da realização do transplante e estocado a -800C. Foram determinados os níveis e as especificidades antigênicas dos anticorpos anti-MICA. Todos os soros passaram por triagem inicial quanto à presença ou ausência de anticorpos anti-MICA, utilizando kit Labscreen Mixed® (LSM12; One Lambda Inc., Canoga Park, CA, USA). Os casos positivos foram reavaliados através do kit Labscreen MICA Single Antigen (One Lambda Inc., Canoga Park, CA, USA) para detecção de anticorpos contra o painel, incluindo os seguintes antígenos MICA: *001, *002, *004, *007, *009, *012, *017, *018, *019 e *027. Esse kit utiliza micro-pérolas revestidas com antígenos MICA purificados para detecção de anticorpos específicos presentes no soro. Empregou-se o Sistema de Ensaio Lambda Multi-analítico de Pérolas (LABMAS – Lambda Array Beads Multi-Analyte System) com analisador de fluxo LABscan 100 para aquisição de dados e análise.

Após a determinação dos níveis de anticorpos anti-MICA de acordo com o valor de fluorescência obtido, os soros foram categorizados para cada especificidade antigênica testada da seguinte forma: negativo (<1500); fraco-positivo (1500 a 2999) e positivo (>3000). O paciente, conforme a reatividade mais alta no painel de antígenos testados foi classificado como: negativo (Neg, n=251; 74%); fraco-positivo (FP, n=39; 11,5%) ou positivo (Pos, n=49; 14,5%).

Os grupos FP e Pos foram comparados, respectivamente, ao grupo Neg para as características clínicas dos pacientes e do transplante e para a função e sobrevida atuarial do enxerto. Empregaram-se os testes de qui-quadrado ou exato de Fisher, t de Student ou Mann Whitney. Para a análise de efeitos na sobrevida do enxerto, aplicou-se um modelo de *Cox-regression* incluindo os seguintes fatores: idade do receptor, gênero, resultado do PRA, uso de terapia de indução e imunossupressão empregando drogas de segunda ou terceira geração (micofenolato mofetil [MMF], tacrolimo [FK] e/ou rapamicina [rapa]) comparados ao esquema tríplice convencional (ciclosporina+azatioprina+prednisona, CyA+Aza+Pred). Foram considerados significativos os valores de P<0,05 e intervalo de confiança de 95% (IC95%).

RESULTADOS

A prevalência de pacientes submetidos a transplante com anticorpos anti-MICA pré-formados foi de 26% (n=88), apresentando as respectivas especificidades isoladas ou associadas: 7,6% anti-001 (n=28); 3,8% anti-002 (n=13); 2,7% anti-004 (n=9); 5,0% anti-007 (n=17); 11,5% anti-009 (n=39), 4,4% anti-012 (n=15); 3,6% anti-017 (n=12); 4,1% anti-018 (n=14); 8,9% anti-019 (n=30), 9,4% anti-027 (n=32). A distribuição de frequência conforme a intensidade de fluorescência para anticorpos anti-MICA estudados encontra-se descrita na Tabela 1.

Na amostra estudada, os pacientes Pos eram mais jovens (Neg : 44,1±12,8 x Pos:36,9±12,0 anos, P=0,00) e recebiam mais frequentemente re-transplante (Neg :7,6% x Pos :20,4%, P=0,01, OR=3,1 [1,4-7,2]). Não houve diferença na distribuição de gêneros entre os grupos estudados (masculino, n=182, 53,7%) e no

Tabela 1. Distribuição da frequência de anticorpos anti-MICA pré-formados em receptores de rim proveniente de doador falecido, conforme as respectivas especificidades antigênicas e intensidade de fluorescência.

Especificidades MICA	Fraco		Total N=339	
	Positivo N	Positivo n	n	%
009	20	19	39	11,5
027	13	19	32	9,4
019	6	24	30	8,9
001	12	14	26	7,6
007	7	10	17	5,0
012	4	11	15	4,4
018	4	10	14	4,1
002	3	10	13	3,8
017	5	7	12	3,6
004	4	5	9	2,7
Total	39	49	88	26,0

tempo médio de isquemia fria (20,8±5,7 horas). Também foram semelhantes as prevalências de PRA positivo (n=46, 13,6%), de pacientes hipersensibilizados (n=23, 6,8%) e de transplantes combinados (rim+outro órgão sólido, n=29, 8,6%). A Tabela 2 descreve as características dos pacientes e sua avaliação imunológica pré-transplante, conforme a presença de anticorpo anti-MICA pré-formado.

A terapia imunossupressora de indução com anticorpo anti-receptor de IL-2, quimérico ou humanizado foi utilizada com a mesma frequência entre os grupos (Neg : 44,2%, FP:46,2% e Pos :36,7%). Na análise do esquema imunossupressor inicial, pacientes anti-MICA positivos receberam menos frequentemente a combinação de drogas mais modernas, como MMF, FK e/ou Rapa (n=22; 44,9%, P=0,01, OR=0,4[0,2-0,8]) do que pacientes Neg (n=164; 65,3%). O mesmo foi observado na comparação entre Pos e FP (n=22; 56,4%, P=0,27), sem significância estatística. A descrição do esquema imunossupressor inicial encontra-se detalhada na Tabela 3. Os casos de re-transplantes, independente da terapia de indução e da pré-sensibilização contra antígenos MICA, receberam mais frequentemente esquemas iniciais que incluíam drogas de segunda ou terceira geração (1º transplante: 59,5%; re-transplante: 81,8%; P=0,02; OR=3,1 [1,2-7,6]).

A função renal medida através da creatinina sérica no terceiro e sexto meses e, subsequentemente, com frequência anual foi semelhante entre os grupos estudados ao longo do acompanhamento. A necessidade de diálise na primeira semana pós-transplante foi semelhante entre os grupos (192/314; 61,1%) e a taxa de não-função primária do enxerto foi respectivamente de 2,8% (n=7), 5,1% (n=2) e 8,2% (n=4) entre os pacientes Neg*, FP (P*=0,34) e Pos (P*=0,08; OR=3,1 [0,9-11,0]).

A sobrevida atuarial do enxerto no período estudado (1998 a 2007) foi semelhante entre os grupos (Neg: HR=1,0; FP:HR=0,7, P=0,25; Pos:HR=0,94, P=0,88). A Figura 1 apresenta as curvas de sobrevida aplicadas ao modelo de *Cox-regression* para pacientes submetidos ao primeiro transplante. O número pequeno de re-transplantes

Tabela 2. Descrição das características dos pacientes e dos fatores de risco imunológico pré-transplante entre receptores de rim, conforme a presença de anticorpos anti-MICA pré-formados.

Características Pré-Transplante	Anti-MICA Negativo (n=251)	Anti-MICA Fraco-Positivo (n=39)	Anti-MICA Positivo (n=49)
Gênero Masculino n (%)	182 (53,7)	23 (59,0)	27 (55,1)
Idade anos+DP	44,1±12,8*	42,6±11,3	36,9±12,0*
Re-transplante n (%)	19 (7,6)**	4 (10,3)	10 (20,4)**
PRA-ELISA + n (%)	29 (11,6)	7 (18,0)	10 (20,4)
Hipersensibilizados# n (%)	14 (5,6)	3 (7,7)	6 (12,2)
Transplante Combinado n (%)	21 (8,4)	4 (10,3)	4 (8,2)

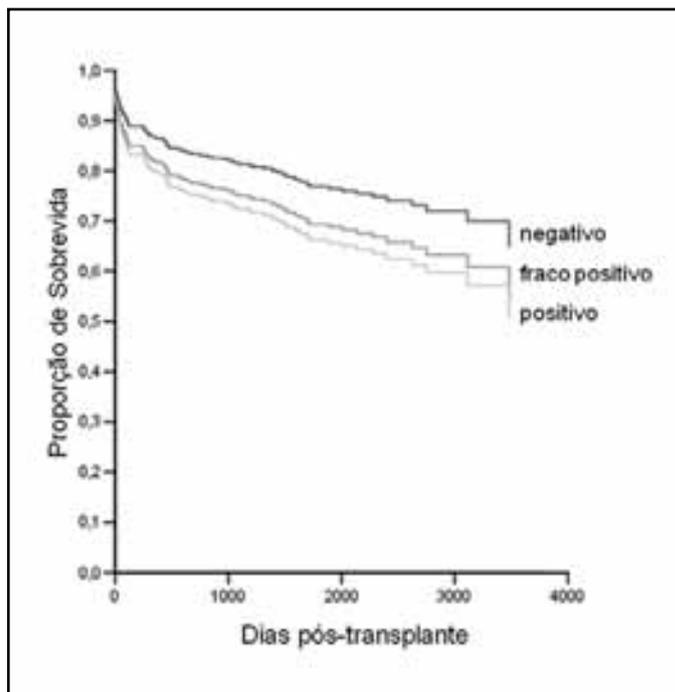
DP: desvio-padrão;

*P=0,00

**P=0,01, OR=3,1 [1,4-7,2];

PRA>75% dos antígenos HLA de classe I testados em painel por citometria de fluxo.

Figura 1. Sobrevida atuarial do enxerto em receptores de primeiro transplante renal, conforme a presença de anticorpos anti-MICA pré-formados.



dificultou a análise da sobrevida, quando foram divididos entre os grupos conforme o padrão de anticorpos anti-MICA. A Tabela 4 apresenta a comparação do efeito dos níveis de anticorpos anti-MICA na sobrevida do enxerto renal.

Tabela 3. Descrição do esquema inicial de imunossupressão entre receptores de transplante renal, conforme a presença de anticorpos anti-MICA pré-formados.

Imunossupressão Inicial	Anti-MICA Negativo (n=251)	Anti-MICA Fraco - Positivo (n=39)	Anti-MICA Positivo (n=49)	Total N=339 n (%)
Terapia de Indução*				
n (%)	111 (44,2)	18 (46,2)	18 (36,7)	147 (43,4)
Imunossupressão Inicial** (n)				
CyA-Aza-Pred	87	16	27	130 (38,3)
CyA-MMF-Pred	82	10	6	98 (28,9)
FK-MMF-Pred	40	4	9	53 (15,6)
FK-Rapa-Pred	14	4	4	22 (6,5)
FK-Aza-Pred	10	1	2	13 (3,8)
Outros	18	4	1	23 (6,8)

*terapia de indução: basiliximab, daclizumab ou anticorpo monoclonal anti-CD3

**Imunossupressão inicial:

CyA: ciclosporina

Aza: azatioprina

Pred: prednisona

MMF: micofenolato mofetil

FK: tacrolimo

Rapa: rapamicina

Outros: outras combinações, sempre incluindo MMF, FK e/ou Rapa

DISCUSSÃO

Apesar de há muito se estudar HLA e de muito recentemente se resgatar a importância dos fenômenos humorais sub-clínicos relacionados a esses aloantígenos, desde a década de 70 busca-se a identificação de outros antígenos de histocompatibilidade.^{3,4,9,10,1}

¹ Essa busca foi principalmente motivada pela observação de que rejeições agudas e hiperagudas também ocorrem, embora muito menos frequentemente, em transplantes realizados entre pares de doadores e receptores HLA idênticos.¹⁷ As primeiras observações comprovaram que o principal sistema envolvido em rejeições era, de fato, o sistema HLA (corroborando seu próprio nome - “complexo principal de histocompatibilidade”), mas que existiam outros sistemas antigênicos também polimórficos chamados “secundários”.¹⁶ Estudos recentes demonstram que 11 a 20% das perdas de enxerto ocorrem em pacientes que nunca desenvolveram anticorpos anti-HLA, sugerindo que antígenos não-HLA (especialmente MICA) possam estar relacionados a esse fenômeno.¹⁸

É recente a demonstração de que anticorpos anti-MICA podem ser formados a partir de processos imunizantes, como gestações e transplantes, e são mais frequentemente encontrados em pacientes que perderam um enxerto renal do que em pacientes com o enxerto funcionando.¹⁸ Corroborando estes dados, o presente estudo demonstrou que em nosso meio, os 26% dos pacientes que foram submetidos a um transplante de rim na vigência de anticorpos anti-MICA pré-formados eram mais frequentemente receptores de re-transplante. Embora os portadores de anticorpos anti-MICA tenham sido previamente imunizados pelo órgão transplantado, a triagem

Tabela 4. Comparação do efeito dos níveis de anticorpos anti-MICA pré-formados na sobrevida do enxerto renal.

Anticorpos Anti-MICA	n	HR*	IC (95%)	P
1º Transplante				
Neg	232	1		
FP	35	1,4	0,8 – 2,7	0,24
Pos	39	1,6	0,8 – 3,0	0,19
Ptrend = 0,09				
Re-Transplante				
Neg	19	1		
FP	4	0,8	0,1 – 4,5	0,80
Pos	10	0,7	0,2 – 2,7	0,57

*HR: Hazard Ratio obtidos em modelo de Cox-Regression, incluindo os seguintes fatores: idade, gênero, resultado de PRA, uso de terapia de indução e imunossupressão inicial incluindo drogas de segunda ou terceira geração
Ptrend: P de tendência linear.

através do PRA para anti-HLA de classe I não foi capaz de rastreá-los, chamando a atenção para a independência dos dois sistemas.¹⁹

Fato relevante é a observação de que diferentes centros identificam prevalências distintas de anticorpos anti-MICA. Isto certamente deriva das características genotípicas de cada grupo populacional e do painel de antígenos MICA testados.¹⁸ No presente estudo, as especificidades mais frequentemente detectadas dos aloanticorpos foram *009, *027 e *019. Todavia, analisando-se a frequência genotípica determinada em estudo realizado na cidade de São Paulo, observa-se que os alelos mais frequentes em nossa população são, respectivamente, *008, *002 e *004.²⁰ Destes, somente os dois últimos estavam incluídos no painel de antígenos analisados, estando o teste para *008 mascarado pela avaliação de anticorpos dirigidos contra o antígeno traduzido pelo alelo *027. Isto porque os alelos *008 e *027 diferem entre si apenas pelas suas respectivas sequências trans-membrana, não diferindo no seu potencial antigênico.²¹

Nesta população brasileira estudada constituída por 339 receptores de transplante renal de doador falecido, a presença de anticorpos anti-MICA pré-transplante não comprometeu a sobrevida do enxerto de forma significativa. Entretanto, a sobrevida de cerca de 70% em quatro anos entre pacientes com anticorpos anti-MICA pré-formados e de 82% para aqueles sem esses anticorpos é semelhante aos dados prospectivos publicados por Terasaki e colaboradores em 2007. O estudo multicêntrico conduzido por esses autores demonstrou alta significância estatística, comparando a sobrevida do enxerto entre pacientes com anticorpos anti-MICA detectados após transplante (pré-formados ou de novo) e os que permaneceram sem aloanticorpos (anti-HLA/MICA) até o quarto ano pós-transplante (72% x 82%).²²

É importante considerar que na série aqui estudada de pacientes, receptores com anticorpos anti-MICA fortemente positivos receberam esquemas imunossupressores menos potentes do que os receptores sem esse fator. Obviamente, isso não foi observado entre receptores de re-transplante. Nestes últimos, provavelmente a presença de fatores de risco mais relevantes, como a presença de

anticorpos anti-HLA, parcialmente controlada pela utilização de um esquema inicial de imunossupressão mais potente, tenha mascarado um eventual efeito deletério adicional. Isto sugere que, existindo benefício no rastreamento de anticorpos anti-MICA, seu efeito não terá impacto tão grande quanto os fatores de risco já conhecidos (re-transplante e anticorpos anti-HLA).

Por outro lado, um efeito deletério na sobrevida do enxerto renal a partir dos resultados apresentados não pode ser excluído entre receptores de um primeiro enxerto. Este dado pode ser ainda mais valorizado diante da tendência à linearidade do efeito dos níveis de anticorpos anti-MICA pré-formados na sobrevida do enxerto em longo prazo. Esses resultados são extremamente importantes para a otimização das estratégias profiláticas e terapêuticas aplicáveis na maioria dos transplantes renais realizados em nosso meio, e são corroborados por sua contemporaneidade com estudos multicêntricos contundentes.

Análises de sobrevida atuarial do enxerto recentemente publicadas indicam resultados significativos do envolvimento de anticorpos anti-MICA como fator deletério em longo prazo.²²⁻²⁴ Isto deve fortalecer a busca da identificação desse efeito em nossa população, como possibilidade de atuação diferenciada no manejo de pacientes recebendo primeiro transplante.

CONCLUSÃO

Concluimos que a prevalência de anticorpos anti-MICA pré-formados em receptores de transplante renal proveniente de doador falecido foi da ordem de 26%, mais freqüente entre receptores de re-transplante. O efeito deletério desses anticorpos pré-formados na sobrevida do enxerto renal não pode ser excluído entre receptores de um primeiro enxerto, necessitando estudos com maior número de pacientes.

ABSTRACT

Introduction: Anti-HLA preformed or developed antibodies after transplantation are associated to a lower graft survival. It has yet to be further studied if anti-MICA alloantibodies have the same deleterious effect. **Purpose:** To determine the anti-MICA antibodies prevalence among deceased kidney transplant recipients, and to analyze their effect on graft survival. **Patients and Methods:** 339 deceased kidney transplants were studied, all of them performed after a negative crossmatch against B and T+AHG lymphocytes. Anti-MICA analysis was performed using Luminex technology, and the sera were classified: negative (Neg, n=251; 74%), weak-positive (WP, n=39; 11.5%), and positive (Pos, n=49; 14.5%). Patient and transplant characteristics were compared, depending on the anti-MICA sera status (Ki-square, Fisher exact, t Student, Mann-Whitney). Graft survival was analyzed based on a Cox-Regression model which included: age, gender, PRA class-I pre-transplant test, induction therapy, initial immunosuppression with MMF, FK and/or rapamicine, and re-transplant (P<0.05 and CI95%). **Results:** The preformed anti-MICA antibodies prevalence was 26% (n=88). Anti-MICA-positive patients were younger (36.9+12.0 x 44.1+12.8 years old; P=0.00), receiving more frequently a second or third graft (20.4% x 7.6%, P=0.01). The anti-MICA status did not attain a statistical significance to the graft survival (Neg :HR=1; WP:HR=0.7, P=0.25; Pos :HR=0.94, P=0.88). A deleterious effect might not be excluded among the first graft recipients (WP:HR=1.4[0.8-2.7], P=0.28, and Pos :HR=1.6[0.9-3.1], P=0.14), with a Ptrend=0.09 for the antibody levels. **Conclusion:** The anti-MICA antibodies prevalence upon deceased kidney transplant was 26%, more frequent among young patients receiving a re-graft. A deleterious effect among recipients of first graft might not be excluded. Further studies are needed with a major sampling.

Keywords: Antibodies, Mica, Kidney Transplantation, Graft Survival.

REFERÊNCIAS

1. Terasaki PI & McLelland JD. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature*. 1964;204:998-1000
2. Abbud Filho M, Pestana JOM, Garcia VD: Agentes imunossupressores químicos. In: Garcia, Abbud Filho, Neumann e Medina Pestana. *Transplante de Órgãos e Tecidos*, Segmentofarma Ed., São Paulo, 2006
3. Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Mauyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, et al. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation*. 2001;71(5):652-8
4. Mauyyedi S, Crespo M, Collins AB, Schnneberger EE, Pascual MA, Saidman SL, et al. Acute Humoral Rejection in Kidney Transplantation: II. Morphology, Immunopathology, and Pathologic Classification. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13(3):779-87
5. Mauyyedi S, Pelle PD, Saidman S, Collins AB, Pascual M, Tolkoff-Rubin NE, et al. Chronic humoral rejection: identification of antibody-mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(3):574-82
6. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC, Leffel MS, King KE, Burdick J, et al. Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients. *Transplantation*. 2000;70(6):887-95
7. Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G, Burkhardt K, Weiss M, Riethmuller G, et al. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int*. 1993;43:1333-8
8. Feucht HE, Lederer SR & Kluth B. Humoral Alloreactivity in recipients of renal allografts as a risk factor for the development of delayed graft function. *Transplantation*. 1998;65(5):757-8
9. Mauyyedi S & Colvin RB. Humoral rejection in kidney transplantation: new concepts in diagnosis and treatment. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2002;11(6):609-18
10. Michelon T, Schroeder R, Fagundes I, Canabarro R, Sporleder H, Rodrigues H et al: Relevância clínica de baixos títulos de aloanticorpos preformados detectados em prova cruzada somente por citometria de fluxo no pré-transplante renal. *J Bras Transpl*. 2005;8(3):364-71

11. Terasaki PI & Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant.* 2004;4(3):438-43
12. Deboni L, Sporleder H, Fernandes S, Keitel E, Bittar AE, Garcia V, Neumann J. Kidney allograft outcome analyzed by donor-reactive antibodies after transplantation. *Transplant Proc.* 1995;27(2):1823-4
13. Stephens AHF. MICA and MICB genes: can the enigma of their polymorphism be resolved? *Trends Immunol.* 2001;22(7):378-85
14. Molinero LL, Marcos CY, Mirbaha F, Fainboim L, Stastny P, Zwirner NW. Codominant expression of the polymorphic MICA antigens encoded by genes in the HLA region. *Eur J Immunogen.* 2002;29:315-9
15. Stastny P. Introduction: MICA/MICB in Innate Immunity, Adaptative Immunity, Autoimmunity, Cancer, and in the immune response to transplants. *Human Immunology.* 2006;67:141-4
16. Collins RWM. Human MHC class I Chain Related (MIC) genes: their biological function and relevance to disease and transplantation. *Eur J Immunogen.* 2004;31:105-14
17. Kalil J, Guillerme L, Neumann J, Rosales C, Marin M, Saldanha L, et al. Humoral rejection in two HLA identical living related donor kidney transplants. *Transplant Proc.* 1989;21(1):711-3
18. Zou Y, Statsny P, Süsal C, Döhler B, Opelz G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med.* 2007;357:1293-300
19. Bahram S. MIC genes: from genetics to biology. *Adv Immunol.* 2000;76:1-60
20. Marin MLC & Goldberg AC. Novas fronteiras nos estudos de associações com doenças In Porto LCMS & Pontes LFS. *Estudos de associação HLA x Doenças: Extratos do I Simpósio Brasileiro.* Ed UERJ, Rio de Janeiro, 2007
21. Zhang Y, Lazaro AM, Zou Y, Lavingia B, Moraes EM, Moraes RJ, Stastny P. MICA polymorphism in south american indian. *Immunogenetics.* 2002;53:900-6
22. Terasaki PI, Ozawa M & Castro R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transpl.* 2007;7:408-15
23. Mizutani K, Terasaki P, Bignon JD, Hourmant M, Cesbron-Gautier A, Shih RNJ, et al. Association of kidney transplant failure and antibodies against MICA. *Human Immunol.* 2006;67:683-91
24. Mizutani K, Terasaki P, Rosen A, Esquenazi V, Miller J, Shih RNJ, et al. Serial ten-year follow-up of HLA and MICA antibody production prior to kidney graft failure. *Am J Transpl.* 2005;5:2265-72

EXPRESSÃO DE MOLÉCULAS IMUNORREGULADORAS EM RINS NÃO-FUNZIONANTES COM REJEIÇÃO AGUDA

Detection of immunoregulator molecules inside non-functional kidney allografts upon a rejection episode.

Erika Lamkowski Naka¹, Viviane Campos Ponciano¹, Erika Beviláquia Rangel¹, Marcos Antônio Cenedeze¹, Alvaro Pacheco-Silva¹, Niels Olsen Saraiva Câmara^{1,2}

RESUMO

Introdução: Tim-3 é uma proteína de membrana com função inibitória, presente em linfócitos Th1. Seu ligante recentemente identificado, a galectina-9, é expresso em alguns subtipos de linfócitos, e também pode ser induzido por citocinas inflamatórias em células endoteliais e fibroblastos. Juntamente com as células T CD4+CD25+, essas moléculas exercem uma função reguladora da resposta imune. O fator de transcrição FOXP3 está relacionado aos linfócitos T reguladores CD4+CD25+. **Objetivo:** Avaliar a presença de moléculas relacionadas à resposta imune reguladora intra-enxerto renal durante episódio de rejeição. **Material e Métodos:** Os níveis de RNA mensageiro para moléculas representativas da resposta imune reguladora (Tim-3, galectina-9 e FOXP3) e da resposta imune citotóxica (perforina, granzima B e interferon- γ) foram quantificados pelo método de reação em cadeia da polimerase em 24 amostras de produtos de enxertectomia, com os seguintes diagnósticos: rejeição aguda não-vascular (n=5), rejeição aguda vascular (n=14) e perda de causa não-imune (n=5, como controle). **Resultados:** A diferença encontrada entre as medianas dos grupos controle e de rejeição aguda vascular foi estatisticamente significativa para todas as moléculas avaliadas: p=0,024 para galectina-9, p=0,008 para Tim3, p=0,005 para FOXP3, p=0,008 para perforina e interferon- γ , e p=0,003 para granzima B. **Conclusão:** Esse padrão sugere que o desenvolvimento da resposta imune é um evento dinâmico, com expressão de moléculas e recrutamento de células com funções diferentes, citopática e reguladora.

Descritores: Transplante de Rim, Rejeição de Enxerto, Tolerância Imunológica

Instituição:

¹ Laboratório de Imunologia Clínica e Experimental (Disciplina de Nefrologia) da Universidade de São Paulo, São Paulo / SP – Brasil.

² Laboratório de Imunologia de Transplante (Departamento de Imunologia) da Universidade de São Paulo, São Paulo / SP - Brasil

Correspondência:

Niels Olsen Saraiva Câmara, M.D.,

Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas IV, Universidade de São Paulo

Rua Prof. Lineu Prestes, 1730 – CEP 05508-900 – São Paulo / SP – Brasil

Tel.: (5511) – 3091-7388

Fax: (5511) – 3091-7224

E-mail: niels@icb.usp.br

Apoio:

Este trabalho tem o apoio da FAPESP (Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo), projeto número 04/08226-9, 04/08311-6 e CAPES.

Recebido em: 10.10.2007

Aceito em: 04.02.2008

INTRODUÇÃO:

No transplante, o órgão enxertado é fonte de diversos antígenos, os quais são reconhecidos como não-próprios pelo sistema imunológico. A rejeição aguda acontece quando uma resposta contra esses antígenos estranhos se desenvolve.¹

A homeostase do sistema imune depende de um equilíbrio constante entre uma resposta pró-inflamatória necessária para a defesa do organismo contra antígenos estranhos e os mecanismos de regulação dessa resposta, importantes para o controle da mesma. O desenvolvimento de algumas doenças auto-imunes parece estar relacionado à quebra desse equilíbrio.² Essa regulação ocorre de diversas maneiras, como, por exemplo, por barreiras físicas, anergia, deleção clonal ou pela ação de células reguladoras.³ Todos esses mecanismos agindo isoladamente ou em conjunto, são capazes de impedir uma resposta imune exagerada ou contra antígenos próprios.

A molécula Tim-3 e seu ligante recém descoberto, a galectina-9, fazem parte dessa resposta imune reguladora. O Tim-3 é uma molécula de superfície, expressa predominantemente em linfócitos da resposta celular do tipo Th1, produtores de citocinas pró-inflamatórias.⁴ A galectina-9 pertence a uma família de lectinas endógenas com afinidade para alguns resíduos específicos

de carboidratos.⁵ Diferentes moléculas dentro dessa família desempenham papéis imunológicos distintos relacionados tanto à atividade pró-inflamatória quanto reguladora.⁶ A galectina-9 é encontrada em linfócitos T ativado⁷ e sua expressão pode ser induzida em outras células, como fibroblastos e células endoteliais, pela ação do IFN- γ .^{8,9} A ligação do Tim-3 com a galectina-9 resulta em morte dos linfócitos Th1, provavelmente por um mecanismo que envolva necrose-apoptose.¹⁰ A expressão aumentada de galectina-9 sob estímulo pró-inflamatório sugere uma auto-regulação da resposta Th1, visto que o IFN- γ é produzido principalmente por esse subtipo de linfócitos.

O fator de transcrição FOXP3 é encontrado em células T reguladoras CD4+CD25+ naturais provenientes do timo.¹¹ Essas células são capazes de inibir a atividade de outros linfócitos, por mecanismos ainda não completamente esclarecidos, mas que aparentemente envolvem a regulação transcricional do gene da IL-2.¹² Além da presença nas células Treg de origem tímica, a expressão de FOXP3 também pode ser induzida em linfócitos CD4+CD25- na periferia, sob estímulo de algumas citocinas, como o TGF- β .^{13,14} Em camundongos, a indução da expressão de FOXP3 confere aos linfócitos uma função reguladora semelhante às Tregs naturais,^{15,16} porém, foi demonstrado recentemente em humanos que esse fator de transcrição pode estar presente em linfócitos T ativado, não reguladores.¹⁷

O papel desses mecanismos reguladores no contexto do transplante de órgãos não está totalmente esclarecido. Estudos experimentais com células Tregs demonstraram uma ação protetora ao enxerto, possibilitando o desenvolvimento de um estado de tolerância imunológica.¹⁸ Porém, como esses mecanismos imunorreguladores se comportam durante um episódio de rejeição aguda ainda precisa ser elucidado. Dados anteriores do nosso grupo demonstraram maior detecção das moléculas FOXP3¹⁹ e TIM3²⁰ dentro do enxerto renal durante um episódio de rejeição, e esse aumento foi maior em rejeições mais graves. Todavia, essas alterações quantitativas podem não se refletir numa melhora da função. O objetivo do presente estudo foi analisar em conjunto a presença de moléculas indicativas de resposta imuno-reguladora com moléculas indicativas da resposta citopática.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenho do Estudo

Foram estudadas 24 amostras de produtos de enxertectomias renais. Todas foram submetidas à análise histológica por um patologista, e o diagnóstico de rejeição foi dado seguindo os critérios estabelecidos pela classificação de Banff 97.²¹ O grupo denominado rejeição aguda não-vascular (RANV, n=5) corresponde aos graus Ia, Ib e IIa, e o grupo rejeição aguda vascular (RAV, n=14) aos graus IIb e III. Essas amostras compreendem tanto casos que não responderam ao tratamento imunossupressor, como rejeições agudas sobrepostas à nefropatia crônica após redução da imunossupressão com o retorno do paciente ao tratamento dialítico. A nefropatia crônica do enxerto estava presente em duas amostras do grupo RANV e em nove amostras do grupo RAV. Foram usados como controle produtos de enxertectomia com perda devido à falha técnica (trombose). Esse grupo foi denominado de perda por causa não-imune (PCNI, n=5). Foram analisadas também quatro amostras de biópsia protocolar normal, porém, não houve nessas amostras amplificação

dos transcritos das moléculas FOXP3 e Galectina-9, não sendo, portanto, um controle válido para a técnica utilizada. Todas as amostras foram mantidas em **RNA later** à temperatura de -80°C. Esse trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética.

Quantificação relativa do mRNA por RT-PCR em tempo real

O RNA total foi purificado por extração pelo TriZol (Invitrogen, Califórnia, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Após extração, as amostras foram tratadas com DNase (Promega, WI, EUA) para a remoção do DNA genômico. A transcrição reversa do RNA foi obtida usando primers oligo-dT (Invitrogen, Califórnia, EUA) e MMLV (*moloney murine leukemia virus*) como enzima de transcriptase reversa (Promega, WI, EUA). O cDNA foi amplificado com ABI PRISM 7700 Sequence Detection System (PerkinElmer, Norwalk, CT) usando o método de 5'-nuclease (TaqMan, Applied Biosystems, Foster City, EUA). Todos os primers foram fornecidos pela Applied Biosystems (Foster City, EUA): ciclofilina A, galectina-9 e FOXP3 por *Assays-on-demand TM gene expression assays*; GAPDH, Tim-3, granzima B, perforina e IFN-gama por *Assays-by-Design Service for Gene Expression Assays*. Em todas as sondas foi utilizado FAM como corante. As seqüências dos primers e probes obtidos por *Assays-by-Design* foram Tim-3: FAM probe, 5'-CCAGGCATAATGAATG - 3'; forward primer, 5'-TGCTGCCGGATCCAAATC-3'; reverse primer, 5'-GGTTTGATGACCAACTTCAGGTTAA-3'; IFN- γ : FAM probe, 5'-AGGAGAGTGACAGAAAA-3'; forward primer, 5'-TTAGGCATTTTGAAGAATTGGAAAG-3'; reverse primer, 5'-GGAGACAATTTGGCTCTGCATTAT-3'. perforin: FAM probe, 5'-TCGAGGCCAGGTCA-3'; forward primer, 5'-GAGGTGGAGGACTGCCTGACT-3'; reverse primer, 5'-CTGCCGTGGATGCCTATGT-3'. granzima B: FAM probe, 5'-AGGTGAAGCCAGGCA-3'; forward primer, 5'-CCCTCAGGCTACCTAGCAACAA-3'; reverse primer, 5'-CCGCCACACTGCATGT-3'. As seqüências dos primers e probes por *Assays-on-demand* não são fornecidos pelo fabricante. Os níveis de RNA mensageiro (mRNA) dos genes de interesse foram todos uniformizados inicialmente para a expressão do gene endógeno (ciclofilina A) e, após, de forma relativa a um calibrador (média aritmética dos valores de Ct da Ciclofilina A). Os resultados foram expressos como $2^{-(DDCt)}$, onde DDCt corresponde a $(Ct_{\text{GENE DE INTERESSE}} - Ct_{\text{CICLO}})_{\text{amostra}} / (Ct_{\text{GENE DE INTERESSE}} - Ct_{\text{CICLO}})_{\text{referência}}$.

Análise estatística

Foram usados testes t de Student ou Mann-Whitney U-test, quando apropriado, para a comparação das variáveis contínuas. As variáveis categóricas foram analisadas pelo teste exato de Fisher. Valores abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. Para a análise de correlação foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson.

RESULTADOS

Características dos pacientes estudados

Dos pacientes estudados, 14 (58%) eram do sexo masculino e dez (42%) do sexo feminino. Doze (50%) receberam transplante de doador falecido. A idade média dos pacientes foi de 34,2±11,9 anos para PCNI, 35,6±11,4 anos para RANV e 36,7±11,1 anos para RAV.

Os sete pacientes com diagnóstico de rejeição aguda resistente ao tratamento (três no grupo RACNV e cinco no grupo RAV) encontravam-se em uso de esquema triplo de imunossupressão: um inibidor da calcineurina (ciclosporina ou tacrolimos), um corticosteróide (prednisona) e um inibidor da síntese de purinas (micofenolato mofetil ou micofenolato sódico) ou azatioprina. Como tratamento da rejeição aguda, esses pacientes receberam solumedrol 1g EV e/ou anticorpos anti-lifocíticos poli ou monoclonais. Os pacientes com rejeição aguda sobreposta à nefropatia crônica do enxerto (dois no grupo RACNV e nove no grupo RAV) não estavam em uso de imunossupressores ou recebiam somente prednisona em baixas doses. (tabela 1).

Tabela 1: Idade, sexo, tipo de doador, tempo até a realização da enxertectomia e número de pacientes que receberam tratamento específico para rejeição aguda:

Grupo	Idade do receptor (média ±DP)	Receptores do sexo masculino n(%)	Doador falecido n(%)	Tempo até a enxertectomia em dias (medianas)	Pacientes que receberam tratamento específico para rejeição aguda n(%)
PCNI	34.2±11.9	2(40%)	3(60%)	14	-
RACNV	35.6±11.4*	3(60%)‡	2(40%)	281§	2(40%)
RAV	36.7±11.1†	9(64%)‡	7(50%)	1189	5(35%)¶

PCNI- perda de causa não imune; RACNV – rejeição aguda não vascular; RAV – rejeição aguda vascular

* $p=0.854$ (para PCNI e RACNV por teste t de Student)

† $p=0.675$ (PCNI e RAV por teste t de Student)

‡ $p=1$ (PCNI e RACNV e PCNI e RAV por teste exato de Fisher)

§ $p=0.032$ (PCNI e RACNV por teste t de Student)

|| $p=0.021$ (PCNI e RAV por teste t de Student)

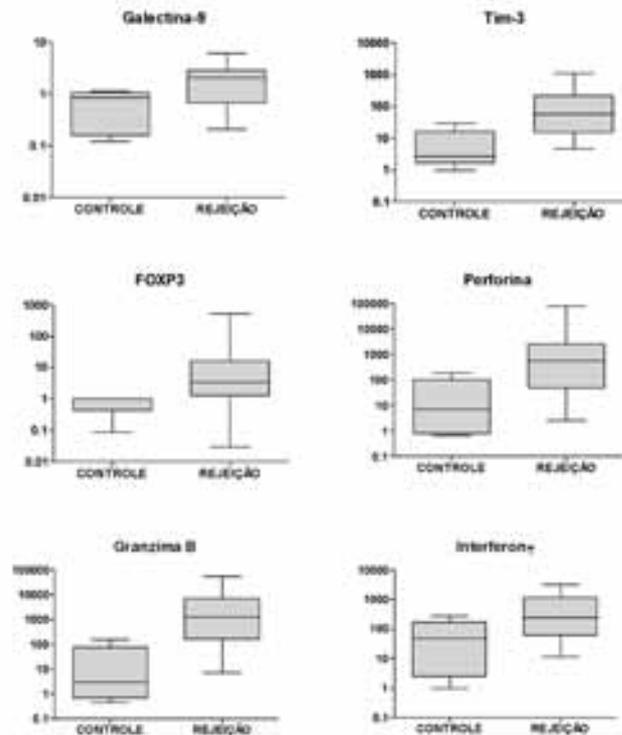
¶ $p=1$ (RACNV e RAV por teste exato de Fisher)

Expressão de moléculas relacionadas à resposta imune citotóxica

Para análise da resposta imune citotóxica foram utilizadas as seguintes moléculas: granzima B, perforina e IFN- γ . A expressão do mRNA dessas moléculas foi maior em pacientes com diagnóstico de rejeição. Especificamente, os valores das medianas da expressão do mRNA da granzima B foram 3 para o grupo controle e 1282,9 para o grupo com rejeição aguda ($p=0,003$); da perforina 7,4 para o grupo controle e 567,3 para o grupo com rejeição ($p=0,013$) e de IFN- γ 49,6 para o controle e 249,3 para a rejeição ($p=0,034$) (figura 1). Quando separamos os grupos de acordo com a gravidade da rejeição, as medianas de expressão dos transcritos encontradas foram: granzima B – 3 para o grupo PCNI, 369,6 para RACNV e 1305,1 para RAV ($p=0,003$ para PCNI e RAV); perforina – 7,4 para PCNI, 403,5 para RACNV e 797,8 para RAV ($p=0,008$ para PCNI e RAV) e IFN- γ – 49,6 para PCNI, 31,4 para RACNV e 435,5 para RAV ($p= 0,008$ para PCNI e RAV) (figura 2).

Como alguns pacientes dos grupos com rejeição aguda apresentavam nefropatia crônica do enxerto concomitante (2 no grupo RACNV e 9 no grupo RAV), as amostras foram separadas de acordo com a presença ou ausência de nefropatia crônica (figuras 3 e 4). Os

Figura 1. Gráfico tipo box plot demonstrando os valores dos percentis 10, 25, 50 (mediana), 75 e 90 para os níveis de mRNA das moléculas reguladoras Tim-3, galectina-9 e FOXP3 e das moléculas pró-inflamatórias granzima B, perforina e IFN- γ . Para todas as moléculas estudadas, a diferença entre o grupo controle e rejeição apresentou significância estatística ($p<0,05$).

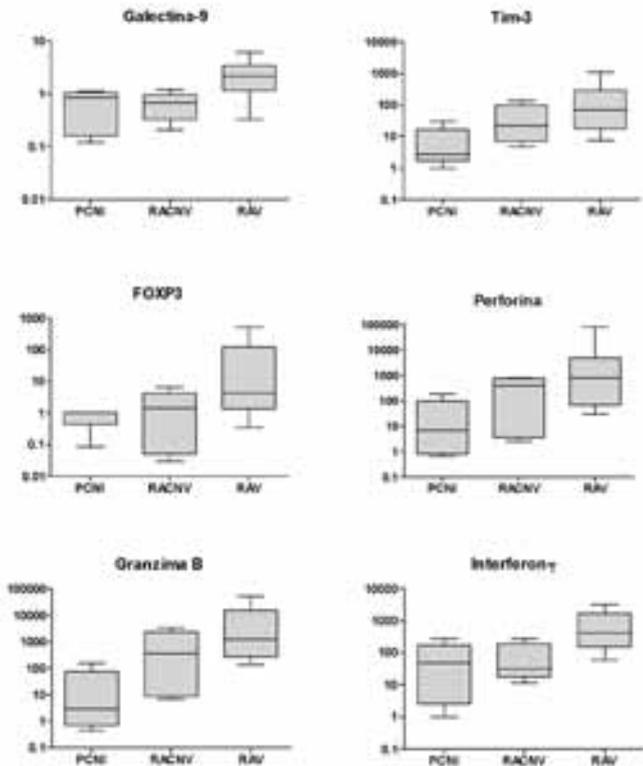


valores das medianas dos transcritos obtidos nas amostras sem evidência de nefropatia crônica foram: 3 para o grupo controle e 173,6 para o grupo com rejeição aguda de granzima B ($p=0,02$); 7,4 para o grupo controle e 50,1 para o grupo com rejeição aguda da perforina ($p=0,17$) e 49,6 para o controle e 61,5 para o grupo de rejeição de IFN- γ ($p=0,27$). Quando os grupos foram separados de acordo com a gravidade da rejeição, as medianas de expressão dos transcritos encontrados foram: granzima B – 3 para o grupo PCNI, 10,9 para RACNV e 206,8 para RAV; perforina – 7,4 para PCNI, 4,9 para RACNV e 60,4 para RAV e IFN- γ – 49,6 para PCNI, 23,2 para RACNV e 83,9 para RAV. Nas amostras com evidência de nefropatia crônica do enxerto concomitante com rejeição aguda, os valores encontrados das medianas foram: 3 para o grupo controle e 2169,2 para o grupo com rejeição aguda de granzima B ($p=0,002$); 7,4 para o grupo controle e 896,3 para o grupo com rejeição aguda da perforina ($p=0,001$) e 49,6 para o controle e 465,3 para o grupo com rejeição de IFN- γ ($p=0,01$). Novamente, essas amostras foram separadas de acordo com a gravidade da rejeição e as medianas encontradas de expressão dos transcritos foram: granzima B – 3 para o grupo PCNI, 2450,5 para RACNV e 2169,2 para RAV; perforina – 7,4 para PCNI, 742,3 para RACNV e 1408,3 para RAV e IFN- γ – 49,6 para PCNI, 191,9 para RACNV e 786,7 para RAV.

Expressão de moléculas relacionadas à resposta imune reguladora

Foi estudada a expressão relativa do mRNA das moléculas Tim-3, galectina-9 e FOXP3 para a análise da resposta imune

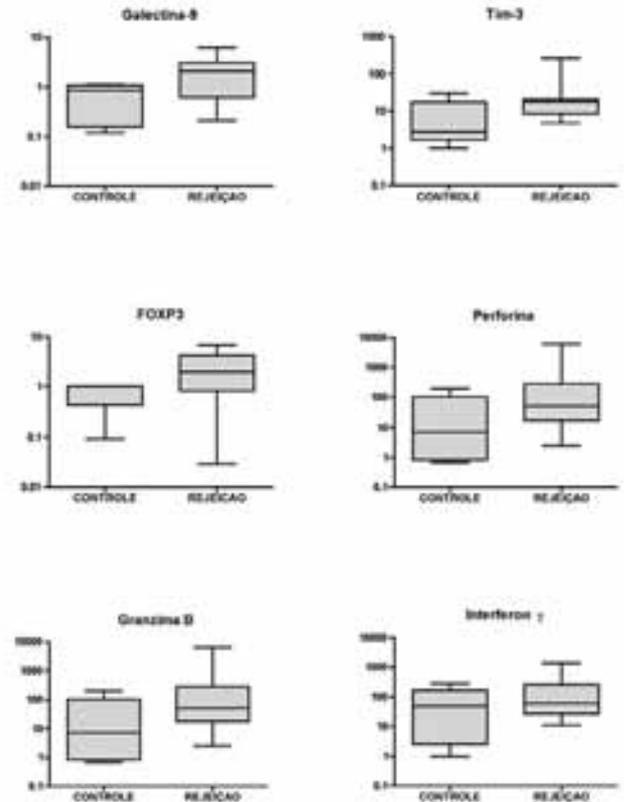
Figura 2. Gráfico tipo box plot demonstrando os valores dos percentis 10, 25, 50 (mediana), 75 e 90 para os níveis de mRNA das moléculas reguladoras Tim-3, galectina-9 e FOXP3 e das moléculas pró-inflamatórias granzima B, perforina e IFN- γ . A diferença entre as medianas dos grupos perda de causa não imune (PCNI) e rejeição vascular (RAV) para todas as moléculas estudadas alcançou significância estatística.



reguladora. De maneira semelhante à demonstrada para resposta imune citotóxica, a expressão do mRNA dessas moléculas foi maior em produtos de enxertectomia com diagnóstico de rejeição aguda. As medianas da expressão de Tim-3 foram: 2,7 para o grupo controle e 57 para o grupo com rejeição aguda ($p=0,007$), de galectina-9 0,8 para o controle e 2 para rejeição aguda ($p=0,065$) e de FOXP3 1 para o controle e 3,5 para rejeição ($p=0,019$) (figura 1). Igualmente, quando os grupos foram separados de acordo com a gravidade da rejeição, os níveis de expressão das moléculas reguladoras foram maiores em rejeições mais graves. Os valores das medianas de Tim-3 foram 2,7 para o grupo PCNI, 22 para RACNV e 68,9 para RAC ($p=0,008$ para PCNI e RAV) e de Galectina-9 0,8 para PCNI, 0,6 para RACNV e 2,1 para RAV ($p=0,024$ para PCNI e RAV). Para FOXP3 as medianas foram 1 para PCNI, 1,4 para RACNV e 4,2 para RAV ($p=0,005$ para PCNI e RAV) (figura 2).

Essas amostras também foram separadas de acordo com a presença ou ausência de nefropatia crônica do enxerto (figura 3 e 4). As medianas encontradas nas amostras sem evidência de nefropatia crônica foram: 2,7 para o grupo controle e 17,7 para o grupo com rejeição aguda de Tim-3 ($p=0,06$); 0,8 para o grupo controle e 2,1 para o grupo com rejeição aguda de galectina-9 ($p=0,12$) e 1 para o controle e 1,9 para o grupo rejeição de FOXP3 ($p=0,12$). Quando os grupos foram separados de acordo com a gravidade da rejeição,

Figura 3. Gráfico tipo box plot demonstrando os valores dos percentis 10, 25, 50 (mediana), 75 e 90 para os níveis de mRNA das moléculas reguladoras Tim-3, galectina-9 e FOXP3 e das moléculas pró-inflamatórias granzima B, perforina e IFN- γ em amostras sem evidência de nefropatia crônica do enxerto concomitante. Para todas as moléculas estudadas, a diferença entre o grupo controle e rejeição apresentou significância estatística ($p<0,05$).



as medianas de expressão dos transcritos foram: Tim-3 – 2,7 para o grupo PCNI, 9,4 para RACNV e 19,3 para RAV; galectina-9 – 0,8 para PCNI, 0,4 para RACNV e 2,9 para RAV e FOXP3 – 1 para PCNI, 1,9 para RACNV e 2 para RAV. Nas amostras com evidência de nefropatia crônica do enxerto concomitante com rejeição aguda, os valores das medianas foram: 2,7 para o grupo controle e 145,2 para o grupo com rejeição aguda de Tim-3 ($p=0,001$); 0,8 para o grupo controle e 1,3 para o grupo com rejeição aguda de galectina-9 ($p=0,12$) e 1 para o controle e 13,1 para o grupo rejeição de FOXP3 ($p=0,01$). De maneira semelhante, essas amostras foram separadas de acordo com a gravidade da rejeição, e os valores das medianas de expressão dos transcritos foram: Tim-3 – 2,7 para o grupo PCNI, 99,7 para RACNV e 163,1 para RAV; galectina-9 – 0,8 para PCNI, 0,9 para RACNV e 1,8 para RAV e FOXP3 1 para PCNI, 0,7 para RACNV e 49,4 para RAV.

Correlação entre a expressão de Tim-3 e galectina-9

As análises dessas duas moléculas demonstram uma correlação positiva entre os níveis de expressão da galectina-9 e de Tim-3 ($r=0,526$; $p=0,016$). Também existiu correlação entre a expressão de Tim-3 e de moléculas pró-inflamatórias (figura 5). Não houve correlação entre os níveis de expressão de galectina-9 e IFN- γ .

Figura 4. Gráfico tipo box plot demonstrando os valores dos percentis 10, 25, 50 (mediana), 75 e 90 para os níveis de mRNA das moléculas reguladoras Tim-3, galectina-9 e FOXP3 e das moléculas pró-inflamatórias granzima B, perforina e IFN- γ em amostras com evidência de nefropatia crônica do enxerto concomitante. Para todas as moléculas estudadas, a diferença entre o grupo controle e rejeição apresentou significância estatística ($p < 0,05$).

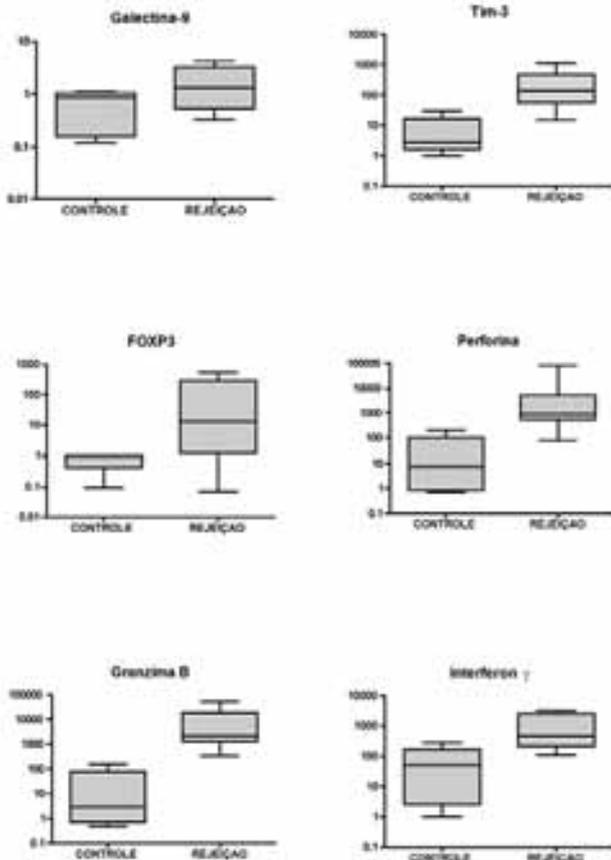
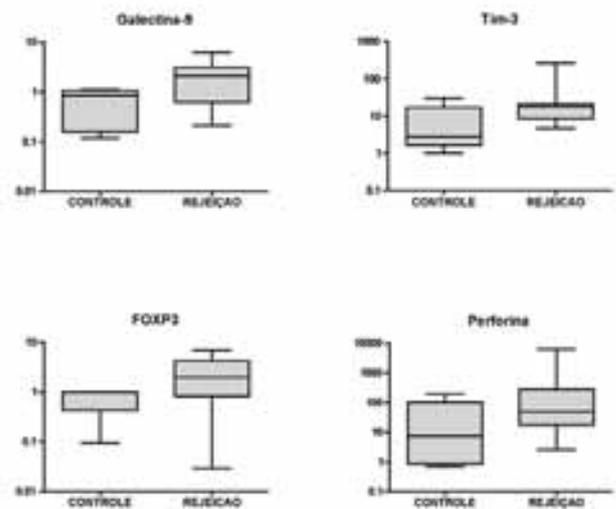


Figura 5. Correlação entre os níveis de mRNA de Tim-3 com seu ligante, a galectina-9, e com as moléculas pró-inflamatórias IFN- γ , granzima B e perforina.



O Tim-3 também já foi detectado em urina de pacientes transplantados durante rejeição aguda²⁹ e também em produtos de enxertectomia renal.²⁰ A participação dessa molécula na regulação da resposta Th1 foi inicialmente determinada em um modelo experimental de encefalomielite.³⁰ O bloqueio do Tim-3 nesse modelo resultou em piora dos padrões clínicos e patológicos da doença.

A identificação de moléculas reguladoras da resposta imune não se traduz necessariamente em ganho funcional. Sendo a galectina-9 o ligante do Tim-3, a identificação da primeira corrobora com uma maior função reguladora da resposta Th1. A detecção de galectina-9 foi maior em enxertos com rejeições mais graves, o que pode ser uma evidência de que o desenvolvimento dessa função reguladora não é suficiente para evitar uma resposta citotóxica agressiva ao enxerto que resulte em perda do órgão. Apesar da expressão da galectina-9 poder ser induzida pelo IFN- γ , no presente estudo não houve correlação entre os níveis dessas duas moléculas.

A interpretação dos resultados deste estudo requer alguns cuidados. A classificação de rejeição aguda vascular e não vascular foi baseada exclusivamente em critérios histo-morfológicos, não tendo sido realizada análise imunohistoquímica para presença de C4d, atualmente o marcador mais fidedigno do envolvimento de anticorpos no processo de rejeição.³¹ Portanto, tanto o envolvimento da resposta imune humoral no processo de rejeição aguda vascular quanto sua relação com as moléculas estudadas não puderam ser avaliados no presente estudo.

Como grupo controle, foram utilizadas amostras de rim não funcionante em decorrência de isquemia aguda (trombose arterial e/ou venosa). A isquemia, per se, é capaz de desencadear uma resposta imune. Além disso, o tempo decorrente até a retirada do enxerto nesses pacientes foi significativamente menor quando comparado aos grupos RANV e RAV. Conseqüentemente, o tempo de exposição dos aloantígenos ao sistema imune do receptor foi menor, o que pode influenciar tanto a resposta imune citopática quanto a regulatória. De maneira semelhante, esse grupo não recebeu

DISCUSSÃO

A resposta imune é um processo dinâmico, e os fatores pró-inflamatórios são contrabalanceados por mecanismos reguladores, os quais são capazes de evitar uma resposta exagerada a um antígeno estranho ou contra um antígeno próprio. Nossa hipótese é que essa homeostase também é mantida no contexto do transplante de órgãos, e que a rejeição aguda ocorre quando esse equilíbrio é quebrado, favorecendo a resposta pró-inflamatória.

A presença de moléculas relacionadas à resposta imune citotóxica já foi demonstrada em amostras de tecido de enxertos renais,²² em leucócitos de sangue periférico²³ e em urina^{24,25} de pacientes transplantados renais, e houve concordância entre esses achados e o diagnóstico de rejeição aguda. Transcritos relacionados à resposta imune reguladora também foram descritos. A presença de FOXP3 foi demonstrada em urina de pacientes com rejeição aguda,²⁶ assim como em biópsias^{27,28} e em produtos de enxertectomia renais,¹⁹ porém nem todos os estudos foram capazes de correlacionar esse achado a uma melhor evolução. A detecção de FOXP3 é fortemente sugestiva da presença de Treg, apesar dessa molécula também estar presente em células ativadas incapazes de regular a resposta imune.¹⁷

tratamento imunossupressor específico para rejeição aguda, e não havia evidência de nefropatia crônica do enxerto nessas amostras. A influência desses dois outros fatores no desenvolvimento da resposta imunológica deve ser considerada. As amostras obtidas de rim não-funcionante em decorrência de isquemia aguda foram escolhidas como grupo controle, pois dois dos transcritos de interesse, FOXP3 e Galectina-9, não foram detectados em amostras de tecido normal obtidas de biópsias protocolares, possivelmente devido a menor quantidade de material disponível para o estudo, se comparando com as amostras obtidas de produtos de enxertectomias.

Outra possível fonte de viés no presente estudo é a presença de nefropatia crônica do enxerto em um número significativo de amostras (2 do grupo RACNV e 9 do grupo RAV). A nefropatia crônica do enxerto envolve alterações tanto de causas não-imunológicas quanto imunológicas;³² portanto, sua influência sobre o desenvolvimento tanto da resposta citotóxica quanto da

resposta imuno-reguladora deve ser considerada. De fato, quando analisamos separadamente as amostras de acordo com a presença ou ausência de nefropatia crônica do enxerto, a significância estatística não se manteve para todas as moléculas.

CONCLUSÃO

Neste estudo, nós demonstramos que o ligante de Tim-3, a Galectina-9, é encontrada em produtos de enxertectomia renal com diagnóstico de rejeição, e que sua expressão se relaciona com a gravidade da mesma. Houve correlação entre os níveis de Tim-3 e galectina-9, sugerindo aumento da função reguladora da resposta Th1 durante a resposta imune citotóxica. No momento, mais estudos são necessários para esclarecer os mecanismos envolvidos nessa regulação, e, mais importante, quais desses mecanismos podem ser capazes de bloquear um episódio de rejeição aguda ao órgão transplantado.

ABSTRACT

Introduction: Tim-3 is a Th1 lymphocytes membrane protein with inhibitory function. Its ligand, the galectin-9, was recently identified, and it is expressed in some lymphocytes population. In addition, endothelial cells and fibroblasts can also express the galectin-9, according to the local cytokine milieu. These molecules, together with the CD4+CD25+ T lymphocytes, act as important regulatory tools to the immune system. FOXP3 is a transcription factor associated to the regulatory CD4+CD25+ T cells. **Purpose:** To assess the expression of these immunoregulator molecules inside kidney allografts during acute rejection episodes. **Methods:** By using a quantitative polymerase chain reaction assay, we measured the levels of the RNA messenger for Galectin-9, Tim-3 and FOXP3, in 24 sampling attained from allograft nephrectomy for acute nonvascular rejection (n=5), acute vascular rejection (n=14) or loss due to a nonimmune cause (n=5, as control). The granzyme B molecules, perforin and interferon-gamma were also analyzed, since they represent host-driven immune response. **Results:** Median mRNA levels of all immunoregulator as well as cytolytic molecules correlated to the severity of the rejection: p=0.024 for galectin-9, p=0.008 for Tim3, p=0.005 for FOXP3, p=0.008 for perforin and interferon-gamma; and p=0.003 for granzim B. **Conclusion:** Among all the studied molecules, mRNA levels were higher inside allografts which presented more severe rejection. This data suggest the immune response is a dynamic process, and it involves both cytopathic and regulatory mechanisms. The acute rejection episode could be consequence of a disproportion in such response.

Keywords: Kidney Transplantation, Graft Rejection, Immune Tolerance

REFERÊNCIAS

- Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med.* 2004;351(26):2715-29.
- Marleau AM, Sarvetnick N. T cell homeostasis in tolerance and immunity. *J Leukoc Biol.* 2005;78(3):575-84.
- Kamradt T, Mitchison NA. Tolerance and autoimmunity. *N Engl J Med.* 2001;344(9):655-64.
- Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, Ryu A, Waldner H, Chernova T, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease. *Nature.* 2002;415:536-41.
- Rabinovich GA, Liu FT, Hirashima M, Anderson A. An emerging role for galectins in tuning the immune response: lessons from experimental models of inflammatory disease, autoimmunity and cancer. *Scand J Immunol.* 2007;66(2-3):143-58
- Illarregui JM, Bianco GA, Toscano MA, Rabinovich GA. The coming of age of galectins as immunomodulatory agents: impact of these carbohydrate binding proteins in T cell physiology and chronic inflammatory disorders. *Ann Rheum Dis.* 2005;64 Suppl 4:96-103
- Tashiro K, Sakata K, Hirashima M, Hayashi H. The regulation of tissue eosinophilia. III. In vitro production of eosinophil-directed chemotactic inhibitory factor by T lymphocytes of Freund's complete adjuvant-treated guinea-pigs. *Immunology.* 1985;55:115-24.
- Imaizumi T, Kumagai M, Sasaki N, Kurotaki H, Mori F, Seki M, et al. Interferon-gamma stimulates the expression of galectin-9 in cultured human endothelial cells. *J Leukoc Biol.* 2002;72(3):486-91.
- Asakura H, Kashio Y, Nakamura K, Seki M, Dai S, Shirato Y, et al. Selective eosinophil adhesion to fibroblast via IFN-gamma-induced galectin-9. *J Immunol.* 2002;169(10):5912-8.
- Zhu C, Anderson AC, Schubart A, Xiong H, Imitola J, Khoury SJ, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol.* 2005;6(12):1245-52.
- Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol.* 2005;6(4):345-52.
- Sakaguchi S, Powrie F. Emerging challenges in regulatory T cell function and biology. *Science.* 2007;317(5838):627-9.

13. Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, et al. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J. Exp. Med.* 2003;198:1875-1886.
14. Selvaraj RK, Geiger TL. A kinetic and dynamic analysis of Foxp3 induced in T cells by TGF-beta. *J Immunol.* 2007;178(12):7667-77.
15. Chai JG, Xue SA, Coe D, Addey C, Bartok I, Scott D, et al. Regulatory T cells, derived from naive CD4+CD25- T cells by in vitro Foxp3 gene transfer, can induce transplantation tolerance. *Transplantation* 2005;79:1310-6.
16. Wan YY, Flavell RA. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. *Nature.* 2007;445(7129):766-70.
17. Tran DQ, Ramsey H, Shevach EM. Induction of FOXP3 expression in naive human CD4+FOXP3- T cells by T cell receptor stimulation is TGF{beta}-dependent but does not confer a regulatory phenotype. *Blood.* 2007 Disponível em: URL: <http://bloodjournal.hematologylibrary.org>.
18. Graca L, Cobbold SP, Waldmann H. Identification of regulatory T cells in tolerated allografts. *J Exp Med.* 2002;195:1641-4.
19. Naka EL, Ponciano VC, Rangel EB, Cenedeze MA, Pacheco-Silva A, Camara NO. FOXP3-positive regulatory cells inside the allograft and the correlation with rejection. *Transplant Proc.* 2006;38(10):3202-4.
20. Ponciano VC, Renesto PG, Nogueira E, Rangel EB, Cenedeze MA, Franco MF, et al. Tim-3 expression in human kidney allografts. *Transpl Immunol.* 2007;17(3):215-22.
21. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999;55(2):713-23.
22. Strehlau J, Pavlakis M, Lipman M, Shapiro M, Vasconcellos L, Harmon W, et al. Quantitative detection of immune activation transcripts as a diagnostic tool in kidney transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(2):695-700.
23. Vasconcellos LM, Schachter AD, Zheng XX, Vasconcellos LH, Shapiro M, Harmon WE, et al. Cytotoxic lymphocyte gene expression in peripheral blood leukocytes correlates with rejecting renal allografts. *Transplantation* 1998;66(5):562-6.
24. Li B, Hartono C, Ding R, Sharma VK, Ramaswamy R, Qian B, et al. Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. *N Engl J Med.* 2001;344(13):947-54.
25. Galante NZ, Câmara NO, Kallas EG, Salomão R, Pacheco-Silva A, Medina-Pestana JO. Noninvasive immune monitoring assessed by flow cytometry and real time RT-PCR in urine of renal transplantation recipients. *Transpl Immunol.* 2006;16(2):73-80.
26. Muthukumar T, Dadhania D, Ding R, Snopkowski C, Naqvi R, Lee JB, et al. Messenger RNA for FOXP3 in the urine of renal-allograft recipients. *N Engl J Med.* 2005;353(22):2342-51.
27. Velthuis JH, Mol WM, Weimar W, Baan CC. CD4+CD25bright+ regulatory T cells can mediate donor nonreactivity in long-term immunosuppressed kidney allograft patients. *Am J Transplant.* 2006;6(12):2955-64.
28. Grimbert P, Mansour H, Desvaux D, Roudot-Thoraval F, Audard V, Dahan K, et al. The regulatory/cytotoxic graft-infiltrating T cells differentiate renal allograft borderline change from acute rejection. *Transplantation.* 2007;83(3):341-6
29. Renesto PG, Ponciano VC, Cenedeze MA, Saraiva Câmara NO, Pacheco-Silva A. High expression of Tim-3 mRNA in urinary cells from kidney transplant recipients with acute rejection. *Am J Transplant.* 2007;7(6):1661-5.
30. Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, Ryu A, Waldner H, Chernova T, et al. Th-1 specific cell surface protein TIM-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease. *Nature.* 2002;415: 536-541.
31. Böhmig GA, Exner M, Habicht A, Schillinger M, Lang U, Kletzmayer J, et al. Capillary C4d deposition in kidney allografts: a specific marker of alloantibody-dependent graft injury. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(4):1091-9.
32. Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolkoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med.* 2002;346(8):580-90.

ANTICORPOS NÃO-HLA REATIVOS CONTRA AS CÉLULAS ENDOTELIAIS PODEM ESTAR ENVOLVIDOS NA PERDA PRECOCE DO ENXERTO RENAL

Non-HLA antibodies reactive against endothelial cells may cause early loss of renal allografts

Carla Regina da Silva Correa Ronda^{1,3}, Denis Glotz⁶, Daisa Silva Ribeiro David⁵, Luis Estevam Ianhez⁵, Hélcio Rodrigues^{1,2}, Carlos Sergio Viggiani^{1,2}, William Nahas⁵, Elias David-Neto⁵, Maria Cristina Ribeiro de Castro⁵, Jorge Kalil^{1,2,3,4}, Nicolas Panajotopoulos^{1,4}

RESUMO

Há crescente evidência de que os anticorpos direcionados contra antígenos não-HLA presentes em células endoteliais estão associados à rejeição ao enxerto. **Objetivos:** 1. Verificar a presença de anticorpos anti-célula endotelial (AACE) nos eluatos de rins nefrectomizados após rejeição mediada por anticorpos não anti-HLA; 2. Verificar a possibilidade de detectar AACE em soros coletados no pré-transplante e antes da rejeição; 3. Verificar o potencial efeito inibitório da IVIG *in vitro* sobre os AACE. **Métodos:** Soros (absorvidos com *pool* de plaquetas) e eluatos provenientes de 12 aloenxertos renais foram testados por citometria de fluxo contra a linhagem EAHy.926 (hibridoma de célula epitelial com célula endotelial). Eluatos positivos foram testados com ou sem adição de imunoglobulina polivalente intravenosa (IVIg). **Resultados:** A ausência de anticorpos anti-HLA contra o doador foi verificada antes do transplante, da rejeição e antes e depois da transplantectomia, através de provas cruzadas utilizando a técnica de citotoxicidade dependente de complemento (CDC) com e sem anti-globulina humana. Em nove eluatos foram detectados anticorpos reativos contra a linhagem. Em 7/9 casos a marcação de C4d foi negativa. Tais anticorpos não foram detectados no soro pré-transplante. Contudo, 2/4 soros pré-rejeição foram positivos para AACE, e um foi considerado positivo fraco. Em 9 casos, a adição de IVIg resultou em forte diminuição na ligação dos AACE. **Conclusões:** Os AACE parecem estar envolvidos no processo de rejeição humoral. A detecção de tais anticorpos no soro pré-rejeição abre a possibilidade de um monitoramento imune. A utilização de IVIg para bloqueio da ligação desses anticorpos com a célula-alvo pode funcionar como uma possível terapia na rejeição humoral causada por AACE.

Descritores: Rejeição de Enxerto, Células Endoteliais, Anticorpos, Transplante de Rim.

INTRODUÇÃO

A superfície do endotélio vascular é o primeiro contato entre o sistema imune do receptor e o órgão transplantado, e, em virtude dessa posição anatômica, é considerada um importante alvo no processo de rejeição ao aloenxerto.¹ O endotélio vascular tem um papel central na resposta aloimune, uma vez que expressa na sua superfície tanto antígenos do sistema ABO e HLA, quanto antígenos próprios das células endoteliais vasculares.² Embora os antígenos HLA expressos nas células endoteliais ativadas do enxerto sejam potenciais alvos da resposta aloimune, a ocorrência de perda precoce do enxerto renal entre irmãos HLA idênticos e até gêmeos com prova-cruzada contra linfócitos negativa sugerem que outros antígenos não-HLA, possam estar envolvidos no processo de rejeição,^{3,4} dentre os quais se destacam os antígenos do sistema endotelial.

No transplante, foi descrito em 1977 pela primeira vez o sistema antigênico expresso nas células endoteliais e monócitos, mas não contra linfócitos, chamado de sistema endotélio-monócito.⁵ A existência desse sistema antigênico não foi confirmada após identificação bioquímica, tendo sido demonstrado mais tarde por outros autores que os anticorpos não-HLA envolvidos na rejeição humoral eram dirigidos contra sítios antigênicos exclusivos das

Instituição:

- ¹ Laboratório de Imunologia, InCor; HCFMUSP – São Paulo / SP – Brasil
- ² Laboratório de Histocompatibilidade e Imunologia Celular, LIM 19-HCFMUSP – São Paulo / SP – Brasil
- ³ Disciplina de Imunologia Clínica e Alergia, Depto de Clínica Médica, HCFMUSP – São Paulo / SP – Brasil
- ⁴ Instituto de Investigação em Imunologia, Instituto do Milênio – São Paulo / SP – Brasil
- ⁵ Unidade de Transplante Renal, Divisão de Clínica Urológica, HCFMUSP – São Paulo / SP – Brasil
- ⁶ Service de Néphrologie et transplantation, Hospital Saint-Louis, Paris, France

Correspondência:

Carla Regina da Silva Corrêa Ronda
 Laboratório de Imunologia, InCor; HCFMUSP - Universidade de São Paulo
 Rua Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44, 9º andar – CEP 05403-000 – São Paulo / SP – Brasil
 Tel: (11) 3069-5903
 Fax: (11) 3069-5902
 E-mail: cronda51@hotmail.com

Recebido em: 10.10.2007

Aceito em: 04.02.2008

células endoteliais não compartilhados por monócitos. A este sistema antigênico deu-se o nome de Sistema VEC (do inglês, *Vascular Endothelial Cell System*).⁶

Resultados de diferentes estudos têm demonstrado o envolvimento dos anticorpos anti-célula endotelial na rejeição humoral tanto no transplante renal^{7,8} quanto no cardíaco.⁹ Um dos prováveis mecanismos de ação dos anticorpos anti-célula endotelial ocorre através da ligação de tais anticorpos no endotélio dos vasos do enxerto (arteríolas e capilares glomerulares), ativando a via clássica do sistema de complemento,^{10,11} ou ainda por citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC, do inglês *antibody dependent cell mediated cytotoxicity*).¹¹ Apesar de evidências demonstrando o envolvimento dos anticorpos anti-célula endotelial nas rejeições humorais, os mecanismos envolvidos no processo de rejeição causado por esses anticorpos até hoje são extremamente limitados. Além disso, não há informações sobre se esses anticorpos são autoanticorpos ou aloanticorpos, assim como a respeito dos alvos antigênicos por eles reconhecidos. Não há ensaio padrão *in vitro* capaz de detectar esses anticorpos, uma vez que seu mecanismo de ação ainda não está totalmente definido, dificultando assim o diagnóstico de rejeição causada por estes anticorpos.

O diagnóstico de rejeição mediada por anticorpos apenas com base histológica é difícil, pois até o presente momento nenhuma característica morfológica é patognomônica. As lesões encontradas podem se confundir ou se sobrepor aos achados histológicos de rejeição mediada por célula. Com isso, os episódios de rejeição mediada por anticorpos são frequentemente subdiagnosticados.¹²

Na busca por entendimento da rejeição mediada por anticorpos, a recente inclusão do marcador C4d na avaliação morfológica de enxertos renais tem emergido como uma importante ferramenta no auxílio ao diagnóstico de rejeição humoral.¹³ O C4d é um produto da degradação do fator C4 da via clássica de ativação do sistema de complemento que se liga covalentemente (ligação forte e estável) à superfície da célula endotelial, facilitando sua detecção por imunohistoquímica ou imunofluorescência, e é um indicador indireto da resposta mediada por anticorpos em biópsia renal.¹⁴

O papel do marcador C4d em rejeições humorais envolvendo os anticorpos anti-célula endotelial é desconhecido, mas seria coerente hipotizar que não pode ser muito valioso, considerando que a maioria desses anticorpos não fixa complemento.¹⁵

Uma vez que a rejeição humoral é de difícil tratamento, existe grande necessidade de se encontrar uma terapia que possa regular ou eliminar a produção de aloanticorpos de forma segura em certos receptores. Entre as abordagens na tentativa de minimizar este problema, tais como a imunoadsorção com proteína A combinada com drogas citotóxicas e a plasmáfereze associada ou não à administração de imunossupressores, foi incluída recentemente a infusão de altas doses de IVIg, que tem se mostrado eficaz no bloqueio dos anticorpos anti-HLA.¹⁶

A IVIg é um pool de imunoglobulinas humanas do isotipo IgG proveniente de plasma humano de cerca de 10.000 doadores de sangue.¹⁷ Sua administração tem se mostrado benéfica no tratamento das desordens de imunodeficiência primária há mais de 24 anos, devido a sua propriedade imunomoduladora.¹⁸ Embora

a IVIg tenha múltiplos mecanismos de ação que poderiam ser de benefício na modulação da resposta imune, os mais importantes parecem ser a presença de anticorpos anti-idiotipo, inibição da geração de citocinas inflamatórias,¹⁹ inibição de injúria mediada por complemento e inibição da produção de anticorpos.¹⁹

O uso da IVIg associada ou não à plasmáfereze tem alcançado eficácia não só no pré-transplante para dessensibilizar pacientes, como também no pós-transplante para reverter rejeição mediada por anticorpos.²⁰

O estudo do impacto da IVIg sobre os anticorpos anti-célula endotelial poderia nos fornecer informações muito importantes do ponto de vista terapêutico.

Desta forma, a possível detecção dos anticorpos anti-célula endotelial no soro pré-transplante ou no início da rejeição ao enxerto seria de grande importância na definição de estratégias de prevenção e tratamento das rejeições causadas por estes anticorpos.

OBJETIVOS

Verificar a presença de anticorpos anti-célula endotelial nos eluatos de rins nefrectomizados após rejeição humoral.

Verificar a possibilidade de detectar os anticorpos anti-célula endotelial em amostras de soros coletadas no pré-transplante e antes da rejeição.

Verificar o potencial efeito inibitório da IVIG *in vitro* sobre os anticorpos anti-célula endotelial.

MÉTODOS

Soros

Foram estudadas amostras de soro de 12 pacientes que perderam seus enxertos nos primeiros três meses pós-transplante, sendo que 11 foram perdidos por rejeição humoral e um por trombose venosa. Foram excluídos deste estudo casos que apresentaram anticorpos anti-HLA doador específicos nos soros pré- e pós-transplante.

Para detecção dos anticorpos anti-célula endotelial, optamos por fazer inicialmente adsorção dos anticorpos anti-HLA de classe I não doador-específico nas amostras de soro (1, 2, 3, 5, 7, 8 e 11) com pool de plaquetas, com o objetivo de eliminar qualquer reatividade causada por aqueles anticorpos. Para confirmação da eficiência da absorção foi realizado novo PRA-ELISA das amostras absorvidas.

Análise histopatológica

As análises histopatológicas das biópsias renais foram realizadas no Departamento de Patologia-HC-FMUSP. Foram analisadas 11 biópsias renais, sendo três de biópsia percutânea e oito de rins nefrectomizados: todos os pacientes estavam em uso de imunossupressor até o momento da nefrectomia. As biópsias foram incluídas em bloco de parafina, os quais foram cortados em micrótomo (3µ), fixadas em lâminas e posteriormente coradas com Hematoxina-Eosina, Tricrômio de Masson, ácido periódico de Schiff (PAS) e PAMS (prata metenamina). O diagnóstico foi estabelecido de acordo com os atuais critérios da Classificação de Banff,²¹ como descrito na Tabela A.

Os dados clínicos e características dos pacientes estão descritos na Tabela B.

Tabela A. Análise histopatológica das biópsias renais.

Pacientes	Classificação Banff 97
1	NC
2	Banff IIA**
3	Banff III*
4	Banff IIB*
5	CAN II*
6	(...)
7w	NC
8	Banff III**
9	Banff III*
10	Banff III*
11	NC
12	FT

NC: não classificado devido a necrose do parênquima; FT: falha técnica devido a trombose de veia renal; (...): não avaliado; *Biópsia de Rins nefrectomizados; **Biópsia Percutânea.

Teste de microlinfocitotoxicidade

Para verificar a presença de anticorpos anti-HLA nas amostras de soro e eluato, foi utilizada técnica de citotoxicidade dependente de complemento (CDC) com e sem anti-globulina humana. Os soros e eluatos foram testados contra linfócitos T e B do doador antes e depois do tratamento com ditiotretol (5mM, 30min a 37°C).

Preparação dos eluatos renais

Os eluatos foram obtidos a partir do tratamento de rins nefrectomizados com acetato de sódio 0,05M, conforme procedimento descrito em 1980.²² Os fragmentos de rim foram cortados e lavados extensivamente com tampão Salina Fosfato,

até que o sobrenadante ficasse totalmente límpido. Em seguida, os fragmentos foram macerados em um homogeneizador de tecido (Biohomogenizer Biospec). O macerado foi centrifugado sob refrigeração a 4°C a 10000 rpm por 20 minutos, por três vezes. Ao final da última lavagem, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento ressuspendido em solução de acetato de sódio (pH 3.2) por uma hora a 37°C, sob agitação constante. Em seguida, a solução macerado-acetato foi centrifugada por 20 minutos a 10000 rpm sob refrigeração a 4°C. O pH do sobrenadante (eluato) foi ajustado para 7-7.4, e foi adicionada azida sódica (0,02% final). O sobrenadante foi dialisado em tampão Salina Fosfato por duas horas, com troca de água a cada 30 minutos e depois concentrado por liofilização. A concentração foi ajustada para 15 mg/ml.

Cultura de linhagem EAHy.926

A linhagem EAHy.926 é um hibridoma resultante da fusão de HUVEC (do inglês, Human Umbilical Vein Endothelial Cells) com célula epitelial tumoral A549²³ cedida gentilmente pelo Prof. Dr. Dennis Glotz do Service de Néphrologie et Transplantation, Hospital Saint-Louis, Paris, França. A linhagem foi mantida em cultura com meio DMEM (Life Technologies) suplementado com 150U/ml penicilina/estreptomicina, 2mM L-glutamine, 10% SFB, 4500mg/l glicose (Life Technologies) e 0.04% HAT suplemento (Life Technologies), em garrafas de 250 ml, até atingirem a confluência. O meio foi trocado a cada três ou quatro dias, quando as células foram então submetidas à tripsinização. Para esse procedimento, as células foram inicialmente lavadas com solução de Hanks sem cálcio e magnésio, e em seguida, foram adicionados 5 ml de solução de tripsina (0,1% em EDTA 0,02%). Após o descolamento celular (um a dois minutos), foram adicionados imediatamente 10 ml de DMEM com 10% de SFB. A suspensão celular foi recolhida em tubo de 15 ml e centrifugada por 10 minutos a 1800 rpm. O botão celular foi então ressuspendido em 5 ml de DMEM com 10% de SFB, e a concentração celular foi ajustada para 1X10⁶ células/ml e colocadas em novas garrafas para crescimento. Após dois repiques, as células foram utilizadas nos diversos ensaios ou congeladas para uso posterior.

Tabela B. Características e dados clínicos dos pacientes transplantados renais.

# Pacientes	Sexo	# Transfusões	# Gestações	# Tx	Data Tx	Duração do enxerto	Tipo doador	Imunossupressão
1	F	10	6	1	19/09/00	23	Falecido	CsA, Pred, MMF
2	M	0	0	1	10/08/01	58	Falecido	CsA, Pred, MMF
3	F	0	0	1	11/11/98	9	Vivo não parente	CsA, Pred, Aza
4	M	0	0	1	20/10/00	65	Falecido	CsA, Pred, Aza
5	M	1	0	2	20/10/00	65	Falecido	CsA, Pred, MMF
6	M	0	0	1	11/12/01	2	Vivo parente	CsA, Pred, Aza
7	F	0	0	2	02/09/99	15	Falecido	CsA, Pred, Aza
8	M	0	0	2	26/07/00	10	Vivo parente	CsA, Pred, MMF
9	M	0	0	1	18/11/96	11	Falecido	CsA, Pred, Aza
10	F	0	0	1	15/09/02	4	Falecido	FK, Pred, MMF
11	F	0	3	2	09/12/00	4	Falecido	CsA, Pred, Aza
12	M	0	0	2	03/03/04	1	Falecido	CsA, Pred, MMF

F: feminino; M: Masculino; Tx: Transplante; CsA: ciclosporina; Pre: prednisona; Aza: azatioprina; MMF: micofenolato mofetil; FK: tacrolimus

Pesquisa de anticorpos anti-célula endotelial em amostras de soro de indivíduos saudáveis

Para definição de um pool de soros como controle negativo para posterior análise das amostras de soro e eluato dos pacientes, foram analisadas 15 amostras de soro de indivíduos saudáveis do sexo masculino, não transfundidos quanto à presença de anticorpos de anti-célula endotelial. As amostras foram analisadas por citometria de fluxo e os resultados foram obtidos em mediana de intensidade de fluorescência (MIF). Após ter sido confirmada ausência de anticorpos anti-endotélio nas 15 amostras de soro, foi então feito um pool e utilizado como controle negativo para as amostras de pacientes a serem testadas.

Para determinarmos o valor de corte de reatividade para análise das amostras de soro e eluatos renais, foi utilizada a mediana de intensidade de fluorescência do controle negativo (*pool* de soros de indivíduos saudáveis), seguida de dois desvios-padrão tanto para anticorpo do isotipo IgG quanto anticorpo do isotipo IgM.

Detecção de anticorpos anti-célula endotelial por citometria de fluxo

As células de linhagem EAHy.926 foram distribuídas na concentração de 3×10^5 células/poço em placa de 96 poços com fundos em U. As placas foram centrifugadas a 1800 rpm durante cinco minutos a 4°C. Os sobrenadantes foram desprezados e os botões celulares foram homogeneizados em um agitador de placas. Em seguida, as células foram incubadas durante 30 minutos a 4°C no escuro com 25 µl de cada soro pré-transplante, pré-rejeição, eluatos, controle negativo (*pool* de soros de indivíduos saudáveis), controle positivo (*pool* de soros de pacientes altamente sensibilizados para antígenos HLA) por 30 minutos a 25°C. Foram pesquisadas as expressões dos antígenos HLA-classe I (β 2microglobulina marcado com FITC diluído 1\100), HLA-classe II (HLA DR marcado com FITC diluído 1\50) e antígeno específico de célula endotelial (ECA, a endogлина marcada com FITC diluído 1\25). Após o período de incubação, as células foram lavadas três vezes em tampão FACS por centrifugação a 1800 rpm durante cinco minutos. Em seguida, foram ressuspensas em 400 µl do mesmo tampão e mantidas a 4°C até o momento da aquisição. Foi utilizado o programa CellQuest™ (FASCalibur, Becton&Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, Califórnia, EUA) para aquisição e análise dos dados. Foram adquiridas 10.000 células na região de interesse (região de células endoteliais) selecionadas por tamanho (FSC, do inglês, *forward scattered*, dispersão frontal) e granulidade (SSC, do inglês, *side scattered*, dispersão lateral) e analisada em mediana de intensidade de fluorescência (MIF).

Teste da ação da IVIg sobre os AACE

Todos os eluatos considerados positivos para pesquisa de AACE foram retestados com e sem tratamento com IVIg, através de prova-cruzada por citometria de fluxo. Os eluatos foram diluídos em IVIg (1:2). Cinquenta microlitros do volume inicial do eluato foram adicionados a igual volume de IVIg (50mg/ml) em tubo Fisher, seguidos de incubação por 1h a ToA (temperatura ambiente), sob agitação a cada 10min. Como controle, os eluatos foram também diluídos com RPMI (mesma diluição). Os eluatos diluídos (com IVIg e RPMI) foram então retestados para a presença de AACE por citometria de fluxo utilizando a linhagem EAHy.926 como fonte antigênica.

Análise Estatística

Para análise estatística, foi empregado o Teste de Wilcoxon Sinalizado. A significância estatística foi atribuída para valores de p inferior a 0,05 ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Análise histopatológica das biópsias renais

Das 11 biópsias renais reclassificadas, quatro foram biópsias percutâneas e sete de rins nefrectomizados. Nas biópsias percutâneas, um caso foi diagnosticado como Banff IIA, um como Banff III, um como trombose de veia renal e em um caso não foi possível a classificação devido à extensa necrose do parênquima.. Nas biópsias de rins nefrectomizados, dois casos também não foram classificados devido à necrose total do parênquima, três foram classificados como Banff III, um como Banff IIB e um como rejeição crônica II (CAN II, *Chronic Allograft Nephropathy* II) (Tabela A). Em um caso não foi possível obter o resultado da análise histopatológica por esta ter sido realizada em outro centro.

Pesquisa de anticorpos anti-HLA contra os antígenos HLA do doador

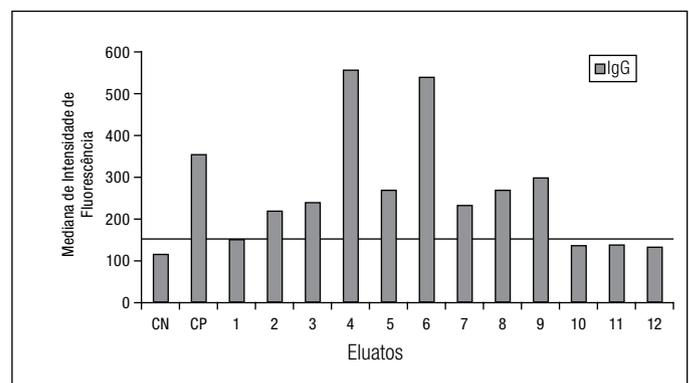
A pesquisa de anticorpos anti-HLA doador-específicos foi realizada através de provas-cruzadas contra linfócitos T, linfócitos T+AGH e linfócitos B, utilizando as amostras de soro pré-transplante para confirmação de resultados, pré-rejeição e pós-nefrectomia, bem como os eluatos renais.

Nenhuma das amostras (soros e eluatos) foi positiva nas provas-cruzadas, indicando ausência de anticorpos anti-HLA doador-específicos.

Pesquisa de anticorpos anti-célula endotelial em eluatos renais

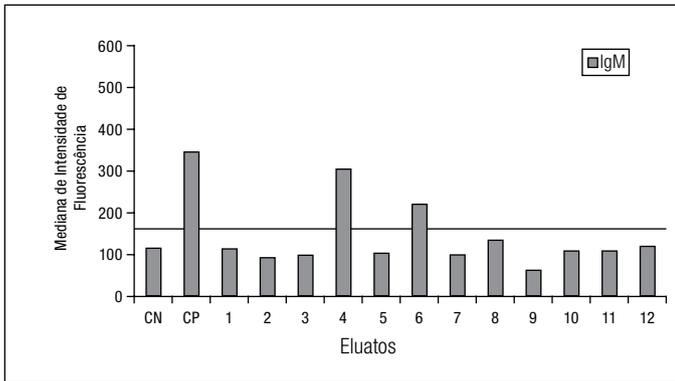
Dos 12 eluatos analisados, nove (75%) foram positivos para presença de AACE do isotipo IgG (eluatos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9) (Figura 1), sendo que nos eluatos 4 e 6, além de IgG foram também detectados anticorpos do isotipo IgM (Figura 2).

Figura 1. Pesquisa de anticorpos anti-célula endotelial isotipo IgG nos eluatos renais por citometria de fluxo. Foi utilizado conjugado anti-IgG-FITC e como fonte de célula endotelial a linhagem EAHy.926. Foram consideradas positivas MIF acima de 148.



MIF: mediana de intensidade de fluorescência; CN: controle negativo; CP: controle positivo.

Figura 2. Pesquisa de anticorpos anti-célula endotelial isotipo IgM nos eluatos renais por citometria de fluxo. Foi utilizado conjugado anti IgM-PE e como fonte de célula endotelial a linhagem EAHy.926 Foram consideradas positivas MIF acima 153 para anticorpos do isotipo IgM.



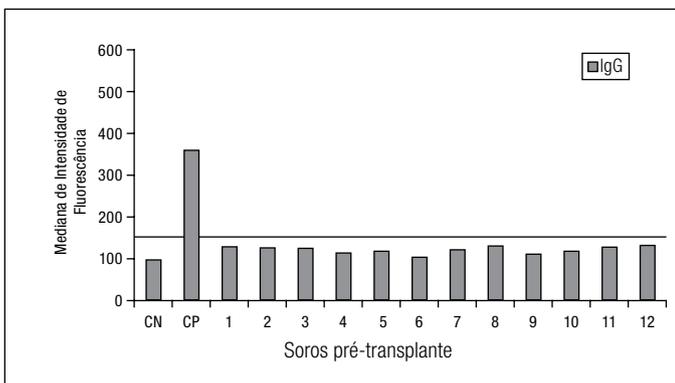
MIF: mediana de intensidade de fluorescência; CN: controle negativo; CP: controle positivo.

Pesquisa de anticorpos anti-célula endotelial no soro pré-transplante e pré-rejeição

Foram analisados um total de 16 soros: 12 pré-transplante, quatro pré-rejeição (amostras 1, 2, 3 e 9) para verificar a presença de anticorpos do isotipo IgG e/ou IgM. Essa pesquisa foi realizada por citometria de fluxo utilizando como fonte antigênica a linhagem EAHy.926.

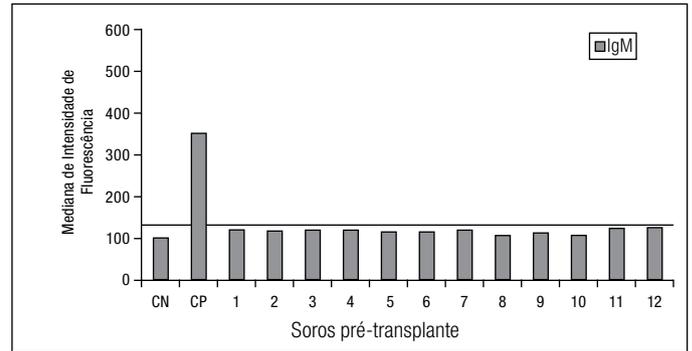
Nenhum dos soros pré-transplante foi positivo para anticorpos IgG (Figura 3) e/ou IgM (Figura 4) contra a linhagem endotelial. Já, três dos quatro soros pré-rejeição (75%), foram positivos para anticorpos do isotipo IgG (Figura 5), sendo um deles com positividade limítrofe, porém, nenhum dos soros foi positivo para anticorpos do isotipo IgM (Figura 6).

Figura 3. Pesquisa de anticorpos anti-célula endotelial do isotipo IgG em amostras de soros pré-transplante por citometria de fluxo. Foi utilizado conjugado anti-IgG-FITC e como fonte de célula endotelial a linhagem EAHy.926. Foram consideradas positivas MIF acima de 136.



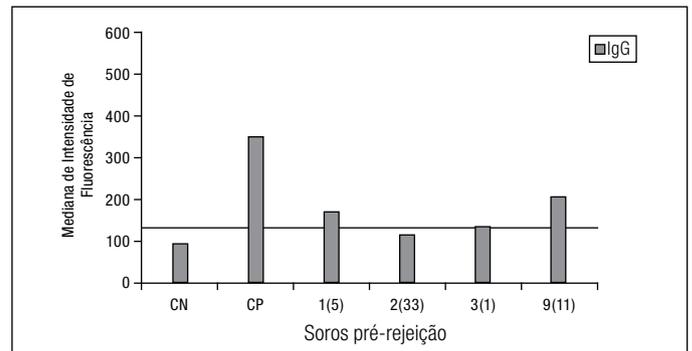
MIF: mediana de intensidade de fluorescência; CN: controle negativo; CP: controle positivo.

Figura 4. Pesquisa de anticorpos anti-célula endotelial do isotipo IgM em amostras de soros pré-transplante por citometria de fluxo. Foi utilizado conjugado anti IgM-PE e como fonte de célula endotelial a linhagem EAHy.926. Foram consideradas positivas MIF acima de 128.



MIF: mediana de intensidade de fluorescência; CN: controle negativo; CP: controle positivo.

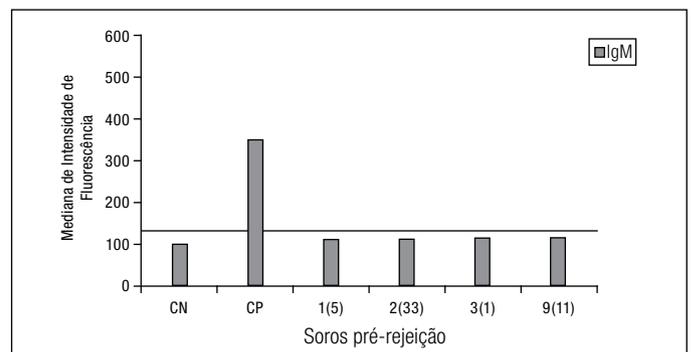
Figura 5. Pesquisa de anticorpos anti-célula endotelial do isotipo IgG em amostras de soros pré-rejeição por citometria de fluxo. Foi utilizado conjugado anti-IgG-FITC e como fonte de célula endotelial a linhagem EAHy.926. Foram consideradas positivas MIF acima de 136.



MIF: mediana de intensidade de fluorescência; CN: controle negativo; CP: controle positivo.

() : dias antes do diagnóstico de rejeição.

Figura 6. Pesquisa de anticorpos anti-célula endotelial do isotipo IgM em amostras de soros pré-rejeição por citometria de fluxo. Foi utilizado conjugado anti-IgM-PE e como fonte de célula endotelial a linhagem EAHy.926. Foram consideradas positivas MIF acima de 128.



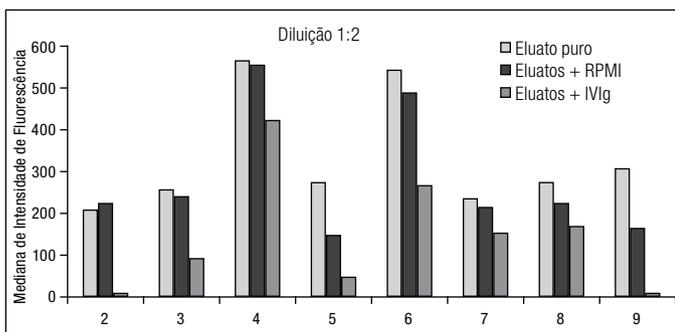
MIF: mediana de intensidade de fluorescência; CN: controle negativo; CP: controle positivo.

() : dias antes do diagnóstico de rejeição.

Efeito da IVIg no bloqueio dos anticorpos anti-célula endotelial

Para verificar *in vitro* o efeito da IVIg sobre os anticorpos anti-célula endotelial, foi realizada prova-cruzada por citometria de fluxo dos eluatos que foram positivos contra a linhagem EAHy.926 (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9). Para tanto, os eluatos foram diluídos em 1:2 com IVIg (50mg/ml final) e RPMI (como controle). Posteriormente, os eluatos e a linhagem EAHy.926 foram incubados por 1h a 37°C. Em todos os oito casos houve significância estatística quando comparados com a diluição 1:2 com IVIg e RPMI ($p < 0,012$) (Figura 7), demonstrando que a IVIg tem a capacidade de bloquear a ligação dos AACE na célula-alvo.

Figura 7. Análise por citometria de fluxo do bloqueio *in vitro* dos anticorpos anti-célula endotelial presentes nos eluatos renais com o uso da IVIg. Como diluente controle foi utilizado RPMI.



DISCUSSÃO

Apesar dos avanços alcançados ao longo destes anos no que diz respeito aos métodos de detecção de anticorpos anti-HLA e ao desenvolvimento de drogas imunossupressoras cada vez mais eficazes e menos nefrotóxicas, o transplante renal ainda é confrontado com problemas de rejeição imunológica. De acordo com a literatura, cerca de 5-8% dos enxertos renais são perdidos nos dois primeiros meses pós-transplante por mecanismos mediados por anticorpos não detectados pelo teste de citotoxicidade dependente de complemento convencional e nem por técnicas mais sensíveis.^{24,25}

Frente à ocorrência de perda precoce do enxerto renal entre irmãos HLA idênticos e até entre gêmeos com prova-cruzada negativa contra linfócitos, avançou-se na hipótese do envolvimento de outros antígenos não-HLA atuando no processo de rejeição,^{26,27} dentre os quais se destaca o sistema endotelial.

Uma das linhas de pesquisa de nosso laboratório foi direcionada ao estudo de resposta humoral contra antígenos de sistemas secundários que pudessem interferir no enxerto, principalmente os do sistema endotelial.

Estudo inicial desenvolvido em nosso centro demonstrou que pode ocorrer rejeição vascular irreversível em pacientes que receberam enxertos provenientes de irmãos gêmeos HLA idênticos com prova cruzada negativa.²⁸ Outro estudo realizado por nosso grupo⁷ pesquisou o envolvimento de anticorpos anti-célula endotelial em 22 eluatos provenientes de enxertos nefrectomizados após perda da função renal causada por rejeição irreversível. Em oito dos nove (88,8%) eluatos provenientes dos enxertos de pacientes com rejeição vascular foram detectados anticorpos do isotipo IgM, que

se ligavam às células endoteliais humanas. Portanto, não foram detectados anticorpos anti-células endoteliais nos 13 eluatos perdidos por outros tipos de rejeição.

No presente trabalho foram estudadas amostras de soros dos 12 pacientes que perderam seus enxertos nos primeiros três meses pós-transplante, sendo que 11 foram perdidos por rejeição humoral e um por trombose venosa. Para verificar a presença de anticorpos anti-HLA doador-específicos em soros pré-transplante - para confirmação de resultados prévios, pré-rejeição e pós-nefrectomia, bem como nos eluatos renais, foi realizada prova cruzada contra linfócitos T, T + AGH e linfócitos B. Nenhuma das amostras (soros e eluatos) foi positiva nas provas-cruzadas, indicando ausência de anticorpos anti-HLA doador-específicos e, portanto, o provável envolvimento daqueles anticorpos na perda dos enxertos.

Em nove dos 12 eluatos (75%) foi detectada forte reatividade contra as células EAHy926, sugerindo claramente o envolvimento de AACE na perda dos enxertos. Nos nove eluatos positivos (1-9), os anticorpos eram do isotipo IgG, sendo que em dois deles (4 e 6) houve participação de AACE do isotipo IgM.

A predominância de anticorpos do isotipo IgG está de acordo com outros estudos associados com rejeição renal.²⁹⁻³² No entanto, outros grupos,³³ incluindo o nosso, mostraram predomínio de anticorpos do isotipo IgM.

O fato de detectar AACE em eluatos de enxertos com duração de apenas dois dias (caso 6, transplante com doador vivo irmão HLA idêntico) permite elaborar uma hipótese sobre a proposta de Le Bas-Bernadet *et al*³⁴ pelo menos alguns AACE são anticorpos IgM naturais pré-existentes a baixos títulos. Com o contato antigênico após o transplante, pode ocorrer rápido desenvolvimento de anticorpos IgG a alto título, específicos para os antígenos das células endoteliais do enxerto. Com a falta de contato antigênico após a retirada do enxerto, os níveis dos AACE IgG voltam a cair, justificando assim o restrito número de soro pós-nefrectomia reativo contra EAHy926 encontrado. Em apenas três casos foram detectados AACE, sendo que em dois houve coincidência com a reatividade dos respectivos eluatos. Os resultados obtidos com as amostras de soro pré-transplante - todos negativos para AACE - também reforçam a nossa hipótese.

Um dado importante deste estudo foi a possível detecção de AACE em três das quatro (75%) amostras de soro coletadas um, cinco e 11 dias antes do diagnóstico de rejeição. Vale ressaltar que apenas um soro foi negativo na pesquisa de AACE na pré-rejeição, talvez devido a coleta do soro ter sido muito distante do diagnóstico clínico de rejeição (33 dias). Esse dado é de grande valia, inferindo sobre um possível benefício através do monitoramento de pacientes transplantados para detecção de AACE no pós-transplante, e assim, no futuro, delinear estratégias de prevenção e tratamento das rejeições causadas por esses anticorpos.

Em sete dos nove casos foi possível realizar retrospectivamente a pesquisa de C4d. Todos os casos resultaram negativos, sugerindo a participação de anticorpos não fixadores de complemento.

Investigamos também neste trabalho a possibilidade de uma estratégia de prevenção ou reversão de rejeição causada por AACE através de um teste *in vitro* para verificar o potencial efeito da IVIg sobre aqueles anticorpos.

Para verificar *in vitro* o efeito da inibição da IVIg sobre anticorpos anti-célula endotelial foi realizada prova-cruzada por citometria de fluxo com eluatos previamente diluídos com IVIg e RPMI, como controle.

Os eluatos positivos contra a linhagem EAHy.926 (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9) foram testados por citometria de fluxo com ou sem adição da IVIg, para verificar sua capacidade de bloquear a ligação dos anticorpos anti-célula endotelial na célula-alvo. Em todos os oito casos, a adição de IVIg *in vitro* levou a uma forte diminuição da ligação dos anticorpos com a célula-alvo. Esses dados são os primeiros relatos na literatura, mostrando o efeito inibidor da IVIg *in vitro* sobre a ligação dos AACE com a célula-alvo. A mais provável causa dessa inibição é a presença de anticorpos antiidiotipo na formulação da IVIg. Em todos os oito casos houve significância estatística quando foram comparadas as diluições com IVIg e RPMI, ($p < 0,012$), demonstrando que a IVIg tem capacidade de bloquear a ligação dos AACE na célula-alvo. Para a análise estatística foi empregado o Teste de Wilcoxon Sinalizado. A significância estatística foi atribuída para valores de p inferiores a 0,05 ($p < 0,05$).

Os dados deste trabalho sugerem que é possível detectar os AACE pelo menos antes do diagnóstico de rejeição, e que o uso de IVIg poderá ser eficaz no tratamento de rejeição causada por esses anticorpos, se os excelentes resultados obtidos *in vitro* forem confirmados *in vivo*.

CONCLUSÕES

Os dados deste trabalho confirmam os achados dos estudos precedentes sobre uma provável participação de AACE na rejeição humoral com perda de enxerto.

É possível detectar esses anticorpos dias antes do diagnóstico clínico da rejeição, avançando a possibilidade de um monitoramento imunológico no pós-transplante para detecção de AACE. Esse monitoramento poderia ser de grande importância para o diagnóstico da rejeição humoral causada por esses anticorpos. Esse tipo de rejeição é de difícil diagnóstico, considerando que os mesmos não são detectados com provas cruzadas utilizando linfócitos como fonte antigênica, e pelo menos parte deles não ativa o complemento, não permitindo assim o diagnóstico pelo C4d.

Pela primeira vez na Literatura Internacional foi demonstrado que a adição de IVIg leva ao bloqueio dos AACE com a célula-alvo, abrindo a possibilidade de tratamento da rejeição humoral mediada por esses anticorpos.

ABSTRACT

There is increasing evidence that antibodies driven against non-HLA antigens of endothelial cells (AECA) are associated to the transplant rejection. **Purpose:** 1. To assess the presence of AECA in eluates in kidneys lost from non-HLA antibodies mediated rejection; 2. To verify the possibility if those AECA could be detected in the pre-transplant and pre-rejection sera; 3. To verify the potential inhibitory activity of the IVIg on such antibodies. **Methods:** Platelet-absorbed sera and eluates from 12 renal allografts were tested by flow cytometry against the endothelial/epithelial hybridoma cell line EAHy.926. Positive eluates were then tested with or without the addition of an intravenous polyvalent immunoglobulin preparation (IVIg). **Results:** The absence of anti-HLA antibodies against the donor was ascertained at the transplant, at rejection, and before and after the transplantectomy by negativity of the cross matches performed using the most sensitive techniques. Antibodies from nine eluates bound to EAHy.926. In seven out of nine cases, the C4d deposition was not found. These AECA were not detected in the pre-transplant sera. However, 2 out of 4 pre-rejection sera were positive for AECA, and one showed a borderline reactivity. In 9 cases, the addition of IVIg led to a strong decrease of AECA the binding. **Conclusion:** These data showed that AECA may be associated to humoral rejection. The detection of such antibodies in pre-rejection sera opens the possibility of a new immune monitoring. The use of IVIg to block the binding of such antibodies to the target cells can thus offer a potential therapy for humoral rejections.

Keywords: Graft Rejection; Endothelial Cells, Antibodies, Kidney Transplantation

REFERÊNCIAS

- Valujskikh A, Heeger PS. Emerging roles of endothelial cells in transplant rejection. *Curr Opin Immunol.* 2003;5:493-8.
- Rose ML. Endothelial cells as antigen-presenting cells: role in human transplant rejection. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 1998;54:965-78.
- Carpenter CB. Transplant rejection in HLA identical recipients. *Kidney int.* 1978;14:283-91.
- Cerilli GL, Clarke J, Abrams A, Brasile L. Overview; significance of vascular endothelial cell antigen. *Transplantation proceedings.* 1987;19:4468-70.
- Moraes JR, Stastny P. A new antigens system expressed human endothelial cells. *J Clin Invest.* 1977;60:449-54
- Yard B, Gerritse MS, Claas F, Thorogood J, Bruijn JA, Paape ME, et al. The clinical significance of allospecific antibodies against endothelial cells detected with an antibody-dependent cellular cytotoxicity assay for vascular rejection and graft loss after renal transplantation. *Transplantation.* 1993;55:1287-93.
- Lucchiari N, N. Panajotopoulos, C. Xu, H. Rodrigues, L.E. Ianhez, J. Kalil, et al., Antibodies eluted from acutely rejected renal allografts bind to and activate human endothelial cells. *Hum Immunol.* 2000;61(5):518-27.
- Mohanakumar T, Joyce S, Flye MW. Characterization of kidney cell-specific, non-major histocompatibility complex alloantigen using antibodies eluted from rejected human renal allografts. *Transplantation.* 1988;46:362-9.
- Dunn MJ, Crisp S J, Rose ML et al. Anti-endothelial antibodies and coronary artery disease after transplantation. *Lancet.* 1992;339:1566-70
- Sacks SH, Chowdhury P, Zhou W. Role of the complement system in rejection. *Curr Opin Immunol.* 2003;15(5):487-92. Review
- Rocha PN, Plumb TJ, Crowley SD, Coffman TM. Mechanisms in allograft rejection. *Immunol Rev.* 2003;196:51-64
- Nickeleit V, Mihatsch MJ. Kidney transplants, antibodies and rejection: is C4d a magic marker? *Nephrol Dial Transplant.* 2003 Nov;18(11):2232-9
- Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G, Burkhardt K, Weiss M, Riethmuller G, et al. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney international.* 1993 Jun;43(6):1333-8.

14. Herzenber AM, Gill JS, Djurdjev O, Magil AB. C4d deposition in acute rejection: an independent long-term prognostic factor. *J Am Soc Nephrol.* 2002 Jan;13(1):234-41.
15. Glotz D, Lucchiari N, Pegaz-Fiornet B, Suberbielle-Boissel C. Endothelial cells as targets of allograft rejection. *Transplantation.* 2006 Jul;15;82(1 Suppl):S19-21.
16. Glotz D, Antoine C, Julia P, Pegaz-Fiornet B, Duboust A, Boudjeltia S, et al. Intravenous immunoglobulins and transplantation for patients with anti-HLA antibodies. *Transpl Int.* 2004 Jan;17(1):1-8.
17. Kazatchkine MD, Kaveri SV. Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin. *The New England journal of medicine.* 2001 Sep 6;345(10):747-55.
18. Ronda N, Kaveri SV, Kazatchkine MD. Treatment of autoimmune diseases with normal immunoglobulin through manipulation of the idiotypic network. *Clinical and experimental immunology.* 1993 Sep;93 Suppl 1:14-5.
19. Toyoda M, Zhang X, Petrosian A, Galera OA, Wang SJ, Jordan SC. Modulation of immunoglobulin production and cytokine mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells by intravenous immunoglobulin. *Journal of clinical immunology.* 1994 May;14(3):178-89.
20. Glotz D, Antoine C, Duboust A. Antidonator antibodies and transplantation: how to deal with them before and after transplantation. *Transplantation.* 2005 Feb 15;79(3 Suppl):S30-2.
21. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloram PF, Campbell PM, et al. Antibody Mediated Rejection Criteria - an Addition to the Banff 97 Classification of Renal Allograft Rejection. *Am J Transplantation.* 2003;3:708-14.
22. Claas FHJ, Paul LC, van ES LA, van Rood JJ. Antibodies against donor antigens on endothelial cells and monocytes in eluates of rejected kidney allografts. *Tissue.* 1980;15(1):19-24.
23. Edgell CJS, McDonald CC, Graham JB. Permanent cell line expressing human factor VII-related antigen established by hybridisation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1983;80:3734-7.
24. Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Mauyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, et al. Acute humoral rejection rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation.* 2001 Mar 15;71(5):652-8.
25. Gupta RK, Nampoory MR, Johnny KV, Costandi JN, Nair MP, Francis I, et al. Successful therapy of acute vascular rejection with combined plasma-exchange and monoclonal antibody. *Transplantation proceedings.* 2001 Aug;33(5):2770-3.
26. Suberbielle-Boissel C, Legendre C, Kssentini M, Kreis H, Charron D, Raffoux C. Anti-endothelial and epithelial antibodies in renal transplantation. *Transplantation proceedings.* 1998 Sep;30(6):2852.
27. Sumitran-Karuppan S, Tyden G, Reinholdt F, Berg U, Moller E. Hyperacute rejections of two consecutive renal allografts and early loss of the third transplant caused by non-HLA antibodies specific for endothelial cells. *Transplant immunology.* 1997 Dec;5(4):321-7.
28. Kalil J, Guilherme L, Neumann J, Rosales C, Marin M, Saldanha L, et al. Humoral rejection in two HLA identical living related donor kidney transplants. *Transplantation proceedings.* 1989 Feb;21(1 Pt 1):711-3.
29. Jordan SC, Yap HK, Sakai RS, Alfonso P, Fitchman M. Hyperacute allograft rejection mediated by anti-vascular endothelial cell antibodies with a negative monocyte crossmatch. *Transplantation.* 1988 Oct;46(4):585-7.
30. Ferry BL, Welsh KI, Dunn MJ, Law D, Proctor J, Chapel H, et al. Anti-cell surface endothelial antibodies in sera from cardiac and kidney transplant recipients: association with chronic rejection. *Transplant immunology.* 1997 Mar;5(1): 17-24.
31. Mathew JM, Joyce S, Lawrence W, Mohanakumar T. Evidence that antibodies eluted from rejected kidneys of HLA-identical transplants define a non-MHC alloantigen expressed on human kidneys. *Transplantation.* 1991 Sep;52(3):559-62.
32. Perrey C, Brenchley PEC, Johnson RWG and Martin S. An association between antibodies specific for endothelial cells and renal transplant failure. *Transplant Immunology.* 1998;6:101-6.
33. Crisp SJ, Dunn MJ, Rose ML, Barbir M, Yacoub MH. Antiendothelial antibodies after heart transplantation: the accelerating factor in transplant-associated coronary artery disease? *J Heart Lung Transplant.* 1994 Jan-Feb;13(1 Pt 1):81-91;discussion-2.
34. Bas-Bernard, Hourmant M, Coupel S, Bignon JD, Soullilou JP, Charreau B. Non-HLA-type endothelial cell reactive alloantibodies in pre-transplant sera of kidney recipients trigger apoptosis. *Am J Transplantation.* 2003;3:167-77.

ISOLATED PANCREATIC TRANSPLANTATION IN A BRAZILIAN CENTRE

Transplante isolado de pâncreas em um centro brasileiro

João Eduardo Nicoluzzi^{1,2}, Fábio Silveira¹, Fábio Porto¹, Matheus Macri²

ABSTRACT

Purpose. Simultaneous pancreas-kidney transplantation (SPK) is an accepted treatment for patients with type 1 diabetes mellitus and end-stage renal disease. Modern immunosuppression and biopsy techniques have improved the success of pancreas alone (PA) transplantations to the point where the outcome is now equivalent to that of SPK. **Methods.** From 120 pancreas transplants at Angelina Caron Hospital since 2001, 12 were PA transplants. **Results.** Patient and graft survival rates at 1 year were respectively 83 % and 75 %. Two patients died due to sepsis in the first and second month after surgery, both with functioning grafts. One graft was lost due to venous thrombosis during the first transplant week. Patient survival rate was 100 % at hospital discharge. **Conclusion.** The present report describes our data with PA transplantation with fine results for a limited experience in such transplantation modality.

Keywords: Pancreas Transplantation; Transplantation; Pancreas.

INTRODUCTION

Simultaneous pancreas-kidney transplantation (SPK) is an accepted treatment for patients with type 1 diabetes mellitus and end-stage renal disease. Both the American Diabetes Association and the American Society of Transplant Surgeons have approved pancreas transplantation as an acceptable alternative to exogenous insulin therapy in this setting.^{1,2} Modern immunosuppression and biopsy techniques have improved the success of pancreas alone (PA) transplantations to the point where the outcome is now equivalent to that of SPK.³ The favorable results allowed extending the limits for recommending PA transplant. With its higher success rates, it began being offered to patients at an earlier stage of secondary chronic complications resulting from diabetes mellitus, in an attempt to improve the quality of life and to modify the natural course of the disease.⁴

In Brazil there are only 4 centers performing PA transplantation. The present paper aims to report the experience on PA transplantation at Angelina Caron Hospital, Brazil.

PATIENTS AND METHODS

Population of the study. From 120 pancreas transplants at Angelina Caron hospital since 2001, 12 were PA transplants, performed between August 1, 2003 and February 24, 2007. These 12 transplants are the aim of this analysis. All of these patients had at least two chronic complications of diabetes, being the most frequent labile type 1 diabetes mellitus.

All of these 12 patients were first transplants. There were 8 female and 4 male recipients. The mean age at the diagnosis of diabetes was

Instituições:

¹ Departamento de Cirurgia da Santa Casa de Misericórdia de Curitiba, Paraná, Brasil.

² Departamento de Cirurgia do Hospital Angelina Caron, Campina Grande do Sul, Paraná, Brasil

Correspondência:

Dr. João Eduardo Nicoluzzi

Santo Amaro, 118 – CEP: 80620-330 – Curitiba / PR – Brasil

Tel.: (41) 3264-6719

E-mail: jenicoluzz@yahoo.com

Recebido em: 03.03.2008

Aceito em: 31.03.2008

13±7 years; the mean duration of the disease was 20±8 years. The mean age at transplantation was 35±8 years (range, 23-49 years).

The method to manage the pancreas exocrine secretions was bladder drainage in all recipients.

Immunosuppression. Thymoglobulin (0.5 mg per kg of body weight) was used as induction therapy in a 7-day course. Tacrolimus (0.1 to 0.2 mg/kg) was divided in two doses; mycophenolate mofetil (2g/day) was divided in 2 to 4 doses, and prednisone was also employed in all cases. The tacrolimus levels were adjusted to achieve whole blood levels of 8-12 ng/ml for the first 6 months and 5-10 ng/ml thereafter.

Rejection diagnosis and treatment. Rejection has been defined by a 25% or more decrease in the urinary amylase levels from the baseline in two consecutive measurements or by diagnosis from a biopsy. Pancreas rejection episodes were treated with a 7-day course of anti-T-cell therapy.

RESULTS

Patient and graft survival. The patient and graft survival rates at 1 year were respectively 83 % and 75 %. Two patients died due to sepsis in the first and second post-surgery month, both with functioning grafts.

One graft was lost due to venous thrombosis during the first post-transplant week. Patient survival rate was 100 % at the hospital discharge.

Percutaneous transplant biopsy was liberally used to improve the accuracy of rejection episodes. Among 9 PA patients (two were excluded due to death and 1 for presenting early thrombosis), 4 of them had a pancreas biopsy performed respectively 6 months after the transplantation in three patients and 9 months in one of them due to a persistent hyperamylasemia and hypoamilasuria, and 3 showed rejection requiring rejection treatment. It was found moderate rejection in those patients with arterial endothelitis or vasculitis. The pancreas rejection episodes were treated with a 7-day course of anti-T-cell therapy. No graft was lost due to rejection. All patients with functioning grafts were insulin-independent, with

no glucose dietary restriction and with significant improvement on their quality of life.

DISCUSSION

In the beginning, SPK transplantation was considered controversial, but since late 1980s, it has become a widely accepted and applied treatment option for selected uremic patients with diabetes, since remarkable progress has been achieved in the field of PA transplantation over the last few years. The high success rates now attained are due to the contribution of the new immunosuppressive regimens employed and more aggressive rejection diagnosis methods. In the end of the last decade, some centers already reported PA and SPK graft survival rates between 85 and 90% at the end of the first year.³

Opponents of the PA transplantation have argued that its long-term impact on secondary complications is not quite clear. Most pancreas recipients undergo a SPK when they experience secondary complications in far advanced stage. Even so, the diabetic neuropathy improves or stabilizes most of the pancreas recipients;⁵ the high incidence of sudden death among patients with autonomic neuropathies is also reduced after the transplantation.⁶

In contrast, the impact of the pancreas transplant on nephropathy and retinopathy is controversial. Diabetic neuropathy tends to stabilize in pancreas recipients with long-term functioning grafts, but the progression of advanced retinopathy does not change in the first 3 after-transplant years.⁷ Serial biopsies of the native kidney after a successful PA showed slight progression of diabetic neuropathy at 5 years.^{8,9} However, recent data shows that 10 years after a successful PA transplant, the diabetic neuropathy seems to improve.¹⁰

CONCLUSION

The present report describes our data on PA transplantation presenting fine results as initial experience. We expect that such transplant modality becomes an effective treatment in our country for very selected type 1 diabetic patients with secondary complications of the disease.

RESUMO

Objetivo. O transplante simultâneo de pâncreas-rim é um tratamento aceito para diabéticos do tipo 1 com insuficiência renal crônica. As drogas imunossupressoras atuais aliadas à biópsia do enxerto melhoraram o resultado do transplante pancreático solitário, a um ponto similar ao transplante simultâneo de rim-pâncreas. **Métodos.** De 120 transplantes pancreáticos realizados no Hospital Angelina Caron desde 2001, 12 foram transplantes solitários. **Resultados.** As sobrevidas após um ano de paciente e enxerto foram respectivamente 83% e de 75%. Dois pacientes morreram de sepsis no primeiro e segundo mês pós-cirurgia, ambos com enxertos funcionantes. Um enxerto foi perdido por trombose venosa ainda na primeira semana pós-transplante. A sobrevida dos pacientes foi de 100% até a alta hospitalar. **Conclusão.** O presente estudo descreve nossos resultados no transplante isolado de pâncreas com resultados satisfatórios para uma experiência ainda limitada nessa modalidade de transplante pancreático.

Descritores: Transplante de Pâncreas; Transplante; Pâncreas.

REFERENCES

1. American Diabetes Association Position Statement. Pancreas transplantation for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1993;16:21.
2. Sutherland DER. Medicare coverage: pancreas transplantation Chimera 1991;3:27.
3. Barlett ST, Schweitzer EJ, Johnson et al: Equivalent success of simultaneous pancreas kidney and solitary pancreas transplantation. *Ann Surg*. 1996;224:440.
4. Gruessner RWG, Sutherland DER, Najarian JS, et al. Solitary pancreas transplantation for nonuremic patients with labile insulin-dependent diabetes mellitus. *Transplantation*. 1997;64:1572.
5. Kennedy WR, Navarro X, Goetz FC, et al. Effects of pancreatic transplantation on diabetes neuropathy. *N Engl J Med*. 1990;322:1031.
6. Navarro X, Kennedy WR, Sutherland DER. Autonomic neuropathy and survival in diabetes mellitus: effects of pancreas transplantation. *Diabetologia* 1991;34: S108.
7. Ramsay RC, Goetz FC, Sutherland DER, et al. Progression of diabetic retinopathy after pancreas transplantation for insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1988;318:208.
8. Bilious RW, Mauer SM, Sutherland DER, et al. The effects of pancreas transplantation on the glomerular structure of renal allografts in patients with insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med*. 1989;321:80.
9. Fioretto P, Mauer SM, Bilious RW, et al. Effects of pancreas transplantation on glomerular structure in insulin-dependent diabetic patients with their own kidneys. *Lancet*. 1993;342:1193.
10. Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DER, et al. Successful pancreas transplantation alone reverses established lesions of diabetic nephropathy in man. *Am Soc Nephrol*. 1997;8:111A.

Potência através do equilíbrio.

Eficaz na redução do
risco de rejeição aguda,¹⁻⁵
e na diminuição da
incidência de CAV,^{*2-5}

mesmo em
combinação com
doses reduzidas
de **CNI**^{†1}

†Comparado com azatioprina.
*CAV = vasculopatia do enxerto cardíaco.

A confiança de alcançar o equilíbrio correto.

- Certican® e dose reduzida de CNI é eficaz na redução do risco de rejeição aguda¹
- Certican® é eficaz na diminuição da incidência de CAV*†2



Embalagens com 60 comprimidos:
0,50 mg, 0,75 mg e 1,0 mg

Embalagens com 60 comprimidos dispersíveis:
0,10 mg e 0,25 mg

*CAV = vasculopatia do enxerto cardíaco. †Comparado com azatioprina. **Certican®, everolimo:** Formas farmacêuticas e apresentações: Comprimidos de 0,5 mg, 0,75 mg ou 1,0 mg; comprimidos dispersíveis de 0,1 mg ou 0,25 mg. Caixas com 60 comprimidos. Indicações: Profilaxia da rejeição de órgãos em pacientes adultos com risco imunológico baixo a moderado recebendo transplante alógeno renal ou cardíaco. Certican® deve ser utilizado em combinação com ciclosporina para microemulsão e corticosteróide. Posologia: O tratamento com Certican® deve ser iniciado e mantido apenas por médicos experientes na terapêutica imunossupressora após transplante de órgãos. Adultos: Para pacientes de transplante renal e cardíaco é recomendado um regime posológico inicial de 0,75 mg 2 vezes ao dia, administrado o mais rápido possível após o transplante. A dose diária deve ser administrada em duas doses divididas, de forma constante tanto com ou sem alimentos, concomitantemente com a ciclosporina para microemulsão. Pacientes negros podem requerer uma dose maior de Certican® para alcançar uma eficácia semelhante à dos pacientes não-negros. Monitorização terapêutica: É recomendado o monitoramento rotineiro das concentrações terapêuticas do fármaco no sangue. Baseado em análises de exposição-eficácia e exposição-segurança, pacientes que alcançaram concentrações sanguíneas de vale para everolimo 3,0 ng/mL apresentaram uma menor incidência de rejeição aguda confirmada por biópsia, tanto para transplante renal como cardíaco, comparado aos pacientes que apresentaram níveis menores que 3 ng/mL. O limite superior recomendado para faixa terapêutica é 8 ng/mL. Recomendação de doses de ciclosporina no transplante renal: A exposição reduzida à ciclosporina em pacientes de transplante renal tratados com everolimo está associada a uma melhor função renal. A diminuição da ciclosporina pode ser baseada nas concentrações sanguíneas de ciclosporina medidas 2 horas após a administração da dose (C₂). Recomendação de dose de ciclosporina no transplante cardíaco: A dose de ciclosporina para microemulsão deve ser baseada nos níveis sanguíneos de vale de ciclosporina; pacientes no período de manutenção devem ter a dose de ciclosporina para microemulsão reduzida, de acordo com a tolerabilidade, para melhorar a função renal. Ver informações completas sobre o produto. Contra-indicações: Certican® está contra-indicado em pacientes com hipersensibilidade conhecida ao everolimo, sirolimo ou a qualquer um dos excipientes do produto. Advertências e precauções: Não é recomendada a co-administração com fortes inibidores 3A4 (por exemplo, cetoconazol) e indutores (por exemplo, rifampicina) a menos que os benefícios superem os possíveis riscos. Pacientes recebendo regime de medicamentos imunossupressores, incluindo Certican®, estão sob maior risco de desenvolver linfomas e outras malignidades, particularmente da pele. Em função da pouca experiência clínica com agentes imunossupressores desta categoria (everolimo e sirolimo), métodos contraceptivos devem ser utilizados para pacientes de ambos os sexos até que informações mais conclusivas possam ser obtidas. A superimunossupressão predispõe a infecções especialmente a patógenos oportunistas. O uso de Certican® com ciclosporina para microemulsão em pacientes de transplante foi associado ao aumento do colesterol e triglicérides séricos, o que pode requerer tratamento. Pacientes recebendo Certican® devem ser monitorizados para hiperlipidemia e, se necessário, tratados com agentes redutores de lipídeos e devem ser feitos ajustes para uma dieta apropriada (ver informações completas sobre o produto). Gravidez e lactação: Certican® enquadra-se na categoria C de risco na gravidez. Os dados sobre o uso de Certican® em mulheres grávidas não são adequados. Certican® deve apenas ser administrado em mulheres grávidas se o benefício potencial exceder o risco potencial para o feto. Mulheres com potencial de engravidar devem ser orientadas para utilizar método contraceptivo adequado, enquanto estiverem recebendo everolimo, mantendo-o por até 8 semanas após o término do tratamento. Não se sabe se o everolimo é excretado no leite humano. Portanto mulheres que estejam tomando Certican® não devem amamentar. Interações medicamentosas e outras formas de interação: Ciclosporina (inibidor da CYP3A4/PgP): a biodisponibilidade do everolimo foi aumentada significativamente pela co-administração de ciclosporina. Rifampicina (indutor da CYP3A4): o pré-tratamento de voluntários saudáveis com dose múltipla de rifampicina seguida de uma dose única de Certican® elevou o clearance de everolimo em aproximadamente 3 vezes e diminuiu a C_{max} em 58% e a AUC em 63%. Os pacientes devem ser monitorizados para o desenvolvimento de rabdomiólise e outros eventos adversos. Outras interações possíveis: inibidores do CYP3A4 podem elevar os níveis sanguíneos de everolimo (por ex. agentes antifúngicos: fluconazol, cetoconazol, itraconazol; antibióticos macrolídeos: claritromicina, eritromicina, telitromicina; bloqueadores de canal de cálcio: verapamil, nifedipino; outras substâncias: cisaprida, metoclopramida, bromocriptina, cimetidina, danazol, inibidores de HIV-proteases). Indutores da CYP3A4 podem aumentar o metabolismo de everolimo e reduzir os níveis sanguíneos de everolimo (por ex. erva de São João (Hypericum perforatum), anticonvulsivantes: carbamazepina, fenobarbital, fenitoina, antibióticos: rifabutina. Vacinação: imunossupressores podem afetar a resposta a vacinações e durante o tratamento com Certican® estas podem ser menos eficazes. Vacinas com vírus vivos devem ser evitadas. Reações adversas: Leucopenia, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, hipertriglicidemia, infecções virais, bacterianas e fúngicas, sepsis, trombocitopenia, anemia, cosgagulopatia, púrpura trombocitopênica trombótica, síndrome urêmica hemolítica, hipertensão, linfocite, tromboembolismo venoso, pneumonia, dor abdominal, diarreia, náusea, vômito, acne, complicações de ferimentos cirúrgicos, infecção no trato urinário, edema, dor. Superdosagem: Relatos de experiências com superdosagem humana são muito limitados. Venda sob prescrição médica. Informações completas para prescrição disponíveis à classe médica mediante solicitação. Informações adicionais estão disponíveis mediante solicitação ao Departamento Médico da Novartis. Reg. M.S.: 1.0068.0959. **Referências:** 1. Lehmkühl H, Maid D, Dandezm, et al. Observational Study With Everolimus (Certican) in Combination With Low-dose Cyclosporine in De Novo Heart Transplant Recipients. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26:700-4. 2. Viganò M, Tuzi M, Benza R et al. Prevention of acute rejection and allograft vasculopathy by everolimus in cardiac transplant recipients: a 24-month analysis. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26: 594-92. 3. Eisen H. Long-term cardiovascular risk in transplantation – insights from the use of everolimus in heart transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(Suppl 3): iii9-iii13. 4. Eisen HJ, Tuzi EM, Dorent R et al. Everolimus for the prevention of allograft rejection and vasculopathy in cardiac-transplant recipients. *N Engl J Med* 2005; 349: 847-58. 5. Hummel M. Recommendations for use of Certican [Everolimus] after heart transplantation: results from a German and Austrian consensus conference. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: S196-200. **Materia de uso exclusivo do representante Novartis, destinado à classe médica.**

CUIDADOS DE ENFERMAGEM NA ADMINISTRAÇÃO DE MEDICAMENTOS IMUNOSSUPRESSORES NO TRANSPLANTE DE FÍGADO: REVISÃO DA LITERATURA

Nursing care on immunosuppressive drugs administration on liver transplantation: literature review

Karina Dal Sasso-Mendes, Renata Cristina de Campos Pereira Silveira, Patrícia Abrahão Curvo, Cristina Maria Galvão

RESUMO

Objetivo: Buscar as evidências disponíveis na literatura sobre a administração de medicamentos imunossupressores, com enfoque no cuidado de enfermagem no transplante de fígado. **Método:** A revisão integrativa da literatura foi o método de pesquisa utilizado. Para a realização da busca eletrônica, foi utilizada a Internet para acessar as bases de dados MEDLINE e CINAHL. Os descritores utilizados foram: agentes imunossupressores, cuidados de enfermagem e transplante de fígado. Os critérios de inclusão dos artigos selecionados foram: artigos que retratam a administração de medicamentos imunossupressores no transplante de fígado publicados no período de 1988 a 2008 e artigos no idioma inglês, português e espanhol. Foi selecionada uma amostra final de oito artigos. **Resultados:** Além da administração dos medicamentos, a enfermagem é responsável pela monitorização dos resultados, prevenção de complicações e ensino aos pacientes sobre o uso de imunossupressores. A ciclosporina e o tacrolimus são indicados como tratamento profilático da rejeição de órgãos transplantados e no tratamento da rejeição crônica. **Conclusão:** A administração de medicamentos no transplante de fígado envolve não somente a administração dos fármacos em si, mas também um processo de educação em saúde, que permite aos pacientes e familiares a implementação correta da terapia medicamentosa no domicílio com o menor risco possível.

Descritores: Cuidados de Enfermagem; Transplante de Fígado, Imunossupressores.

INTRODUÇÃO

A administração de medicamentos é uma das importantes funções que os enfermeiros envolvidos em programas de transplante de fígado realizam no período perioperatório. Envolve não somente a administração dos fármacos em si, mas também um processo de educação em saúde, que permite aos pacientes e seus familiares a implementação correta da terapia medicamentosa no domicílio com o menor risco possível, principalmente em relação à administração de imunossupressores.¹

Um dos fatores que permitiu um aumento da expectativa de vida após o transplante de fígado foi o surgimento de medicamentos imunossupressores no combate à rejeição do órgão transplantado, tais como a ciclosporina e o tacrolimus, amplamente utilizados no mundo. Desse modo, é de suma importância que os enfermeiros que realizam cuidados de enfermagem em programas de transplantes de fígado tenham o conhecimento sobre a indicação, mecanismos de ação, vantagens e desvantagens, vias de administração, efeitos colaterais e cuidados necessários, quanto ao uso dessa terapêutica.^{2,3}

Desse modo, o objetivo do presente estudo foi buscar as evidências disponíveis na literatura sobre a administração de medicamentos imunossupressores, com enfoque no cuidado de enfermagem no transplante de fígado.

Instituição:

Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo / Centro Colaborador da Organização Mundial da Saúde para o desenvolvimento da pesquisa em enfermagem – Ribeirão Preto / SP – Brasil

Correspondência:

Karina Dal Sasso Mendes
Avenida Bandeirantes, 3900 – Monte Alegre – CEP 14040-90 – Ribeirão Preto / SP – Brasil
Fone: (16) 3602 3467 Fone/Fax: (16) 3610 8543
E-mail: dalsasso@eerp.usp.br

Recebido em: 28.10.2007

Aceito em: 03.03.2008

MÉTODO

Para a elaboração da revisão integrativa foram percorridas as seguintes etapas: identificação do tema, amostragem ou busca na literatura, extração dos dados dos estudos incluídos, avaliação dos estudos, interpretação dos resultados e a síntese do conhecimento ou apresentação da revisão integrativa.^{4,5}

A pergunta norteadora da revisão consistiu em: quais os cuidados de enfermagem na administração de fármacos imunossupressores no transplante de fígado?

Para a seleção dos artigos incluídos na revisão foi utilizada a internet, para acessar as bases de dados on-line: Medical Literature Analysis and Retrieval System (MEDLINE) e Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature (CINAHL), por meio das palavras-chave: cuidados de enfermagem, transplante de fígado e imunossupressores. Para reduzir os vieses durante a busca dos artigos foram utilizadas as palavras-chave contempladas no Medical Subject Headings (MeSH) e na List of Topical Subheadings do CINAHL Information Systems.

Os critérios de inclusão determinados foram: artigos que retratam o cuidado de enfermagem na administração de imunossupressores no transplante de fígado, publicados no período de 1988 a 2008 nos idiomas português, inglês e espanhol. Realizamos a leitura do título e do resumo dos 19 artigos identificados frente à pergunta norteadora e os critérios de inclusão adotados e selecionamos uma amostra final de oito artigos que foram analisados na íntegra. A extração dos dados dos artigos foi feita com o auxílio de um instrumento de coleta de dados elaborado pelos autores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 1972, a ciclosporina foi extraída do fungo *Tolypocladium inflatum* Gams, mas só foi liberada para uso clínico a partir de 1983. É indicada como profilaxia para rejeição de órgãos transplantados (principalmente fígado, rins e coração) e para o tratamento da rejeição. Em 1994, o tacrolimos (também chamado Prograf ou FK 5506) recebeu aprovação do *Food and Drug Administration* (FDA) para ser utilizado comercialmente para o tratamento da rejeição no transplante de fígado. Foi extraído do fungo *Streptomyces isukubaensis*, existente unicamente no Japão. Ambos os medicamentos são combinados com corticosteróides.^{3,6,7}

O mecanismo de ação da ciclosporina e o do tacrolimos são semelhantes e envolvem a inibição da ativação das células T, que é reversível com a descontinuidade do uso do imunossupressor. Quando ciclosporina ou tacrolimos está presente, ela atravessa a membrana plasmática das células T e se liga aos receptores citoplasmáticos. O complexo resultante receptor-ligante é um potente inibidor de calcineurina. Essa inibição da calcineurina previne a ativação das células T e a transcrição dos genes responsáveis pela mobilização do sistema imune para rejeição de órgãos.^{3,7}

A ciclosporina pode ser administrada pelas vias endovenosa (EV) e oral. Quando administrada EV, deve ser diluída com solução salina ou de dextrose antes de sua administração. A solução oral pode ser misturada com leite ou suco de frutas, imediatamente antes de ser administrada. Os principais efeitos colaterais são hirsutismo, tremores, prejuízo da função renal, prejuízo da função hepática, hipertensão, hipercalemia, distúrbios gastrintestinais, retenção de líquidos e hiperplasia gengival. Sua absorção no intestino é dependente da presença de bile; desse modo, pacientes que

realizaram reconstrução biliar apresentam com frequência uma diminuição da absorção da ciclosporina oral.⁷

O tacrolimos também está disponível para administração oral e EV. O efeito colateral mais comum associado ao seu uso é o tremor de extremidades; outros efeitos colaterais frequentemente observados são: necrose arterial, prejuízos dos rins e fígado, e indução ao estado diabético. Tal medicamento não está associado com hiperplasia gengival e hirsutismo. Quando ingerido com alimentos, apresenta diminuição de sua absorção no intestino.^{3,7,8}

A administração EV da ciclosporina e do tacrolimos deve ser supervisionada pelo enfermeiro. Esses medicamentos podem ser diluídos em solução salina estéril ou solução de dextrose 5%. Nos primeiros 30 minutos da infusão e em intervalos subsequentes, o enfermeiro deve avaliar sinais e sintomas de anafilaxia. A solução oral da ciclosporina não pode ser refrigerada e deve ser utilizada dentro de dois meses, após aberto o frasco. Alguns pacientes não suportam o sabor da ciclosporina (base de óleo de oliva), podendo assim ser diluída em bebidas, tais como leite, leite com chocolate e suco de frutas cítricas. Entretanto, deve ser evitada sua diluição com suco de abacaxi e de mamão, já que ambos contêm enzimas proteolíticas que podem interferir na absorção dos fármacos. O uso com suco de toranja (uma fruta comum nos EUA) pode aumentar as concentrações de ciclosporina no sangue. Outra recomendação é sua administração em copos de vidro, para prevenir a aderência do medicamento na superfície (o que é comum em caso de uso de copos de material plástico). Nesse caso, deve-se colocar primeiro o diluente (suco), depois a ciclosporina, e misturar imediatamente.^{2,3,6,7}

Outra solução oral disponível são as cápsulas gelatinosas de ciclosporina. Sua vantagem é a fácil administração, uma vez que não é necessário manipular a dosagem do medicamento. Apresenta maior palatabilidade, evita perda de tempo em diluições e é mais fácil de ser aceita pelos pacientes. As cápsulas só devem ser retiradas da embalagem individual imediatamente antes do uso, a fim de manter a estabilidade do princípio ativo. Elas devem ser administradas em intervalos regulares de tempo, uma vez que alimentos interferem na absorção da droga no estômago. Sua absorção pelos pacientes transplantados de fígado é menor, devido à diminuição da produção de bile no pós-operatório. Diferente da ciclosporina, a ingestão oral de cápsulas de tacrolimos não necessita desses cuidados para sua correta administração.^{2,7}

O enfermeiro deve ser cauteloso na administração de ciclosporina e de tacrolimos, principalmente quando precisar administrar também outras drogas nefrotóxicas (como anfotericina B, aminoglicosídeos ou cisplatina), a fim de prevenir complicações renais. Quando for necessária a substituição de imunossupressores (por exemplo, tacrolimos pela ciclosporina), deve ser dado um intervalo de 24 horas para administrar o novo fármaco para prevenir o agravamento da nefrotoxicidade.^{2,7}

Além desses aspectos, o enfermeiro deve estar atento ao uso de medicamentos que possam aumentar os níveis séricos da ciclosporina e do tacrolimos. Tais medicamentos incluem o verapamil, nicardipina, miconazole, quetoconazol, fluconazol, cimetidina, eritromicina, metilprednisona, diltiazem e metoclopramide. Esses medicamentos competem com os imunossupressores, por se ligarem a sítios do intestino que levam à diminuição do metabolismo, e, conseqüentemente, ao aumento da absorção dos imunossupressores. Em contrapartida, os medicamentos que podem diminuir os níveis sanguíneos da ciclosporina e do tacrolimos incluem o fenobarbital,

a fenitoína, a rifampicina e a carbamazepina. Isso ocorre porque tais drogas afetam o sistema do citocromo P-450.⁷

O enfermeiro atua na monitorização dos níveis séricos dos agentes imunossupressores, uma vez que é a equipe de enfermagem que realiza a administração dos medicamentos e a coleta de sangue para análise laboratorial. Tal informação é essencial para prevenir a rejeição e a toxicidade pelas drogas, já que permite o ajuste da dose pela equipe médica. No caso da ciclosporina, a coleta de sangue pode ser realizada duas horas após a administração da dose, sendo a melhor maneira de se avaliar os níveis da droga no sangue.^{2,7} Vale ressaltar que os protocolos de administração de medicamentos imunossupressores variam entre os diferentes centros transplantadores.

No que se refere aos efeitos colaterais decorrentes do uso desses medicamentos, o enfermeiro deve observar sinais e sintomas indicativos de complicações em casos específicos, como abaixo:

- **insuficiência renal:** observar alterações dos níveis de uréia e creatinina no sangue; avaliar as características da diurese, como coloração, presença de hematuria e disúria; observar sinais e sintomas de hipercalemia, que incluem fraqueza muscular, depressão do miocárdio, mudanças do eletrocardiograma, cólicas abdominais e diarreia;
- **rejeição do enxerto:** observar temperatura (febre > 38,3° C sem fonte de infecção); quando o dreno de Kher estiver presente, observar diminuição do débito de bile e alterações de suas características: perda de apetite; desconforto abdominal; fadiga; fezes esbranquiçadas; urina escurecida (cor de chá); presença de artralhas e mialgias; presença ou aumento de ascite; elevação das enzimas hepáticas (bilirrubinas, alanina aminotransferase ou ALT, aspartato aminotransferase ou AST e fosfatase alcalina); preparar o paciente para a realização de uma biópsia hepática, preparar o paciente para re-transplante de urgência, caso ocorra rejeição grave;
- **hiperplasia gengival:** observar presença de alterações na mucosa oral; orientar o paciente a realizar uma boa higiene oral com uso de fio dental e escovação com cerdas macias; encaminhar o paciente para avaliação no dentista para remoção de placa bacteriana; orientar quanto ao uso de antibiótico profilático, antes de qualquer tratamento dentário, conforme prescrição médica (devido ao estado de imunodepressão).⁷

Devido à complexidade relacionada aos cuidados necessários aos pacientes submetidos a transplante de fígado, os estudiosos reforçam a necessidade de prioridades de ensino quanto ao uso de imunossupressores. O enfermeiro deve informar os pacientes sobre os seguintes aspectos: a o descontinuidade do uso de

imunossupressores sem consultar seu médico, a importância de ir às consultas médicas, observação de sinais e sintomas de rejeição, monitoramento diário da pressão arterial, monitoramento dos sinais e sintomas de hipercalemia (fraqueza muscular, dor abdominal, diarreia, náuseas, taquicardia), monitorar sinais e sintomas de hipomagnesemia (fraqueza muscular, constipação, íleo paralítico e arritmias cardíacas), evitar a administração de vacinas de vírus vivo, não engravidar e não amamentar durante o uso de agentes imunossupressores, evitar exposição a agentes carcinogênicos conhecidos (sol, cigarro, fumaça, dentre outros), devido ao aumento do risco de desenvolver câncer, manter uma rotina de exames ginecológicos e gastroenterológicos frequentes.^{2, 6, 7, 9}

O uso de medicamentos imunossupressores é vital para o sucesso do transplante de fígado. Estima-se que mais de 80% dos pacientes desenvolvem algum tipo de rejeição ao longo do período pós-transplante, seja aguda ou crônica. A forma mais comum de ocorrência é a aguda, que se manifesta de sete a dez dias após a cirurgia. A forma crônica pode se desenvolver de meses a anos após o transplante. A chave para o tratamento da rejeição é o reconhecimento precoce dos sinais e sintomas e iniciar o tratamento medicamentoso o mais cedo possível.

A combinação da biópsia hepática e dos resultados de exames laboratoriais é a forma mais efetiva para seu diagnóstico. A necessidade de um re-transplante devido a um quadro de rejeição que não responda ao tratamento ocorre em 5% dos casos.¹⁰ Uma situação passível de ocorrer relacionada ao uso de medicamentos imunossupressores é a não-adesão dos pacientes ao tratamento. Em 1997 foi publicada uma revisão da literatura que buscou artigos discutindo a adesão de pacientes transplantados aos medicamentos. No que se refere ao transplante de fígado, os autores encontraram que a não-adesão não é frequente nesses pacientes. Entretanto, ressaltam os fatores de risco para ela, tais como: histórico de abuso de substâncias, idade menor que 30 anos, problemas sociais e econômicos, além de depressão e referem que todos esses fatores estavam relacionados à perda do enxerto por não-adesão. Em pacientes transplantados com histórico de alcoolismo, a recidiva do vício no pós-operatório também está relacionada com a não adesão ao tratamento.¹¹

CONCLUSÕES

A administração de medicamentos no transplante de fígado envolve não somente a administração dos fármacos em si, mas, também um processo de educação em saúde, que permite aos pacientes e familiares a implementação correta da terapia medicamentosa no domicílio com o menor risco possível.

ABSTRACT

Purpose: Searching for evidences available in the literature concerning the immunosuppressive drugs administration, focusing particularly the nursing care in liver transplantation. **Methods:** The integrant literature review was the research method used for this study. The internet was employed in order to conduct the electronic search on the MEDLINE and CINAHL databases. The keywords employed were: immunosuppressive agents, nursing care and liver transplantation. Inclusion criteria for selection of articles included studies dealing with immunosuppressive drugs administration on liver transplantation published between 1988 and 2008, in the English, Spanish and Portuguese languages. A sample of eight scientific papers was selected. **Results:** In addition to drugs administration, the nurse is responsible for the results monitoring, prevention of complications, and patient education regarding the immunosuppressive intake. Cyclosporine and tacrolimus are indicated as prophylactic treatment against rejection of transplanted organs and for chronic rejection treatment. **Conclusion:** Drugs

administration in liver transplantation is more than the sole drugs administration, but also a health education process, that allows to patients and their families the adequate implementation of a harmless in-home pharmacological therapy.

Keywords: Nursing Care; Liver Transplantation; Immunosuppressive Agents.

REFERÊNCIAS

1. Smeltzer CS, Bare BG. Histórico e tratamento de pacientes com distúrbios hepáticos. In: Smeltzer CS, Bare BG, editors. *Brunner & Suddarth, tratado de enfermagem médico-cirúrgica*. 10a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 1136-87.
2. O'Donnell M, Parmenter KL. Transplant medications. *Crit Care Nurs Clin North Am*. 1996;8(3):253-71.
3. Shaefer M, Williams L. Nursing implications of immunosuppression in transplantation. *Nurs Clin North Am*. 1991; 26(2):291-314.
4. Broome ME. Integrative literature reviews for the development of concepts. In: Rodgers BL, Knaf K, editors. *Concept development in nursing: foundations, techniques and applications*. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000. p. 231-50.
5. Whittemore R, Knaf K. The integrative review: updated methodology. *J Adv Nurs*. 2005;52(5):546-53.
6. Giuliano KK, Sims TW. Transplant issues: infections and immunosuppressant drugs. *Dimens Crit Care Nurs*. 1999; 18(2):16-9.
7. Shultz SL, Meriney DK. Cyclosporine and tacrolimus: a comparison of immunosuppressants used for liver transplantation. *Dimens Crit Care Nurs*. 1996;15(4):187-97.
8. Taylor RM, Parke A, Day H. Immunosuppression for solid organ transplantation in children. *Paediatr Nurs*. 2004;16(2):39-43.
9. Armenti VT, Moritz MJ, Davison JM. Drug safety issues in pregnancy following transplantation and immunosuppression: effects and outcomes. *Drug Saf*. 1998;19(3):219-32.
10. Sheets L. Liver transplantation. *Nurs Clin North Am*. 1989; 24(4):881-9.
11. Wainwright SP, Gold D. Non-adherence with medications in organ transplant patients: a literature review. *J Adv Nursing*. 1997;26(5):968-77.

EXPERIÊNCIA INICIAL EM TRANSPLANTE DE INTESTINO DELGADO EM HOSPITAL ESCOLA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO.

Report on the initial experience in small bowel transplantation at São José do Rio Preto Medical School Hospital

Renato Ferreira da Silva¹, Andréia Cristina de Paula¹, Paulo César Arroyo Júnior¹, Adriano Miziara Gonzales², Julio Sérgio Marchine³, William José Duca¹, Márcia Fumiê Rocha¹, Helen de Felício¹, Mario Abbud-Filho⁴ e Rita de Cássia da Silva¹

RESUMO

Falência intestinal é a incapacidade do indivíduo de manter seu suporte nutricional e hidroeletrólítico por via digestiva. É decorrente de grandes enterectomias ou de doenças onde o intestino é incapaz de absorver adequadamente fluidos e nutrientes. Pacientes com falência intestinal associada à síndrome do intestino curto, outras doenças funcionais com má absorção e complicações da nutrição parenteral total (sepsis de repetição e trombose de um ou mais acessos venosos profundos) são candidatos a transplante de intestino delgado, que pode ser isolado, associado ao de fígado ou multivisceral.

Em nossa instituição, foram realizados três transplantes de intestino delgado isolado, que serão relatados neste artigo para descrever nossa experiência inicial nessa modalidade de transplante.

Descritores: Intestino Delgado; Síndrome do Intestino Curto; Transplante de Órgãos.

INTRODUÇÃO

A incapacidade do indivíduo em manter seu suporte nutricional e hidroeletrólítico por via digestiva é denominada falência intestinal.¹ É fator determinante na síndrome do intestino curto (SIC), que ocorre quando, congenitamente ou após cirurgias, o paciente tem menos de 200 cm de intestino delgado.^{2,3} A SIC é caracterizada por perda ponderal, desnutrição, esteatorréia e diarreia ácida. Pode estar associada à colelitíase, nefrolitíase e hipersecreção ácida gástrica. Entre as causas de SIC destacam-se: extensas enterectomias devido à trombose ou embolia da artéria mesentérica, doença de Crohn, volvo intestinal, trauma, enterocolite necrotizante, gastrosquise, tumores intestinais (desmóide, gastrinoma e polipose familiar), absorção intestinal insuficiente e neuropatias viscerais.³

Pacientes com SIC e falência intestinal são candidatos à nutrição parenteral total – NPT.² Nos EUA existem 30.000 pessoas dependentes de NPT, e estima-se que de 2 a 3/1.000.000 de habitante/ano, apresentarão falência intestinal.¹

O transplante de intestino delgado (TID) é o tratamento de escolha para pacientes com SIC que desenvolvem complicações decorrentes da NPT crônica como: infecções dos cateteres venosos centrais e sepsis de repetição, bem como trombose de um ou mais acessos venosos profundos.^{1,4-6} Tais morbidades, associadas à baixa qualidade de vida, internações frequentes ou permanentes, distúrbios psiquiátricos e custo elevado do tratamento respondem por mortalidade de 5 a 25% ao ano.⁷⁻¹¹

Existem três categorias de transplante de intestino delgado: isolado, associado ao fígado e multivisceral. A seleção do doador é baseada

Instituições:

¹ Unidade de Cirurgia do Fígado e Transplantes Gastrointestinais do Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FUNFARME/FAMERP – São José do Rio Preto / SP – Brasil

² Serviço de Transplante do Aparelho Digestivo do Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo / SP – Brasil

³ Divisão de Nutrologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo – USP / Ribeirão Preto / SP – Brasil

⁴ Centro de Transplantes de Órgãos e Tecidos – CINTRANS da Faculdade Medicina de São José do Rio Preto – FUNFARME/FAMERP – São José do Rio Preto / SP – Brasil

Correspondência:

Prof. Dr. Renato Ferreira da Silva.

Unidade de Cirurgia do Fígado e Transplantes Gastrointestinais do Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FUNFARME/FAMERP.

Av. Brigadeiro Faria Lima, 5416 – CEP: 15090-090 – São José do Rio Preto / SP – Brasil

Fone: (17) 3201 5000

E-mail: renatofsbr@gmail.com / wjduca@ig.com.br

Recebido em: 25.02.2008

Aceito em: 24.03.2008

na compatibilidade ABO, peso e sorologia para citomegalovírus (CMV). Opta-se preferencialmente por doador CMV negativo, para evitar riscos de CMV grave e persistente no receptor.¹

De acordo com o Registro Internacional de Transplantes Intestinais, foram realizados mais de 1000 transplantes no mundo com boa função do enxerto, restabelecimento da nutrição enteral e melhor qualidade de vida do receptor, além de evidenciar que a morbimortalidade atual é semelhante a da NPT permanente.^{1,12}

Os primeiros relatos de realização do transplante de intestino em caráter experimental datam de 1959, quando Lillehei e col. publicaram o sucesso da retirada, preservação e reinserção do intestino em cães. Em 1968, no Boston Floating Hospital, Deterling e Fisher realizaram os dois primeiros transplantes de intestino delgado isolado do mundo, mas com óbito dos receptores. Okumura e col. realizaram em 1968 os dois primeiros transplantes de intestino delgado no Brasil, mas os receptores evoluíram a óbito. No ano de 2000, na Santa Casa de São Paulo, Iasi e Soler realizaram o primeiro transplante pediátrico do país em uma criança de dois anos, e obtiveram sobrevida de 100 dias.^{13,14} Em nossa instituição, foram realizados três transplantes intestinais, sendo o primeiro em 2004.

No presente artigo, será descrita nossa experiência inicial com transplante de intestino delgado isolado, através dos relatos dos três casos.

RELATOS DE CASOS

CASO 1

Paciente MLP, sexo feminino, 34 anos, foi submetida em 2001 a parto por cesariana devido a óbito fetal, quando foi constatada extensa necrose intestinal acometendo desde a terceira porção duodenal até o cólon transverso. O diagnóstico de Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide foi estabelecido, baseado na tríade: positividade do anticorpo anticardiolipina, óbito fetal e trombose mesentérica. A paciente permaneceu em NPT permanente, e apresentou complicações graves como: infecções de corrente sanguínea, dois episódios de endocardite e trombose de dois acessos venosos profundos. A avaliação pré-operatória foi normal, exceto pelo achado de esteatose hepática macrogoticular grau IV, evidenciada na biópsia hepática e avaliação nutricional evidenciando desnutrição calórica grave e protéica moderada, com índice de massa corporal (IMC) de 15,7 Kg/m². Foi submetida a transplante de intestino delgado isolado em 26 de maio de 2004, evoluindo no pós-operatório sem intercorrências. A terapêutica imunossupressora endovenosa foi realizada com basiliximab, inibidor de calcineurina (tacrolimus) e corticóide. No quinto dia pós-operatório foi realizada colonoscopia com magnificação, que mostrou motilidade intestinal normal e alargamento das vilosidades intestinais em áreas circunscritas, com eritema moderado. Foram realizadas biópsias nos locais com eritema, e o exame anatomopatológico evidenciou rejeição leve.

Foram ajustadas as doses dos imunossupressores, e o nível sérico de tacrolimus estava ideal (29 ng/dL). Após o exame, a paciente evoluiu com taquicardia progressiva, seguida de parada cardiorrespiratória. A necropsia indicou infarto agudo do miocárdio como causa da morte.

CASO 2

Paciente JAV, sexo masculino, 66 anos, com diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica, fibrilação atrial crônica, doença pulmonar obstrutiva crônica e depressão. Havia sido submetido em 2005 à ressecção intestinal extensa de intestino delgado, devido à isquemia mesentérica ocasionada por oclusão embólica da artéria mesentérica superior. Restaram apenas 10 cm de jejuno, em jejunostomia terminal, 5 cm de íleo terminal em ileostomia e todo cólon. Evoluiu com SIC, desnutrição protéica – calórica grave, com IMC de 18,1 Kg/m². Era dependente de NPT permanente e desenvolveu complicações dos cateteres venosos centrais, como: sepsis de repetição e trombose de dois acessos venosos profundos. A avaliação pré-operatória foi normal, exceto por disfunção contrátil de ventrículo esquerdo, hipertensão pulmonar discreta e fração de ejeção de 52% no ecocardiograma; colestase moderada, associada à reação portal biliar discreta, siderose acentuada de grau IV, esteatohepatite discreta e esteatose microvesicular grau I na biópsia hepática. Foi submetido a transplante de intestino delgado isolado em 11 de dezembro de 2005, evoluindo com síndrome compartimental abdominal e necessidade de decompressão com peritonostomia no pós-operatório imediato. Mantida terapêutica imunossupressora endovenosa com basiliximab, tacrolimus e corticóide. Apresentou evolução favorável no pós-operatório, tendo sido realizados curativos abdominais e aproximação cirúrgica gradual da parede abdominal a cada dois dias. No quinto pós-operatório, a colonoscopia com magnificação evidenciou motilidade intestinal normal e áreas de hiperemia discreta nas vilosidades, que passaram por biópsia. O exame anatomopatológico mostrou rejeição moderada e a dosagem dos imunossupressores foi ajustada, sendo o nível sérico de tacrolimus elevado (acima de 30 ng/dL). No décimo terceiro pós-operatório evoluiu com choque séptico, sendo suspenso o tacrolimus, retirado o cateter venoso central e realizadas hemoculturas e culturas da ponta do cateter, nas quais cresceram colônias de *Staphylococcus aureus*. Foi introduzida a antibioticoterapia adequada, porém, o paciente evoluiu com disfunção de múltiplos órgãos e óbito no décimo oitavo dia pós-operatório.

CASO 3

O paciente PLA, sexo masculino, 49 anos apresentou isquemia mesentérica em 2004, devido a trombose da artéria mesentérica superior, sendo submetido à ressecção intestinal extensa. Tinha 30 cm de jejuno em todo o cólon, com trânsito alimentar reconstruído. Durante investigação, não foi possível diagnosticar a causa da trombose da artéria mesentérica superior. Era dependente de NPT para suplementar a nutrição enteral. Apresentava diarreia ácida e esteatorrêia, controladas com loperamida. Tinha IMC de 22,7 Kg/m² e desnutrição protéico-calórica leve. Desenvolveu infecções de corrente sanguínea, dois episódios de sepse relacionados ao cateter venoso central e trombose de tronco braquicefálico e dois acessos venosos profundos. Após período sem infecções, foi submetido à colocação de portocath e esquema de NPT hospitalar apenas quatro vezes por semana. A avaliação pré-operatória foi satisfatória, exceto pela biópsia hepática mostrar esteatohepatite discreta com septos porta-porta e fibrose perisinusoidal centro-lobular, estágio estrutural F2 e esteatose macrovesicular discreta grau I. O transplante de intestino delgado foi realizado em 21 de fevereiro de 2006. O paciente evoluiu com isquemia e perda do enxerto no pós-operatório imediato, devido à trombose de artéria mesentérica superior do doador. Houve

sobrevida do receptor, que permaneceu com seu trânsito alimentar reconstruído e evoluiu com readaptação intestinal, sendo necessária NPT hospitalar durante três vezes por semana.

DISCUSSÃO

Recentemente, a United Nation Organ Sharing (UNOS) mostrou que no ano de 2004 foram realizados 145 transplantes de intestino delgado, com 77,4% de função do enxerto após o primeiro ano, e, após cinco anos de transplante, a sobrevivência é inferior a 50%.¹⁵

Em 10% dos pacientes a função do enxerto é parcial, e em 12% o enxerto é removido.¹ As causas mais comuns de remoção do enxerto são rejeição (57%), trombose, isquemia ou sangramento (23%), falência de múltiplos órgãos (4%), linfoma (2%), sepse (1%), e outras (4%). O intestino é extremamente susceptível à isquemia-reperusão, fatores que determinam o sucesso e a sobrevida do enxerto. A agregação plaquetária aumenta após reperusão do enxerto, resultando em alto risco de trombose vascular,¹⁶ como ocorreu no CASO 3, sendo necessária remoção do enxerto.

Outra complicação descrita é a síndrome compartimental abdominal e necessidade de peritonostomia pós-transplante, como relatado no CASO 2. Esse fato ocorre em pacientes com retração da aponeurose abdominal. Na literatura, há opções cirúrgicas como peritonostomia, uso de telas sintéticas ou aproximação apenas da pele. Entretanto, tais alternativas aumentam o risco de infecção ou fístulas, quando ocorre a adesão entre as alças intestinais e as telas sintéticas.¹⁷ Talvez a melhor opção nesse caso fosse a redução do enxerto que permitisse o fechamento do abdome.

Para diagnóstico macroscópico precoce de áreas intestinais sugestivas de rejeição, propiciando um reajuste das drogas imunossupressoras e evitando complicações, a colonoscopia com magnificação é o exame de escolha. Associada à biópsia desses locais, a literatura mostra alto índice de correlação entre macroscopia e resultados anatomopatológicos mostrando rejeição.¹⁸ Os achados descritos nos CASOS 1 e 2 comprovam tal afirmação.

As principais causas de óbito são: sepse (49%), falência de múltiplos órgãos (26%), rejeição (10%), linfoma e complicações técnicas (8%) e outras (4%). Nas fases iniciais pós-transplante há necessidade de manter altos níveis de imunossupressores para evitar a rejeição; porém, pode ocorrer disfunção renal, hipertensão arterial e suscetibilidade a infecções até fatais.¹ A causa de óbito no CASO 2 comprova os resultados da literatura. Já o CASO 1 chama a atenção para a reativação da Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide como uma potencial limitação para o sucesso do transplante intestinal. Não encontramos outro caso de TID na literatura em língua inglesa de paciente com a Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide.

Os três casos relatados apresentaram complicações que confirmam as descritas na literatura. Também reafirmam que, atualmente, o transplante de intestino delgado é uma alternativa real para o tratamento de falência intestinal permanente. Pesquisas para melhorar a terapêutica imunossupressora, prevenção das infecções, aprimoramento da técnica cirúrgica, a seleção adequada dos doadores e receptores são fatores essenciais e vitais para o sucesso e aumento da sobrevida desse transplante.

ABSTRACT

Intestinal failure is the patient's inability to keep his or her hydroelectrolytic and nutritional support by the digestive way, arisen out of massive enterectomy or diseases in which the bowel is unable of appropriately absorb fluids and nutrients. Patients with intestinal failure associated to short bowel syndrome and other functional diseases that present malabsorption and total parenteral nutrition and related complications (recurrent sepsis and thrombosis of one or more deep venous accesses) are candidates for small bowel transplant, which can be an isolated small bowel transplant, a combined liver/small bowel transplant or a multivisceral one.

In our institution, three isolated small bowel transplants were carried out, and they will be reported in this article seeking to describe our initial experience in such transplant.

Keywords: Intestine, Small; Short Bowel Syndrome; Organ Transplantation

REFERÊNCIAS

- Galvão FHF, Waitzberg DL, Bachella T, Gama-Rodrigues J, Machado MCC. Transplante de intestino delgado. *Arq Gastroenterol.* 2003;40:118-25.
- American Gastroenterological Association on Short Bowel Syndrome. *Gastroenterology.* 2003;124:1105-10.
- Kemp R, Correia RB, Sankarankutty AK, Santos JS, Módena JLP, Mente ED, et al. Liver disease associated with intestinal failure in the small bowel syndrome. *Acta Cir Bras.* 2006;21 Supl 1:67-71.
- Pinna AD, Weppler D, Nery J, Ruiz P, Kato T, Khan F, et al. Intestinal transplantation at the University of Miami – five years of experience. *Transplant Proc.* 2000;32:1226-7.
- Beckurts KTE, Stippel D, Scheimer K, Schäfer H, Benz C, Dienes HP, et al. First case of isolated small bowel transplantation at the University Cologne: rejection-free course under quadruple immunosuppression and endoluminal monitoring with video-capsule. *Transplant Proc.* 2004;36:340-2.
- Giraldo M, Martin D, Colangelo J, Bueno J, Reyes J, Fung JJ, et al. Intestinal transplantation for patients with short gut syndrome and hypercoagulable states. *Transplant Proc.* 2000;32:1223-4.
- Abu-Elmagd K, Reyes J, Fung JJ, Mazariegos G, Bueno J, Janov C, et al. Evolution of clinical intestinal transplantation improved outcome and cost effectiveness. *Transplant Proc.* 1999;31:582-4.
- DiMartini A, Rovera GM, Graham TO, Furukawa H, Todo S, Funovita M, et al. Quality of life after small intestinal transplantation and among home parenteral nutrition patients. *JPEN J Parent Enteral Nutr.* 1998;22:357-62.

9. Dionigi P, Alessini M, Ferrazi A. Irreversible intestinal failure, nutrition support, and small bowel transplantation. *Nutrition*. 2001;17:747-50.
10. Galvão FHF, Ye Q, Doughton S, Murase M, Todo S, Waitzberg DL, et al. Experimental animal model of graft-versus host disease (GVHD) after small bowel transplantation: characteristics of the model and application for developing treatment strategies. *Transplant Proc*. 1997;29:700.
11. Howard L, Hassan N. Home parenteral nutrition. 25 years later. *Gastroenterol Clin North Am*. 1998;27:481-512.
12. The Intestinal transplant Registry. <http://www.intestinaltransplant.org>, 2006.
13. Okumura M, Mester M. The coming of age of small bowel transplantation in humans: a historical perspective. *Transplant Proc*. 1992;24:1242.
14. Iasi M, Soler WV, Iasi MSF, Favero SSG, Cordovani NTB, Rittes JC, et al. Transplante de intestino é uma realidade! *J Brás Transpl*. 2001;3:11-3.
15. United Nation Organ Sharing (UNOS). <http://unos.org/data/about/viewdatareports.asp>, 2000-2006.
16. Siniscalchi A, Spedicato S, Lauro A, Pinna AD, Cuchetti A, Dazzi A, et al. Intraoperative coagulation evaluation of ischemia-reperfusion injury in small bowel transplantation: a way to explore. *Transplant Proc*. 2006;38:820-2.
17. Asham E, Ukinis MF, Rastellini C, Elias G, Cicalese L. Acellular dermal matrix provides a good option for abdominal wall closure following small bowel transplantation: a case report. *Transplant Proc*. 2006;38:1770-1.
18. Misra MV, Bhattacharya K, Nompleggi DJ, Uknis ME, Rastellini C, Cicalese L. Magnification Endoscopy as a reliable tool for the early diagnosis of rejection in living related small bowel transplants: a case report. *Transplant Proc*. 2006;38:1738-9.

NEUROARTROPATIA DE CHARCOT APÓS O TRANSPLANTE SIMULTÂNEO DE PÂNCREAS-RIM (TSPR)

Charcot neuroarthropathy after simultaneous pancreas-kidney transplantation (SPKT)

Erika Bevilaqua Rangel¹, Samirah Abreu Gomes¹, João Roberto de Sá², Cláudio Santiago Melaragno¹, Aluizio Carvalho¹, Adriano Miziara Gonzalez³, Marcelo Moura Linhares³, Alcides Salzedas³, José Osmar Medina-Pestana¹

A neuroartropatia de Charcot foi inicialmente descrita na *Tabes Dorsalis*, mas ocorre com mais frequência em pacientes diabéticos. Sua patogênese inclui (a) neuropatia sensorial; perda da sensibilidade levando a micro-fraturas de repetição, (b) neuropatia motora; atrofia e fraqueza muscular que alteram os pontos de pressão nas articulações levando a traumas e úlceras e finalmente (c) neuropatia autonômica; que resultam no aumento do fluxo sanguíneo local com *shunts* artério-venosos e na reabsorção óssea, o que leva, por sua vez, a luxações, sub-luxações e micro-fraturas.^{1,2} O evento desencadeante costuma ser traumático, embora nem sempre reportado pelos pacientes, com acometimento geralmente unilateral. Na fase aguda, o pé encontra-se quente e edemaciado, doloroso ou não, podendo apresentar eritema. Na fase crônica, há deformidade do pé associada ao desabamento do arco plantar, calosidades e úlceras. No nosso centro, observamos incidência de 4,6% de neuroartropatia de Charcot *de novo* no TSPR (mediana: 10 meses), sendo o principal fator de risco a dose cumulativa do corticóide ajustada para o peso nos seis primeiros meses do transplante.³ Relatamos um caso numa paciente de 42 anos com quadro clínico-radiológico após seis meses do TSPR (Figuras 1 e 2). O diagnóstico da neuroartropatia de Charcot é clínico e deve incluir Raio-X (procurar pelas alterações dos “5 D’s”: distensão articular, deslocamento, debris, desorganização e aumento da densidade), cintilografia óssea com tecnécio e/ou ressonância nuclear magnética. O tratamento pode ser clínico (imobilização e medicações que inibem a reabsorção óssea) ou cirúrgico de acordo com a gravidade do quadro.^{1,2,4}

Descritores: Neuroartropatia de Charcot, transplante de pâncreas.

Keywords: Charcot neuroarthropathy, pancreas transplantation.

Figura 1. (Raio-X do pé direito): Edema de partes moles, deslocamento do hálux, fragmentação óssea, colapso e esclerose subcondral das articulações intertarsais.



Instituição:

¹ Disciplina de Nefrologia, Universidade Federal de São Paulo, SP, Brasil

² Disciplina de Endocrinologia, Universidade Federal de São Paulo, SP, Brasil

³ Departamento de Cirurgia, Universidade Federal de São Paulo, SP, Brasil

Correspondência:

Érika B Rangel

Departamento de Nefrologia – Universidade Federal de São Paulo

Rua Botucatu, 740 – CEP: 04023-900 – São Paulo – SP – Brasil

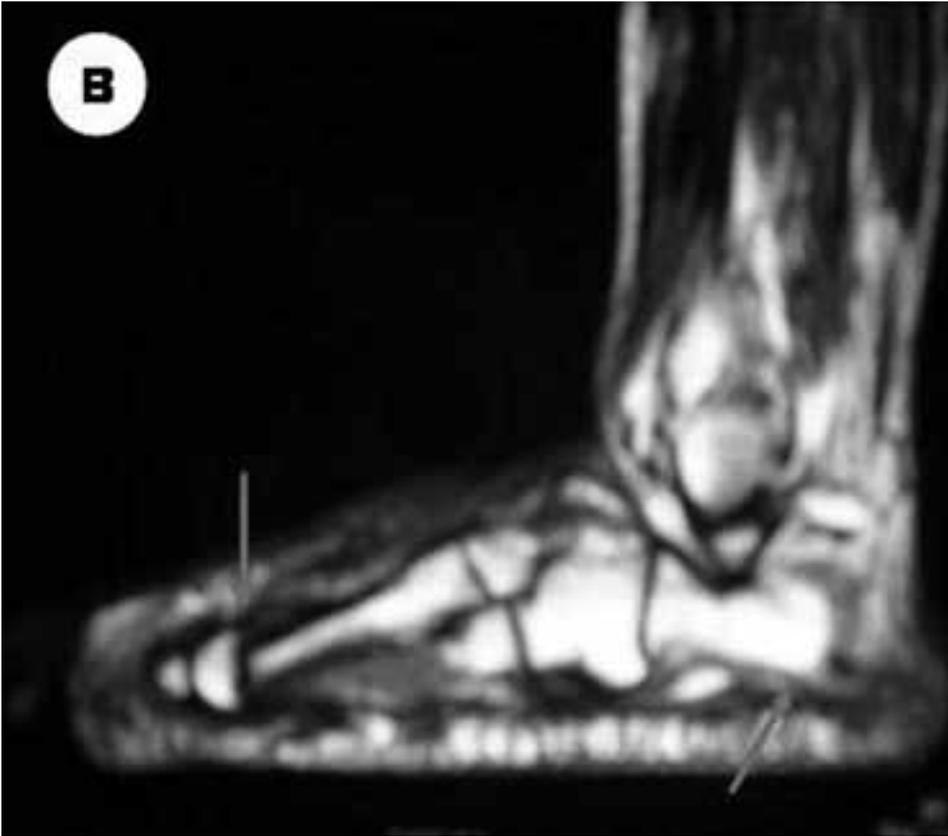
Telefone: (11) 5574 6300 FAX: (11) 5573 9652

E-mail: erikabr@uol.com.br

Recebido em: 29.02.2008

Aceito em: 24.03.2008

Figura 2. (ressonância nuclear magnética do pé direito): fratura metatársica-falangeal associada à fratura e deslocamento do tornozelo



REFERÊNCIAS:

1. Rajbhandari SM, Jenkins RC, Davies C, Tesfaye S. Charcot neuroarthropathy in diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2002;45(8):1085-96.
2. Boulton AJ. The diabetic foot: from art to science. The 18th Camillo Golgi lecture. *Diabetologia*. 2004;47(8):1343-53.
3. Rangel EB, Rocha LA, Carvalho AB, Gonzalez AM, Linhares MM, Sa JR, et al. Bone disease after simultaneous pancreas-kidney transplantation [Presented at ISN Nexus The Bone and The Kidney. 2006. Abstract].
4. Frykberg RG, Mendezsoon E. Management of the diabetic Charcot foot. *Diabetes Metab Res Rev*. 2000; 16 (Suppl 1): S59-65.

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

O JBT - Jornal Brasileiro de Transplantes, ISSN 1678-3387, órgão oficial da ABTO - Associação Brasileira de Transplante de Órgãos, destina-se à publicação de artigos da área de transplante e especialidades afins, escritos em português, inglês ou espanhol.

Os manuscritos submetidos à Revista, que atenderem às "Instruções aos Autores" e estiverem de acordo com a política Editorial da Revista, após aprovação pelo Conselho Editorial, serão encaminhados para análise e avaliação de dois revisores, sendo o anonimato garantido em todo o processo de julgamento. Os comentários serão devolvidos aos autores para as modificações no texto ou justificativas de sua conservação. Somente após aprovação final dos editores e revisores, os trabalhos serão encaminhados para publicação. Serão aceitos Artigos Originais, Artigos de Revisão, Apresentação de Casos Clínicos, Cartas ao Editor, Ciências Básicas Aplicadas aos Transplantes, Opinião Técnica, Prós e Contras, Imagem em Transplante e Literatura Médica e Transplantes.

ARTIGOS ORIGINAIS

São trabalhos destinados à divulgação de resultados da pesquisa científica. Devem ser originais e inéditos. Sua estrutura deverá conter os seguintes itens: Resumo (português e inglês), Introdução, Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências. Devem ter, no máximo, 45 referências.

ARTIGOS DE REVISÃO

Constituem da avaliação crítica e sistemática da literatura sobre um assunto específico, podendo ser: Revisão Acadêmica, Revisão de Casos, Revisões Sistemáticas, etc. O texto deve esclarecer os procedimentos adotados na revisão, a delimitação e os limites do tema, apresentar conclusões e ou recomendações e ter, no máximo, 60 referências.

APRESENTAÇÃO DE CASOS CLÍNICOS

Relata casos de uma determinada doença, descrevendo seus aspectos, história, condutas, etc... incluindo breve revisão da literatura, com 20 referências, no máximo.

CARTAS AO EDITOR

Tem por objetivo discutir trabalhos publicados na revista ou relatar pesquisas originais em andamento. Devem ter, no máximo, três laudas e cinco referências.

CIÊNCIAS BÁSICAS APLICADAS AOS TRANSPLANTES

Artigos de revisão sobre temas de ciência básica, cujo conhecimento tem repercussão clínica relevante para Transplantes. Devem ter, no máximo, dez laudas e 15 referências e serão feitas apenas a convite do JBT.

OPINIÃO TÉCNICA

Destina-se a publicar uma resposta a uma pergunta de cunho prático através de opinião de um especialista (Quem? Quando? Como? Onde? Por quê?). Devem ter, no máximo, seis laudas e apresentarem até quinze referências.

PRÓS E CONTRAS

Frente a uma questão, dois autores serão escolhidos pela editoria do JBT, para discutirem os aspectos positivos e os negativos de um assunto controverso. São dois autores, um escrevendo a favor e o outro contra uma determinada proposição. Cada autor deve escrever no máximo três laudas e cinco referências.

IMAGEM EM TRANSPLANTE

Uma imagem relacionada a Transplante, patognomônica, típica, de US, RX, CT, RNM, foto de cirurgia, microscopia, sinal clínico, etc., seguida de um texto curto, explicativo, com, no máximo, 15 linhas e cinco referências.

LITERATURA MÉDICA E TRANSPLANTES

Um artigo original de qualquer área médica, incluindo transplantes, que seja importante para o conhecimento do médico transplantador, poderá ser revisado, e o resumo do trabalho original será publicado, seguido de um pequeno resumo comentado ressaltando sua importância. O resumo deve ter até duas laudas e apresentar a referência completa do trabalho. Autores serão convidados para esse tipo de publicação, mas poderão ser considerados para publicação no JBT trabalhos enviados sem convites quando considerados relevantes pelos editores.

PONTO DE VISTA

Temas sobre transplantes de órgãos ou tecidos, elaborados por autores da área, convidados pela editoria da revista. Deverão conter 1.200 palavras, no máximo.

As normas que se seguem, devem ser obedecidas para todos os tipos de trabalhos e foram baseadas no formato proposto pelo International Committee of Medical Journal Editors e publicado no artigo: Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Intern Med 1997;126:36-47, e atualizado em outubro de 2001. Disponível no endereço eletrônico: <http://www.icmje.org>

NORMAS PARA ELABORAÇÃO DO MANUSCRITO

Requisitos técnicos

- a) O trabalho deverá ser digitado em espaço duplo, fonte Arial tamanho 12, margem de 2,5 cm de cada lado, com páginas numeradas em algarismos arábicos, na seqüência: página de título, resumos e descritores, texto, agradecimentos, referências, tabelas e legendas. Se impresso, deverá ser enviada uma via, em papel tamanho ISO A4 (212x297mm), mais uma cópia digital (CD-ROM).
- b) Permissão à ABTO para reprodução do material.
- c) Declaração que o manuscrito não foi submetido a outro periódico,
- d) Aprovação de um Comitê de Ética da Instituição onde foi realizado o trabalho, quando referente a trabalhos de pesquisa envolvendo seres humanos.
- e) Termo de responsabilidade do autor pelo conteúdo do trabalho e de conflitos de interesses que possam interferir nos resultados.

Observações:

- 1) Com exceção do item "a", os documentos acima deverão conter a assinatura do primeiro autor, que se responsabiliza pela concordância dos outros co-autores.
- 2) Há em nosso site, modelo de carta para acompanhar os trabalhos, onde já constam as informações referentes aos itens b, c, d, e.

Após as correções sugeridas pelos revisores, a forma definitiva do trabalho deverá ser encaminhada, preferencialmente, por e-mail ou, uma via impressa, acompanhada de CD-ROM. Os originais não serão devolvidos. Somente o JBT-Jornal Brasileiro de Transplantes poderá autorizar a reprodução em outro periódico, dos artigos nele contidos.

PREPARO DO MANUSCRITO

A página inicial deve conter:

- a) Título do artigo, em português (ou espanhol) e inglês, sem abreviaturas; que deverá ser conciso, porém informativo;
- b) Nome de cada autor - sem abreviatura, afiliação institucional e região geográfica (cidade, estado, país);
- c) Nome, endereço completo, telefone e e-mail do autor responsável;
- d) Fontes de auxílio à pesquisa, se houver.

RESUMO E ABSTRACT

Para os artigos originais, os resumos devem ser apresentados no formato estruturado, com até 350 palavras destacando: os objetivos, métodos, resultados

e conclusões. Para as demais seções, o resumo pode ser informativo, porém devendo constar o objetivo, os métodos usados para levantamento das fontes de dados, os critérios de seleção dos trabalhos incluídos, os aspectos mais importantes discutidos, as conclusões e suas aplicações.

Abaixo do resumo e abstract, especificar no mínimo três e no máximo dez descritores (keywords), que definam o assunto do trabalho. Os descritores deverão ser baseados no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) publicado pela Bireme que é uma tradução do MeSH (Medical Subject Headings) da National Library of Medicine e disponível no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br>.

Os resumos em português (ou espanhol) e inglês deverão estar em páginas separadas. Abreviaturas devem ser evitadas.

TEXTO

Iniciando em nova página, o texto deverá obedecer à estrutura exigida para cada tipo de trabalho (vide acima). Com exceção de referências relativas a dados não publicados ou comunicações pessoais, qualquer informação em formato de “notas de rodapé” deverá ser evitada.

AGRADECIMENTOS

Após o texto, em nova página, indicar os agradecimentos às pessoas ou instituições que prestaram colaboração intelectual, auxílio técnico e ou de fomento, e que não figuraram como autor.

REFERÊNCIAS

As referências devem ser numeradas consecutivamente, na mesma ordem em que foram citadas no texto e identificadas com números arábicos, sobrescritos, após a pontuação e sem parênteses.

A apresentação deverá estar baseada no formato denominado “Vancouver Style”, conforme exemplos abaixo, e os títulos de periódicos deverão ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela List of Journal Indexed in Index Medicus, da National Library of Medicine e disponibilizados no endereço:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/linkout/journals/jourlists.cgi?typeid=1&type=journals&operation=Show>

Para todas as referências, cite todos os autores até seis. Acima de seis, cite os seis primeiros, seguidos da expressão et al.

Alguns exemplos:

ARTIGOS DE PERIÓDICOS

Donckier V, Loi P, Closset J, Nagy N, Quertinmont E, Lê Moine O, et al. Preconditioning of donors with interleukin-10 reduces hepatic ischemia-reperfusion injury after liver transplantation in pigs. *Transplantation*. 2003;75:902-4.

Papini H, Santana R, Ajzen, H, Ramos, OL, Pestana, JOM. Alterações metabólicas e nutricionais e orientação dietética para pacientes submetidos a transplante renal. *J Bras Nefrol*. 1996;18:356-68.

RESUMOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS

Raia S, Massarollo PCP, Baia CESB, Fernandes AONG, Lallee MP, Bittencourt P et al. Transplante de fígado “repique”: receptores que também são doadores [resumo]. *JBT J Bras Transpl*. 1998;1:222.

LIVROS

Gayotto LCC, Alves VAF. Doenças do fígado e das vias biliares. São Paulo: Atheneu; 2001.

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

CAPÍTULOS DE LIVROS

Raia S, Massarollo PCB. Doação de órgãos. In: Gayotto LCC, Alves VAF, editores. Doenças do fígado e das vias biliares. São Paulo: Atheneu; 2001. p.1113-20.

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS

Sokal EM, Cleghorn G, Goulet O, Da Silveira TR, McDiarmid S, Whittington P. Liver and intestinal transplantation in children: Working Group Report [Presented at 1^o World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35 Suppl 2:S159-72.

TESES

Couto WJ, Transplante cardíaco e infecção [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2000.

Pestana JOM. Análise de ensaios terapêuticos que convergem para a individualização da imunossupressão no transplante renal [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2001.

DOCUMENTOS ELETRÔNICOS

Matsuyama M, Yoshimura R, Akioka K, Okamoto M, Ushigome H, Kadotani Y, et al. Tissue factor antisense oligonucleotides prevent renal ischemia reperfusion injury. *Transplantation [serial online]* 2003 [cited 2003 Aug 25];76:786-91. Available from: URL: <http://gateway2.ovid.com/ovidweb.cgi>.

HOMEPAGE

Cancer-Pain.org [homepage na Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [atualizada em 2002 May 16; acesso em 2002 Jul 9]. Disponível em: <http://www.cancer-pain.org/>

PARTE DE UMA HOMEPAGE

American Medical Association [homepage na Internet]. Chicago: The Association; c1995-2002 [atualizada em 2001 Aug 23; acesso em 2002 Aug 12]. AMA Office of Group Practice Liaison; [aproximadamente 2 telas]. Disponível em: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

Obs: Dados não publicados, comunicações pessoais, deverão constar apenas em “notas de rodapé”. Trabalhos enviados para a revista devem ser citados como trabalhos no “prelo”, desde que tenham sido aceitos para publicação. Deverão constar na lista de Referências, com a informação: [no prelo] no final da referência, ou [in press] se a referência for internacional.

TABELAS, FIGURAS, E ABREVIATURAS

- Tabelas: Devem ser confeccionadas com espaço duplo. A numeração deve ser seqüencial, em algarismos arábicos, na ordem que foram citadas no texto. Devem ter título, sem abreviatura, e cabeçalho para todas as colunas. No rodapé da tabela deve constar legenda para abreviaturas e testes estatísticos utilizados. Devem ser delimitadas, no alto e embaixo por traços horizontais; não devem ser delimitadas por traços verticais externos e o cabeçalho deve ser delimitado por traço horizontal. Legendas devem ser acompanhadas de seu significado. No máximo, quatro tabelas deverão ser enviadas.

- Figuras: (gráficos, fotografias, ilustrações): As figuras devem ser enviadas no formato JPG ou TIF, com resolução de 300dpi, no mínimo. Ilustrações extraídas de outras publicações deverão vir acompanhadas de autorização por escrito do autor/editor, constando na legenda da ilustração a fonte de onde foi publicada. As figuras deverão ser enviadas em branco e preto.

- Abreviaturas e Siglas: Devem ser precedidas do nome completo quando citadas pela primeira vez. Nas legendas das tabelas e figuras, devem ser acompanhadas de seu significado. Não devem ser usadas no título.

ENVIO DO MANUSCRITO

Os trabalhos devem ser enviados para:
e-mail: abto@abto.org.br

ou

Jornal Brasileiro de Transplantes – JBT
A/C Dr. Mário Abbud Filho
Av. Paulista, 2001, 17^o andar - Cj. 1704/1707
01311-300 – São Paulo – SP
(Tel/Fax.: 011-3283-1753)

Rapamune® (sirolimo) - APRESENTAÇÕES: Cartucho com 1 frasco de vidro âmbar de 60 mL; 1 adaptador para frasco; 30 seringas de plástico âmbar descartáveis e tampas; 1 estojo para seringa. Cartucho contendo 60 drágeas de 1 mg. Cartucho contendo 30 drágeas de 2 mg. **INDICAÇÕES:** Rapamune® (sirolimo) é indicado para a profilaxia da rejeição de órgãos em pacientes transplantados renais. Recomenda-se que Rapamune® (sirolimo) seja usado associado a ciclosporina e corticosteróides. **CONTRAINDICAÇÕES:** Rapamune® (sirolimo) é contraindicado em pacientes com hipersensibilidade ao sirolimo, seus derivados ou a qualquer componente de sua formulação. **PRECAUÇÕES: Gravidez:** sirolimo pode ser usado durante a gravidez somente se o benefício potencial à mãe compensar o risco potencial ao embrião/feto. **Lactação:** não se sabe se o sirolimo é excretado no leite humano. Deve-se escolher entre a descontinuação da amamentação ou do medicamento. **Uso Pediátrico:** se o sirolimo for usado nestes pacientes, recomenda-se o monitoramento dos níveis de sirolimo no sangue total. Abuso e Dependência: **não há evidências de desenvolvimento de dependência com o Rapamune® (sirolimo).** Os pacientes em uso de Rapamune® (sirolimo) devem ser advertidos para não dirigir veículos ou operar máquinas. Deve-se monitorar a função renal, considerando ajustes convenientes do esquema imunossupressor. Além disso, deve-se administrar profilaxia contra *Pneumocystis carinii* e contra CMV. Em mulheres é necessário usar método contraceptivo eficaz antes, durante e após o tratamento. Linfocelose, Cicatrização de Ferida e Acúmulo de Fluidos, Câncer de pele, Hiperlipidemia, Rabdomiólise e Proteínúria, Conversão para Rapamune® (sirolimo) em Pacientes com Taxa de Filtração Glomerular < 40 mL/min, Uso em pacientes de novo sem inibidor da calcineurina, Síndrome urêmica hemolítica induzida pelo inibidor da calcineurina/Púrpura trombocitopênica trombótica/Microangiopatia trombótica (SUH/PTT/MAT), Uso concomitante de inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) e Doença pulmonar intersticial são condições e ou situações que podem ser observadas durante o uso de Rapamune® (sirolimo). **ADVERTÊNCIAS:** A imunossupressão aumenta a susceptibilidade a infecções e o desenvolvimento de linfoma e outros tipos de câncer, particularmente de pele e também pode aumentar a susceptibilidade a infecções oportunistas, sepse e infecções com potencial risco de vida. Reações de hipersensibilidade, incluindo reações anafiláticas/anafilactóides, foram associadas à administração de sirolimo. Não se recomenda o uso de sirolimo como terapia imunossupressora para pacientes submetidos ao transplante de fígado ou de pulmão, pois a segurança e a eficácia nestas indicações ainda não foram estabelecidas. **INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS:** Não se recomenda a administração concomitante do sirolimo com inibidores potentes da CYP3A4 (como cetoconazol, voriconazol, clotrimazol, fluconazol, itraconazol, eritromicina, telitromicina, troleandomicina, claritromicina, diltiazem, nicardipina, verapamil, cisaprida, metoclopramida, bromocriptina, cimetidina, ciclosporina, danazol, ritonavir, indinavir e suco de pomelo) ou indutores da CYP3A4 (como rifampicina, rifabutina, rifapentina, carbamazepina, fenobarbital, fenitoína, *Hypericum perforatum* e hipericina). Recomenda-se que o sirolimo seja administrado 4 horas após a dose da ciclosporina em microemulsão. Os pacientes que recebem sirolimo e inibidores da HMG-CoA redutase (estatinas) e/ou fibratos devem ser monitorados quanto ao desenvolvimento de rabdomiólise. Os imunossupressores podem afetar a resposta à vacinação. Deve-se evitar a administração de vacinas com microrganismos vivos atenuados durante o tratamento com sirolimo. A ingestão concomitante de alimentos altera a biodisponibilidade do sirolimo seja em solução oral ou drágeas. Portanto, deve-se optar pela administração do sirolimo consistentemente, com ou sem alimentos, para minimizar a variabilidade de nível sanguíneo. O suco de pomelo (grapefruit) reduz o metabolismo do medicamento mediado pela CYP3A4. Este suco não deve ser administrado com sirolimo ou ser usado para diluir esse medicamento. **REAÇÕES ADVERSAS:** Todos os pacientes de estudos clínicos foram tratados com ciclosporina e corticosteróides; assim, a frequência de reações adversas mostradas a seguir inclui a administração do sirolimo em associação a ciclosporina e corticosteróides. Em geral, os eventos adversos relacionados à administração de sirolimo foram dependentes da dose/concentração. A seguir descrevemos os eventos adversos que ocorreram com maior frequência: linfocelose; edema periférico, cicatrização anormal; edema; febre; infecções fúngicas, virais e bacterianas (como infecções por micobactéria, incluindo tuberculose, vírus Epstein-Barr, CMV e Herpes zoster); herpes simplex; sepse; taquicardia; tromboembolismo venoso; dor abdominal; diarreia; estomatite; anemia; hipercolesterolemia; trombocitopenia; hipertrigliceridemia; leucopenia; neutropenia; púrpura trombocitopênica trombótica/síndrome urêmica hemolítica; hipocalcemia; aumento da DHL; alterações nas provas de função hepática; aumento da TGO; aumento da TGP; artralgia; necrose óssea; epistaxe; pneumonia; pneumonite; acne; erupção cutânea; infecção do trato urinário; pielonefrite; doença pulmonar intersticial e hepatotoxicidade. **POSOLOGIA:** Inicia-se o tratamento com Rapamune® (sirolimo) em associação à ciclosporina e corticosteróides. Rapamune® (sirolimo) deve ser administrado por via oral uma vez por dia. A dose inicial de Rapamune® (sirolimo) deve ser administrada assim que possível após o transplante. A redução e retirada da ciclosporina é recomendada entre 2 e 4 meses após o transplante em pacientes com risco imunológico baixo a moderado. **Tratamento com Rapamune® (sirolimo) e ciclosporina:** Receptores transplantados de novo: uma dose de ataque igual a 3 vezes a dose de manutenção. Recomenda-se a dose diária de manutenção de 2 mg para pacientes transplantados renais, com dose de ataque de 6 mg. **Tratamento com Rapamune® (sirolimo) após a retirada da ciclosporina:** Entre 2 a 4 meses após o transplante, a ciclosporina deve ser progressivamente descontinuada por 4 a 8 semanas, e a dose de Rapamune® (sirolimo) deve ser ajustada a fim de obter níveis de concentrações sanguíneas mínimos variando de 16 a 24 ng/mL (método cromatográfico HPLC – UV) no primeiro ano. Após este ano, as concentrações pretendidas do sirolimo devem ser de 12 a 20 ng/mL (método cromatográfico). Atenção cuidadosa deve ser feita aos sinais/sintomas clínicos, biópsia e parâmetros laboratoriais. Após a retirada da ciclosporina, a dose de Rapamune® (sirolimo) necessitará ser aproximadamente 4 vezes maior para responder pela ausência da interação farmacocinética (aumento aproximado de 2 vezes) e a necessidade aumentada de imunossupressão na ausência de ciclosporina (aumentada em, aproximadamente, 2 vezes). Uma vez ajustada a dose de manutenção de Rapamune® (sirolimo), os pacientes devem ser mantidos na nova dose de manutenção por, pelo menos, 7 a 14 dias antes de ajuste adicional da dosagem a partir da monitorização da concentração sanguínea. **Pacientes de alto risco imunológico Terapia com Rapamune® (sirolimo) em Associação:** Recomenda-se que Rapamune® (sirolimo) seja usado em associação a tacrolimo e corticosteróides ou ciclosporina e corticosteróides no primeiro ano após o transplante em pacientes de alto risco imunológico (definidos como receptores de transplante negro e/ou receptores de retransplante renal que perderam um aloenxerto anterior por razão imunológica e/ou pacientes com alto painel de anticorpos reativos [PRA; nível máximo de PRA > 80%]). Para pacientes que recebem Rapamune® (sirolimo) com tacrolimo, a terapia com Rapamune® (sirolimo) deve ser iniciada com uma dose de ataque de até 10 mg nos dias 1 e 2 após o transplante. Com início no dia 3, uma dose de manutenção inicial de 5 mg/dia deve ser administrada. Deve-se determinar o nível mínimo entre os dias 5 e 7 e, depois, a dose diária do Rapamune® (sirolimo) deve ser ajustada para atingir concentrações mínimas de sirolimo no sangue total de 10-15 ng/mL. Para pacientes que recebem Rapamune® (sirolimo) com ciclosporina, a terapia com Rapamune® (sirolimo) deve ser iniciada com uma dose de ataque de até 15 mg no dia 1 após o transplante. Com início no dia 2, uma dose de manutenção inicial de 5 mg/dia deve ser administrada. Deve-se determinar o nível mínimo entre os dias 5 e 7 e, depois, a dose diária do Rapamune® (sirolimo) deve ser ajustada para atingir concentrações mínimas de sirolimo no sangue total de 10-15 ng/mL. A dose inicial do tacrolimo deve ser de até 0,2 mg/kg/dia, administrada em doses divididas, e a dose deve ser ajustada para atingir concentrações mínimas no sangue total de 10-15 ng/mL até a semana 2, 5-10 ng/mL da semana 2 à semana 26 e 3-5 ng/mL da semana 26 à semana 52. A prednisona deve ser administrada na dose de no mínimo 5 mg/dia. A dose inicial da ciclosporina deve ser de até 7 mg/kg/dia em doses divididas e a dose deve ser subsequentemente ajustada para atingir as concentrações mínimas no sangue total de 200-300 ng/mL até a semana 2, 150-200 ng/mL da semana 2 à semana 26 e 100-150 ng/mL da semana 26 à semana 52. A prednisona deve ser administrada em dose de no mínimo 5 mg/dia. Pode-se utilizar terapia de indução com anticorpos. Na maioria dos pacientes, os ajustes de dose podem ser baseados em proporção simples: nova dose de Rapamune® (sirolimo) = dose atual x (concentração pretendida/concentração atual). Deve-se considerar uma dose de ataque além da nova dose de manutenção quando for necessário aumentar de modo considerável as concentrações mínimas de sirolimo: dose de ataque de Rapamune® (sirolimo) = 3 x (nova dose de manutenção – dose atual de manutenção). **Recomenda-se que o sirolimo seja administrado 4 horas após a administração da ciclosporina solução oral e/ou cápsulas. Uso Pediátrico:** Ainda não se estabeleceu a segurança e a eficácia do Rapamune® (sirolimo) em pacientes pediátricos abaixo de 13 anos. A segurança e a eficácia do Rapamune® (sirolimo) solução oral e drágeas foram estudadas em crianças com 13 anos ou mais consideradas como de risco imunológico baixo a moderado. **Uso em Idosos:** Não é necessário ajustar a dose em pacientes idosos. **Pacientes com Insuficiência Hepática:** Recomenda-se redução da dose de manutenção do sirolimo em aproximadamente um terço da dose. Não é necessário modificar a dose de ataque do sirolimo. **Pacientes com Insuficiência Renal:** Não é necessário ajustar a dose em pacientes com insuficiência renal. **Monitorização da Concentração Sanguínea:** Na maioria dos pacientes não é necessária a monitorização de rotina dos níveis terapêuticos do medicamento. Os níveis sanguíneos do sirolimo devem ser monitorizados em pacientes pediátricos, em pacientes com insuficiência hepática, durante a administração concomitante de inibidores e indutores da CYP3A4 e da glicoproteína P, se a dose da ciclosporina foi reduzida consideravelmente ou descontinuada. Recomenda-se que pacientes que estão passando de Rapamune® (sirolimo) solução oral para drágeas, na base de mg por mg, tenham a concentração de sirolimo sanguíneo em 1 ou 2 semanas após a mudança de formulação a fim de confirmar que a concentração esteja dentro da faixa recomendada. **Orientações para Diluição e Administração de Rapamune® (sirolimo) Solução Oral:** O sirolimo deve ser diluído apenas em água ou suco de laranja, somente em copos de plástico ou vidro. Não usar suco de pomelo (grapefruit) ou qualquer outro líquido para diluir o sirolimo. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** Registro MS - 1.2110.0117. Informações adicionais disponíveis aos profissionais de saúde mediante solicitação: Wyeth Indústria Farmacêutica Ltda. – Rua Dr. Renato Paes de Barros, 1017 – 10o andar - Itaim - Bibi, São Paulo – CEP 04530-001. Para informações completas, consultar a bula do produto. RPM1008CDS21. Ao persistirem os sintomas, o médico deverá ser consultado.

Interação Medicamentosa: Não se recomenda a administração concomitante do Rapamune® (sirolimo) com inibidores potentes da CYP3A4 (cetoconazol, voriconazol, itraconazol, telitromicina e claritromicina) ou indutores da CYP3A4 (rifampicina ou rifabutina).

Rapamune® (sirolimo) é contraindicado em pacientes com hipersensibilidade ao sirolimo, seus derivados ou a qualquer componente de sua formulação.

Rapamune® (sirolimo) é um medicamento. Durante seu uso, não dirija veículos ou opere máquinas, pois sua agilidade e atenção podem estar prejudicadas.

Rapamune®

sirolimo drágeas de 1 mg e 2 mg

Preserva a função renal.¹

**Quando o uso é precoce e planejado,
a resposta é rápida e segura.^{1,2,3}**



● Início precoce e proativo de Rapamune® (sirolimo)¹

- Melhora rápida e contínua na função renal de 3 meses a 5 anos após o transplante.
- TFG maior com SRL + ST (60,3 mL/min vs 47,1 mL/min de SRL + CsA + ST), $p < 0,001$.

● Sobrevida do enxerto em 4 anos²

- 91,5% com Rapamune® (sirolimo) + ST após a suspensão da CsA vs 84,2% com Rapamune® (sirolimo) + CsA + ST.

● Redução na malignidade pós-transplante³

- Menos malignidades de pele pós-transplante.
- Retarda o aparecimento da primeira ocorrência de câncer de pele.
- Minimiza a incidência de outras malignidades não-cutâneas.

¹ TFG na terapia. A TFG foi estimada pelo método Nankivell.

Referências Bibliográficas: **1.** Legendre C, Brault Y, Morales JM, et al. Factors influencing glomerular filtration rate in renal transplantation after cyclosporine withdrawal using sirolimus-based therapy: A multivariate analysis of results at five years. *Clin Transplant.* 2007; 21: 330-336. **2.** Oberbauer R, Segoloni G, Campistol JM, et al. Early Cyclosporine Withdrawal From a Sirolimus-Based Regimen Results in Better Renal Allograft Survival and Renal Function at 48 Months After Transplantation. *Transpl Int.* 2005; 18: 22-28. **3.** Campistol J, Eris J, Oberbauer R, et al. Sirolimus therapy after early cyclosporine withdrawal reduces the risk for cancer in adult renal transplantation. *Journal Am Soc Nephrol.* 2006; 17: 581-589.

SQC
08000-160625
sacwy@wyeth.com

2491. RAP.E.P. 09 - MAI/2009
Wyeth Indústria Farmacêutica Ltda.
Rua Dr. Renato Paes de Barros, 1.017 - 10º andar
Itaim Bibi - São Paulo - SP - CEP 04530-001

60 | Wyeth
anos
Brasili
Uma história de amor pela vida

- **myfortic**TM mantém a eficácia pós-transplante no longo prazo⁴
- **myfortic**TM apresenta eficácia e segurança comparáveis ao MMF¹
- A conversão para **myfortic**TM de pacientes com complicações GI associadas ao MMF reduziu o impacto dos sintomas GI^{5,6}

Apresentações:

- Caixas com 120 comprimidos revestidos gastro-resistentes de 360 mg
- Caixas com 120 comprimidos revestidos gastro-resistentes de 180 mg



Informações Importantes de Segurança: myforticTM 180 mg e 360 mg - comprimidos gastro-resistentes. **Apresentação:** Micofenolato de sódio. Comprimidos gastro-resistentes contendo 180 mg ou 360 mg de micofenolato de sódio. **Indicações:** Profilaxia de rejeição aguda de transplante em pacientes recebendo transplantes renais alógenos em combinação com ciclosporina para micro-emulsão e corticosteróides. **Dosagem:** A dose recomendada é de 720 mg duas vezes ao dia (dose diária de 1.440 mg). Os pacientes com insuficiência renal crônica severa (taxa de filtração glomerular < 25 mL.min⁻¹ x 1,73 m⁻²), devem ser acompanhados cuidadosamente. Experiência muito limitada em crianças. **Contra-indicações:** Hipersensibilidade ao micofenolato sódico, ácido micofenólico ou micofenolato mofetil, ou a qualquer um de seus excipientes. **Precauções / Advertências:** Risco aumentado de desenvolvimento de linfomas e outras malignidades, especialmente da pele. Excesso de expressão do sistema imunológico com suscetibilidade aumentada à infecção. Os pacientes com doença ativa séria do sistema digestivo devem ser tratados com precaução. Os pacientes com deficiência hereditária de hipoxantina – guanina fosforil transferase (HGPRT) não devem usar myforticTM. Os pacientes devem ser instruídos a relatar qualquer sinal de depressão da medula óssea. Devem ser realizadas contagens de sangue total regularmente, para monitoramento de neutropenia. Risco aumentado de malformação congênita se usado durante a gravidez. Deve ser usada contracepção efetiva. A terapia de myforticTM não deve ser iniciada até que seja obtido um teste negativo para gravidez. myforticTM não deve ser usado durante a gravidez, a não ser quando claramente necessário. Não deve ser usado pelas mães durante a lactação, a não ser quando claramente justificado pela avaliação de risco / benefício. Deve ser evitado o uso de vacinas vivas atenuadas. **Interações:** Não devem ser administradas vacinas vivas. Deve ser tomada precaução com o uso concomitante de colestiramina e medicamentos que interferem com a circulação enterohepática. Deve ser adotada precaução com o uso concomitante de aciclovir, ganciclovir, antiácidos contendo hidróxidos de magnésio e alumínio, como também contraceptivos orais. Não deve ser usada azatopirina visto que a administração concomitante com myforticTM não foi estudada. A concentração sistêmica de myforticTM pode mudar por ocasião da mudança de ciclosporina para tacrolimus e vice-versa. **Reações adversas:** As reações adversas à droga associadas com a administração de myforticTM em combinação com ciclosporina para micromemulsão e corticosteróides incluem: Muito comuns: infecções virais, bacterianas e fúngicas, diarreia e leucopenia. Comuns: infecções do trato respiratório superior, pneumonia, anemia, trombocitopenia, enxaqueca, tosse, distensão abdominal, dor abdominal, constipação, dispepsia, flatulência, gastrite, fezes soltas, náusea, vômito, fadiga, piroxia, testes anormais da função hepática, creatinina sanguínea aumentada. Incomuns: infecção do ferimento, sepse, osteomielite, linfocela, linfopenia, linfadenopatia, tremores, insônia, congestão pulmonar, sibilância, sensibilidade abdominal, pancreatite, eructação, hálitose, íleo, esofagite, úlcera péptica, sub-íleo, descoloração da língua, hemorragia gastrointestinal, boca seca, ulceração dos lábios, obstrução do duto da parótida, doença de refluxo gastro - esofágico, hiperplasia da gengiva, peritonite, doença de gripe, edema dos membros inferiores, dor, calafrios, sede, fraqueza, anorexia, hiperlipidemia, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, hipofosfatemia, alopecia, contusão, taquicardia, edema pulmonar, extrassístoles ventriculares, conjuntivite, visão turva, artrite, dor de costas, câbras musculares, papiloma cutâneo, carcinoma celular basal, sarcoma de Kaposi, distúrbio linfoproliferativo, carcinoma de célula escamosa, sonhos anormais, percepção de desilusão, hematúria, necrose tubular renal, estreitamento da uretra, impotência. As seguintes reações adversas são atribuídas aos compostos do ácido micofenólico como efeitos da classe: colite, esofagite, gastrite, pancreatite, perfuração intestinal, hemorragia gastrointestinal, úlceras gástricas, úlceras duodenais, íleo, infecções sérias, neutropenia, pancitopenia. **Embalagens e preços:** Específicos do país. **Nota:** Antes de prescrever, favor ler as informações