

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Farmácia

Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas

Lorraine Vieira Alves

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE MICRORNAS E DO PERFIL
INFLAMATÓRIO DE PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS EM UM ESTUDO
LONGITUDINAL PROSPECTIVO**

Belo Horizonte

2024

Lorraine Vieira Alves

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE MICRORNAS E DO PERFIL
INFLAMATÓRIO DE PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS EM UM ESTUDO
LONGITUDINAL PROSPECTIVO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Análises clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientadora: Profa. Ana Paula Lucas Mota
– UFMG

Coorientadores: Prof. Adriano de Paula Sabino – UFMG e Profa. Karina Braga Gomes Borges – UFMG

Belo Horizonte

2024

Alves, Lorraine Vieira.

A474a Avaliação da expressão gênica de micrornas e do perfil inflamatório de pacientes transplantados renais em um estudo longitudinal prospectivo [recurso eletrônico] / Lorraine Vieira Alves. – 2024.
1 recurso eletrônico (158 f. : il.) : pdf

Orientadora: Ana Paula Lucas Mota.
Coorientador: Adriano de Paula Sabino.
Coorientadora: Karina Braga Gomes Borges.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Transplante de Rim – Teses. 2. Biomarcadores – Teses. 3. Citocinas – Teses. 4. Quimiocinas – Teses. 5. MicroRNAs – Teses. 6. Rejeição de enxerto – Teses. I. Mota, Ana Paula Lucas. II. Sabino, Adriano de Paula. III. Borges, Karina Braga Gomes. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. V. Título.

CDD: 617.75



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

"AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE MICRORNAs E DO PERFIL INFLAMATÓRIO DE PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS EM UM ESTUDO LONGITUDINAL PROSPECTIVO"

LORRAINE VIEIRA ALVES

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **dez de abril de dois mil e vinte e quatro**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Profa. Claudia Natalia Ferreira
Colégio Técnico da UFMG

Prof. Jenner Karlisson Pimenta dos Reis
UFMG

Prof. Marcelo Rizzatti Luizon
UFMG

Profa. Kátia de Paula Farah
UFMG

Prof. Adriano de Paula Sabino - Coorientador
UFMG

Profa. Karina Braga Gomes Borges - Coorientadora
UFMG

Profa. Ana Paula Lucas Mota - Orientadora
UFMG

Belo Horizonte, 10 de abril de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Jenner Karlisson Pimenta dos Reis, Membro**, em 10/04/2024, às 18:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Katia de Paula Farah, Professora do Magistério Superior**, em 10/04/2024, às 20:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Karina Braga Gomes Borges, Professora do Magistério Superior**, em 10/04/2024, às 20:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Rizzatti Luizon, Professor do Magistério Superior**, em 10/04/2024, às 21:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adriano de Paula Sabino, Professor do Magistério Superior**, em 10/04/2024, às 21:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Claudia Natalia Ferreira, Chefe de setor**, em 11/04/2024, às 09:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Paula Lucas Mota, Professora do Magistério Superior**, em 11/04/2024, às 11:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 3114297 e o código CRC DB83BBB1.

*Dedico este trabalho a minha mãe Silvana
e a minha sobrinha Chloe, minhas
companheiras desta e de todas as outras
vidas.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, à Nossa Senhora Aparecida e aos meus guias espirituais pela presença constante e iluminada em cada passo que dou e por me abençoarem diariamente e me cobrirem com muita proteção e muito amor.

Aos pacientes transplantados renais do Hospital das Clínicas da UFMG por permitirem a coleta de suas amostras sanguíneas para a realização deste trabalho, por doarem seu tempo e por compartilharem parte de suas vidas comigo. Sem vocês, a pesquisa não seria possível e é por vocês que ela existe.

À professora Ana Paula Lucas Mota, minha orientadora, amiga e, para sempre, minha mãe de coração. São mais de 10 anos acompanhando minha trajetória pessoal e acadêmica e me guiando com muito carinho e com um conhecimento científico impecável. Você me ajudou a superar medos pessoais e profissionais e a amar a pesquisa com todo o coração.

Ao professor Adriano de Paula Sabino, meu coorientador, por me acolher tão bem no LINBIO e na pesquisa, por estar sempre presente, me conduzindo com maestria e um profundo entendimento acadêmico e científico. Sua orientação transformou a minha pesquisa em algo maior e melhor e sou imensamente grata por todo o seu apoio.

À professora Karina Braga Gomes, minha coorientadora, pelas ideias valiosas durante toda a pesquisa, por moldar meu trabalho acadêmico com suas correções precisas e detalhadas e por me acompanhar por tantos anos com graciosidade, firmeza e dedicação, além de me orientar com uma inteligência extraordinária.

Ao Doutor Leonardo Vasconcellos e aos funcionários do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG por serem cruciais para a realização das coletas.

À Doutora Ana Cristina Simões e Silva por todo o apoio e por compartilhar o seu vasto conhecimento clínico durante o meu Mestrado e o meu Doutorado.

À professora Lara Carvalho Godoi por ser muito prestativa e auxiliar imensamente nas dosagens de citocinas e quimionas.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas por expandirem meu conhecimento, pelo auxílio sempre que necessário e por contribuírem para o meu desenvolvimento acadêmico.

A minha mãe, Silvana, ao meu pai, Anoesdes, e ao meu irmão, Arthur, que me dão apoio incondicional e que participam de todos os meus sonhos e realizações. Vocês foram os primeiros a me ensinar o que é o amor, criando um ambiente de apoio e carinho durante todos esses anos, e transformando cada etapa da minha vida em algo leve e feliz. A vocês, minha mais genuína gratidão e todo o amor que posso oferecer.

À Chloe, minha sobrinha, que me deu o melhor título que eu poderia ter, o de dadi (madrinha). Mesmo tão pequenininha, você faz todo mundo se sentir acolhido, compartilha sua comida preferida, faz carinho e nana quem precisa descansar, além de dar os abraços mais apertados e fazer o melhor cafuné com as mãozinhas mais fofas que eu já vi. Você é o amor em forma de neném e faz a dadi feliz demais. Te amo para sempre, meu amor.

Ao Euler, meu avô, mentor e segundo pai, por ser indescritivelmente bom comigo e com todos ao seu redor, por me ensinar que as melhores coisas da vida são simples e passam por silêncio e reflexão, por saber ouvir e aconselhar com tanta sabedoria e amor. Vovito lindo, sua luz permanece em meu coração assim como todo o meu amor por você.

À Sylvia, minha avó, por ser meu maior exemplo de força feminina, por ficar sempre de mãozinhas dadas comigo e por me amar e receber o meu amor. O vovô estava certo quando te deu o apelido de céu e espero que vocês estejam felizes por aí.

Ao Guilherme, meu namorado, por ser o mestre do Word e do Excel e me ajudar a agilizar boa parte do processo na formatação da minha tese e nas análises da minha planilha de dados, por ser meu amigo há muitos anos e por me fazer sorrir e rir a cada minuto com seu jeito de ser incrível. Você me deu certezas, um gatinho lindo, nosso Zé, e um amor tranquilo. A vida com você é gostosa e muito feliz.

Aos meus amigos de toda uma vida, em especial à Aline Fernandes, à Carolina Marques, ao Daniel Anacleto, à Helena Martins, à Jéssica Silva, ao Leonardo Squillace, à Maria Alice Maciel, à Nádila Domingues, à Nadine Greco, à Nadja

Mangini, à Nathália Sena e ao Raphael Padrão. Passar por inúmeras fases da vida com vocês ao meu lado tornou tudo mais incrível, acolhedor e feliz. Agradeço à Nádila e à Nadja por me darem dois sobrinhos de coração, Nina Helena e Theo, que, juntamente a elas e a todos os outros amigos, pertencem a minha família de alma.

Aos amigos maravilhosos que fiz na pesquisa e que levarei para toda a vida, em especial à Alessandra Lovato, à Carolina Neris, à Marta Lamounier e à Suellen Martins. No Mestrado e no Doutorado, vocês estavam sempre presentes, tornando tudo mais fácil, me proporcionando ótimas risadas e me dando o apoio necessário para seguir em frente.

Aos colegas de trabalho e aos amigos que fiz durante o meu trabalho voluntário no LINBIO, em especial à Elizângela Almeida, ao Emerson Soares, à Geovana Dornelas, à Laura Xavier, à Silvia Nolasco, à Simone Rodrigues, à Thais Ribeiro, ao Túlio Resende, à Vivian Moraes e à Viviane Corrêa, por todas as trocas incríveis que tivemos, por me ensinarem com muita ternura e afeto e por se tornarem grandes amigos.

À CAPES pelo apoio financeiro durante os anos de pesquisa.

*“The academy is not paradise. But learning is a place where
paradise can be created.”*

Bell Hooks

RESUMO

A monitorização a longo prazo de pacientes transplantados renais é crucial para avaliar a estabilidade do transplante e promover intervenções clínicas necessárias para a sobrevida do aloenxerto. Existe uma necessidade de complementação dessa monitorização com biomarcadores promissores de forma a possibilitar uma detecção mais precoce de disfunções do aloenxerto e otimizar ajustes no tratamento pós-transplante. O objetivo deste estudo foi avaliar um painel inflamatório e genético em receptores do transplante renal (RTR) e relacioná-lo à função do aloenxerto e à evolução clínica dos pacientes. Sessenta e nove RTR foram agrupados de acordo com a função renal baseando-se nos níveis de creatinina de 2016 para o cálculo do ritmo de filtração glomerular estimado (eRFG), sendo R1, eRFG < 60 e R2, eRFG ≥ 60 mL/min/1,73m². Os pacientes também foram categorizados com base na função renal estável (FRE) e no desfecho primário (DP), definido como uma diminuição superior a 30% no eRFG e/ou retorno à diálise e/ou rejeição e/ou retransplante. Citocinas, quimiocinas e homocisteína (HC) foram mensurados por ELISA, Ensaio Multiplex MILLIPLEX® e Ensaio Enzimático Colorimétrico. A expressão dos microRNAs (miRNAs) foi determinada por RT-qPCR. Dados de prontuários médicos foram coletados de 2016 a 2021. Foram encontrados maiores níveis de CXCL10 no grupo R1 em relação ao grupo R2 (p = 0,037). Além disso, pacientes que atingiram o DP apresentaram níveis elevados de CXCL10 (p = 0,024) e HC (p = 0,033) em comparação aqueles que mantiveram a função renal estável ao longo do acompanhamento. CXCL10 demonstrou bom desempenho na discriminação entre DP e FRE (p = 0,024). Alguns biomarcadores inflamatórios se correlacionaram entre si e CXCL10 se correlacionou com a creatinina. Na avaliação da terapia imunossupressora, pacientes que não utilizavam nenhum dos dois principais imunossupressores, Tacrolimus (TAC) e Ciclosporina A (CsA), apresentaram níveis mais elevados de IL-6 do que aqueles que usavam TAC (p = 0,028) ou CsA (p = 0,009), porém não houve diferença significativa no painel inflamatório entre usuários de TAC ou CsA. Em relação ao miR-145-5p, foi encontrada uma maior expressão gênica (2,05x) no grupo R2, grupo de pacientes com melhor função de filtração renal, em relação ao grupo R1 (p = 0,014). No que se refere ao miR-23b-3p, foi possível constatar uma maior expressão gênica (1,36x) no grupo R1 em relação ao grupo R2 (p = 0,001). Quanto ao miR-15a-5p, uma maior expressão gênica foi encontrada em pacientes do grupo R1 (8,44x) e em pacientes que atingiram o DP (5,96x) em relação àqueles com melhor eRFG (p = 0,010) e àqueles que mantiveram uma FRE ao longo do acompanhamento clínico até 2021 (p < 0,001). A respeito do miR-15b-5p, uma maior expressão gênica (5,91x) foi encontrada no grupo FRE em relação ao grupo DP (p = 0,002). Além disso, foi possível observar uma maior expressão gênica (2,11x) de miR-15b-5p no grupo com melhor função renal (R2) em relação ao grupo R1 (p = 0,003). A escolha entre TAC ou CsA não impactou significativamente o perfil inflamatório de RTR. A incorporação de CXCL10 e do painel de miRNAs proposto na rotina clínica poderia aprimorar as intervenções terapêuticas de forma a, potencialmente, melhorar a sobrevida do aloenxerto renal.

Palavras-chave: transplante renal; biomarcadores; citocinas; quimiocinas; microRNAs; rejeição do enxerto.

ABSTRACT

Long-term monitoring of kidney transplant patients is crucial for assessing transplant stability and promoting necessary clinical interventions for graft survival. There is a need to complement this monitoring with promising biomarkers to enable earlier detection of graft dysfunction and optimize post-transplant treatment adjustments. The aim of this study was to evaluate an inflammatory and genetic panel in renal transplant recipients (RTR) and relate it to graft function and patients' clinical outcomes. Sixty-nine RTR were grouped based on renal function using 2016 creatinine levels for estimated glomerular filtration rate (eGFR) calculation, with R1 being $\text{eGFR} < 60$ and R2 being $\text{eGFR} \geq 60$ mL/min/1.73m^2 . They were also categorized based on stable renal function (SRF) and primary outcome (PO), defined as a greater than 30% decrease in eGFR and/or return to dialysis and/or rejection and/or retransplantation. Cytokines, chemokines, and homocysteine (HC) were measured by ELISA, MILLIPLEX® Multiplex Assay, and Colorimetric Enzyme Assay. MicroRNA (miRNA) expression was determined by RT-qPCR. Medical records data were collected from 2016 to 2021. Higher levels of CXCL10 were found in the R1 group compared to the R2 group ($p = 0.037$). Additionally, patients who reached the PO had elevated levels of CXCL10 ($p = 0.024$) and HC ($p = 0.033$) compared to those who maintained stable renal function throughout the follow-up. CXCL10 showed good performance in discriminating between PO and SRF ($p = 0.024$). Some inflammatory biomarkers correlated with each other, and CXCL10 correlated with creatinine levels. In the evaluation of immunosuppressive therapy, patients not using either of the two main immunosuppressants, Tacrolimus (TAC) and Cyclosporine A (CsA), had higher levels of IL-6 than those using TAC ($p = 0.028$) or CsA ($p = 0.009$), but there was no significant difference in the inflammatory panel between TAC or CsA users. Regarding miR-145-5p, higher gene expression (2.05x) was found in the R2 group, patients with better renal filtration function, compared to the R1 group ($p = 0.014$). As for miR-23b-3p, higher gene expression (1.36x) was observed in the R1 group compared to the R2 group ($p = 0.001$). Regarding miR-15a-5p, higher gene expression was found in R1 group patients (8.44x) and in patients who reached the PO (5.96x) compared to those with better eGFR ($p = 0.010$) and those who maintained SRF throughout the clinical follow-up until 2021 ($p < 0.001$). Concerning miR-15b-5p, higher gene expression (5.91x) was found in the SRF group compared to the PO group ($p = 0.002$). Additionally, higher gene expression (2.11x) of miR-15b-5p was observed in the group with better renal function (R2) compared to the R1 group ($p = 0.003$). The choice between TAC or CsA did not significantly impact the inflammatory profile of RTR. Incorporating CXCL10 and the proposed miRNA panel into clinical practice could enhance therapeutic interventions to potentially improve renal allograft survival.

Keywords: kidney transplantation; biomarkers; cytokines; chemokines; microRNAs; graft rejection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Resposta imune e inflamatória no transplante renal	27
Figura 2 – O papel múltiplo das células NK no transplante de rim.....	29
Figura 3 – Biossíntese de microRNA.....	47
Figura 4 – Delineamento experimental	53
Figura 5 – Níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC em pacientes transplantados renais distribuídos em grupos de acordo com o ritmo de filtração glomerular estimado (R1: eRFG < 60 mL/min/ 1,73m ² e R2: eRFG $\geq$ 60 mL/min/1,73m ²).....	67
Figura 6 – Análises das curvas ROC para os níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL- 6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC de acordo com o ritmo de filtração glomerular estimado dos pacientes transplantados avaliados (R1: eRFG < 60 mL/min/ 1,73m ² e R2: eRFG $\geq$ 60 mL/min/1,73m ²)	68
Figura 7 – Níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC em pacientes transplantados renais distribuídos em grupos de acordo com o desfecho do transplante (Desfecho primário vs Função renal estável).....	70
Figura 8 – Análises das curvas ROC para os níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL- 6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC entre os diferentes grupos de pacientes (Desfecho primário vs Função renal estável)	71
Figura 9 – Níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC de acordo com a terapia imunossupressora	73
Figura 10 – Quantificação relativa de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR- 15b-5p de acordo com o ritmo de filtração glomerular estimado (R1: eRFG < 60 mL/min/ 1,73m ² e R2: eRFG $\geq$ 60 mL/min/1,73m ²).....	74
Figura 11 – Análises das curvas ROC de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com a função renal avaliada pelo eRFG (R1: eRFG < 60 mL/min/ 1,73m ² e R2: eRFG $\geq$ 60 mL/min/1,73m ²).....	75
Figura 12 – Quantificação relativa de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR- 15b-5p de acordo com a evolução clínica dos pacientes transplantados renais	76
Figura 13 – Análises das curvas ROC de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com a evolução clínica dos pacientes transplantados renais (Desfecho primário vs Função renal estável).....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Protocolo qPCR.....	62
Tabela 2 – Caracterização clínica e laboratorial dos integrantes do estudo de acordo com a evolução clínica	63
Tabela 3 – Correlação de Spearman.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABMR Rejeição mediada por anticorpos (do inglês *acute antibody mediated rejection*)

AGO 2 Proteína argonauta

AP-1 Proteína ativadora 1

APCs Células apresentadoras de antígenos (do inglês *antigen-presenting cells*)

AUC Área sob a curva (do inglês *area under the curve*)

AZA Azatioprina

Células Th Células T auxiliares (do inglês *T helper cells*)

Células T regulatórias Células Tregs

Células NK Células *natural killer*

CKD-EPI *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

CNIs Inibidores de calcineurina (do inglês *calcineurin inhibitors*)

COEP Comitê de Ética em Pesquisa

CXCL9 Ligante 9 de quimiocina CXC

CXCL10/IP-10 Ligante 10 de quimiocina CXC/Proteína induzida por interferon- γ

DAMPs Padrões moleculares associados a danos (do inglês *damage-associated molecular patterns*)

DGF Função retardada do enxerto (do inglês *delayed graft function*)

DM Diabetes mellitus

DRC Doença renal crônica

DSAs Anticorpos doador específico (do inglês *donor-specific antibody*)

dsRNA RNA de dupla fita

ELISA Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

EP Erro padrão

eRFG Ritmo de filtração glomerular estimado

ESRD Doença renal em estágio final (do inglês *end-stage renal disease*)

EVE Everolimus

HAS Hipertensão arterial sistêmica

HC Homocisteína

HIV-1 vírus da imunodeficiência humana tipo 1

HLA Antígenos leucocitários humanos (do inglês *human leukocyte antigen*)

IC Intervalo de confiança

IFN- γ Interferon-gama

IFTA Fibrose intersticial e atrofia tubular (do inglês *interstitial fibrosis and tubular atrophy*)

IL-1 Interleucina 1

IL-1 α Interleucina 1 alfa

IL-1 β Interleucina 1 beta

IL-2 Interleucina 2

IL-R1 Receptor de interleucina 1 do tipo 1 (do inglês *IL-1 receptor type 1*)

IL-1RA Antagonista do receptor de IL-1 (do inglês *IL-1 receptor antagonist*)

IL-6 Interleucina 6

IL-6R Receptor de interleucina 6

IL-10 Interleucina 10

IL-17 Interleucina 17

IL-18 Interleucina 18

IL-33 Interleucina 33

IL-36 α Interleucina 36 alfa

IL-36 β Interleucina 36 beta

IL-36 γ Interleucina 36 gama

IL-36Ra antagonista do receptor da interleucina 36 (do inglês *interleukin 36 receptor antagonist*)

IL-37 Interleucina 37

IL-38 Interleucina 38

IRA Injúria renal aguda

LES Lúpus eritematoso sistêmico

Macrófagos M1 Macrófagos com fenótipo clássico

Macrófagos M2 Macrófagos com fenótipo alternativo

MHC Complexo principal de histocompatibilidade (do inglês *major histocompatibility complex*)

MCP-1/CCL2 Proteína quimiotática de monócitos do tipo 1/Ligante 2 de CC quimiocina

miR-15a-5p MicroRNA-15a-5p

miR-15b-5p MicroRNA-15b-5p

miR-23b-3p MicroRNA-23b-3p

miR-145-5p MicroRNA-145-5p

miRNAs MicroRNAs

MMPs Metaloproteinases de matriz (do inglês *matrix metalloproteinases*)

mRNA RNA mensageiro

mTOR Proteína alvo da rapamicina em mamíferos (do inglês *the mammalian target of rapamycin*)

ND Nefropatia diabética

NF-κB Fator nuclear kappa B (do inglês *nuclear factor kappa B*)

PAMPs Padrões moleculares associados a patógenos (do inglês *pathogen associated molecular patterns*)

PCR Proteína C reativa

pri-miRNA miRNA primário

RISC Complexo de silenciamento induzido por miRNA (do inglês *RNA-induced silencing complex*)

RML Razão monócitos/linfócitos

RNL Razão neutrófilos/linfócitos

ROC Característica de operação do receptor (do inglês *receiver operating characteristic*)

ROS espécies reativas de oxigênio (do inglês *reactive oxygen species*)

RPL Razão plaquetas/linfócitos

RT-qPCR Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa quantitativa (do inglês *quantitative reverse transcription PCR*)

RTR Receptores do transplante renal

SARS-CoV-2 Síndrome respiratória aguda grave 2 (do inglês *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*)

SCA Síndrome coronariana aguda

SIRO Sirolimus

TCMR Rejeição mediada por células T (do inglês *T cell-mediated rejection*)

TIMPs inibidores teciduais das MMPs (do inglês *tissue inhibitor of metalloproteinase*)

TLRs Receptores toll-like (do inglês *toll-like receptors*)

TGF- β 1 Fator de crescimento transformador beta 1

TNF- α Fator de necrose tumoral alfa

TNFR1 Receptor do fator de necrose tumoral alfa 1

TNFR2 Receptor do fator de necrose tumoral alfa 2

UFMG Universidade Federal de Minas Gerais

UTI Unidade de terapia intensiva

UTR Região 3' não traduzida (do inglês *untranslated region*)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	REFERENCIAL TEÓRICO	24
2.1	Resposta imune e inflamatória no transplante	24
2.2	Marcadores inflamatórios no transplante renal	30
2.2.1	Ligante 10 de quimiocina CXC (CXCL10)	33
2.2.2	Proteína quimiotática de monócitos (MCP-1/CCL2)	36
2.2.3	Interleucina 6 (IL-6).....	38
2.2.4	Fator de necrose tumoral α (TNF- α)	40
2.2.5	Interleucina 1 beta (IL-1 β).....	41
2.2.6	Interleucina 10 (IL-10).....	43
2.2.7	Homocisteína (HC)	44
2.3	MicroRNAs (miRNAs).....	45
2.3.1	MicroRNA-145-5p e microRNA-23b-3p	47
2.3.2	MicroRNA-15a-5p e microRNA-15b-5p	49
3	JUSTIFICATIVA	50
4	OBJETIVOS	52
4.1	Objetivo geral.....	52
4.2	Objetivos específicos.....	52
5	MATERIAL E MÉTODOS	53
5.1	Delineamento experimental e aspectos éticos	53
5.2	Casuística.....	54
5.3	Grupos de pesquisa	55
5.4	Amostras biológicas	56
5.5	Métodos.....	57
5.5.1	Determinação dos níveis de citocinas, quimiocinas e homocisteína	57

5.5.1.1 Determinação dos níveis de CXCL10 e MCP-1 por ELISA de captura (In-house).....	57
5.5.1.2 Determinação dos níveis de IL-10 por ELISA de captura.....	57
5.5.1.3 Determinação dos níveis de IL-6, TNF- α e IL-1 β por Ensaio Multiplex MILLIPLEX®.....	58
5.5.1.4 Determinação dos níveis de HC por Ensaio Enzimático Colorimétrico.....	58
5.5.2 Determinação de miRNAs	59
5.5.2.1 Seleção de miRNAs.....	59
5.5.2.2 Extração de miRNAs	59
5.5.2.3 Síntese de cDNA e PCR em tempo real (qPCR).....	59
5.5.3 Análises estatísticas	62
6 RESULTADOS	63
6.1 Características clínicas e laboratoriais dos integrantes do estudo.....	63
6.2 Avaliação de marcadores inflamatórios em RTR.....	67
6.2.1 Associação entre níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC e a função renal avaliada pelo eRFG de pacientes transplantados	67
6.2.2 Associação entre níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC e a evolução clínica de RTR	69
6.2.3 Análises de correlação	71
6.2.4 Avaliação dos níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC de acordo com a terapia imunossupressora empregada	72
6.3 Avaliação de marcadores epigenéticos em RTR	73
6.3.1 Avaliação da expressão gênica de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com a função renal de pacientes transplantados	73
6.3.2 Avaliação da expressão gênica de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com a evolução clínica de RTR.....	75
7 DISCUSSÃO.....	78
7.1 Características clínicas e laboratoriais dos integrantes do estudo.....	78
7.2 Avaliação de marcadores inflamatórios em RTR.....	82

7.2.1 Associação dos níveis de CXCL10 e MCP-1/CCL2 com a função renal e a evolução clínica de RTR	82
7.2.2 Avaliação de CXCL10 como um preditor do desfecho primário em RTR	85
7.2.3 Associação dos níveis de IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10 com a função renal e a evolução clínica de RTR	87
7.2.4 Associação dos níveis de HC com a função renal e a evolução clínica de RTR..	90
7.2.5 Análises de correlação	92
7.2.6 Avaliação dos níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC de acordo com a terapia imunossupressora utilizada pelos RTR.....	94
7.3 Avaliação de microRNAs em RTR.....	95
7.3.1 Avaliação da expressão de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p em RTR de acordo com a função de filtração glomerular e a evolução clínica.....	95
8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	98
9 CONCLUSÕES.....	99
10 PERSPECTIVAS DE ESTUDO	100
REFERÊNCIAS.....	101
APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	141
APÊNDICE B – Ficha clínica.....	146
APÊNDICE C – Curvas de Melting dos miRNAs avaliados	147
APÊNDICE D – Tabela de caracterização clínica e laboratorial dos integrantes do estudo de acordo com a função renal avaliada pelo eRFG	149
ANEXO A – ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O DOUTORADO	151

1 INTRODUÇÃO

Embora se saiba que o transplante renal ofereça a melhor alternativa de tratamento para pacientes com doença renal crônica em estágio final (ESRD, do inglês *end-stage renal disease*), este procedimento é capaz de gerar uma intensa reação imune no receptor do aloenxerto, induzindo a produção de mediadores inflamatórios envolvidos nos mecanismos que desencadeiam a rejeição ao órgão enxertado, o que exige um monitoramento contínuo, a longo prazo, destes pacientes (IQBAL et al., 2020; JOSEPHSON, 2011; KHALIL et al., 2017; PONTICELLI, 2012).

Neste contexto, os biomarcadores inflamatórios que participam da regulação da resposta imunológica têm sido alvo de pesquisas que visam a melhoria dos resultados no pós-transplante. Dentre eles, as citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 6 (IL-6), o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina 1 beta (IL-1 β), e reguladoras, como a interleucina 10 (IL-10), continuam em destaque. Estas estão ligadas tanto à expansão clonal de células T e à produção de anticorpos com atividade citotóxica, quanto à homeostase tecidual e à inibição de células apresentadoras de antígeno, podendo ser marcadores chave no desfecho dos transplantes (ELNOKEETY; SHAKER; FAYED, 2017; PONTICELLI, 2012).

Assim como as citocinas pró-inflamatórias e reguladoras, a proteína quimiotática de monócitos do tipo 1 (MCP-1/CCL2) mostrou relação com a resposta imunológica contra o aloenxerto por promover o recrutamento renal de células inflamatórias, como macrófagos e células T (RAZA et al., 2017a; TAM; ONG, 2020). Este biomarcador se destaca como um indicador de risco de perda do enxerto, sendo encontrados maiores níveis de MCP-1/CCL2 em pacientes transplantados renais com inflamação e fibrose intersticial (HO et al., 2014) e em pacientes com DRC com menor ritmo de filtração glomerular estimado (eRFG) (GREGG et al., 2018).

Além de MCP-1/CCL2, a quantificação do ligante 10 de quimiocina CXC (CXCL10) não é realizada usualmente na rotina dos pacientes transplantados. No entanto, sabe-se que MCP-1/CCL2 e CXCL10 se relacionam com o prognóstico de pacientes transplantados renais, tendo sido sugerido, em alguns estudos, que ambos poderiam substituir ou complementar importantes marcadores da rotina clínica, como o eRFG e a proteinúria (HIRT-MINKOWSKI et al., 2012; HIRT-MINKOWSKI et al., 2016; HO et al., 2011; HO et al., 2014; MOCKLER et al., 2018).

A quimiocina CXCL10 tem a capacidade de atrair células T com um perfil Th1 predominante, participando da ativação e infiltração de leucócitos no aloenxerto, contribuindo para a injúria renal aguda (IRA), sendo considerada um bom biomarcador para avaliar a disfunção do enxerto (BAUTISTA et al., 2013; GAO et al., 2020; HO et al., 2009; VAIDYA et al., 2008). Além disso, CXCL10 também foi capaz de diagnosticar a injúria renal em estágios iniciais da DRC tanto em pacientes com lesão renal imunomediada como em pacientes que possuíam doenças de base que progridem de forma silenciosa e que não são correlacionadas ao sistema imunológico, como o diabetes mellitus (DM) e a hipertensão arterial sistêmica (HAS) (WATSON et al., 2019). Em uma revisão recente, CXCL10 aparece como um dos mais promissores biomarcadores para diagnosticar precocemente a rejeição e prever desfechos desfavoráveis no transplante renal (ROGULSKA et al., 2022).

A homocisteína (HC) também constitui um marcador importante no transplante renal, já que seu aumento foi associado à indução da expressão de citocinas e quimionas, resultando em exacerbação do processo inflamatório, dano vascular e fibrose renal por aumento do estresse oxidativo. A importância de sua avaliação precoce está ligada à detecção de disfunção endotelial e de DRC (CHEN et al., 2023; JAN et al., 2021; PODDAR et al., 2001).

Assim como os biomarcadores inflamatórios, marcadores epigenéticos que regulam a resposta imunológica, como os microRNAs (miRNAs), podem auxiliar no diagnóstico da rejeição ao aloenxerto renal por controlarem a expressão de genes relacionados à homeostase celular e regularem a ativação de células T, contribuindo para o julgamento clínico. Estes miRNAs possuem alta estabilidade em amostras de plasma e urina e são considerados potenciais preditores do insucesso do transplante renal (LEDEGANCK et al., 2019; LIN et al., 2021; MATZ et al., 2016a; PEREIRA, 2015; SWANSON et al., 2020).

A monitorização contínua dos pacientes transplantados renais com o acompanhamento clínico e laboratorial é essencial para manter a estabilidade da função renal, evitar infecções oportunistas e a rejeição do aloenxerto, prevenir complicações e garantir a adesão ao tratamento imunossupressor (BAKER et al., 2017). Já é sabido que marcadores utilizados na rotina de transplantados renais, como a creatinina e a proteinúria, falham em prever mudanças fisiopatológicas associadas à rejeição. Além disso, a biópsia renal é uma técnica limitada pelo seu caráter invasivo. Assim, biomarcadores promissores, como os avaliados no presente estudo, poderiam

ser utilizados em conjunto aos marcadores usuais, complementando a monitorização clínica dos pacientes transplantados renais. Isso poderia permitir uma detecção mais precoce do risco de lesão irreversível do órgão transplantado e um melhor controle do processo imune e inflamatório, garantindo uma otimização na intervenção clínica e um aumento da sobrevida do aloenxerto (RAMIREZ-SANDOVAL; HERRINGTON; MORALES-BUENROSTRO, 2015; SERÓN; BURGOS; ALONSO, 2012).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar potenciais biomarcadores inflamatórios e epigenéticos e sua associação com a função renal e com as alterações histológicas do aloenxerto em pacientes transplantados renais em um estudo longitudinal de cinco anos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Resposta imune e inflamatória no transplante

Durante o transplante renal, o ato cirúrgico e a lesão de isquemia e reperfusão desencadeiam a ativação imune e um processo inflamatório intenso com a morte de células do receptor e do próprio órgão enxertado. Esse processo culmina na liberação de padrões moleculares associados a danos (DAMPs, do inglês *damage-associated molecular patterns*) e contribui para a inflamação do aloenxerto e dano ao tecido, além do seu reparo no pós-transplante. Os DAMPs, por meio da ativação da cascata do complemento e da ligação aos receptores *toll-like* (TLRs, em inglês *toll-like receptors*), estimulam as células inatas do receptor, incluindo células dendríticas, neutrófilos e macrófagos. Após o reconhecimento por TLRs, há a sinalização para células imunes levando à expressão de mediadores inflamatórios, à regulação positiva da expressão de moléculas co-estimulatórias e à amplificação do processamento e apresentação do antígeno. Além disso, durante a cirurgia do transplante, bactérias se deslocam para o órgão transplantado e liberam padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, do inglês *pathogen-associated molecular patterns*), estimulando macrófagos pela ativação do sistema do complemento. Todos estes processos são controlados por mecanismos subjacentes críticos na resposta imune ao aloenxerto e resultam na ativação de células imunes inatas e na produção de citocinas e quimionas inflamatórias por meio de mudanças no metabolismo celular que está intimamente ligado à função imunológica (DEGAUQUE; BROSSEAU; BROUARD, 2018; KAWASAKI & KAWAI, 2014; MATHIS & SHOELSON, 2011; OCHANDO et al., 2019; O'NEILL; KISHTON; RATHMELL, 2016; TAIT; ICHIM; GREEN, 2014; ALEGRE; CHONG, 2009).

Dentre os mecanismos subjacentes ligados à resposta imune, estão a apoptose e a ferroptose. Estudos demonstraram que células epiteliais tubulares renais podem morrer por ferroptose durante o processo de lesão isquêmica. A ferroptose consiste em um tipo de morte celular dependente de ferro, ainda não muito bem definida, mas que se caracteriza pelo acúmulo de peróxidos lipídicos no interior das células e que é altamente inflamatória, contribuindo para a destruição celular pelo aumento de seu volume e consequente ruptura de sua membrana plasmática. Está associada à

rejeição ao enxerto e à função comprometida do órgão renal transplantado (BRUNI et al., 2018; LINKERMANN et al., 2014b; MULLER et al., 2017; OCHANDO et al., 2019; ZSCHIEDRICH et al., 2015). Após a morte celular, o parênquima do órgão do doador libera DAMPs que são captados por receptores de monócitos e macrófagos que, uma vez ativados, levam à lesão do aloenxerto (OBERBARNSCHEIDT et al., 2014; SARHAN et al., 2018).

A ativação do sistema do complemento pode ocorrer pela via alternativa por DAMPs e PAMPs ou pela via clássica através de aloanticorpos específicos do doador, culminando na interação de proteínas deste sistema em uma cascata enzimática com a ativação das anafilotoxinas C3, C5 e C4a (fracamente), como produtos finais. Esta ativação resulta na eliminação de células lesadas e de patógenos invasores. As anafilotoxinas C3a e C5a aumentam a inflamação com o recrutamento de neutrófilos e a ativação de monócitos do sangue periférico para o aloenxerto que, uma vez ativados, liberam quimiocinas, como CXCL10 e MCP-1/CCL2, e citocinas, como IL-6, TNF- α , IL-1- β , causando necrose e apoptose celular. Neste processo, também há o aumento da permeabilidade de vasos sanguíneos e a produção de radicais livres (CERNOCH & VIKLICKY, 2017; NORIS & REMUZZI, 2013). Já as moléculas C3b aumentam a fagocitose ao opsonizar complexos imunes. A ligação de C5b a outras moléculas, como C6, C7, C8 e moléculas C9 leva a formação do complexo lítico de ataque à membrana. Este complexo é uma estrutura macromolecular que tem a capacidade de formar microporos hidrofílicos de aproximadamente 100 Å de diâmetro, através da membrana citoplasmática resultando no seu rompimento por lise osmótica com a consequente liberação do conteúdo intracelular e a destruição da célula (KAHR, 2010; MAKRIDES, 1998).

Interações complexas entre o sistema imune inato e adaptativo resultam na rejeição ao órgão transplantado (VALENZUELA; REED, 2017; VENNER et al., 2014). A principal causa de perda do aloenxerto em longo prazo consiste na inflamação crônica (KLOC; GHOBRIAL, 2014). A vasculopatia obliterativa acompanhada frequentemente por fibrose parenquimatosa é a principal característica da rejeição crônica e resulta em morte celular, isquemia e perda progressiva do aloenxerto. Além disso, a rejeição crônica é caracterizada por infiltração de macrófagos, células T, entre outras células imunes (THAUNAT et al., 2005; KLOC; GHOBRIAL, 2014; LIBBY; POBER, 2001).

Citocinas pró-inflamatórias participam ativamente do processo de rejeição ao aloenxerto (OCHANDO et al., 2019). Este processo ocorre pelo reconhecimento de aloantígenos do doador, principalmente, via molécula do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*) por células T. Na via direta, o MHC intacto do doador é apresentado à célula T do receptor. Já na via indireta, a molécula de MHC do doador é fagocitada por células apresentadoras de antígeno do receptor que as processam, as reexpressam em sua superfície celular e as apresentam para as células T do receptor. Esse alorreconhecimento leva à ativação e expansão clonal de células T reativas (CASIRAGHI et al., 2016), como mostra a **Figura 1**. A homocisteína (HC) também participa desse processo ao induzir a ativação de MCP-1 via ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B, do inglês *nuclear factor kappa B*) com consequente liberação de radicais livres (ROS, do inglês *reactive oxygen species*) e indução de estresse oxidativo (CHEUNG; SIOW; O, 2008; LONG; NIE, 2016), **Figura 1**.

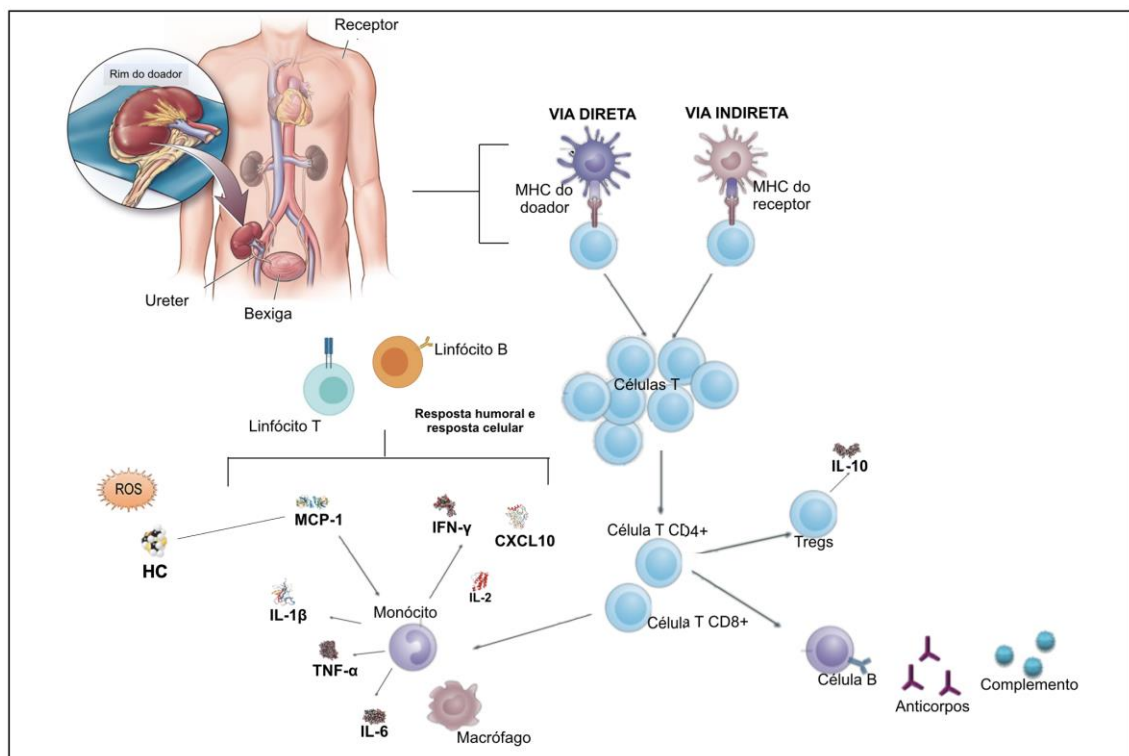
Monócitos são recrutados por quimiocinas, como MCP-1, e também atuam ao se infiltrarem no aloenxerto, adquirindo dupla função. Os macrófagos podem ter funções pró-inflamatórias (macrófagos com fenótipo clássico ou M1) com a produção de citocinas que estimulam a inflamação pela proliferação e diferenciação de células T, estimulando a resposta imune mediada por células T. Este ambiente favorece a produção de quimiocinas, especialmente aquelas produzidas por macrófagos do tipo M1, como o ligante 9 de quimiocina CXC (CXCL9) e CXCL10, fortemente associadas à resposta imune Th1, que estimulam o recrutamento de linfócitos. A resposta Th1 é induzida por células T CD4⁺ que produzem interleucina 2 (IL-2) e interferon gama (IFN- γ), responsáveis por promover a proliferação e a ativação de células T CD8⁺ citotóxicas, que causam apoptose de células-alvo e lesão ao aloenxerto, além de induzirem o recrutamento de monócitos e macrófagos e potencializar a resposta humoral mediada por células B (**Figura 1**) (JIANG; HERRERA; LECHLER, 2004).

Neste caso, as células T levam a maturação de células B que produzem anticorpos que ativam o complemento. A ativação do complemento forma o complexo de ataque à membrana que causa lise de células endoteliais. Assim, o estímulo pró-inflamatório mediado por macrófagos M1 pode contribuir para o dano ao tecido e a rejeição. Além disso, macrófagos também podem ter funções imunorregulatórias (macrófagos com fenótipo alternativo ou M2), estando envolvidos na regulação imunológica, na reparação de tecidos e na tolerância ao órgão transplantado (GARCIA

et al., 2010; MURRAY et al., 2014; HENSBERGEN et al., 2005; OCHANDO et al., 2019; WENDEL et al., 2008; ORDIKHANI et al., 2020).

Um direcionamento funcional de linfócitos T CD4⁺ para respostas imunes Th1 ou Th17 pode ser o resultado da ativação de macrófagos M1 que produzem altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- γ , TNF- α , IL-1 β e IL-6 (HSIEH, 1992; KORN et al., 2009; SZABO et al., 2003; ZHOU et al., 2007) e que regulam positivamente moléculas co-estimulatórias que participam da apresentação de antígeno (ELGUETA et al., 2009; LEY; GERDES; WINKELS, 2017; SUBAUSTE; DE WAAL MALEFYT; FUH, 1998). De forma distinta, macrófagos M2 e células T reguladoras (Tregs) produzem grande quantidade de IL-10, contribuindo, dessa forma, para a resposta anti-inflamatória e imunorregulatória, reparo e a regeneração tecidual (**Figura 1**). No entanto, durante o processo de rejeição crônica, os macrófagos M2 promovem fibrose intersticial, contribuindo para a falha do transplante (DE PAOLI; STAELS; CHINETTI-GBAGUIDI, 2014; IKEZUMI et al., 2015; HUTCHINSON, 2015; TOKI et al., 2014b; WYNN; VANNELLA, 2016).

Figura 1 – Resposta imune e inflamatória no transplante renal



Legenda: CXCL10: ligante 10 de quimiocina CXC; IFN- γ : interferon gama; IL-1 β : interleucina 1 beta; IL-2: interleucina 2; IL-6: interleucina 6; IL-10: interleucina 10; MCP-1: proteína quimiotática

de monócitos do tipo 1; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; Tregs: células T regulatórias; MHC: complexo principal de histocompatibilidade (do inglês *major histocompatibility complex*). Fonte: Adaptado de Casiraghi (2016, p. 243).

Os anticorpos anti-HLA (antígeno leucocitário humano, do inglês *human leukocyte antigen*), em particular os anticorpos doadores específicos (DSAs, do inglês *donor-specific antibody*), podem desencadear a rejeição mediada por anticorpos (ABMR, do inglês *acute antibody mediated rejection*) através da ligação a CD16 expresso por células *natural killer* (NK). Assim, os receptores presentes nas células NK interagem com os DSAs que se ligaram às células endoteliais do aloenxerto induzindo citotoxicidade mediada por células e dependente de anticorpos, como mostra a **Figura 2A** (PONTRELLI et al., 2020; TURNER et al., 2019). Monócitos e macrófagos, assim como linfócitos T CD4+ e TCD8+, células dendríticas e células NK participam do processo de rejeição ao aloenxerto, sendo que estas últimas estão altamente infiltradas e ativas na rejeição humoral do aloenxerto, possuindo um importante papel na patogênese de lesões mediadas por anticorpos no órgão transplantado (HIROHASHI et al., 2012; YAZDANI et al., 2019).

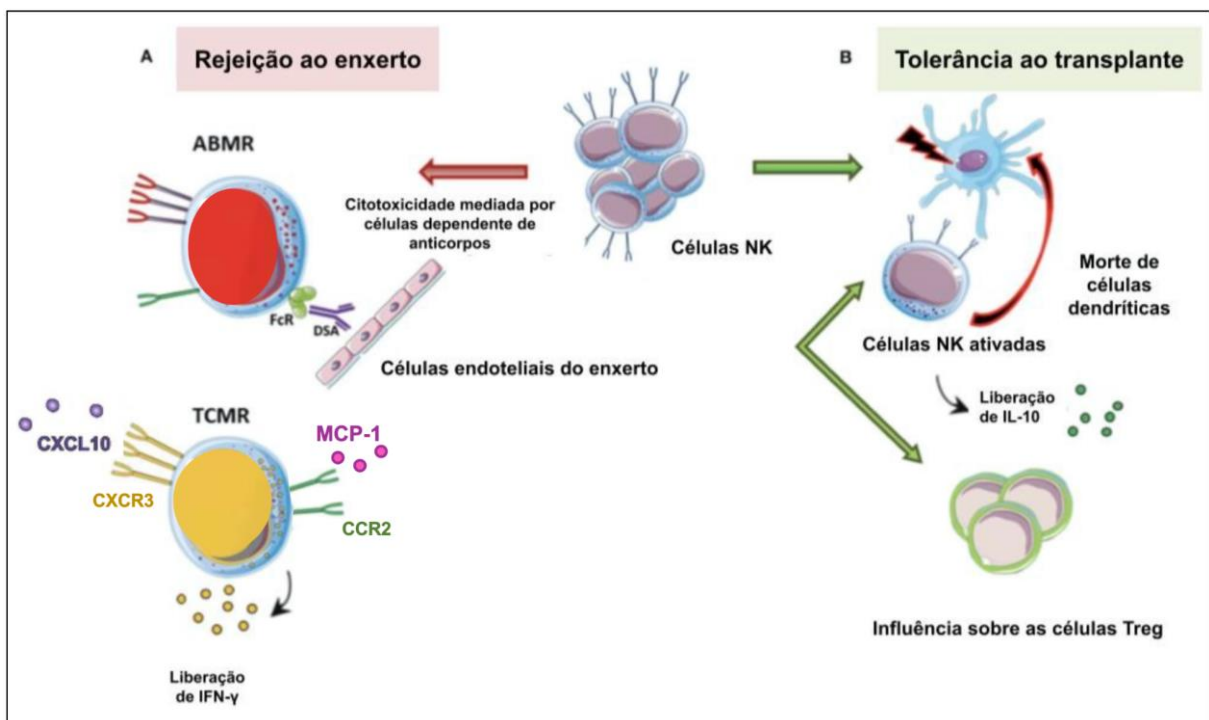
A rejeição mediada por células T (TCMR, do inglês *T cell-mediated rejection*) é caracterizada por inflamação túbulo-intersticial e secreção de moléculas pró-inflamatórias, como IFN- γ , causando inflamação intersticial (**Figura 2A**). CXCL10 entra nesse contexto ao se ligar ao receptor CXCR3 expresso nas células T que, por sua vez, produzem IFN- γ (**Figura 2A**). CXCL10 é crucial na intensificação do processo inflamatório, recrutando células do tipo Th1 que produzem IL-2. A IL-2 promove a proliferação de linfócitos T citotóxicos, além de recrutar macrófagos, células dendríticas e células NK, participando efetivamente do processo de rejeição ao órgão enxertado (DOS SANTOS et al., 2016; DOS SANTOS et al., 2017; GAO et al., 2020; KILDEY et al., 2019; PONTRELLI et al., 2020).

Ademais, MCP-1/CCL2 se liga ao seu principal receptor CCR2 expresso em uma variedade de células imunes, como células T ativadas, macrófagos e monócitos, e induz a proliferação celular, o recrutamento e a produção de citocinas pró-inflamatórias (**Figura 2A**). Estas citocinas induzem a proliferação e a ativação de células T, a diferenciação de células B com consequente produção de imunoglobulinas, além de atuar na disfunção endotelial (AKDIS et al., 2011; BAKOS et al., 2017; VIEDT et al., 2002; WASSMANN et al., 2004). Todo esse processo de

secreção de citocinas pode levar ao recrutamento de células T alorreativas, além de suscetibilidade e morte de células-alvo do aloenxerto que expressam aloantígenos HLA incompatíveis (KILDEY et al., 2019; PONTRELLI et al., 2020).

Por outro lado, no processo de tolerância ao aloenxerto, ou seja, na ausência de resposta imune contra antígenos do enxerto, as células NK ativadas podem contribuir ao produzirem altos níveis de IL-10 com o consequente desenvolvimento de células dendríticas regulatórias. Além disso, as células NK ativadas contribuem para a tolerância imunológica ao causarem a lise direta de células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês *antigen-presenting cells*) derivadas do órgão transplantado, inibindo a ativação de células T alorreativas, além de afetarem a apresentação de antígeno por células dendríticas do receptor (**Figura 2B**) (HADAD et al., 2014; PONTRELLI et al., 2020; YU et al., 2006).

Figura 2 – O papel múltiplo das células NK no transplante de rim



Legenda: Células NK: células *natural killer*; DSA: anticorpos doadores específicos; IFN-γ: interferon gama; IL-10: interleucina 10; células Tregs: células T regulatórias; ABMR: rejeição mediada por anticorpos (do inglês *acute antibody mediated rejection*); TCMR: rejeição mediada por células T (do inglês *T cell-mediated rejection*). Fonte: Adaptado de Pontrelli (2020, p. 5).

Como a resposta imune está diretamente ligada à progressão clínica e ao desfecho do transplante renal, a utilização de potenciais biomarcadores ligados à

resposta inflamatória, como CXCL10, MCP-1, IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10, facilmente dosados por técnicas analíticas de baixo custo, juntamente com marcadores avaliados rotineiramente na prática clínica, poderia fornecer uma resposta mais completa sobre a função do aloenxerto renal e sobre as alterações fisiopatológicas no pós transplante, o que poderia auxiliar no ajuste do tratamento imunossupressor e em uma monitorização mais precisa.

2.2 Marcadores inflamatórios no transplante renal

Apesar dos avanços cirúrgicos e da implementação da terapia imunossupressora que aumentaram de forma expressiva a sobrevida dos aloenxertos renais, receptores do transplante renal (RTR) ainda desenvolvem alossensibilização ao enxerto com posterior rejeição (CHAPMAN, 2013; LAMB; LODHI; MEIER-KRIESCHE, 2011). A rejeição ao aloenxerto é desencadeada por um conjunto complexo de respostas imunológicas mediadas por citocinas (POPPELAARS et al., 2021).

Os níveis de células inflamatórias circulantes podem refletir o estado do órgão transplantado (CIFTCI et al., 2019). Portanto, estes marcadores podem ser considerados potenciais ferramentas de complementação da rotina clínica para uma monitorização imunológica do transplante mais completa (GIBBS et al., 2001). O processo de migração celular ao enxerto que culmina, em última instância, na rejeição ao órgão transplantado tem como mediadores chave as citocinas, as quimiocinas e seus respectivos receptores. Eles regulam todos os processos biológicos importantes: crescimento celular, ativação celular, inflamação, imunidade, reparo de tecidos e fibrose (CIFTCI et al., 2019; FISCHEREDER; SCHROPPEL, 2009; PONTICELLI, 2012).

As citocinas possuem uma função importante na defesa do hospedeiro e na manutenção da homeostase tecidual. Porém, quando há produção excessiva destes mediadores inflamatórios, existe uma desregulação nestas funções, causando injúria no tecido e inflamação (ELNOKEETY; SHAKER; FAYED, 2017; JORDAN et al., 2017; SCHETT et al., 2013).

As quimiocinas são uma grande família de pequenas citocinas e seu peso molecular varia de 7 a 15 kilodaltons (kDa). Essas moléculas e seus receptores são

capazes de controlar a migração e a residência de células imunes, uma vez que produzem sinais para o recrutamento, adesão e ativação leucocitária. Algumas quimiocinas são consideradas pró-inflamatórias e podem ser induzidas durante a resposta imune no sítio de infecção, enquanto outras são consideradas homeostáticas e estão envolvidas no controle da migração celular durante o desenvolvimento ou a manutenção dos tecidos. Em condições fisiológicas, as quimiocinas são produzidas, normalmente, em baixos níveis. Porém, em uma resposta imunológica, como no caso de uma rejeição ao órgão transplantado, seus níveis se elevam rapidamente, o que pode fornecer informações importantes sobre o desequilíbrio imunológico, sendo considerados potenciais preditores não invasivos para a disfunção do enxerto (DEHMEL et al., 2010; FISCHEREDER; SCHROPPEL, 2009; LIU; GUO; STILES, 2011; GAO et al., 2020; MOCKLER et al., 2018; PANZER et al., 2004; ROGULSKA et al., 2022; STEINMETZ; STAHL; PANZER, 2009).

Dentre as principais quimiocinas produzidas por leucócitos, neutrófilos ativados, eosinófilos, monócitos, células epiteliais, células endoteliais, fibroblastos e queratinócitos em resposta ao IFN- γ , CXCL10 possui atividade de destaque no transplante renal, sendo um marcador inflamatório que ativa células NK, macrófagos e células dendríticas ao se ligar a CXCR3 na superfície dessas células (LIU et al., 2011; LUSTER; RAVETCH, 1987). Segundo Tatapudi e colaboradores (2004), CXCL10 urinário seria um marcador ideal de rejeição, mostrando 100% de sensibilidade quando comparado às biópsias renais. Além disso, Rogulska e colaboradores (2022) afirmam que CXCL10 possui um papel essencial na detecção da função renal deteriorada, podendo se tornar um marcador essencial na predição da rejeição do aloenxerto renal.

A monitorização do estado imunológico do paciente transplantado contribui para a manutenção do aloenxerto em condições adequadas e a subsequente sobrevida do paciente. Os marcadores de rotina atuais, como a creatinina e a proteinúria, falham em detectar rejeições não suspeitas clinicamente, atingindo, de maneira negativa, cerca de 20 a 25% dos pacientes após o transplante renal. Isso impossibilita a prevenção na falha do transplante, impedindo uma intervenção e um gerenciamento adequado por parte do corpo clínico (FRIEDEWALD et al., 2019; SWANSON et al., 2020).

Por isso, é extremamente importante detectar a lesão do aloenxerto antes que ocorra o dano irreversível do órgão que leve a sua perda. Atualmente, o padrão ouro

para avaliar tais lesões é a análise histológica por biópsia que tem como base um sistema de classificação internacional, a classificação de Banff. A classificação de Banff mais recente tem seis categorias: biópsia normal/sem alterações, alterações mediadas por anticorpos, *borderline* (suspeita de TCMR aguda), TCMR, fibrose intersticial e atrofia tubular e outras alterações não relacionadas à rejeição (JEONG, 2020; ROUFOSSE et al., 2018). A rejeição é definida como aguda ou crônica a depender de sua atividade e do tempo pós transplante. A ABMR do tipo aguda ou ativa é caracterizada pela inflamação microvascular, arterite intimal ou transmural, microangiopatia trombótica e/ou injúria tubular aguda, podendo apresentar evidência sorológica de DSA e positividade para C4d. Em contrapartida, a ABMR do tipo crônica é definida com base nos seguintes achados: glomerulopatia do transplante, fibrose arterial intimal de novo e/ou multilaminação da membrana basal de capilares peritubulares, podendo apresentar evidência sorológica de DSA e positividade para C4d. O diagnóstico da ABMR necessita de evidências morfológicas, sorológicas e imunohistológicas. Ainda pela classificação de Banff, a TCMR aguda é caracterizada por tubulite, inflamação intersticial, arterite transmural e/ou intimal e/ou necrose fibrinóide. Já a TCMR crônica evidencia tubulite, inflamação cortical e/ou fibrose arterial intimal com infiltrado mononuclear. O diagnóstico da TCMR depende, principalmente, de alterações tubulointersticiais (JEONG, 2020; ROUFOSSE et al., 2018).

Nos pós transplante, a monitorização clínica e laboratorial se faz necessária para a avaliação do perfil do paciente e do seu risco imunológico. A partir desse acompanhamento, os agentes imunossupressores são constantemente ajustados baseando-se no curso do transplante. Em geral, a terapia imunossupressora no transplante renal é composta por um agente principal, que seria um dos inibidores de calcineurina (CNIs, do inglês *calcineurin inhibitors*), a CsA ou o TAC; um agente antiproliferativo adjuvante que suprime a proliferação de células T e B (azatioprina, AZA, ou micofenolato); e corticoesteroides que reduzem a ativação de células T, restringindo e alterando a sinalização de células T e B e, conseqüentemente, diminuindo o risco de rejeição, sendo a prednisona comumente utilizada. Os CNIs têm reduzido, de forma expressiva, a rejeição aguda/ativa, ao limitar a capacidade de linfócitos T CD4⁺ de produzir IL-2, aumentando a sobrevida a curto prazo do aloenxerto. Apesar disso, têm potencial nefrotóxico e podem contribuir para a morbidade e mortalidade cardiovascular ao predispor os pacientes transplantados

a complicações metabólicas, como dislipidemia, DM e HAS. Nesse sentido, inibidores de proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR, do inglês *the mammalian target of rapamycin*) ou bloqueadores de co-estimulação, como Belatacept, surgem como uma alternativa de substituição aos CNIs. Assim, o ajuste/conversão da terapia imunossupressora deve ser cuidadosamente avaliado e o equilíbrio entre super e subexposição alcançado. A manutenção do regime imunossupressor deve ser explorada de forma a minimizar os efeitos adversos a curto e longo prazo no transplante e reduzir o risco de rejeição do aloenxerto (BAUER; FRANCO; MANFRO, 2020; HARDINGER; AGHA; BRENNAN, 2016).

Apesar de ser o padrão ouro para o diagnóstico de rejeição, a biópsia renal pode acarretar complicações evidenciadas, principalmente, pela ocorrência de dor abdominal, aumento sérico da creatinina e da ureia, hemorragia e, em raros casos, risco de perda do aloenxerto e/ou risco de morte após o procedimento. Adicionalmente, essa técnica nem sempre detecta a patologia reversível de forma precoce, já que os marcadores usuais, como a creatinina e a ureia, se elevam tardiamente na disfunção renal (O'CALLAGHAN; KNIGHT, 2019; REDFIELD et al., 2016).

A avaliação de biomarcadores não invasivos, ou seja, aqueles detectados em amostras de sangue e/ou urina, que possam contribuir para o diagnóstico precoce da rejeição do aloenxerto, seria o ideal neste contexto (RAZA et al., 2017a).

Isso permitiria uma vigilância mais intensiva, especialmente em pacientes de alto risco, assim como uma intervenção clínica personalizada com o ajuste precoce da terapia imunossupressora, o que poderia levar a melhores resultados a longo prazo no transplante (HIRT-MINKOWSKI et al., 2016; STEGALL et al., 2011).

2.2.1 Ligante 10 de quimiocina CXC (CXCL10)

O ligante 10 de quimiocina CXC (CXCL10), que também é conhecido como proteína 10 induzida por interferon- γ (IP-10), se liga ao seu receptor CXCR3 para exercer suas funções biológicas específicas como, por exemplo, a participação no recrutamento de células imunes que expressam CXCR3, a inibição da angiogênese durante uma lesão e a regulação do crescimento celular (GAO et al., 2020).

CXCL10 é secretado por meio da influência de citocinas pró-inflamatórias tanto por células não imunes, incluindo células endoteliais e epiteliais, quanto por células imunes, como alguns leucócitos como macrófagos e neutrófilos. Possui propriedades quimiotáticas para células NK, células Th1, macrófagos e células dendríticas (ANDERS; VIELHAUER; SCHLÖNDORFF, 2003; LOETSCHER et al., 1996).

A indução de CXCL10 ocorre de maneira acentuada por IFN- γ e de maneira fraca pelo TNF- α , embora haja uma indução forte de CXCL10 quando TNF- α age de maneira sinérgica com IFN- γ (GROOM; LUSTER, 2011). A indução dessa quimiocina ocorre durante respostas imunes/inflamatórias pela ativação de células Th1 com a consequente produção de IFN- γ e TNF- α por linfócitos e outras células, como monócitos, neutrófilos e células endoteliais. A elevação dos níveis de CXCL10 pode ocorrer em estados patológicos que incluem rejeição ao aloenxerto, autoimunidade e infecções e CXCL10 estimula a manutenção da cascata imunológica (ANTONELLI et al., 2014a; ANTONELLI et al., 2014b; FERRARI et al., 2015).

Os marcadores CXCL10 e CXCL9 se ligam ao receptor CXCR3 acoplado à proteína G, que é expresso nas células T, cuja expressão é estimulada, especialmente, por IFN- γ . Participam do processo de rejeição aguda após o transplante renal, já que são cruciais para o recrutamento e migração de linfócitos T citotóxicos e células Th1 ativadas (ANDERS; VIELHAUER; SCHLÖNDORFF, 2003; CAMPANELLA et al., 2008; DEHMEL et al., 2010; LOETSCHER et al., 1996).

Além da via de CXCR3, CXCL10 pode se ligar a glicosaminoglicanos, estando envolvido na migração de fibroblastos e na proliferação de células endoteliais (CAMPANELLA; COLVIN; LUSTER, 2010; JIANG et al., 2010). Os níveis de CXCL10 e CXCR3 são baixos em um rim considerado normal, mas o nível de expressão destes marcadores aumenta em condições patológicas (GAO et al., 2020). A injúria renal aguda é caracterizada por inflamação, disfunção vascular e dano tubular renal e resulta no acúmulo de toxinas e resíduos metabólicos por rápido declínio da função renal (LINKERMANN et al., 2014a; RABB et al., 2015). Algumas partes do rim lesado podem progredir para fibrose e necrose, alterações características da DRC (FURUICHI; KANEKO; WADA, 2009). A patogênese da fibrose intersticial e necrose tubular (IFTA, do inglês *interstitial fibrosis and tubular atrophy*) tem como mediadores as quimiocinas como, por exemplo, CXCL10 que atua ao se ligar a CXCR3, predominantemente expresso em células Th1 ativadas, e participa da ativação e infiltração de leucócitos (GAO et al., 2020; RABB et al., 2015).

Elevados níveis urinários de CXCL10 foram encontrados em pacientes com rejeição aguda do aloenxerto renal (HU et al., 2004). Além disso, estudos têm demonstrado que a expressão de CXCL10 é elevada na IRA, tendo valor diagnóstico e prognóstico nesta patologia e sendo considerado um bom biomarcador de lesão renal (BAUTISTA et al., 2013; GAO et al., 2020; HO et al., 2009; VAIDYA et al., 2008).

A expressão aumentada de CXCL10 em amostras de biópsia renal foi encontrada em estudos com RTR com rejeições agudas e crônicas, além de prever um risco aumentado de insuficiência do órgão transplantado dentro de um ano após o procedimento cirúrgico (LAZZERI et al., 2005; LO et al., 2011; MATL et al., 2010). Em outro estudo, níveis séricos elevados de CXCL10 no pré-transplante foram detectados em RTR que sofreram disfunção do enxerto renal (ROTONDI et al., 2004), o que evidencia a hipótese de que mensurar os níveis de CXCL10 no pré-transplante pode ter um valor preditivo quanto à rejeição ao órgão enxertado e a subsequente falha do transplante (GAO et al., 2020).

Matz et al. (2006) demonstraram que CXCL10 pode ser um bom marcador prognóstico sem a necessidade de biópsia renal. Estes pesquisadores detectaram que os níveis urinários elevados de CXCL10 em determinados tempos iniciais do pós transplante conseguiram prever a função do enxerto renal avaliada pelo eRFG, mesmo na ausência de rejeição aguda. Outros estudos demonstraram níveis urinários aumentados de CXCL10 e do seu receptor CXCR3 em transplantados renais pediátricos e adultos com rejeição aguda comprovada por biópsia (HU et al., 2004; JACKSON et al., 2011; TATAPUDI et al., 2004). Além disso, níveis aumentados de CXCL10 foram identificados em RTR com episódios de rejeição aguda (HUANG et al., 2014; MAO et al., 2011), o que sugere que o uso deste biomarcador pode ser viável para o monitoramento da rejeição do aloenxerto renal (GAO et al., 2020).

Ho e colaboradores (2011) demonstraram que CXCL10 pode detectar precocemente a tubulite em RTR, o que pode não ser detectado pelo monitoramento no transplante com o uso de marcadores de rotina, como a creatinina. Conforme dito anteriormente, CXCL10 é capaz de atrair células T com um perfil Th1 predominante, sendo responsável pela inflamação renal. No entanto, sua função específica no transplante e em doenças renais ainda não está clara e suas interações com outras quimiocinas, citocinas e células devem ser investigadas. Isto poderia comprovar a eficácia de CXCL10 como um bom biomarcador de disfunção renal e como um alvo terapêutico no transplante e na doença renal (GAO et al., 2020).

2.2.2 Proteína quimiotática de monócitos (MCP-1/CCL2)

A proteína quimioatraente de monócitos, também conhecida como ligante 2 de CC quimiocina (MCP-1/CCL2), como o próprio nome diz, é uma quimiocina que atua na imunidade inata e nas respostas inflamatórias que ocorrem nos tecidos. Essa quimiocina é considerada um potente e importante fator quimiotático de monócitos, sendo membro da subfamília C-C, estando envolvida no recrutamento celular. Ela é produzida por diversas células como fibroblastos, monócitos, astrócitos, células musculares lisas, endoteliais, epiteliais, mesangiais e imunológicas do cérebro em resposta ao estresse oxidativo, aos fatores de crescimento ou às citocinas, facilitando a migração e infiltração de monócitos/macrófagos, de linfócitos T e de células NK nos sítios inflamatórios (HIRT-MINKOWSKI et al., 2016). Foi descoberto que essa quimiocina, além de atuar na migração de monócitos/macrófagos para focos inflamatórios, também controla a resposta imune/inflamatória no que diz respeito à migração de basófilos e células T (TAM; ONG, 2020).

A MCP-1/CCL2 pode ser estimulada *in vitro* por citocinas inflamatórias, como o TNF- α e a interleucina 1 (IL-1), sendo sintetizada por uma variedade de tipos celulares renais, como leucócitos infiltrantes (MENZIES et al., 2017). A interação ligante-receptor de MCP-1/CCL2 e CCR2 é a mais conhecida, porém tanto MCP-1 interage com outros receptores, como CCR2 interage com outras quimiocinas. Assim, o bloqueio de CCR2 pode não neutralizar MCP-1/CCL2 completamente (TAM; ONG, 2020). Porém, em um estudo com camundongos submetidos a obstrução ureteral unilateral, foi constatado que camundongos knockout para CCR2 tiveram uma redução na gravidade da lesão renal com diminuição da fibrose tubulointersticial e da infiltração de macrófagos em relação a camundongos selvagens (KITAGAWA et al., 2004).

Na literatura, evidências crescentes demonstram que MCP-1/CCL2 tem participação importante na fase de pós-lesão, estando associada aos processos inflamatórios, fibróticos e de reparo na doença renal (HO et al., 2014; YADAV; SAINI; ARORA, 2010). Um estudo demonstrou que níveis urinários aumentados de MCP-1/CCL2, colhidos na consulta inicial dos pacientes, estavam fortemente associados à falha do aloenxerto renal (IX et al., 2017).

Além disso, Raza et al. (2017a) demonstraram que níveis urinários de MCP-1/CCL2 têm potencial para prever e monitorar episódios de rejeição em RTR,

especialmente quando utilizados juntamente a outros marcadores. Hirt-Minkowski e colaboradores (2016) demonstraram que uma menor razão entre níveis urinários de MCP-1/CCL2 e creatinina em 6 meses após o transplante renal se correlacionaram com a sobrevida do enxerto sem eventos adversos em um acompanhamento de RTR de, no mínimo, 5 anos. Nesta mesma linha, em um estudo multicêntrico com pacientes transplantados renais, os pesquisadores correlacionaram a razão significativamente maior entre os níveis urinários de MCP-1/CCL2 e a creatinina após 6 meses de transplante a biópsias que indicavam fibrose intersticial e inflamação após 24 meses de transplante, destacando MCP-1/CCL2 como um marcador de risco de perda do enxerto (HO et al., 2014).

Já se sabe que a ativação de macrófagos M1, realizada por vias dependentes de IFN- γ , é relacionada a um fenótipo pró-inflamatório com agravamento da lesão renal (LEE et al., 2011; RICARDO; VAN GOOR; EDDY, 2008). Após a lesão tubular renal, macrófagos podem sofrer uma mudança fenotípica in situ de M1 para M2 com o objetivo de promover reparo e atuar no processo de fibrose. Este processo pode ser mediado por uma via dependente de MCP-1/CCL2 e seu receptor CCR2 (LEE et al., 2011; RUAN et al., 2014; SIERRA-FILARDI et al., 2014). Assim, além de estar envolvida na fibrose renal, MCP-1/CCL2 também pode estar envolvida no processo de reparo após a lesão, podendo, também, exercer um papel protetor na lesão de isquemia-reperfusão (LOW DRUGEA; DUFFNEW, 2001; STROO; CLAESSEN; TESKE, 2015; MANSOUR et al., 2017).

Pacientes com DRC avançada possuem maiores níveis plasmáticos de MCP-1/CCL2 em relação àqueles com função renal normal (FUKAMI et al., 2011). No entanto, não se sabe se este aumento está relacionado à suprarregulação de MCP-1/CCL2 no contexto de inflamação sistêmica da DRC (estresse oxidativo e disfunção endotelial) ou da diminuição da depuração renal em pacientes com função renal comprometida (MUREA et al., 2012; PAPAYIANNI et al., 2002; STINGHEN et al., 2009).

Adicionalmente, Gregg e colaboradores (2018) demonstraram, em um estudo prospectivo, que os níveis plasmáticos de MCP-1/CCL2 estavam negativamente correlacionados ao eRFG, além de se relacionarem com a mortalidade e com eventos ateroscleróticos em pacientes com DRC.

No contexto de maior risco de acometimento por doença cardiovascular em pacientes com DRC e RTR, é importante salientar que a MCP-1/CCL2 pode

desempenhar um papel no recrutamento precoce de monócitos em placas ateroscleróticas, sendo produzida por células endoteliais, macrófagos e células do músculo liso vascular em resposta à lesão arterial (BETRIU et al., 2014; DALRYMPLE et al., 2011; DEVINE; COURTNEY; MAXWELL, 2019; GO et al., 2004; GOSLING et al., 1999; JIANG et al., 1992; KOEDA et al., 2011; RECIO-MAYORAL et al., 2011).

Em outro estudo, tanto MCP-1/CCL2 quanto CXCL10 foram biomarcadores que se correlacionaram com o prognóstico do transplante renal, superando importantes marcadores clínicos de rotina, como a proteinúria e o eRFG (HIRT-MINKOWSKI et al., 2016). Assim, o uso de MCP-1/CCL2 juntamente com outros mediadores inflamatórios solúveis parece ser clinicamente útil para avaliar o início ou a progressão da doença renal aguda e crônica (TAM; ONG, 2020).

Já foi demonstrada a ativação aloimune via supra regulação de MCP-1/CCL2 e de genes de resposta do IFN- γ (CXCL10 e CXCL9) em biópsias com infiltração de macrófagos M2 (TOKI et al., 2014a) de pacientes transplantados renais. Neste caso, é sugerido que o prognóstico ruim esteja relacionado tanto com o aumento de MCP-1/CCL2, mediando a ativação e infiltração de macrófagos no enxerto, o que pode levar a progressão para fibrose intersticial e atrofia tubular e perda do órgão transplantado, quanto com a elevação dos níveis de CXCL10, potencializando a lesão pelo aumento da inflamação aloimune persistente (HIRT-MINKOWSKI et al., 2016, HO et al., 2010; HO et al., 2013).

MCP-1/CCL2 e CXCL10 possuem as vantagens de serem marcadores reproduzíveis, robustos, simples, de baixo custo e facilmente quantificados por técnicas imunomediadas, como o Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Além disso, parecem ter fundamental importância no contexto do transplante renal, podendo ser usados para identificar o risco aumentado de perda do enxerto, enquanto a lesão renal ainda é considerada reversível (HIRT-MINKOWSKI et al., 2016).

2.2.3 Interleucina 6 (IL-6)

A interleucina 6 (IL-6) pode ser produzida por células estromais e imunes em todo corpo humano, diferentemente de outras citocinas que têm expressão celular restrita (HUNTER; JONES, 2015; LIU et al., 2016). Foi identificada primariamente

como um fator de estimulação de células B, promovendo sua ativação, que resulta na produção de imunoglobulinas (KISHIMOTO et al., 1992; JORDAN et al., 2017).

As múltiplas funções biológicas da IL-6 já são conhecidas, como a participação na proliferação de células T, no desenvolvimento precoce dos sistemas neurais e cardiovascular, sua relação com a oncogênese e a hematopoese, seu papel na remodelação e regeneração tecidual e óssea, a estimulação da imunidade de fase aguda, além de sua implicação em distúrbios imunológicos crônicos, como a doença do enxerto contra o hospedeiro e glomerulonefrite rapidamente progressiva por proliferação celular mesangial (CHOY et al., 2020; JONES; JENKINS, 2018; JORDAN et al., 2017; KISHIMOTO, 2006; MURAKAMI; KAMIMURA; HIRANO, 2019). Um papel chave da IL-6 na rejeição ao aloenxerto também foi descrito em RTR e esta foi considerada uma citocina promotora da infiltração celular no órgão transplantado, com consequente estimulação de células T e B (BOOTH et al., 2011; JORDAN et al., 2017).

A redução da função renal está ligada ao aumento dos níveis de IL-6, o qual promove estimulação imune, neovascularização com aumento de fator de crescimento endotelial vascular e processo inflamatório progressivo. Este último processo está relacionado ao aumento da síntese de proteínas de fase aguda, como proteína C reativa (PCR), hepcidina, amilóide sérica A e fibrinogênio, bem como a interações entre IL-6 e o receptor de interleucina 6 (IL-6R) nos hepatócitos, estimulando a síntese de outras citocinas, diminuindo a excreção renal e favorecendo a hipercoagulabilidade (ANTUNES; CANZIANI, 2016; GABAY, 2006; GURSU et al., 2014; FILIOPOULOS; VLASSOPOULOS, 2009; XU et al., 2015).

Em relação à produção de IL-6 pelo RTR, esta pode ser iniciada pela ligação entre anticorpos HLA específicos do doador e alvos HLA no endotélio do aloenxerto que, quando persistente, estimula a proliferação intimal e a vasculopatia, podendo resultar em ABMR (JORDAN et al., 2017). A produção aumentada de IL-6 também está relacionada à inibição de células Tregs, como células CD4+, CD25+ e FoxP3+, e à ativação de células Th17, contribuindo para a rejeição ao aloenxerto. Isso se dá pela estimulação de citocinas pró-fibróticas por linfócitos Th17 ativados e pela inibição da conversão de células Th17 em células Tregs por IL-6, o que impede a supressão da inflamação e a indução da tolerância, além de estimular a fibrose crônica e a injúria tubular renal. Em contraponto, a redução expressiva de IL-6 pode estar relacionada ao comprometimento da atividade de células B e T com risco aumentado de complicações infecciosas. A IL-6 pode, portanto, ser considerada um indicador

importante da evolução renal, refletindo a reação imunológica no transplante renal (JORDAN et al., 2017; OMRANI et al., 2019; SMITH; MAIZELS, 2014; TANAKA; KISHIMOTO, 2014; TANAKA; NARAZAKI; KISHIMOTO, 2014).

Em um modelo de transplante cardíaco experimental, os autores combinaram inibidores de IL-6 e IFN- γ e observaram a tolerância do enxerto a longo prazo (ZHAO et al., 2012). Outros autores demonstraram que a depleção de células B em modelo animal, após o início do dano crônico do enxerto, foi capaz de reduzir níveis de IL-6 e de quimiocinas, assim como o infiltrado de células B no órgão transplantado, reduzindo, dessa forma, a IFTA. Os autores consideraram que a IL-6 pode ser um importante mediador da IFTA, podendo ser usada como marcador na ABMR (TSE et al., 2015). Em um estudo com pacientes alossensibilizados, o tratamento com Tocilizumabe, um inibidor de IL-6R, reduziu significativamente os níveis de DSA destes pacientes e permitiu que a maioria recebesse transplantes renais viáveis. Após um ano, somente um paciente desenvolveu ABMR sem DSA, não houve morte nem falha do transplante, e houve um aumento da população de células Tregs (VO et al., 2015).

2.2.4 Fator de necrose tumoral α (TNF- α)

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) é uma citocina produzida por células imunes, como células T e B, monócitos e macrófagos, e células não imunes como células epiteliais e endoteliais, astrócitos e queratinócitos (PAPADAKIS; TARGAN, 2000). Seu papel pró-inflamatório é bem estabelecido com ativação de vias inflamatórias, como a via clássica do NF- κ B, atuando em diversos processos inflamatórios sistêmicos. A liberação de TNF- α por macrófagos pode aumentar a expressão de moléculas do MHC, a maturação de APCs e a adesão de células T às APCs, além de fornecer sinais co-estimulatórios para células T CD4 $^{+}$ e T CD8 $^{+}$. Juntamente com IL1 β , TNF- α pode ter sua expressão aumentada por células T ativadas, retroalimentando sua liberação (ASPALTER; EIBL; WOLF, 2003; BOLLYKY et al., 2010; CELLA et al., 1997; HILL et al., 1999; KIM; TEH, 2004; MITOMA et al., 2018; XUN et al., 1994).

Suas funções anti-inflamatórias e imunomoduladoras têm se destacado com a descoberta de que TNF- α pode promover a proliferação e a ativação de células Tregs.

Esta ativação ocorre por FoxP3+ em condições inflamatórias, via receptor do fator de necrose tumoral alfa 2 (TNFR2). A função imunossupressora de TNF- α , a depender das células regulatórias envolvidas e da doença subjacente, pode contrabalancear a inflamação excessiva e melhorar a regeneração do tecido (ALI et al., 2017; NOSBAUM et al., 2016; WAJANT; BEILHACK, 2019).

Em relação às células T, TNFR2 pode ter ações antagônicas. Este receptor pode sensibilizar células e induzir a morte celular pelo receptor do fator de necrose tumoral alfa 1 (TNFR1), inibindo a estimulação de células T CD8+. De forma oposta, TNFR2 também pode estimular vias clássicas e alternativas de NF- κ B, desencadeando a proliferação de células T CD8+ e regulando positivamente proteínas antiapoptóticas (RAUERT et al., 2010; WAJANT; BEILHACK, 2019).

Em um estudo in vitro foi constatado que células Tregs deficientes em TNFR2 perderam, de forma expressiva, sua atividade supressora, enquanto a deficiência de TNFR1 resultou em aumento da atividade das células Tregs (MCCANN et al., 2014). Neste caso, o bloqueio da atividade de TNF- α pode ser complicado, já que significa não apenas inibir seu efeito pró-inflamatório mediado por TNFR1, mas também inibir seu efeito protetor mediado por TNFR2 (WAJANT; BEILHACK, 2019). Pela influência imunológica, TNF- α , TNFR1 e TNFR2 podem ser considerados marcadores úteis na avaliação da função renal após o transplante (BUDAK et al., 2015; WAJANT; BEILHACK, 2019).

2.2.5 Interleucina 1 beta (IL-1 β)

A IL-1 desempenha um papel importante na inflamação ao participar das respostas de fase aguda e aumentar a infiltração de células inflamatórias e a aderência de linfócitos e neutrófilos às células endoteliais. Durante o processo de isquemia-reperfusão, que ocorre na transplantação de órgãos, IL-1 é liberada durante a reperfusão, induzindo uma resposta inflamatória moderada e levando à apoptose de células-alvo, podendo diminuir e/ou retardar a função do aloenxerto (LI et al., 2004). A produção de IL-1 precede a disfunção do aloenxerto renal, podendo estar implicada na patogênese da rejeição aguda e crônica do aloenxerto (BHAT et al., 2017; LEE et al., 2004; SIMS; SMITH, 2010; VORONOV; CARMI; APTE, 2014). A sinalização de IL-1 ativa células imunes inatas, induz a secreção de outras citocinas, como a IL-6, e

conduz as células T em direção às respostas do tipo Th1 e Th17, provocando um estado pró-inflamatório que pode induzir o dano renal progressivo associado à DRC, além de promover disfunção do aloenxerto em pacientes transplantados renais (BENT et al., 2018; BANDACH; SEGEV; LANDAU, 2021; CHUNG et al., 2015; TOSATO; JONES, 1990).

A família de IL-1 é composta por 11 membros e consiste em várias citocinas pró e anti-inflamatórias expressas em múltiplas células imunes, como células dendríticas, células T e B, neutrófilos e monócitos, que participam diretamente da resposta inflamatória em diversas doenças (DINARELLO, 2009; SIMS; SMITH, 2010; XU; MU; WEI, 2019). São elas: interleucina 1 alfa (IL-1 α), IL-1 β , antagonista do receptor de interleucina 1 (IL-1RA, do inglês *interleukin 1 receptor antagonist*), interleucina 18 (IL-18), antagonista do receptor da interleucina 36 (IL-36Ra, do inglês *interleukin 36 receptor antagonist*), interleucina 36 alfa (IL-36 α), interleucina 37 (IL-37), interleucina 36 beta (IL-36 β), interleucina 36 gama (IL-36 γ), interleucina 38 (IL-38) e interleucina 33 (IL-33). IL-1 β é uma citocina pró-inflamatória e o membro mais bem caracterizado desta família (DINARELLO et al., 2010; YAZDI; GHORESCHI, 2016). Ela é rapidamente produzida e liberada em resposta aos estímulos inflamatórios por diversas células imunes e não imunes e tem a capacidade de amplificar respostas imunes inflamatórias até a lesão tecidual (DINARELLO, 2014). A ligação de IL-1 β ao receptor de interleucina 1 do tipo 1 (ILR1, do inglês *IL-1 receptor type 1*) facilita o processo de transcrição de múltiplos genes, como os genes da interleucina 17 (IL-17), IL-6 e IFN- γ , levando a eventos pró-inflamatórios ligados ao dano tecidual, à progressão de doenças e à falência precoce do aloenxerto (DINARELLO et al., 2010; SIMS; SMITH, 2010; XU; MU; WEI, 2019; WEAVER et al., 2017).

Já foi constatada uma secreção aumentada de IL-1 β por células polimorfonucleares e monócitos em pacientes com rejeição crônica do aloenxerto, tubulopatia e glomerulonefrite em relação aos pacientes sem rejeição ao transplante (BATAL et al., 2014; DE SERRES et al., 2011; DE SERRES et al., 2012). Além disso, uma maior excreção urinária do IL-1RA foi associada a uma melhor função do aloenxerto renal em um ano e menores níveis séricos de IL-1RA foram relacionados à função do enxerto retardada, o que demonstra seu possível efeito protetivo (PEREIRA et al., 2012; SADEGHI et al., 2003).

2.2.6 Interleucina 10 (IL-10)

A interleucina 10 (IL-10) é secretada principalmente por monócitos, macrófagos e linfócitos e funciona como uma citocina imunorregulatória, com efeitos anti-inflamatórios e propriedades antitrombóticas e antiaterosclerótica (DE VRIES, 1995; MORITA et al., 1997). Esta última propriedade foi demonstrada por estudos que encontraram uma maior expressão gênica de IL-10 associada à atenuação do processo de aterogênese (CAVUSOGLU et al., 2011; ESKDALE; GALLAGHER, 1995).

No processo de ativação de células Th2, a IL-10 produzida previne a proliferação de células T. Pode também inibir a síntese de citocinas de resposta Th1 e tem efeito direto na ativação, proliferação e diferenciação de células B (CASCALHO et al., 2013; CHESNEAU et al., 2014; DOMINGUEZ-PANTOJA et al., 2018; LACHMANN et al., 2017; RAN et al., 2020; SALEHI et al., 2020). Além disso, a IL-10 tem a capacidade de suprimir a apresentação de antígenos por células mielóides, desregulando, assim, a atividade do sistema imune inato (MITTAL; ROCHE, 2015).

Níveis elevados de IL-10 já foram encontrados tanto em desfechos favoráveis, como também foram considerados preditores de mortalidade em situações inflamatórias, como nos casos do transplante renal e da hemodiálise, prevendo o desenvolvimento de eventos cardiovasculares (GAO et al., 2021; MAELARSTIG et al., 2008; STENVINKEL; KETTELER; JOHNSON, 2005). Esta última situação pode ser explicada pelo mecanismo contra regulatório com um aumento compensatório de IL-10 em estados inflamatórios (GAO et al., 2021).

Após o transplante renal, uma diminuição de células B produtoras de IL-10 mais pronunciada foi encontrada em um estudo com pacientes que tiveram rejeição aguda e/ou falha do aloenxerto. O desbalanço imunológico mais evidente parece ter uma relação direta com a deterioração do aloenxerto e a diminuição de IL-10 parece estar associada ao desenvolvimento do processo de rejeição (ELNOKEETY; SHAKER; FAYED, 2017; LAGUNA-GOYA et al., 2020). Nesse sentido, um estudo demonstrou que níveis de células T e B produtoras de IL-10 podem ser utilizados como marcadores para prever o risco de ABMR no transplante renal (LUO et al., 2021). A análise conjunta de IL-10 e outras citocinas pode auxiliar na avaliação do estado imunológico dos pacientes transplantados renais, direcionando o ajuste da dose do agente imunossupressor (ELNOKEETY; SHAKER; FAYED, 2017).

2.2.7 Homocisteína (HC)

A homocisteína (HC) é um aminoácido não essencial, sintetizado por transmetilação da metionina, aminoácido essencial derivado da dieta. Uma anormalidade nos níveis de HC pode levar a estresse oxidativo, resultando em oxidação elevada de carboidratos, ácidos nucleicos e proteínas, além de lipoperoxidação, o que pode levar a citotoxicidade (ŠKOVIEROVÁ et al., 2016).

A maior parte da HC circulante, cerca de 80 a 90%, está ligada a proteínas. Apenas a HC livre, que representa menos de 1% de HC na circulação, é filtrada pelos glomérulos renais, reabsorvida nos túbulos e oxidada em forma de dióxido de carbono e sulfato nas células renais. Pacientes com ESRD e DRC têm demonstrado níveis mais elevados de HC em relação à população em geral. No caso dos pacientes com DRC, estudos mostraram que a causa da hiper-homocisteinemia é consequência da depuração reduzida e não do aumento da produção (CAPPUCCILLI et al., 2020; PERNA et al., 2010).

A hiper-homocisteinemia promove a expressão de moléculas de adesão e de quimiocinas com a subsequente proliferação de células musculares lisas vasculares. Pode agir sobre as células glomerulares de forma direta ao induzir esclerose e dano renal com expansão mesangial, disfunção de podócitos e fibrose por estresse oxidativo local (DEUSSEN et al., 2005; TSAI et al., 1994).

A hiper-homocisteinemia também está relacionada a geração de ROS, espécies reativas de tiol e espécies reativas de nitrogênio, diminuindo a biodisponibilidade de óxido nítrico. Em consequência, há disfunção endotelial com estímulo das metaloproteinases de matriz (MMPs) e inativação de inibidores teciduais das MMPs (TIMPs, do inglês *tissue inhibitor of metalloproteinase*). Isso leva a uma remodelação cardiovascular com aumento do depósito de colágeno (STEED; TYAGI, 2011).

Adicionalmente, a hiper-homocisteinemia também está relacionada à indução da expressão de quimiocinas pró-inflamatórias, como MCP-1, em células endoteliais através da ativação do NF-κB, aumentando a inflamação vascular, a aterogênese e a migração de monócitos da circulação para o tecido através do endotélio (PODDAR et al., 2001; ZENG et al., 2005).

Uma recente meta-análise concluiu que a alta incidência de DRC está associada a níveis elevados de HC e que uma avaliação precoce de HC pode ser útil

para detectar pacientes com DRC (CHEN et al., 2023). Além disso, níveis elevados de HC já foram associados à disfunção endotelial, inibindo a proliferação de células endoteliais e promovendo a inflamação (JAN et al., 2021).

Além dos marcadores inflamatórios citados, reguladores funcionais da resposta imunológica, como determinados microRNAs (miRNAs), podem ser utilizados como ferramentas interessantes para o monitoramento e avaliação da função renal e do prognóstico de pacientes transplantados renais (JELENCICS; OBERBAUER, 2015).

2.3 MicroRNAs (miRNAs)

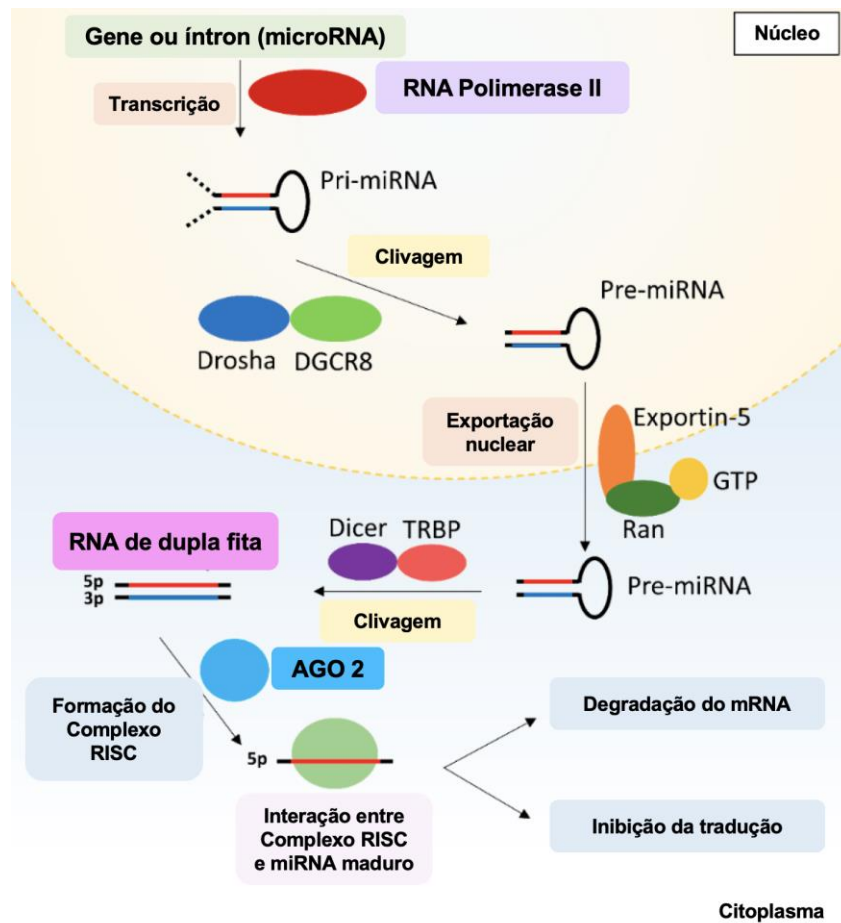
Os miRNAs são RNAs não codificantes, expressos por genes específicos e transcritos pela RNA polimerase II em um miRNA primário (pri-miRNA) em forma de grampo, com pareamento interno de bases complementares de fita simples, ou seja, uma estrutura que forma um eixo de RNA de dupla fita (dsRNA). O pri-miRNA é reconhecido pela proteína DGCR8 que, por sua vez, se associa a enzima DROSHA, formando um complexo capaz de clivar o RNA em um miRNA de tamanho menor. Este miRNA precursor pode ser direcionado para fora da célula envolvido em vesículas (microvesículas ou exossomos) ou pode ser exportado para o citoplasma através da ligação com a *Exportin 5*, uma molécula transportadora (AXTELL et al., 2011; PEREIRA, 2015).

No citoplasma, o miRNA precursor é reconhecido pela DICER, uma RNase que cliva o miRNA. A proteína Argonauta, ou AGO 2, interage com o miRNA e uma fita é liberada e degradada (conhecida como miRNA passageiro). A fita remanescente (miRNA guia) interage com AGO 2 e outras proteínas formando o RISC, complexo de silenciamento induzido por miRNA (do inglês *RNA-induced silencing complex*), que pode inativar um ou múltiplos genes, já que vários RNA mensageiros (mRNAs) são complementares à sequência do miRNA, o que permite o emparelhamento. É importante salientar que tanto a fita 5p quanto a 3p do miRNA precursor pode interagir com RISC, porém, frequentemente uma única fita predomina. Em alguns casos, ambos os braços do duplex dão origem a miRNAs maduros funcionais que interagem com AGO 2 para regular a expressão gênica. Uma vez que há a ligação entre o mRNA e o miRNA, há a inativação do mRNA por dois mecanismos: pode haver um pareamento imperfeito do miRNA com a região 3' não traduzida (UTR, do inglês

untranslated region) de seu mRNA-alvo e proteínas do complexo RISC podem clivar o mRNA, promovendo sua desestabilização (correspondente a mais de 80% dos eventos); ou pode ocorrer a inibição da tradução, já que o complexo RISC pode impedir a ação dos ribossomos. Em ambos os casos, o mRNA não será traduzido em uma proteína, e o gene será silenciado. Assim, os miRNAs realizam o controle pós-transcricional e estima-se que mais da metade de todos os mRNAs codificados no genoma humano são alvos de miRNAs (AXTELL et al., 2011; GHILDIYAL et al., 2009; GUO et al., 2010; OKAMURA; LIU; LAI, 2009; PEREIRA, 2015).

Além disso, os miRNAs parecem também regular a expressão gênica em locais além do citoplasma. Já foi detectada atividade funcional de RISC no núcleo e nas mitocôndrias e já foi relatado a regulação da expressão gênica por miRNAs processados no citoplasma e importados para o núcleo (BANDIERA et al., 2011; CERNILOGAR et al., 2011; ROBB et al. 2005; TAN et al., 2009). Adicionalmente, ao se ligarem ao promotor de genes alvo, vários miRNAs foram identificados como reguladores da expressão gênica (YOUNGER; COREY, 2011; HUANG et al., 2012; PLACE et al., 2008; KIM et al., 2008). De forma resumida, o complexo AGO 2-miRNA é importado para o núcleo pela ligação ao *Importin* 8 e este complexo se liga a sequências de DNA cromossômico ou aos transcritos derivados de genes promotores. Nesse processo, há o recrutamento de proteínas modificadoras de cromatina, aumento da metilação e inibição da transcrição pelo gene promotor alvo (HUANG; LI, 2012). A **Figura 3** resume o processo elucidado nos parágrafos acima.

Figura 3 – Biossíntese de microRNA



Fonte: Adaptado de Peteres (2020, p. 3).

2.3.1 MicroRNA-145-5p e microRNA-23b-3p

O microRNA-145-5p (miR-145-5p) pode regular o ciclo celular e promover a apoptose celular (CORDES et al., 2009; XIN et al., 2009). Em diferentes tipos de cânceres, o miR-145-5p é caracterizado como um supressor tumoral (DING et al., 2017; WANG et al., 2017a; ZHU; ZHU, 2018). Em respostas inflamatórias alérgicas mediadas por células Th2, este miRNA pode também agir como uma molécula pró-inflamatória (COLLISON et al., 2011).

Ademais, o miR-145 está envolvido em doenças vasculares por suprimir a proliferação de células do músculo liso vascular, sendo que sua regulação negativa já foi observada em lesão neointimal em cultura de célula e sua expressão foi relacionada com a diminuição do dano vascular em pacientes pediátricos com nefrite

lúpica, demonstrando seu papel vasculoprotetor e, conseqüentemente, renoprotetor (CHENG et al., 2009; GIRDAUSKAS et al., 2018; WU et al., 2016). Por outro lado, já foram encontradas evidências de que vesículas extracelulares carregadas com miR-145-5p induziram proteinúria e apagamento dos processos podocitários em camundongos controle saudáveis (ZHANG et al., 2021). Em um estudo que avaliou miRNAs em pacientes transplantados renais, foi encontrada uma maior expressão de miR-145-5p em receptores com função renal estável em relação a indivíduos com ABMR. De forma inesperada, os autores encontraram uma menor expressão de miR-145-5p em pacientes com IFTA em relação a indivíduos com função renal estável, demonstrando um alto valor diagnóstico de miR-145-5p pela análise da área sob a curva ROC (MATZ et al., 2018). De fato, a superexpressão de miR-145 em células de condroblastos que resultou em inibição da fibrose e da proliferação celular, de forma significativa, já foi relatada na literatura (WANG et al., 2017b).

Em um artigo recente, os autores sugeriram o importante papel do microRNA-23b-3p (miR-23b-3p) na doença renal, em especial na nefropatia por IgA. O estudo utilizou modelo murino e demonstrou que a deficiência do miR-23b-3p induziu uma doença semelhante à nefropatia por IgA, com aumento de proteinúria e dos níveis séricos de IgA, deposição mesangial de IgA e C3 e aumento da pressão arterial (LI et al., 2021a). Em outro estudo, o miR-23b-3p foi considerado promissor por desempenhar um papel crítico na patogênese da síndrome nefrótica em pacientes pediátricos, sendo importante para prever e monitorar crianças com complicações graves (CHEN et al., 2019). Além disso, autores demonstraram uma maior expressão de miR-23b-3p em células urinárias de indivíduos com função normal do aloenxerto em relação aos indivíduos com disfunção crônica do aloenxerto com IFTA (MALUF et al., 2014).

Assim, biomarcadores promissores, como os miRNAs e os marcadores inflamatórios citados anteriormente, poderiam ser utilizados na prática clínica juntamente aos marcadores usuais para aumentar a sensibilidade e especificidade em estimar as condições do aloenxerto. Além disso, a utilização destes marcadores no transplante renal poderia trazer informações sobre a injúria renal de uma maneira mais precoce e mais assertiva, auxiliando na decisão clínica a ser tomada (ROGULSKA et al., 2022; SWANSON et al., 2020).

2.3.2 MicroRNA-15a-5p e microRNA-15b-5p

No presente estudo, foram feitas análises preliminares do painel inflamatório composto por CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HCY. Esses marcadores foram avaliados entre os grupos distribuídos de acordo com a função renal avaliada pelo eRFG e a evolução do aloenxerto renal durante os 5 anos de acompanhamento. As análises demonstraram um bom desempenho de CXCL10 na distinção entre os grupos e a ferramenta *TargetScan* (AGARWAL et al., 2015) foi utilizada para verificar quais miRNAs poderiam melhor modular CXCL10. Esta quimiocina, então, foi considerada um alvo potencial dos microRNAs 15a-5p (miR-15a-5p) e 15b-5p (miR-15b-5p).

Em um estudo que avaliou amostras urinárias de pacientes com nefropatia por IgA, o miRNA-15a-5p não foi associado com a proteinúria e com o eRFG, porém foi significativamente mais expresso em pacientes que possuíam essa glomerulopatia em relação aos pacientes do grupo controle que possuíam função renal estável e que não tinham histórico de doenças renais (ZHANG et al., 2023). No entanto, a regulação negativa de miR-15a-5p desencadeou a proliferação endotelial e o aumento da inflamação vascular em um estudo recente que utilizou modelo animal (LI et al., 2021b). Em um estudo que avaliou pacientes com Nefropatia Diabética (ND), a expressão de miR-15a-5p foi negativamente correlacionada aos níveis de albuminúria de forma significativa (DIETER et al., 2019).

O miR-15b-5p, por sua vez, já foi identificado como um marcador altamente específico para TCMR em um estudo envolvendo pacientes transplantados renais, permitindo a distinção de pacientes com TCMR em relação aos pacientes com função renal estável, com ABMR e com ambas as rejeições (MATZ et al., 2016b). Outros autores relacionam miR-15b-5p à indução da apoptose de células mesangiais, sendo considerado um potencial preditor da injúria renal na ND, em um estudo que avaliou camundongos sob influência de glicose (TSAI et al., 2020). Além disso, em outra pesquisa envolvendo pacientes diabéticos, foram encontrados níveis significativamente mais aumentados de miR-15b provenientes de exossomos obtidos de amostras urinárias em pacientes com ND em relação aos pacientes saudáveis. miR-15b também foi correlacionado positivamente com a relação albumina/creatinina e com os níveis de creatinina nesse mesmo estudo (EISSA et al., 2016).

3 JUSTIFICATIVA

Na prática clínica, a utilização de potenciais biomarcadores inflamatórios juntamente aos marcadores laboratoriais tradicionais poderia complementar a avaliação do prognóstico dos pacientes transplantados renais. Pacientes com alto risco imunológico poderiam ser identificados de forma mais assertiva e alterações no tratamento imunossupressor poderiam ser iniciadas antes que ocorresse uma injúria mais grave do rim enxertado.

A biópsia é o padrão de referência para o diagnóstico de rejeição, porém é limitada por ser invasiva, por trazer certos riscos, e por erros de amostragem e falta de consenso em torno da interpretação histológica. Essa técnica é realizada, na maioria dos casos, quando se há suspeita de rejeição e, portanto, quando existe a possibilidade de um comprometimento renal. Essa suspeita se dá principalmente pela avaliação de marcadores de rotina que falham em detectar precocemente alterações fisiopatológicas ligadas à rejeição. Com isso, marcadores inflamatórios promissores relacionados a essas alterações poderiam ser utilizados na rotina laboratorial dos pacientes transplantados de forma complementar ao que já existe atualmente.

Caso os marcadores inflamatórios propostos se provem mais específicos e mais sensíveis em detectar a disfunção renal em relação aos marcadores tradicionais, estes poderiam ser implementados no monitoramento dos pacientes transplantados renais como parte dos exames laboratoriais de rotina. Isso seria relativamente simples, devido à facilidade técnica de sua mensuração e ao baixo custo destas metodologias. Adicionalmente, biomarcadores epigenéticos, como miRNAs associados à resposta imune e ao dano vascular do aloenxerto, também poderiam fornecer informações importantes sobre o curso do transplante renal.

No presente estudo, o seguimento dos pacientes no pós transplante busca esclarecer a associação entre estes biomarcadores e as alterações na função e histologia renal. Com isso, pretende-se fornecer informações complementares para a prática clínica ao elucidar o papel destes biomarcadores no transplante. Assim, este estudo justifica-se pela importância em se avaliar os pacientes transplantados renais por acompanhamento laboratorial e clínico com a investigação de potenciais marcadores, como citocinas, quimiocinas e miRNAs, que possam complementar as ferramentas de prognóstico utilizadas atualmente na rotina clínica e contribuir para

uma monitorização mais precisa, fornecendo um suporte para as estratégias terapêuticas.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar marcadores inflamatórios e epigenéticos na linha de base e relacioná-los à função renal e à evolução clínica de receptores do transplante renal em um estudo prospectivo de 5 anos.

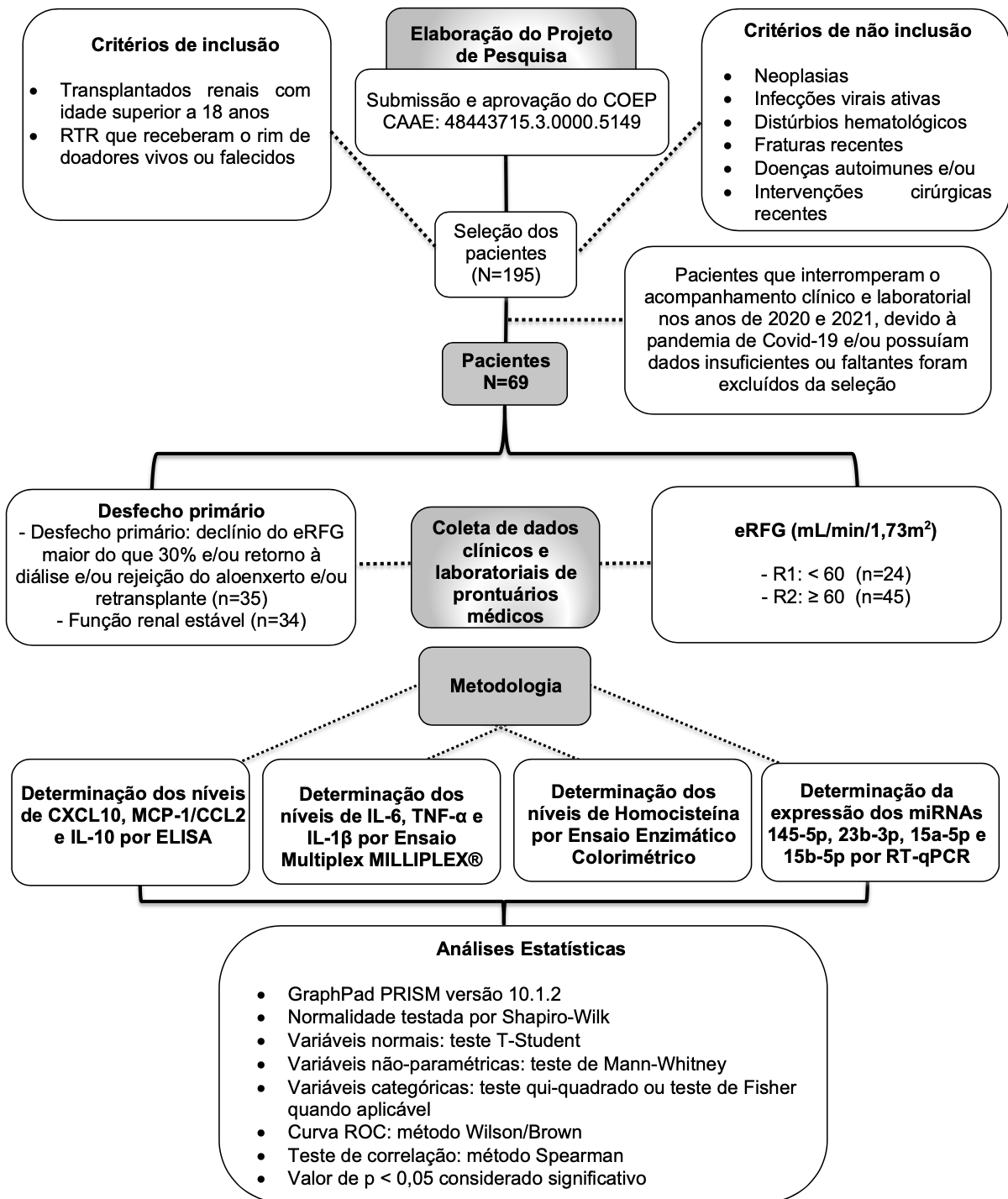
4.2 Objetivos específicos

- Avaliar os níveis das quimiocinas CXCL10 e MCP-1 e das citocinas IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10, além da determinação dos níveis de HC, em pacientes transplantados renais na linha de base.
- Relacionar os resultados das dosagens de biomarcadores à função renal avaliada pelo eRFG e aos desfechos clínicos em um seguimento de 5 anos.
- Determinar a expressão dos miRNAs (miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p) em pacientes transplantados renais avaliados na linha de base.
- Associar os níveis de expressão dos miRNAs supracitados à função renal e aos desfechos clínicos dos receptores do transplante renal em um seguimento de 5 anos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Delineamento experimental e aspectos éticos

Figura 4 – Delineamento experimental



Legenda: COEP: Comitê de Ética em Pesquisa. CXCL10: ligante 10 de quimiocina CXC. ELISA: ensaio imunoenzimático. eRFG: ritmo de filtração glomerular estimado. IL-1 β : interleucina 1 beta. IL-6: interleucina 6. MCP-1/CCL2: proteína quimioatraente de monócitos. miRNAs: microRNAs. RT-qPCR: reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa quantitativa. RTR: receptores do transplante renal. TNF- α : fator de necrose tumoral alfa. Fonte: dados da pesquisa.

O presente estudo é do tipo prospectivo observacional e é uma continuidade do projeto "Associação de níveis plasmáticos e polimorfismos em genes de citocinas com a função renal de pacientes transplantados" desenvolvido durante o Mestrado. O projeto inicial "Avaliação de marcadores genéticos, inflamatórios e hemostáticos no transplante renal" foi submetido e aprovado, sob o ponto de vista ético e formal, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP), CAAE – 48443715.3.0000.5149. Na **Figura 4** o delineamento experimental do trabalho é apresentado.

Todos os participantes envolvidos no projeto de pesquisa foram esclarecidos quanto aos objetivos propostos e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**APÊNDICE A**) no momento da coleta de sangue. Uma ficha com os dados clínicos e laboratoriais (**APÊNDICE B**) de cada paciente do estudo foi elaborada e preenchida.

5.2 Casuística

Este estudo foi o resultado de um monitoramento clínico e laboratorial de pacientes transplantados renais por um período de cinco anos. A coleta de sangue foi realizada no ano de 2016, na época da realização do trabalho intitulado "Associação de níveis plasmáticos e polimorfismos em genes de citocinas com a função renal de pacientes transplantados" (dissertação de Mestrado), e as amostras foram armazenadas adequadamente até a sua utilização.

Durante o projeto de Mestrado, no ano de 2016, foram coletadas 195 amostras de pacientes transplantados renais do setor de transplantes da Unidade Bias Fortes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/ UFMG). A seleção dos receptores do transplante renal (RTR) foi feita a partir de critérios bem estabelecidos, a saber: pacientes transplantados renais com idade superior a 18 anos que haviam recebido o rim de doadores vivos ou falecidos. Os critérios de não-

inclusão foram: presença de neoplasias, infecções virais ativas, distúrbios hematológicos, doenças autoimunes, fraturas recentes e/ou intervenções cirúrgicas recentes.

A evolução clínica dos pacientes foi acompanhada por um período de cinco anos, de 2016 a 2021, anualmente e de forma simultânea, mediante análise minuciosa de prontuários médicos físicos e eletrônicos.

Dos 195 pacientes selecionados no início da pesquisa, 69 foram incluídos no projeto de Doutorado. Devido ao período pandêmico, durante os anos de 2020 e 2021, foram excluídos aqueles pacientes que interromperam o acompanhamento clínico e laboratorial entre 2016 a 2021 e/ou aqueles que possuíam dados insuficientes ou faltantes que seriam fundamentais para a pesquisa. Nenhum paciente faleceu durante o follow-up.

As informações obtidas a partir da análise longitudinal de prontuários médicos foram armazenadas em um banco de dados. Este banco foi formado por dados referentes ao transplante renal, como tipo de doador, data da realização do transplante, doença de base, comorbidades após o transplante e terapia imunossupressora utilizada. Dados laboratoriais, como níveis de creatinina e de ureia, glicemia em jejum e hemograma completo também foram coletados pelo período de cinco anos e armazenados no banco de dados. Por fim, as informações relativas às biópsias renais também foram extraídas a partir dos prontuários médicos durante a monitorização dos pacientes transplantados. Para as análises, os pacientes foram alocados em grupos de acordo com a função renal avaliada pelo eRFG (MAZANOWSKA et al., 2013; MOTA et al., 2015) e em grupos de acordo com o desfecho primário (BABA et al., 2015; HANDSCHIN et al., 2021).

5.3 Grupos de pesquisa

Os RTR foram distribuídos de acordo com a função renal avaliada pelo eRFG. Os valores de corte para a estratificação dos pacientes de acordo com o eRFG foram baseados em estudos prévios do nosso grupo de pesquisa e dados da literatura (ELNOKEETY; SHAKER; FAYED, 2017; MOTA et al., 2015; MOTA et al., 2017). Foi utilizada a fórmula *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI)

para cálculo do eRFG (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2023), sendo os grupos clínicos classificados da seguinte maneira:

- R1: eRFG inferior a 60 mL/min/1,73m² (n=24);
- R2: eRFG: igual ou superior a 60 mL/min/1,73m² (n=45) (MAZANOWSKA et al., 2013; MOTA et al., 2015).

Os RTR também foram distribuídos em grupos de acordo com o desfecho primário (n = 35) ou ausência dele, ou seja, a função renal estável (n = 34). O desfecho primário foi caracterizado por:

- Declínio do eRFG maior do que 30%; e/ou
- Retorno à diálise; e/ou
- Rejeição do aloenxerto; e/ou
- Retransplante. (BABA et al., 2015; HANDSCHIN et al., 2021)

O desfecho primário foi avaliado entre o início do acompanhamento em 2016 até o final da análise de prontuários médicos em 2021.

5.4 Amostras biológicas

As coletas de amostras de sangue foram realizadas em 2016 no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG. Foram coletados 5 mL de sangue venoso em tubos de sangue com anticoagulante citrato de sódio 0,109 mol/L (VACUETTE®) e 5 mL de sangue venoso em tubos de soro (VACUETTE®) para a obtenção de amostras de plasma e de soro, respectivamente. O material foi devidamente acondicionado após a coleta e o tempo máximo de duas horas até a centrifugação não foi ultrapassado. As amostras foram centrifugadas a 2.500 RPM, por 20 minutos, em centrífuga refrigerada (Jouan® modelo BR4i) a 4°C. Foram preparadas alíquotas de 500 µL e estas foram armazenadas em microtubos de polipropileno atóxico de centrifugação (Axygen®) devidamente identificados e, posteriormente, congelados no freezer vertical a -80°C (Ultra Freezer, ColdLab, modelo 374-80V). É importante ressaltar que, com o objetivo de preservar a integridade do RNA, além de congeladas, as amostras foram conservadas no reagente de estabilização de RNA, RNAlater (Qiagen®, Renânia, Alemanha).

5.5 Métodos

5.5.1 Determinação dos níveis de citocinas, quimiocinas e homocisteína

Os níveis das citocinas e quimiocinas avaliadas, além dos níveis de homocisteína (HC), foram determinados por métodos distintos, conforme disponibilidade dos kits e materiais para a pesquisa.

5.5.1.1 Determinação dos níveis de CXCL10 e MCP-1 por ELISA de captura (*In-house*)

Os níveis de CXCL10 e MCP-1 foram determinados utilizando os kits *Human IP-10 (CXCL10) Mini TMB ELISA Development Kit* e *Human MCP-1 (CCL2) Mini TMB ELISA Development Kit* (PEPROTEC, New Jersey, EUA), respectivamente, seguindo as instruções do fabricante (ELISA *in-house*). A etapa modificada, após melhor interpretação da metodologia, foi a incubação da placa com o anticorpo de captura. As placas foram incubadas em geladeira (Frost Free, Consul, biplex), já que os testes mostraram melhores resultados com essa modificação. A leitura foi realizada em leitor de microplacas *VersaMax™ Microplate Reader* (Molecular Devices, EUA) a 450 nm e correção de 620 nm, no Laboratório de Citologia Clínica da Faculdade de Farmácia da UFMG. Os resultados foram expressos em pg/mL e as concentrações de CXCL10 e MCP-1 foram estimadas a partir de uma curva padrão para a qual foi obtido um valor de correlação $r^2 \geq 0,99$ em ambas as dosagens.

5.5.1.2 Determinação dos níveis de IL-10 por ELISA de captura

A metodologia de escolha para a determinação dos níveis de IL-10 foi o teste de ELISA sanduíche utilizando o kit *Human IL-10 Immunoassay* (Quantikine® ELISA, Minneapolis, EUA) pronto para uso. As instruções do fabricante foram rigorosamente seguidas. Um leitor de microplacas (*SpectraMax® Plus 384 Microplate Reader*, MOLECULAR DEVICES, EUA) ajustado para 540 nm foi utilizado para a realização da leitura do ensaio, no Laboratório de Radioisótopos da Faculdade de Farmácia da UFMG. As concentrações de IL-10 foram estimadas a partir de uma curva padrão para

a qual foi obtido um valor de correlação $r^2 \geq 0,99$ e os resultados foram expressos em pg/mL.

5.5.1.3 *Determinação dos níveis de IL-6, TNF- α e IL-1 β por Ensaio Multiplex MILLIPLEX®*

O kit *Milliplex® MAP (Human Bone Magnetic Bead Panel - HBNMAG-51K*, EMD Millipore Corporation, Darmstadt, Alemanha) pronto para uso foi empregado para quantificar IL-6, TNF- α e IL-1 β . O kit contém microesferas magnéticas fluorescentes recobertas por anticorpos de captura específicos para IL-6, TNF- α e IL-1 β . O sistema de detecção de microesferas (*MAGPIX® System*, Luminex Corporation, Austin, EUA), localizado no Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica na Faculdade de Medicina da UFMG, foi utilizado para a leitura da reação, identificando o complexo antígeno-anticorpo e a magnitude do sinal obtido pela estreptavidina conjugada com a proteína fluorescente R-ficoeritrina (estreptavidina-PE), a qual é diretamente proporcional à quantidade de antígenos de interesse detectados. As concentrações das citocinas foram estimadas a partir de uma curva padrão para a qual foi obtido um valor de correlação $r^2 \geq 0,99$ para todas as dosagens. Os resultados foram expressos em pg/mL.

5.5.1.4 *Determinação dos níveis de HC por Ensaio Enzimático Colorimétrico*

Os níveis de HC foram determinados utilizando o Ensaio Enzimático de Homocisteína da Série RX - RANDOX (*RANDOX Laboratories LTD*, Crumlin, Reino Unido), e um leitor de microplacas *Multiskan GO* (Thermo Scientific, Massachusetts, EUA) do Laboratório CT vacinas, no Parque Tecnológico de Belo Horizonte da UFMG. Uma curva padrão foi construída para interpolar as absorbâncias das amostras e obter as concentrações de HC. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$.

5.5.2 Determinação de miRNAs

5.5.2.1 Seleção de miRNAs

Os miRNAs 145-5p e 23b-3p foram selecionados a partir de um estudo recente (LIN et al., 2021) que os identificou como candidatos para o monitoramento dos pacientes transplantados renais e para a predição do desfecho clínico no transplante renal. Já os miRNAs 15a-5p e 15b-5p foram escolhidos após a quantificação dos marcadores inflamatórios e a análise preliminar dos dados. Na análise inicial, foi constatado um bom desempenho de CXCL10 como um biomarcador para a distinção entre o desfecho primário e a função renal estável dos pacientes transplantados renais avaliados. Dessa forma, a ferramenta online *TargetScan* (AGARWAL et al., 2015) foi utilizada para verificar quais miRNAs poderiam melhor modular CXCL10, sendo então indicados os miRNAs 15a-5p e 15b-5p.

5.5.2.2 Extração de miRNAs

Os miRNAs foram extraídos de amostras de plasma utilizando o kit *miRNeasy Serum/Plasma* (Qiagen®, Renânia, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante. De forma resumida, a lise das amostras foi realizada utilizando o *QIAzol Lysis Reagent* fornecido pelo kit e posteriormente foi adicionado o clorofórmio para a formação da fase orgânica e da fase aquosa. Os miRNAs presentes na fase aquosa foram retidos pelas colunas fornecidas pelo fabricante e, após sucessivas lavagens, foi obtido o eluido contendo miRNAs. O aparelho *NanoDrop 2000* (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA) foi utilizado para mensurar a pureza e para quantificar o RNA extraído. Foram utilizadas amostras com razão 260/280 entre 1,8 e 2,1.

5.5.2.3 Síntese de cDNA e PCR em tempo real (qPCR)

Foi realizada a conversão de miRNAs em cDNAs utilizando o kit *miRNA 1st-Strand cDNA Synthesis* (Agilent Technologies, Califórnia, EUA). Em suma, a adição da cauda poli-A na região 3' se faz necessária pelo curto comprimento dos miRNAs que são de difícil detecção por protocolos de qPCR. Na reação de poliadenilação,

conforme instruções do fabricante, foram adicionados 4 µL de 5x *poly A polymerase buffer*, 1 µL de rATP (10 mM), 1 µL de *E. coli poly A polymerase* juntamente com um volume específico de RNA para cada amostra utilizando como base de cálculo a quantificação do RNA realizada anteriormente de forma a atingir a concentração final de 40 ng, o que estava de acordo com a faixa permitida pelo kit. Além disso, foi adicionado um volume específico de água livre de RNase para cada amostra, resultando em um volume final de 20 µL. Para a reação de poliadenilação, foi realizada a incubação dos microtubos (KASVI, Paraná, Brasil) contendo os reagentes citados anteriormente a 37°C por 30 minutos e, posteriormente, a 95°C por 5 minutos no termociclador 2720 (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems™, Massachusetts, EUA) da Faculdade de Farmácia da UFMG, sendo as amostras transferidas imediatamente para uma rack tipo cooler (Scientific Specialties, SSIBio, Califórnia, EUA).

A transcrição reversa foi realizada logo em seguida utilizando outros componentes do mesmo kit. Em novos microtubos (KASVI, Paraná, Brasil), foi realizada a adição de 2 µL de tampão 10x *AffinityScript RT*, de 4 µL do produto da reação de poliadenilação, de 0,8 µL da mistura de dNTP e de 1 µL da enzima *AffinityScript RT* em combinação ao reagente *RNase block* que evita RNases contaminantes. Também foi adicionado 1 µL do primer RT adaptador, também presente no kit, que contém bases adicionais para criar uma sequência universal em cada fita de cDNA, sendo incorporado na região 5'. A água livre em RNase também foi adicionada de forma a completar o volume e atingir 20 µL ao final. Os tubos foram incubados a 55°C por 5 minutos, 25°C por 15 minutos, 42°C por 30 minutos para permitir a transcrição reversa e a 95°C por 5 minutos para finalizar a reação. O termociclador 2720 (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems™, Massachusetts, EUA) da Faculdade de Farmácia da UFMG foi utilizado. Após, os microtubos foram imediatamente colocados em uma rack tipo cooler (Scientific Specialties, SSIBio, Califórnia, EUA) e a reação de qPCR foi realizada.

Para cada reação de qPCR, foram adicionados a um mesmo tubo 5 µL de 2X *QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix* (Qiagen®, Renânia, Alemanha), 0,05 µL de Rox (Qiagen®, Renânia, Alemanha) e quantidades específicas de oligonucleotídeo (primer) Universal (concentração inicial de 3,125 µM) e de primers alvos (GRIFFITHS-JONES et al., 2008; BLAST, 2023), especificados no **Quadro 1**, além de 0,5 µL de cDNA e água ultrapura para completar o volume final da reação de qPCR equivalente

a 10 µL. As placas foram seladas com selante *MicroAmp™ Optical Adhesive Film* (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems™, Massachusetts, EUA).

O Snord43 foi utilizado como controle endógeno (SANDERS et al., 2012; WEI et al., 2023) a fim de se correlacionar e quantificar relativamente a expressão dos miRNAs analisados. Todos os primers utilizados, exceto o primer Universal que foi fornecido pelo kit *miRNA 1st-Strand cDNA Synthesis* (Agilent Technologies, Califórnia, EUA), eram da marca Metabion (Bavaria, Alemanha). Todas as sequências foram obtidas utilizando o banco de dados *miRBase* (GRIFFITHS-JONES et al., 2008) e estas foram submetidas à ferramenta BLAST para confirmação (BLAST, 2023).

O **Quadro 1** contém os primers avaliados com suas respectivas sequências, concentrações iniciais e concentrações ótimas determinadas por ensaios de eficiência de primers.

Quadro 1 – Sequências e concentrações de primers

miRNA	Sequência	C. iniciais (nmol)	C. primers (nM)	C. Universal (nM)
Snord43	GAAC TTATTGACGGGCGGACAGAAAC TGTGTGCTGA TTGTCACGTTCTGATT	16,6	700	700
hsa-miR-145-5p	GTCCAGTTTTCCAGGAATCCCT	21,8	300	300
hsa-miR-23b-3p	ATCACATTGCCAGGGATTACCAC	23,6	200	400
hsa-miR-15a-5p	TAGCAGCACATAATGGTTTGTG	23,1	400	400
hsa-miR-15b-5p	TAGCAGCACATCATGGTTTACA	19,7	400	400

Legenda: C.: concentrações.

O protocolo de qPCR foi realizado no aparelho *QuantStudio™ 5 Real-Time PCR* (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems™, Massachusetts, EUA) na Faculdade de Farmácia da UFMG em placas de 96 poços (*MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate*, Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems™, Massachusetts,

EUA). As condições de amplificação estão detalhadas na **Tabela 1**. Foi utilizado o método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ para a quantificação relativa. Todas as análises foram feitas com amostras em duplicata. A temperatura de melting foi de 79°C para Snord43, de 76°C para miR-145-5p, de 75°C para 23b-3p e para 15a-5p, e de 74°C para miR-15b-5p. Todas as temperaturas de melting tiveram variações de 1 a 2°C. O **APÊNDICE C** contém as curvas de Melting de cada miRNA avaliado.

Tabela 1 – Protocolo qPCR

Estágios	Número de ciclos	Step	Temperatura (°C)	Tempo (seg.)
<i>Hold Stage</i>	1	1	50	120
		2	95	300
<i>PCR Stage</i>	55	1	95	10
		2	60	60
<i>Melt Curve Stage</i>	1	1	95	15
		2	60	60
		3	95	15

5.5.3 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no programa *GraphPad Prism* (versão 10.1.2). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis normais foram avaliadas pelo teste *T-Student* e expressas como média $\pm$ desvio padrão. Já as variáveis não-paramétricas foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney e expressas como mediana e intervalo interquartilico (IQ). As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste Qui-quadrado (χ^2) de frequências ou Fisher quando aplicável. A curva ROC (característica de operação do receptor, do inglês *receiver operating characteristic*) foi traçada e a área sob a curva (AUC, do inglês *area under the curve*) foi calculada para avaliar o desempenho dos marcadores em distinguir entre desfecho primário e função renal estável e entre declínio da função de filtração renal e função de filtração renal estável, com intervalo de confiança (IC) de 95%. A investigação de correlação entre os parâmetros avaliados foi realizada pelo método de *Spearman*. Foram consideradas significativas diferenças cujo valor de p foi $< 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 Características clínicas e laboratoriais dos integrantes do estudo

Para a caracterização, os pacientes transplantados foram alocados em duas categorias principais: pacientes que apresentaram desfecho primário (n = 35) e pacientes com função renal estável (n = 34). Os principais dados clínicos e laboratoriais dos integrantes do estudo de acordo com a evolução clínica estão representados na **Tabela 2**. Uma segunda caracterização clínica e laboratorial também foi feita de acordo com a função renal avaliada pelo eRFG (**APÊNDICE D**). As comorbidades foram avaliadas ao longo do acompanhamento de 5 anos, o tempo pós transplante, assim como as idades dos RTR, representam o tempo/idade ao final do follow-up, em 2021, e os dados laboratoriais foram apresentados como média dos exames ao longo do seguimento de 5 anos.

É importante ressaltar que o período pandêmico teve implicações na exclusão de pacientes, já que alguns não possuíam dados de prontuários médicos referentes aos anos de 2020 e 2021, impossibilitando o seguimento de cinco anos.

Tabela 2 – Caracterização clínica e laboratorial dos integrantes do estudo de acordo com a evolução clínica

	Desfecho primário (n = 35)	Função renal estável (n = 34)	Valor de p	Total (n = 69)
Receptor do transplante renal				
Sexo, n (%)			0,465	
Feminino	16 (45,7)	12 (35,3)		28 (40,6)
Masculino	19 (54,3)	22 (64,7)		41 (59,4)
Idade (anos)**	48 (58-35)	51 (63-38)	0,372	50 (60-36)
Tempo pós transplante renal (anos)***	14 ± 6,4	14 ± 4,1	0,787	14 ± 5,4
Tipo de doador, n (%)			0,379	
Falecido	17 (48,6)	21 (61,8)		38 (55,1)

Vivo	17 (48,6)	13 (38,2)		30 (43,5)
Indeterminado	1 (2,8)	0 (0,0)		1 (1,4)
Doença de base, n (%)			0,291	
Glomerulopatias	8 (22,8)	4 (11,8)		12 (17,4)
Nefroesclerose hipertensiva	4 (11,4)	6 (17,6)		10 (14,5)
Uropatias obstrutivas	3 (8,6)	6 (17,6)		9 (13,0)
Doença renal do diabetes	1 (2,9)	6 (17,6)		7 (10,2)
Doença renal policística	3 (8,6)	2 (5,9)		5 (7,2)
Outras causas	4 (11,4)	4 (11,8)		8 (11,6)
Etiologias desconhecidas	10 (28,6)	5 (14,7)		15 (21,7)
Não informado	2 (5,7)	1 (3,0)		3 (4,4)
Comorbidades, n (%)			0,849	
HAS	26 (74,3)	19 (55,9)		45 (65,2)
Dislipidemia	11 (31,4)	9 (26,5)		20 (28,9)
DM	11 (31,4)	8 (23,5)		19 (27,5)
Hipotireoidismo	3 (8,6)	5 (14,7)		8 (11,6)
Doenças neurológicas/psiquiátricas	2 (5,7)	6 (17,6)		8 (11,6)
Anemia	4 (11,4)	3 (8,8)		7 (10,1)
ITU	4 (11,4)	3 (8,8)		7 (10,1)
Outras	20 (57,1)	16 (47,1)		36 (52,2)
Não tem/não relatado	4 (11,4)	3 (8,8)		7 (10,1)
Terapia imunossupressora, n (%)			0,524	
Diminuição da dose de imunossupressor	9 (25,7)	10 (29,4)		19 (27,5)
Aumento da dose de imunossupressor	10 (28,6)	5 (14,7)		15 (21,7)
Retirada de imunossupressor	3 (8,6)	5 (14,7)		8 (11,6)
Adição de imunossupressor	3 (8,6)	4 (11,8)		7 (10,1)

Conversão da imunossupressão	3 (8,6)	1 (2,9)		4 (5,8)
Dados laboratórios				
Creatinina (mg/dL)**	1,6 (2,4-1,3)	1,2 (1,5-0,8)	<0,001*	1,4 (1,7-1,0)
Ureia (mg/dL)**	52 (87,0-44,0)	42 (55,8-35,0)	0,002*	48 (65,0-40,0)
Hemoglobina (g/dL)**	12,7 (14,2-11,5)	13,9 (15,5-12,8)	0,002*	13,7 (14,8-12,2)
Global de leucócitos (/mm³)**	7760 (10180-5650)	7185 (9190-6383)	0,889	7220 (9780-6075)
Contagem de plaquetas (/mm³)**	251500 (343250-219250)	236900 (286250-191750)	0,075	246500 (294000-208500)
Glicemia em jejum (mg/dL)**	97 (115,3-87,0)	98 (126,5-90,0)	0,708	98 (116,8-87,8)

Legenda: TR: transplante renal; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: Diabetes mellitus; ITU: infecção do trato urinário; eRFG: ritmo de filtração glomerular estimado. **Fonte:** dados da pesquisa. * $p < 0,05$ foi considerado significativo. **Os dados não-paramétricos estão apresentados como mediana e intervalo interquartil (*Mann-Whitney*). ***Os dados paramétricos estão apresentados como média e desvio padrão (*T-student*). Dados de frequência (%) foram analisados pelo teste χ^2 ou pelo teste de Fisher.

Dentre os 69 pacientes avaliados, a maioria era do sexo masculino (59,4%). Ao final dos cinco anos de acompanhamento, a mediana das idades da população estudada foi de 50 anos e a média do tempo pós transplante foi de 14 anos. O tipo de doador mais comum entre os indivíduos com função renal estável foi o falecido (61,8%). Já entre os pacientes que atingiram o desfecho primário, houve a mesma frequência entre os doadores falecidos e vivos (48,6%). Não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

Em relação às doenças de base, ou seja, as doenças que levaram ao desenvolvimento da DRC, as glomerulopatias foram as doenças mais frequentes em pacientes que atingiram o desfecho primário (22,8%). Já a nefroesclerose hipertensiva, as uropatias obstrutivas e a doença renal do diabetes foram as mais frequentes em pacientes com função renal estável (17,6%), embora sem diferença entre os grupos. É importante destacar que grande parte dos RTR não possuíam doenças de base definidas (21,7%) e 4,4% dos pacientes não apresentavam esta informação relatada em seus prontuários médicos, como mostra a **Tabela 2**.

No que diz respeito à presença de comorbidades detectadas após transplante renal, a hipertensão arterial foi a mais comum, tanto em pacientes que atingiram o desfecho primário (74,3%) como em pacientes com função renal estável (55,9%). Da população estudada, cerca de 10,1% dos pacientes não apresentavam comorbidades ou não possuíam o dado disponível nos prontuários (**Tabela 2**).

O aumento da dose de imunossupressores foi a intervenção clínica mais frequente em pacientes que alcançaram o desfecho primário (28,6%). Já a diminuição da dose de imunossupressores foi a intervenção médica mais frequente em pacientes que mantiveram a função estável pelos 5 anos de acompanhamento do presente estudo (29,4%). Apenas quatro pacientes foram submetidos à conversão da imunossupressão. Esta foi representada pela troca de Tacrolimus (TAC) por Sirolimus (SIRO) no paciente que manteve função do aloenxerto renal estável durante o seguimento, e de SIRO para TAC, de Ciclosporina (CsA) para TAC e de Everolimus (EVE) para CsA nos pacientes que alcançaram o desfecho primário (dados não mostrados). A conversão da terapia imunossupressora foi mais frequente em pacientes que atingiram o desfecho primário (8,6%) em relação àqueles com a função renal estável (2,9%), embora sem diferenças significativas entre os grupos.

A função do enxerto, avaliada por meio dos níveis de creatinina e de ureia ao final do acompanhamento, foi significativamente pior ($p < 0,001$ e $p = 0,002$, respectivamente) em pacientes que alcançaram o desfecho primário em relação àqueles com função renal estável (**Tabela 2**). Foram constatados significativamente maiores valores de hemoglobina em pacientes com função renal estável em relação aos pacientes que atingiram o desfecho primário ($p = 0,002$). Os demais dados laboratoriais avaliados, como global de leucócitos, plaquetas e glicemia em jejum não apresentaram diferenças significativas na comparação entre os grupos ao final dos cinco anos de avaliação (**Tabela 2**).

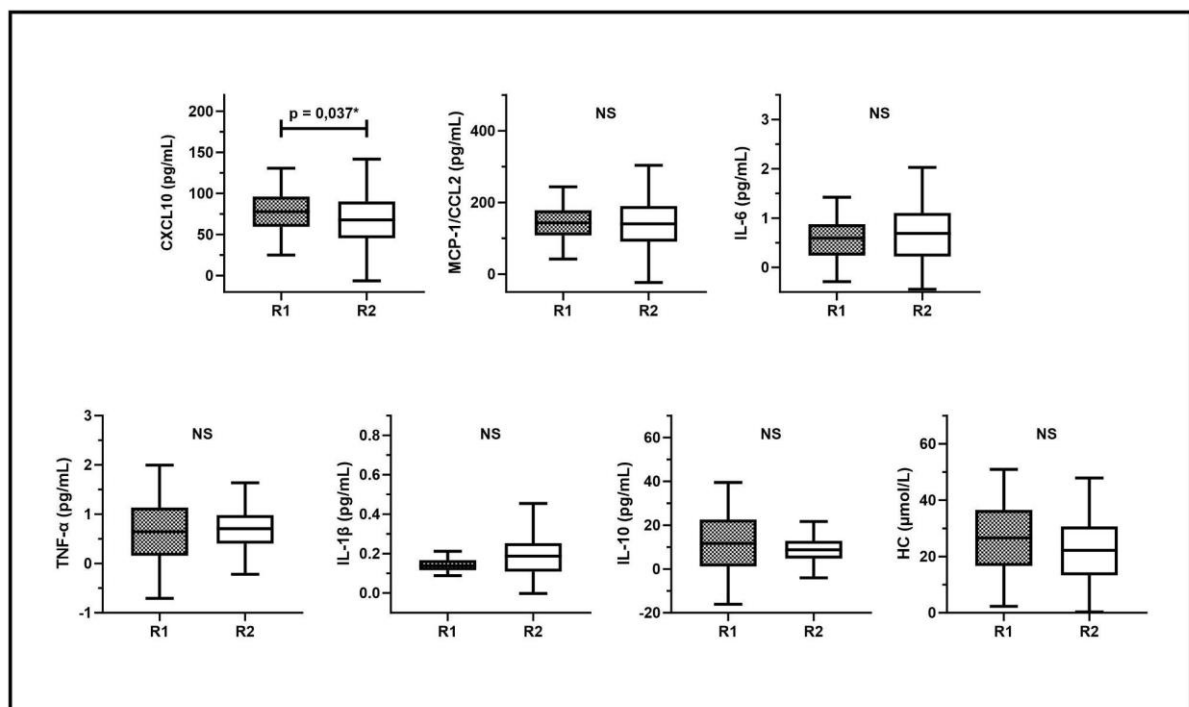
Dos RTR avaliados, 3 pacientes tiveram testes de RT-PCR detectáveis para síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2, do inglês *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) e 4 tiveram suspeita de Covid-19 em 2020 e 2021, dados não mostrados na **Tabela 2**. Dos 3 confirmados, todos evoluíram com acometimento pulmonar que variou de 25 a 50%, porém sem outras complicações. É importante salientar que nenhum dos pacientes infectados por SARS-CoV-2 teve alguma complicação relacionada ao transplante renal que fosse associada à Covid-19.

6.2 Avaliação de marcadores inflamatórios em RTR

6.2.1 Associação entre níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC e a função renal avaliada pelo eRFG de pacientes transplantados

Os níveis de marcadores inflamatórios foram determinados em pacientes transplantados renais incluídos no presente estudo. Estes foram distribuídos em grupos de acordo com o eRFG, baseado nos níveis de creatinina do momento da coleta de sangue em 2016, sendo R1 ritmo de filtração glomerular estimado menor que 60 mL/min/1,73m² e, R2 ritmo maior ou igual a 60 mL/min/1,73m². Os níveis de MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC não mostraram diferenças significativas na comparação entre os grupos (R1 e R2). No entanto, foram encontrados maiores níveis de CXCL10 em pacientes com pior eRFG, grupo R1, em relação aos pacientes com melhor eRFG, grupo R2 ($p = 0,037$), **Figura 5**.

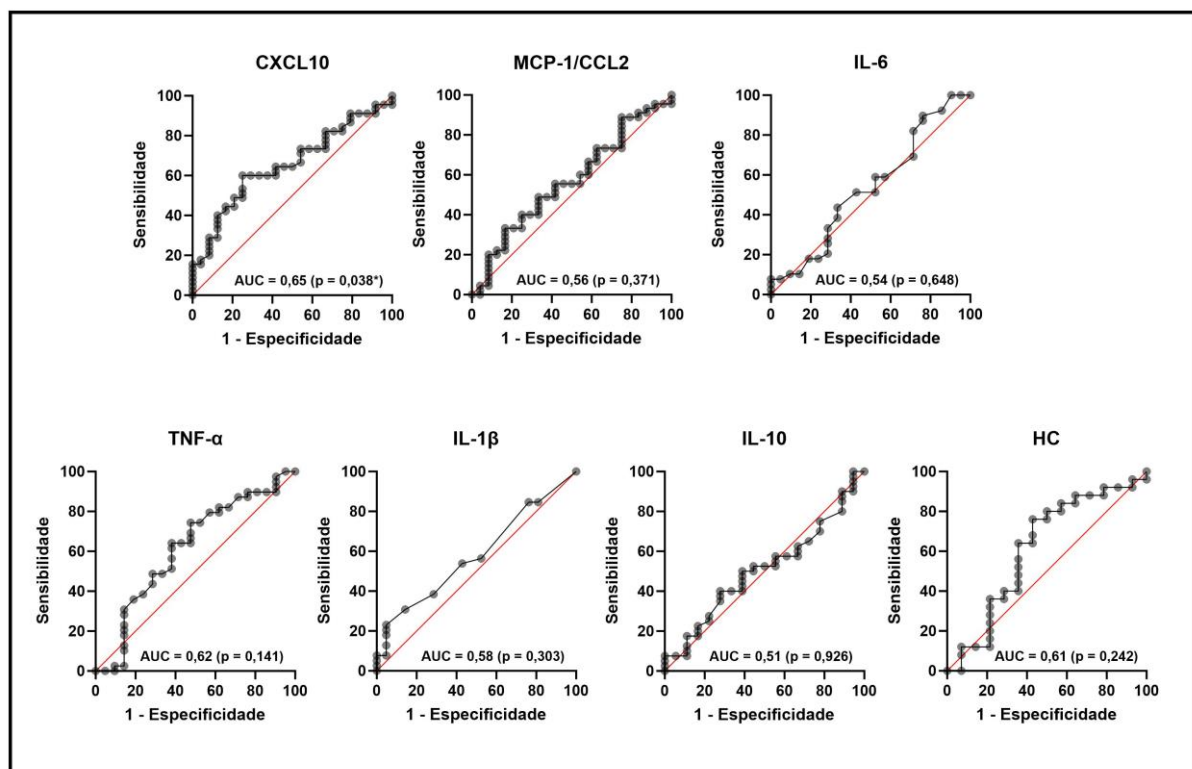
Figura 5 – Níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC em pacientes transplantados renais distribuídos em grupos de acordo com o ritmo de filtração glomerular estimado (R1: eRFG < 60 mL/min/ 1,73m² e R2: eRFG $\geq$ 60 mL/min/1,73m²)



Legenda: CXCL10: ligante 10 de quimiocina CXC. IL-1 β : interleucina 1 beta. IL-6: interleucina 6. IL-10: interleucina 10. HC: homocisteína. MCP-1/CCL2: proteína quimioatraente de monócitos. NS: não significativo. TNF- α : fator de necrose tumoral alfa. Fonte: dados da pesquisa. Teste de Mann-Whitney. *O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

A **Figura 6** mostra que CXCL10 foi capaz de distinguir entre o grupo com declínio da função renal, R1, e o grupo com função renal estável, R2, na análise da curva ROC com uma AUC igual a $0,65 \pm 0,07$ (AUC $\pm$ erro padrão, EP), intervalo de confiança (IC) de 95% entre 0,52 e 0,78, e com valor de p igual a 0,038. A maior sensibilidade (60%) e a maior especificidade (75%) de CXCL10 para prever o desfecho primário se deu no ponto de corte ótimo de 35 pg/mL, obtido a partir do índice de Youden. Nenhuma diferença significativa foi encontrada para os demais marcadores avaliados.

Figura 6 – Análises das curvas ROC para os níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC de acordo com o ritmo de filtração glomerular estimado dos pacientes transplantados avaliados (R1: eRFG < 60 mL/min/1,73m² e R2: eRFG ≥ 60 mL/min/1,73m²)



Legenda: AUC: área sob a curva. CXCL10: ligante 10 de quimiocina CXC. IL-1 β : interleucina 1 beta. IL-6: interleucina 6. IL-10: interleucina 10. HC: homocisteína. MCP-1/CCL2: proteína

quimioatraente de monócitos. TNF- α : fator de necrose tumoral alfa. Fonte: dados da pesquisa.

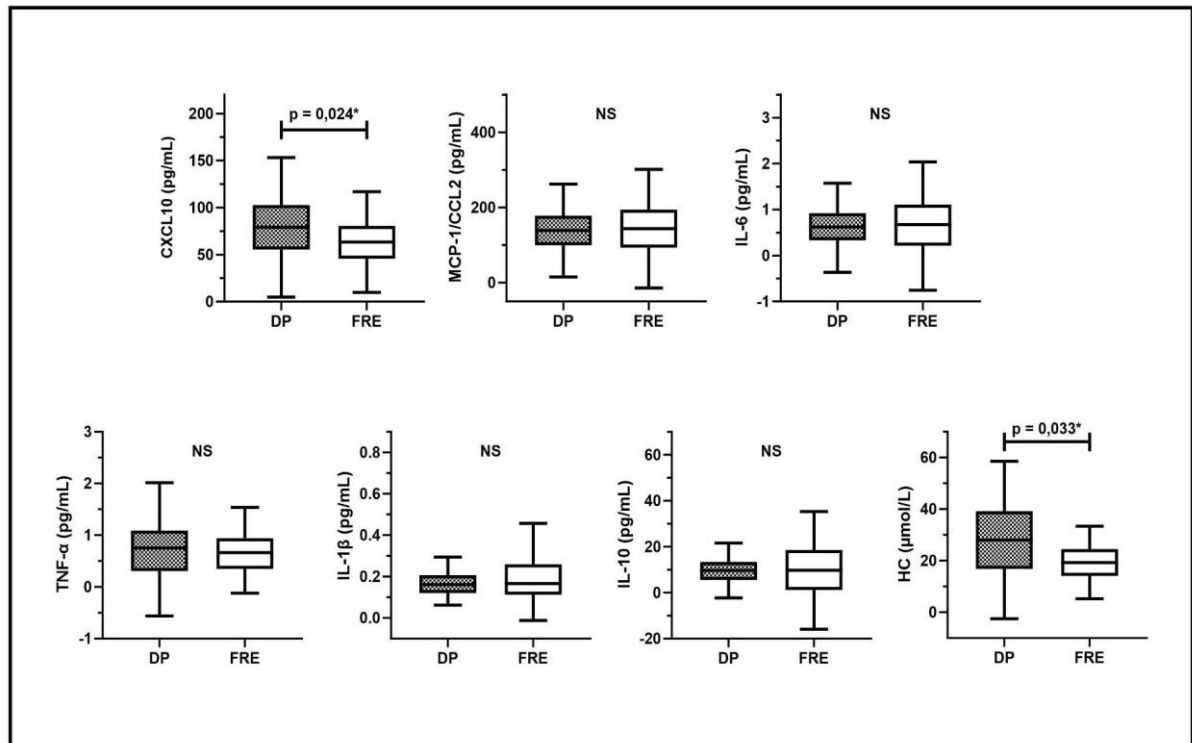
*O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

6.2.2 Associação entre níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC e a evolução clínica de RTR

Os níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC também foram avaliados nos pacientes distribuídos em grupos de acordo com o desfecho primário no transplante, sendo ele o declínio acentuado do eRFG, maior do que 30% e/ou o retorno à diálise e/ou a rejeição do aloenxerto e/ou o retransplante, conforme apresentado anteriormente. O grupo "função renal estável" foi composto por pacientes que não atingiram o desfecho primário, mantendo a estabilidade no pós transplante com uma boa função de filtração renal, avaliada pelos níveis de creatinina e sem maiores complicações ao longo dos cinco anos de acompanhamento.

Os níveis de MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10 não mostraram diferença significativa entre os grupos analisados (desfecho primário e função renal estável). Porém, foram encontrados maiores níveis plasmáticos de CXCL10 e HC em pacientes que alcançaram o desfecho primário em relação aos pacientes com função renal estável, de forma significativa ($p = 0,024$ e $p = 0,033$), como mostra a **Figura 7**. Os níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC foram mensurados em amostras de 2016, início do acompanhamento, e o desfecho primário foi avaliado até o ano de 2021, final do seguimento do presente estudo.

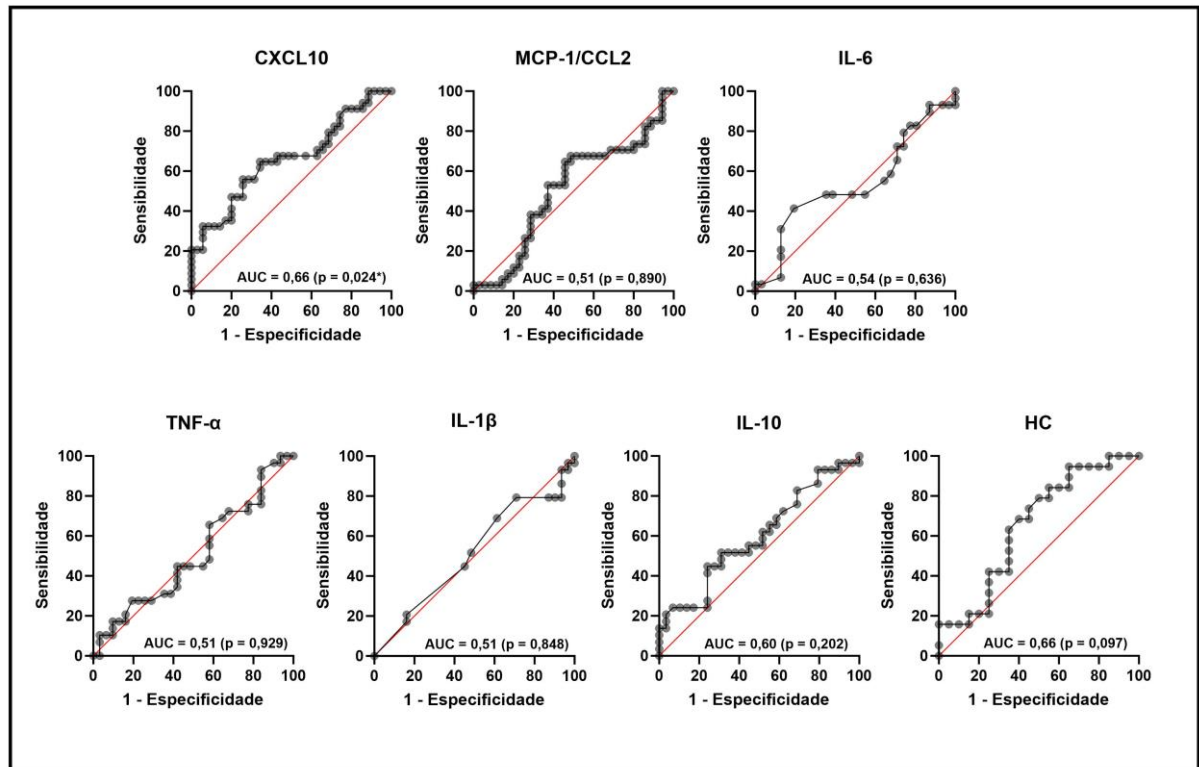
Figura 7 – Níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC em pacientes transplantados renais distribuídos em grupos de acordo com o desfecho do transplante (Desfecho primário vs Função renal estável)



Legenda: CXCL10: ligante 10 de quimiocina CXC. DP: desfecho primário. FRE: função renal estável. IL-1 β : interleucina 1 beta. IL-6: interleucina 6. IL-10: interleucina 10. HC: homocisteína. MCP-1/CCL2: proteína quimioatraente de monócitos. NS: não significativo. TNF- α : fator de necrose tumoral alfa. Fonte: dados da pesquisa. Teste de Mann-Whitney. *O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

A **Figura 8** mostra que CXCL10 foi capaz de prever o desfecho primário na análise da curva ROC com uma AUC igual a $0,66 \pm 0,07$ (AUC $\pm$ erro padrão, EP), intervalo de confiança (IC) de 95% entre 0,53 e 0,79, e com valor de p igual a 0,024. A maior sensibilidade (64,7%) e a maior especificidade (65,7%) de CXCL10 para distinguir entre pacientes que atingiram o desfecho primário e pacientes que mantiveram a função renal estável ao longo do acompanhamento se deu no ponto de corte ótimo de 30,42 pg/mL, obtido a partir do índice de Youden. Não foram encontradas diferenças significativas para os demais marcadores avaliados.

Figura 8 – Análises das curvas ROC para os níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC entre os diferentes grupos de pacientes (Desfecho primário vs Função renal estável)



Legenda: AUC: área sob a curva. CXCL10: ligante 10 de quimiocina CXCL. IL-1 β : interleucina 1 beta. IL-6: interleucina 6. IL-10: interleucina 10. HC: homocisteína. MCP-1/CCL2: proteína quimioatraente de monócitos. TNF- α : fator de necrose tumoral alfa. Fonte: dados da pesquisa.
*O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

6.2.3 Análises de correlação

A **Tabela 3** mostra as principais correlações encontradas no presente estudo. Foi possível observar que CXCL10 se correlacionou positivamente com MCP-1/CCL2 ($p = 0,005$), IL-10 ($p = 0,005$) e creatinina ($p = 0,049$), e TNF- α se correlacionou positivamente com IL-1 β ($p = 0,015$) e negativamente com IL-10 ($p < 0,001$). Baseando-se no estudo de Mukaka (2012), as correlações encontradas, embora significativas, foram consideradas fracas.

Tabela 3 – Correlação de Spearman

Parâmetros	Receptores do transplante renal	
	r	p
CXCL10 vs MCP-1/CCL2	0,337	0,005*
CXCL10 vs IL-10	0,362	0,005*
CXCL10 vs creatinina	0,239	0,048*
TNF- α vs IL-1 β	0,312	0,015*
TNF- α vs IL-10	-0,453	<0,001*

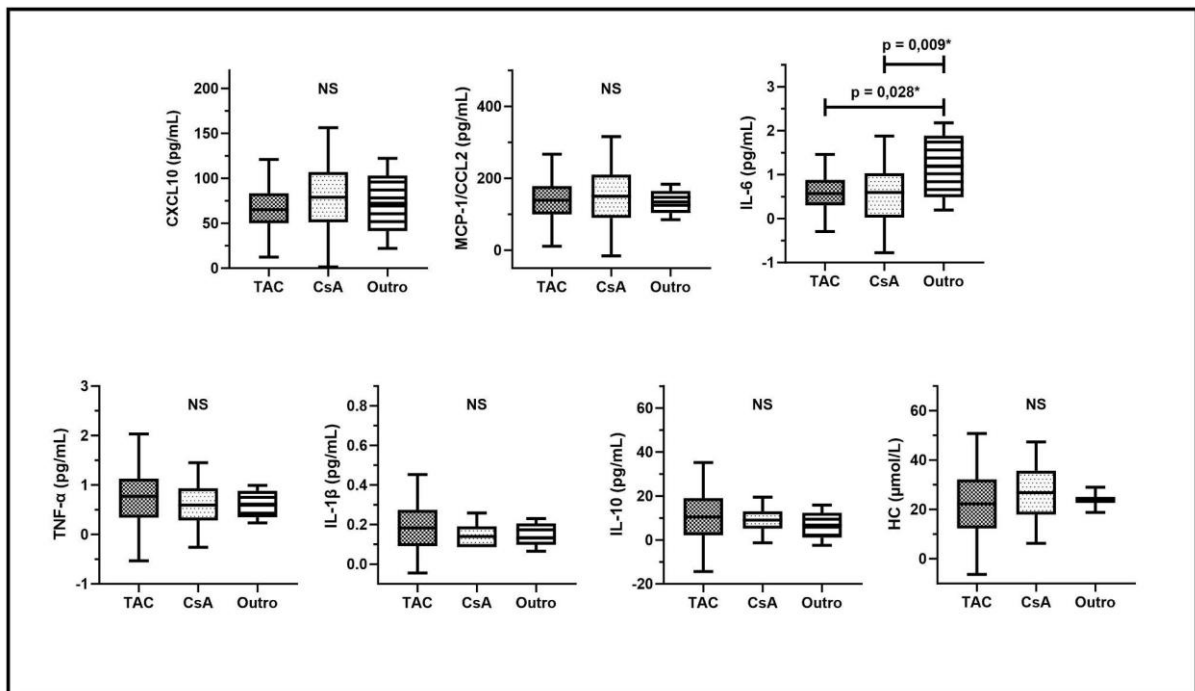
CXCL10: ligante 10 de quimiocina CXC. IL-1 β : interleucina 1 beta. IL-10: interleucina 10. MCP-1/CCL2: proteína quimioatraente de monócitos. TNF- α : fator de necrose tumoral alfa. Fonte: dados da pesquisa.

*O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

6.2.4 Avaliação dos níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC de acordo com a terapia imunossupressora empregada

Neste estudo, os marcadores inflamatórios também foram avaliados de acordo com os grupos de pacientes que utilizaram Inibidores da Calcineurina, TAC ou CsA, e o grupo que não utilizou nenhum desses imunossupressores. É importante mencionar que o grupo que não utilizou nem TAC nem CsA, empregou outros imunossupressores, como AZA, EVE ou SIRO. Níveis mais elevados de IL-6 foram encontrados no grupo que não utilizou TAC e CsA em comparação com aqueles que utilizaram TAC ($p = 0,028$) ou CsA ($p = 0,009$), conforme mostrado na **Figura 9**. Os outros biomarcadores inflamatórios avaliados não apresentaram diferenças significativas em relação à terapia imunossupressora empregada.

Figura 9 – Níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC de acordo com a terapia imunossupressora



Legenda: NS: não significativo. Fonte: dados da pesquisa. *O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

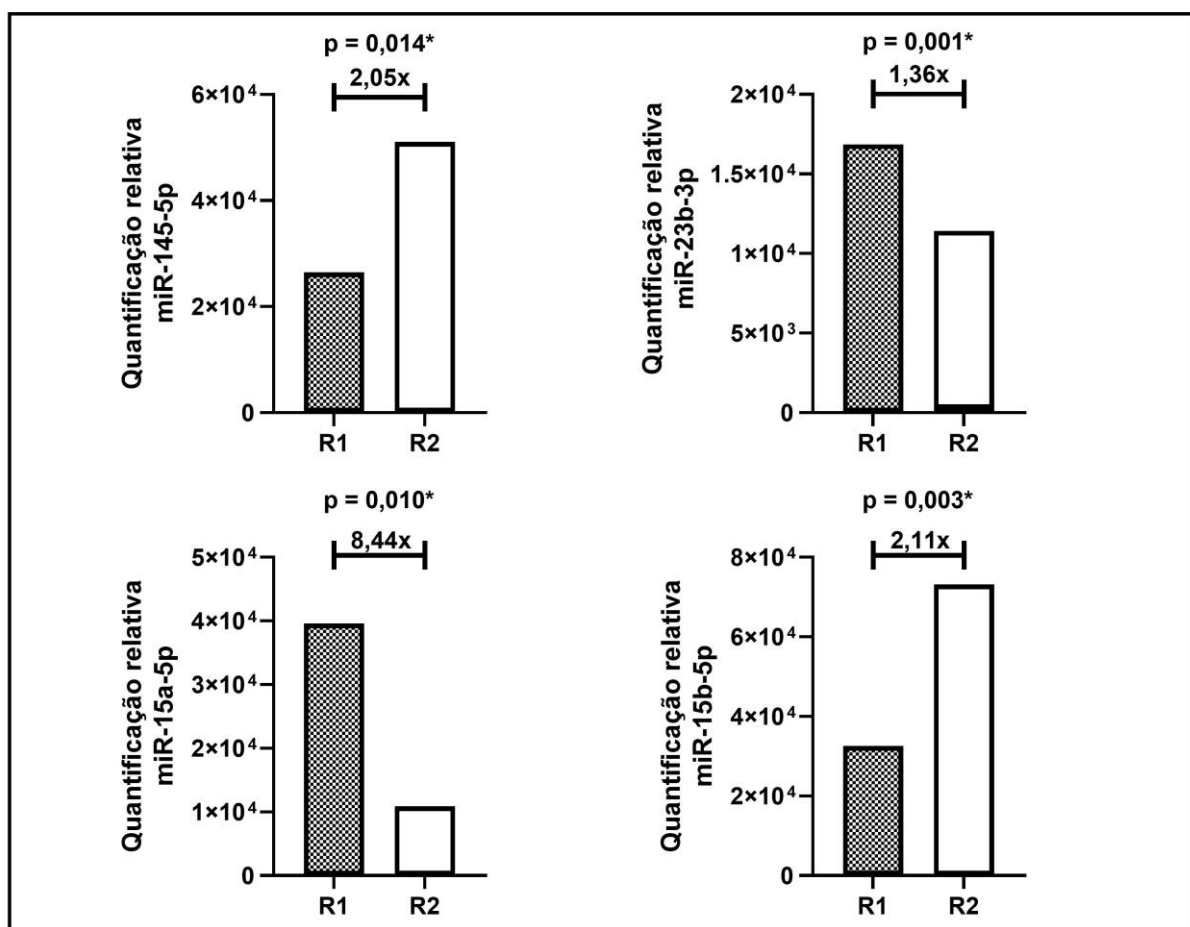
6.3 Avaliação de marcadores epigenéticos em RTR

6.3.1 Avaliação da expressão gênica de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com a função renal de pacientes transplantados

A expressão gênica dos miRNAs avaliados no presente estudo foi obtida pela técnica de RT-qPCR e a quantificação relativa foi calculada utilizando SNORD43 como gene de referência. Os pacientes foram distribuídos em grupos de acordo com o eRFG, sendo R1 ritmo de filtração glomerular estimado menor que 60 mL/min/1,73m² e, R2 ritmo maior ou igual a 60 mL/min/1,73m². Em relação ao miR-145-5p, foi possível observar uma maior expressão gênica (2,05x) no grupo R2, grupo de pacientes com melhor função renal, em relação ao grupo R1, ou seja, aquele que possuía uma pior função renal, com valor de p igual a 0,014 (**Figura 10**). No que se refere ao miR-23b-3p, foi possível averiguar uma maior expressão gênica (1,36x) no grupo R1 em relação ao grupo R2 ($p = 0,001$). No que se refere ao miR-15a-5p, foi

possível observar uma maior expressão gênica (8,44x) no grupo com pior função renal, R1, em relação ao grupo R2 ($p = 0,010$). Já em relação ao miR-15b-5p, foi possível constatar uma maior expressão gênica (2,11x) no grupo com melhor função renal (R2) quando comparado ao grupo R1, $p = 0,003$ (**Figura 10**).

Figura 10 – Quantificação relativa de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com o ritmo de filtração glomerular estimado (R1: eRFG < 60 mL/min/ 1,73m² e R2: eRFG ≥ 60 mL/min/1,73m²)

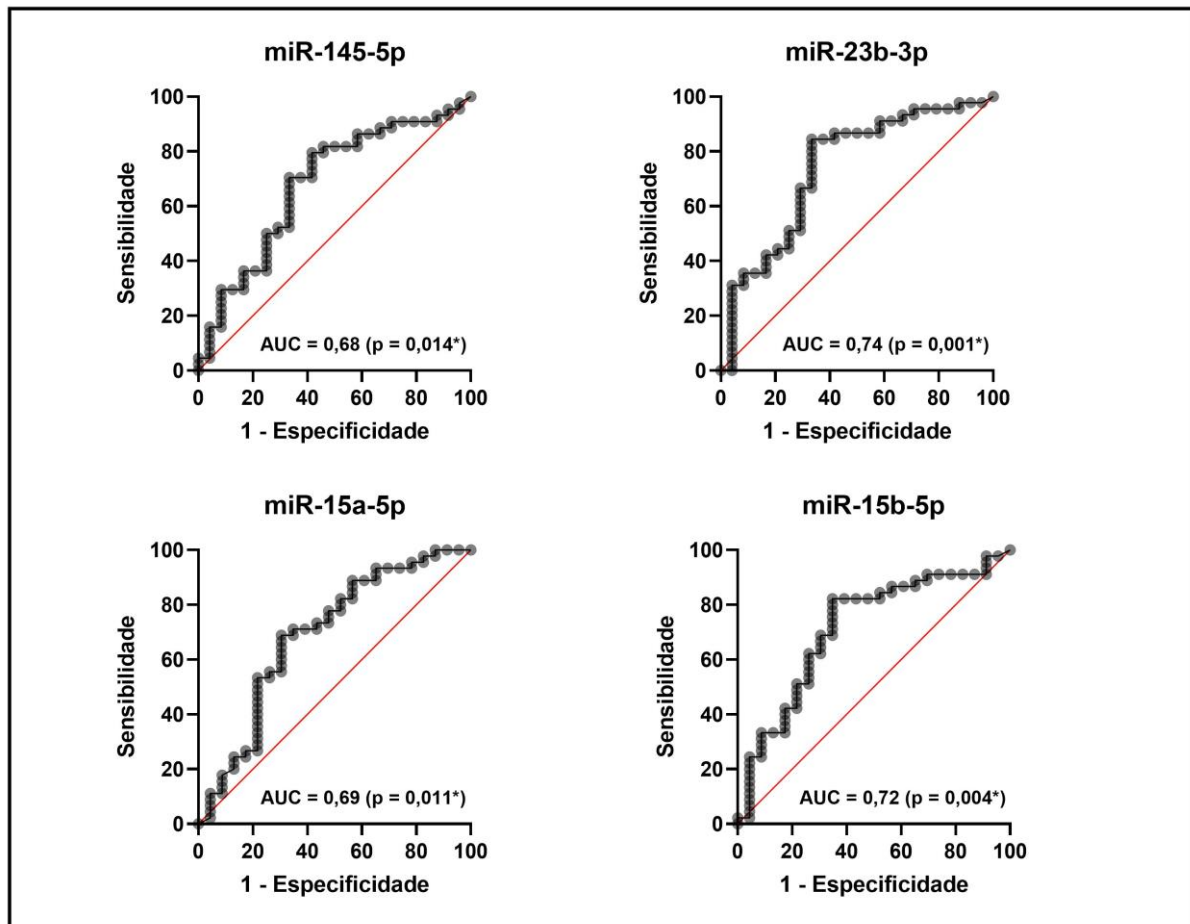


Legenda: NS: não significativo. Fonte: dados da pesquisa. Teste de Mann-Whitney. *O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

A **Figura 11** mostra que todos os miRNAs avaliados foram capazes de distinguir entre os grupos R1, pacientes com eRFG menor do que 60 mL/min/1,73m², e R2, transplantados renais com eRFG igual ou maior do que 60 mL/min/1,73m². A análise da curva ROC revelou AUC ± EP de 0,68 ± 0,07 (IC de 95% entre 0,54 a 0,82 e $p = 0,014$) para miR-145-5p, de 0,74 ± 0,07 (IC de 95% entre 0,61 a 0,87 e $p = 0,001$)

para miR-23b-3p, de $0,69 \pm 0,07$ (IC de 95% entre 0,55 e 0,83 e $p = 0,011$) para miR-15a-5p e de $0,72 \pm 0,07$ (IC de 95% entre 0,58 e 0,85 e $p = 0,004$) para miR-15b-5p.

Figura 11 – Análises das curvas ROC de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com a função renal avaliada pelo eRFG (R1: eRFG < 60 mL/min/ 1,73m² e R2: eRFG ≥ 60 mL/min/1,73m²)



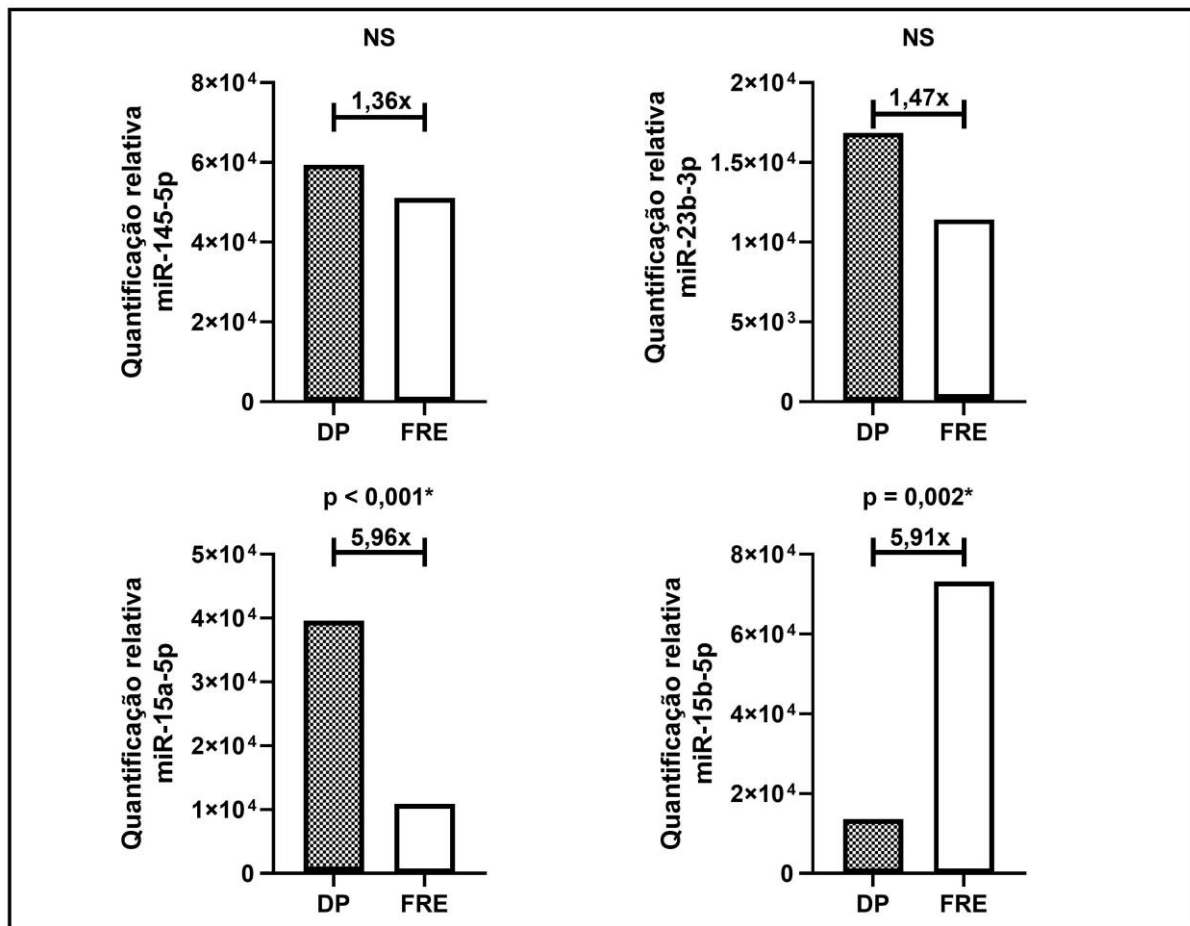
Legenda: AUC: área sob a curva. Fonte: dados da pesquisa. *O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

6.3.2 Avaliação da expressão gênica de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com a evolução clínica de RTR

A expressão gênica dos miRNAs analisados no presente estudo foi também avaliada em relação à evolução clínica dos pacientes transplantados renais. Os pacientes foram distribuídos em grupos com o desfecho, conforme critérios já apresentados. Em relação ao miR-15a-5p, foi possível constatar uma maior expressão

gênica (5,96x) nos pacientes que atingiram o DP quando comparado aos pacientes com FRE, $p < 0,001$ (**Figura 12**). A respeito de miR-15b-5p, foi possível notar uma maior expressão gênica (5,91x) no grupo FRE em relação ao grupo DP ($p = 0,002$). As expressões gênicas de miR-145-5p e miR-23b-3p não mostraram diferenças significativas entre os grupos avaliados (**Figura 12**).

Figura 12 – Quantificação relativa de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com a evolução clínica dos pacientes transplantados renais

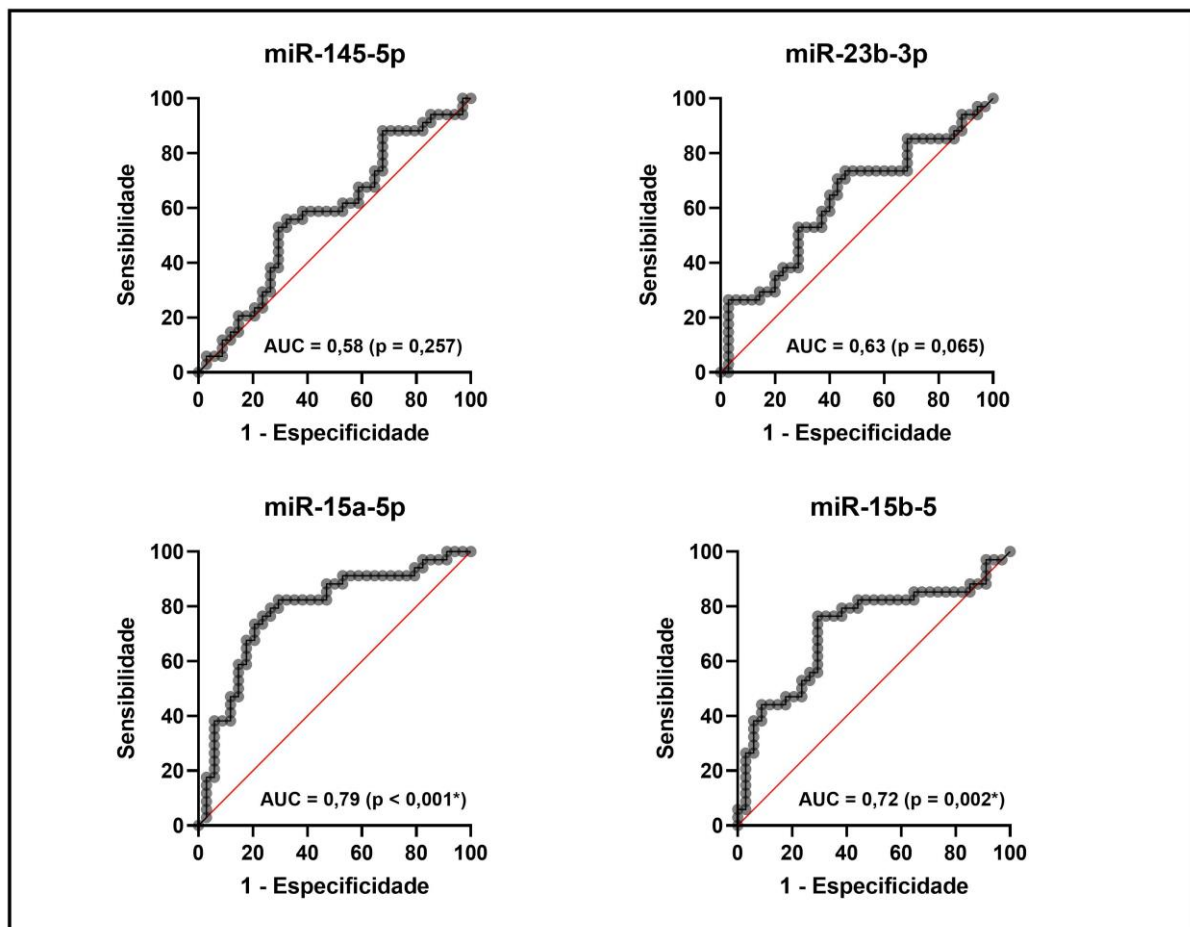


Legenda: DP: desfecho primário. FRE: função renal estável. NS: não significativo. Fonte: dados da pesquisa. Teste de Mann-Whitney. *O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Ao avaliar os miRNAs incluídos no presente estudo de acordo com a evolução clínica de RTR, pelas análises das curvas ROC, foi possível observar que miR-15a-5p ($AUC \pm EP = 0,79 \pm 0,06$, IC de 95% entre 0,67 e 0,90 e $p < 0,001$) e miR-15b-5p ($AUC \pm EP = 0,72 \pm 0,06$, IC de 95% entre 0,59 e 0,84 e $p = 0,002$) foram capazes de

distinguir entre pacientes que atingiram o desfecho primário e transplantados renais que mantiveram a função renal estável ao longo do acompanhamento (**Figura 13**). Para os demais miRNAs avaliados, não foram encontradas diferenças significativas.

Figura 13 – Análises das curvas ROC de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p de acordo com a evolução clínica dos pacientes transplantados renais (Desfecho primário vs Função renal estável)



Legenda: AUC: área sob a curva. Fonte: dados da pesquisa. *O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

7 DISCUSSÃO

7.1 Características clínicas e laboratoriais dos integrantes do estudo

A progressão da DRC, o encaminhamento para o transplante renal, a resposta ao tratamento e o desfecho dos pacientes transplantados são frequentemente influenciados por fatores importantes, como o sexo e o gênero (LAPRISE et al., 2019). O sexo pode influenciar na farmacodinâmica e na farmacocinética de medicamentos imunossupressores utilizados no pós transplante, além de influir na sobrevida do paciente e do enxerto (MOMPER; MISEL; MCKAY, 2017).

No presente estudo, houve uma prevalência de homens transplantados renais (59,4%) em relação às mulheres (40,6%). Este dado se assemelha ao que é encontrado na literatura (NERBASS et al., 2022), já que, apesar das mulheres terem uma maior prevalência de DRC, os homens são mais propensos a serem submetidos ao processo de transplantação. Isso se deve ao fato de que os homens têm uma progressão mais rápida e frequentemente pior da DRC e 1,5 vezes mais incidência de doença renal em estágio terminal do que as mulheres (CARRERO et al., 2018; SARAN et al., 2020).

A mediana das idades dos pacientes avaliados no presente estudo foi de 50 anos, o que também está de acordo com a literatura (HERTZ et al., 2011; NERBASS et al., 2022; UNITED NATIONS, 2010). Além disso, neste estudo foi encontrada uma mediana de tempo pós transplante superior a dez anos, o que é comum, já que houve um avanço da imunossupressão e das técnicas pré transplante nas últimas décadas, além de uma vigilância mais efetiva das infecções virais e de doenças que podem ocorrer após o transplante renal, como câncer e doenças cardiovasculares (HARIHARAN; ISRANI; DANOVITCH, 2021).

Em relação ao tipo de doador, no corrente estudo, não houve diferença entre as frequências de doadores vivos e falecidos no grupo que atingiu o desfecho primário. Este achado é similar ao encontrado em um estudo que demonstrou uma influência mínima dos fatores relacionados ao doador nos resultados de curto e longo prazo do transplante (SCHAAPHERDER et al., 2022). De forma distinta, Poggio e colaboradores demonstraram que a sobrevida do aloenxerto está diretamente relacionada às complicações no pós-transplante e é afetada especialmente pelo tipo

de doador. Essa sobrevida representaria cerca de 19 anos para pacientes transplantados que receberam o rim de doadores vivos e cerca de 12 anos para aqueles que receberam o rim de doadores falecidos. A qualidade do órgão doado, independentemente do tipo de doador, poderia ser um fator adicional para a avaliação da sobrevida (POGGIO et al., 2020).

As glomerulopatias foram as doenças de base da DRC mais comuns no presente estudo (22,8%). Elas são consideradas a terceira causa mais frequente de doença renal no Brasil e nos Estados Unidos, sendo responsáveis por, aproximadamente, 10% dos pacientes em diálise (COSTA et al., 2017; KAZI; HASHMI, 2022). Segundo dados do Censo Brasileiro de Diálise de 2020, as principais etiologias da DRC foram a HAS e o DM representando, cada um, quase um terço das doenças de base (NERBASS et al., 2022). De forma similar, uma frequência considerável de HAS (14,5%) e doença renal do diabetes (10,2%), como etiologias da DRC, foi encontrada nos pacientes avaliados neste estudo. De fato, as glomerulopatias, a HAS e o DM parecem ter considerável influência sobre a DRC e o transplante renal em nosso meio.

A comorbidade mais encontrada entre os transplantados avaliados foi a HAS. A hipertensão é comum em RTR, varia de 50 a 80% e seu controle inadequado pode levar a sobrevida reduzida do aloenxerto e a morbidade e mortalidade cardiovasculares (WEIR et al., 2015). As doenças cardiovasculares representam uma das principais causas de perda do enxerto e um risco acentuado de morte do receptor, o que muitas vezes conhecemos como “morte com o enxerto funcionando” (RAO; COATES, 2018).

Quanto aos protocolos de imunossupressão no transplante renal, estes são influenciados por características do doador, do órgão e do receptor e são compostos por uma combinação de agentes, com mecanismos de ação distintos. O risco imunológico se correlaciona diretamente à intensidade da imunossupressão proposta e o manejo do regime imunossupressor depende não somente deste risco, como também do tipo de doador, da qualidade do órgão, da presença de infecções e comorbidades, além da compatibilidade HLA entre o doador e o receptor (BAUER; FRANCO; MANFRO, 2020). No presente estudo, em pacientes que atingiram o desfecho primário, ou seja, em pacientes com alto risco imunológico, a intervenção mais frequente foi justamente o aumento da dose de imunossupressores (28,6%). De forma contrária, a principal intervenção em pacientes que mantiveram a função renal

estável em cinco anos de acompanhamento foi a diminuição da dose dos agentes imunossupressores (29,4%).

A terapia imunossupressora pode ser ajustada com base no monitoramento terapêutico. A avaliação laboratorial permite a dosagem dos níveis sanguíneos de alguns agentes farmacológicos e é uma forma de se alcançar a eficácia terapêutica. A terapia imunossupressora pode ser reduzida de forma a minimizar efeitos colaterais, como a nefrotoxicidade, e de forma a evitar infecções oportunistas e o desenvolvimento de tumores. Além disso, a diminuição da dose ou retirada do agente imunossupressor pode ser realizada em pacientes com menor potencial imunogênico. Por outro lado, a dose do agente imunossupressor pode ser aumentada para se atingir os níveis sanguíneos pretendidos para determinados agentes imunossupressores e quando existe um risco imunológico. Neste caso, essa estratégia poderia controlar as respostas imunes mediadas por células T e B, impedindo o recrutamento e a proliferação de células inflamatórias, evitando a morte de células alvo do aloenxerto (GRUESSNER; GRUESSNER, 2014; HARDINGER; AGHA; BRENNAN, 2016).

Nos pacientes avaliados no presente estudo, a conversão da terapia imunossupressora, assim como o aumento da dose, também foi mais frequente em pacientes que alcançaram o desfecho primário. Protocolos que contemplam o risco imunológico levam em conta a chance de rejeição e/ou perda do enxerto e/ou declínio considerável da função renal, assim como os efeitos colaterais dos medicamentos. A conversão da terapia imunossupressora pode ser necessária nos casos em que se deseja prolongar a sobrevida do aloenxerto e reduzir o risco de comorbidades (BAUER; FRANCO; MANFRO, 2020; YANG, 2006).

Infelizmente, os marcadores avaliados na rotina clínica, como a creatinina e a proteinúria, são inefetivos para detectar a rejeição subclínica (HO et al., 2018). A creatinina é um produto da degradação muscular, livremente filtrada e excretada no glomérulo e, em menor extensão, no túbulo proximal, não sendo reabsorvida nem metabolizada pelo rim. Por este fato, é um dos biomarcadores da função renal mais utilizados na prática clínica (LAW et al., 2018). Porém, apesar de ser extremamente usual, a creatinina é considerada um marcador relativamente tardio para diagnosticar a disfunção do aloenxerto (MERHI; BAYLISS; GOHH, 2015). No caso dos pacientes investigados, como já era esperado, os níveis plasmáticos de creatinina, avaliados ao final do acompanhamento, foram significativamente piores (mais elevados) nos pacientes que atingiram o desfecho primário em relação àqueles que mantiveram uma

boa função renal ao longo do tempo. Isso também aconteceu com outro marcador extremamente utilizado na rotina clínica, a ureia.

A ureia é o principal metabólito nitrogenado produzido a partir da degradação de proteínas, sendo filtrado pelo glomérulo e, em parte, reabsorvido (WEINER; MITCH; SANDS, 2015). Por sofrer difusão passiva tubular dependente do fluxo urinário, 40 a 70% desse analito retornam para o plasma, o que faz com que a ureia não seja um preditor tão eficaz no transplante renal. Apesar disso, quando comparada à creatinina, a ureia se altera mais precocemente quando existe um processo de insuficiência renal (STEVENS; LEVEY, 2005; VIDIGAL, 2009).

No presente estudo, maiores níveis de hemoglobina foram encontrados em pacientes com função renal estável em relação aos pacientes que alcançaram o desfecho primário, de forma significativa. Um estudo anterior demonstrou que o aumento dos níveis de hemoglobina está ligado a uma boa qualidade do aloenxerto. Segundo os autores, a hemoglobina pode ser considerada um marcador que prediz a conservação da função do enxerto após o transplante (LOFARO et al., 2011). Outro estudo evidenciou que pacientes com anemia tiveram maiores taxas de rejeição aguda, uma pior função renal 12 meses após o transplante e piores desfechos a longo prazo no transplante renal quando comparados aos pacientes com níveis normais de hemoglobina (CHOI; KWON, 2013).

Dos 69 pacientes avaliados, somente 3 tiveram exames de RT-PCR detectáveis para SARS-CoV-2. Nenhum deles apresentou complicações ligadas ao aloenxerto renal. De forma similar, Kute e colaboradores (2022) acompanharam RTR em 23 centros de transplante na Índia após a infecção por SARS-CoV-2 e constataram a ausência de sequelas renais e uma excelente recuperação após Covid-19. De forma contrária, outro estudo recente demonstrou que a injúria renal aguda ainda é comum em pacientes transplantados renais hospitalizados por Covid-19 e, em alguns casos, os RTR podem até mesmo perder o aloenxerto renal (DEMIR et al., 2022). Além das possíveis complicações relacionadas ou não ao órgão transplantado, a Covid-19 também impactou significativamente no número de transplantes de órgãos no Brasil. Houve uma queda de mais de 1.000 transplantes de rim no Brasil quando comparados os períodos de janeiro a setembro de 2019 e de janeiro a setembro de 2020. Isso pode ser explicado pela redução no número de doadores, principalmente por traumatismo cranioencefálico, e a preocupação com a segurança de doadores vivos e dos próprios pacientes submetidos ao transplante, levando em conta o risco de infecção grave por

SARS-CoV-2 (ABTO, 2019; ABTO 2020; LENTINE et al., 2020; SALVALAGGIO et al., 2021; RIBEIRO JUNIOR et al., 2021).

7.2 Avaliação de marcadores inflamatórios em RTR

7.2.1 Associação dos níveis de CXCL10 e MCP-1/CCL2 com a função renal e a evolução clínica de RTR

A associação dos níveis de CXCL10 e MCP-1/CCL2 com a função renal e a evolução clínica de pacientes transplantados foi apresentada nas **Figuras 5 e 7**. A evolução clínica dos pacientes foi avaliada de acordo com o desfecho primário, ou seja, de acordo com a perda e/ou a rejeição do aloenxerto e/ou o declínio acentuado do eRFG (BABA et al., 2015; HANDSCHIN et al., 2021). Este desfecho foi definido com base na análise de prontuários médicos que continham informações sobre as biópsias renais e sobre os exames laboratoriais. Sua análise se deu entre os anos de 2016, início do acompanhamento, e 2021, final do seguimento.

A função renal de filtração dos pacientes transplantados também foi avaliada por meio do cálculo do eRFG, baseado nos níveis de creatinina do início do acompanhamento, em 2016. Além disso, o declínio acentuado do eRFG foi um dos desfechos avaliados no presente estudo. Durante o acompanhamento laboratorial dos pacientes entre os anos de 2016 e 2021, foi observada a manutenção da filtração renal relacionada à estabilidade clínica dos pacientes transplantados ou a redução do ritmo de filtração associada à piora clínica.

No presente estudo, não foram encontradas diferenças significativas entre os níveis de MCP-1/CCL2 e o eRFG (**Figura 5**), assim como quando essa citocina foi relacionada ao desfecho primário no transplante renal (**Figura 7**).

De forma distinta, autores demonstraram que maiores níveis urinários de MCP-1/CCL2 foram encontrados em pacientes que rejeitaram o aloenxerto renal em relação àqueles que possuíam função renal estável. Além disso, na análise de sobrevida livre de rejeição do aloenxerto, MCP-1/CCL2 também se mostrou um bom biomarcador de prognóstico com menores níveis em pacientes que não apresentaram rejeição ao órgão transplantado. Além disso, MCP-1/CCL2 teve uma boa sensibilidade, 87%, e

uma especificidade razoável, 62%, para prever episódios de rejeição (RAZA et al., 2017a).

Outro estudo demonstrou que a razão entre níveis urinários MCP-1/CCL2 e creatinina, níveis estes mensurados 6 meses após o transplante renal, foi um marcador preditor para a IFTA avaliada por biópsia após 24 meses de transplante e um preditor para a perda do aloenxerto renal. Para os autores, MCP-1/CCL2 pode ser considerado um marcador não invasivo que detecta precocemente pacientes em risco de disfunção crônica renal, podendo ser usado para detectar pacientes em que é necessário evitar a retirada ou minimização de agentes imunossupressores e naqueles em que uma monitorização mais intensa possa ser necessária (HO et al., 2014). O grupo de pesquisa também sugeriu que o painel composto por biomarcadores como MCP-1/CCL2 e CXCL10 poderia servir como uma ferramenta útil e promissora para detectar precocemente alterações histológicas no transplante renal (HIRT-MINKOWSKI et al., 2012; HO et al., 2011; HO et al., 2014). Cumpramos ressaltar que no presente estudo os níveis de MCP-1/CCL2 foram mensurados em amostras plasmáticas e não urinárias, o que poderia, em parte, suportar a inexistência de diferenças significativas e/ou o mau desempenho do marcador nos pacientes transplantados renais avaliados em nosso meio.

De forma semelhante ao presente estudo, autores avaliaram uma coorte de pacientes transplantados renais por 5 anos, distribuindo os pacientes em grupos, sendo um deles que atingiu o desfecho primário (perda do aloenxerto e/ou declínio da função renal avaliada pela diminuição de 20% do eRFG entre 6 meses após o transplante e o último acompanhamento e/ou rejeição confirmada por biópsia após 6 meses de transplante) e um grupo com função renal estável. Como resultado, os autores demonstraram que a razão entre MCP-1/CCL2 e creatinina foi considerada um fator independente para prever resultados a longo prazo no transplante renal (HIRT-MINKOWSKI et al., 2016).

Hirt-minkowski e colaboradores (2016) também avaliaram MCP-1/CCL2 em conjunto com CXCL10 em pacientes transplantados renais. Um pior prognóstico foi definido quando houve um aumento conjunto da razão entre níveis urinários de MCP-1/CCL2 e creatinina e da razão entre níveis urinários CXCL10 e creatinina. Os autores enfatizaram que as quimiocinas poderiam ser biomarcadores úteis para identificar pacientes em alto risco no transplante renal (HIRT-MINKOWSKI et al., 2016).

Em um estudo recente, maiores níveis plasmáticos de MCP-1/CCL2 foram associados a uma pior função renal com um menor eRFG. Além disso, na DRC, MCP-1/CCL2 foi considerado um fator de risco independente para morte (GREGG et al., 2018). Mockler e colaboradores (2018) associaram os níveis urinários de MCP-1/CCL2 ao declínio do eRFG em 6 meses após o transplante renal. Porém, esses autores não encontraram correlação entre os níveis de MCP-1/CCL2 e o eRFG em outros tempos pós transplante (MOCKLER et al., 2018). Jang e colaboradores (2021), por sua vez, demonstraram que MCP-1/CCL2 pode ser considerado um biomarcador para prever a rejeição aguda após o transplante renal com doadores vivos (JANG et al., 2021).

No presente estudo, ao contrário de MCP-1, CXCL10 demonstrou ser um bom biomarcador que se correlacionou diretamente com a função renal e um potencial biomarcador preditivo da evolução clínica dos pacientes avaliados. No corrente estudo, pacientes com maiores níveis de CXCL10 foram associados a uma pior função renal, avaliada pelo eRFG (**Figura 5**).

Um estudo com crianças e adolescentes com menos de 21 anos que foram submetidos ao transplante renal contou com biópsias seriadas associadas a coletas de urina para validar a razão CXCL10/creatinina como um biomarcador de monitorização imune. A elevada razão CXCL10/creatinina foi significativamente correlacionada ao declínio do eRFG no primeiro ano após o transplante. Uma maior razão CXCL10/creatinina também foi encontrada em pacientes com rejeição do aloenxerto em relação àqueles com biópsias normais (BLYDT et al., 2021).

Neste mesmo estudo, semanas antes da rejeição do aloenxerto, os autores constataram uma razão CXCL10/creatinina elevada em pacientes que posteriormente sofreriam rejeição, em relação àqueles que não tiveram qualquer alteração nas biópsias renais. Dessa forma, a razão CXCL10/creatinina pôde prever a rejeição e melhorar o tratamento imunossupressor dos pacientes. Os autores concluíram que a razão CXCL10/creatinina pode ser utilizada no monitoramento clínico de transplantados renais e pode definir, de forma reprodutível, o declínio da função do aloenxerto, o risco de rejeição e a quiescência imunológica. Além disso, um padrão de alta expressão de CXCL10 foi associado a um pior prognóstico e a razão CXCL10/creatinina foi considerada superior em relação à monitorização dos pacientes avaliando apenas a creatinina sérica (BLYDT et al., 2021).

No presente estudo, foram encontrados maiores níveis plasmáticos de CXCL10 em pacientes que alcançaram o desfecho primário em relação àqueles que mantiveram a função renal estável (**Figura 7**). As amostras dos RTR foram coletadas no início do acompanhamento, em 2016, e os pacientes foram acompanhados em relação ao desfecho primário e de acordo com outros parâmetros clínicos e laboratoriais até o ano de 2021.

De forma similar, em pacientes pediátricos submetidos ao transplante renal, níveis urinários de CXCL10 foram associados ao declínio do eRFG em 36 meses, ao risco de 50% de declínio do eRFG, ao risco de perda do aloenxerto e aos episódios de rejeição. CXCL10 e MCP-1 se correlacionaram entre si e os autores concluíram que esses marcadores poderiam fornecer informações complementares sobre o prognóstico no transplante renal de forma não invasiva (MOCKLER et al., 2018).

Hirt-Minkowski e colaboradores (2015) também correlacionaram níveis de CXCL10 ao desfecho primário em pacientes transplantados renais. O desfecho primário definido pelos autores foi bem semelhante ao estabelecido no presente estudo, sendo ele estabelecido pela perda e/ou rejeição do aloenxerto e/ou declínio do eRFG superior a 20%. Nesse estudo, CXCL10 mensurado 6 meses após o transplante renal foi considerado um preditor independente para os resultados do transplante a longo prazo. Além disso, baixos níveis de CXCL10 foram associados a 95% de pacientes que não tiveram desfecho primário em cinco anos em relação a altos níveis de CXCL10, com 78% de pacientes sem desfecho primário, de forma significativa (HIRT-MINKOWSKI et al., 2015).

7.2.2 Avaliação de CXCL10 como um preditor do desfecho primário em RTR

Nossos achados demonstraram que CXCL10 foi capaz de distinguir entre pacientes com menor e maior eRFG e apresentou um poder de prever o desfecho clínico nos pacientes transplantados avaliados (**Figura 6 e 8**). Isto foi semelhante ao estudo citado anteriormente, no qual os autores também avaliaram o desempenho diagnóstico de CXCL10 urinário para detectar a rejeição tardia do aloenxerto, bem como seu desempenho prognóstico para predizer o desfecho, seja ele perda do aloenxerto ou redução acentuada da função renal. A curva ROC do estudo citado revelou uma AUC de 0,72 para a detecção de rejeição aguda. Já para a detecção do

desfecho primário, a curva ROC revelou uma AUC de 0,71. Os autores demonstraram que CXCL10 poderia ser utilizado como um marcador promissor para a detecção da rejeição do aloenxerto e é um preditor independente para os resultados do transplante renal a longo prazo (HANDSCHIN et al., 2021).

Em outro estudo recente, os níveis de CXCL10 mensurados no pré transplante renal não foram relacionados ao desfecho clínico dos pacientes e do aloenxerto (CIFTCI et al., 2019). Apesar da dosagem de CXCL10 ocorrer no pós transplante no corrente estudo, altos níveis deste marcador foram associados ao desfecho primário.

De maneira semelhante ao presente estudo, Heidt e colaboradores (2011) demonstraram que altos níveis séricos de CXCL10 avaliados no pré-transplante foram associados à perda do aloenxerto renal a longo prazo. Diferentemente dos achados no presente trabalho, outros autores não consideraram CXCL10 como um bom preditor para a sobrevida do enxerto, sobrevida esta intimamente ligada ao risco imunológico do paciente (FIELD et al., 2014; LAZZERI et al., 2005).

É importante ressaltar que CXCL10 é responsável pelo recrutamento de citocinas, especialmente IFN- γ , e pelo estímulo da adesão e migração de células T ativadas do tipo Th1, de linfócitos T citotóxicos, de células dendríticas, de células NK e de macrófagos durante a resposta inflamatória/imunológica do receptor contra aloantígenos do enxerto do doador (DABIRI; KARIMINIK; KENNEDY, 2016; DEHMEL et al., 2010; LOETSCHER et al., 1996; ROMAGNANI; CRESCIOLI, 2012).

Um estudo recente demonstrou maiores níveis urinários de CXCL10 em pacientes com ABMR em relação aos controles formados por RTR que possuíam um estado de saúde estável. Além disso, nesse mesmo artigo, maiores níveis urinários de CXCL10 foram encontrados em pacientes transplantados renais com ABMR em relação a pacientes com disfunção crônica do aloenxerto. Dessa forma, os autores enfatizaram que CXCL10 pode ser útil como um teste complementar para o diagnóstico de rejeição no transplante renal (BASAK et al., 2022).

Autores também demonstraram que CXCL10 pode refletir a inflamação tubulointersticial subclínica ao encontrarem maiores níveis urinários de CXCL10 em pacientes transplantados renais com biópsias diagnosticando tubulite, em relação a pacientes com histologia normal (HO et al., 2018). Além disso, em um estudo que avaliou pacientes no pré e pós transplante renal, elevados níveis urinários de CXCL10 foram encontrados em RTR no primeiro e sétimo dia pós transplante e no momento da rejeição do aloenxerto em relação aos pacientes sem episódios de rejeição. Os

autores salientaram que CXCL10 pode fornecer informações adicionais para o diagnóstico de rejeição no transplante renal (CIFTCI et al., 2019).

Ainda de forma similar ao que foi encontrado no presente trabalho, um estudo com pacientes que receberam o rim de doadores vivos revelou maiores níveis urinários de CXCL10 em pacientes que apresentavam rejeição do aloenxerto renal em relação àqueles sem rejeição (RAZA et al., 2017b).

Em outra pesquisa, autores relacionam as variações no eRFG aos níveis de CXCL10 em um estudo que envolveu a avaliação de diversas quimiocinas, incluindo CXCL10, em pacientes transplantados renais estáveis clinicamente e um grupo controle de pacientes saudáveis. Porém, na análise de regressão multivariada, CXCL10 não foi associado à diminuição do eRFG (ZAHARAN et al., 2018).

Assim como no estudo atual, CXCL10 foi considerado um biomarcador de prognóstico precoce para a rejeição ao aloenxerto renal em uma pesquisa que envolveu RTR. De forma distinta ao presente estudo, os pesquisadores mensuraram CXCL10 antes e após o transplante. As análises da curva ROC demonstraram que níveis de CXCL10 tiveram uma excelente capacidade de discriminar entre pacientes com TCMR e pacientes sem rejeição com uma AUC de 0,92, entre pacientes com ABMR e pacientes sem rejeição com uma AUC de 0,83 e entre transplantados com rejeição subclínica e pacientes sem rejeição com uma AUC de 0,94. Os investigadores concluíram que CXCL10 pode ser considerado um biomarcador para melhor estratificar os pacientes de acordo com o risco de rejeição, aprimorando decisões clínicas, principalmente ligadas à escolha da terapia imunossupressora, de forma a iniciar a intervenção correta mais precocemente e aumentar a sobrevida do aloenxerto (MILLÁN et al., 2021).

7.2.3 Associação dos níveis de IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10 com a função renal e a evolução clínica de RTR

Nos pacientes investigados no presente estudo, os níveis das citocinas IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10 foram avaliados de acordo com a função renal (**Figura 5**) e de acordo com o desfecho primário no transplante (**Figura 7**). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos analisados (**Figuras 5 e 7**).

De forma semelhante ao presente estudo, autores não encontraram associação entre a inibição de IL-6 por polimorfismos genéticos e o eRFG utilizando o método de randomização mendeliana, método que investiga a relação causal entre uma exposição biológica modificável e um desfecho clínico de interesse, utilizando variantes genéticas (RYAN et al., 2021). Ainda de forma similar, nosso grupo de pesquisa não encontrou diferenças significativas, em um estudo de 2017, na comparação entre os níveis de IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10 e a função renal avaliada pela creatinina em pacientes transplantados renais, apesar de conseguirmos demonstrar uma fraca e significativa correlação entre IL-6 e creatinina (MOTA et al., 2017).

Um painel contendo citocinas e quimiocinas, incluindo IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10, foi avaliado em um grupo de pacientes transplantados renais que receberam o rim de doadores vivos e que não tinham sinais nem sintomas clínicos de rejeição. As coletas de sangue aconteceram antes e após o transplante (1 semana e 1 ano após). No período pós transplante, não foi observado nenhum aumento significativo dos níveis dos marcadores investigados. Ito e colaboradores (2020) concluíram que o transplante renal pode não promover o aumento de níveis de citocinas e quimiocinas e, por isso, acreditam que esses biomarcadores podem possibilitar a detecção da rejeição crônica em um estágio mais precoce. Isso possibilitaria a utilização de níveis plasmáticos de citocinas e quimiocinas para monitorar as alterações fisiopatológicas no transplante (ITO et al., 2020).

De forma distinta aos resultados encontrados no presente estudo, autores demonstraram uma correlação entre os níveis de TNF- α , de TNFR1 e de TNFR2 e o eRFG em pacientes transplantados renais e encontraram maiores níveis destes marcadores 7 dias e 1 mês após o transplante em pacientes com rejeição aguda em relação aos pacientes sem rejeição aguda, de forma significativa (BUDAK et al., 2015). Semelhantemente ao presente trabalho, em um estudo retrospectivo, RTR tratados com inibidores de TNF- α e pacientes controle que não receberam este tipo de intervenção foram comparados de acordo com a função renal e os autores encontraram um eRFG similar entre os grupos analisados (QUINN et al., 2019).

Em um estudo recente, foi realizado um tratamento com duração de um ano utilizando um anticorpo monoclonal inibidor de IL-6, o Clazakizumab, em dez pacientes transplantados renais com confirmação de ABMR por biópsia renal. Após o início do tratamento, o eRFG se estabilizou e houve uma redução em DSAs na maioria

dos pacientes. Os efeitos adversos observados foram mínimos e houve duas perdas do aloenxerto, ambas em pacientes que descontinuaram o tratamento (JORDAN et al., 2022).

Autores realizaram uma inibição de IL-6 em camundongos e transplantaram os rins destes animais em camundongos nefrectomizados. Também foi feito o transplante de rim de camundongos controle (sem inibição de IL-6) em camundongos nefrectomizados. A deficiência da expressão de IL-6 em rins de doadores aumentou significativamente a sobrevida do aloenxerto renal em comparação aos controles. Além disso, foi observado um aumento de células Tregs e uma diminuição de aloanticorpos antienxerto circulantes em camundongos que receberam o rim de camundongos knockout para IL-6. Em conclusão, os autores sugeriram que a inibição da sinalização de IL-6 em rins de doadores poderia prevenir efetivamente a rejeição humoral e celular no transplante (WANG et al., 2012).

De forma distinta ao nosso estudo, uma metanálise obteve sucesso em comparar níveis de IL-6 ao desfecho no transplante renal. Foram encontrados maiores níveis de IL-6 em pacientes submetidos ao transplante renal em relação aos indivíduos saudáveis avaliados. Omrani e colaboradores (2019) demonstraram que baixos níveis de IL-6 têm sido encontrados em pacientes com evoluções desejáveis no transplante, enquanto altos níveis dessa citocina têm sido correlacionados à falência do aloenxerto renal. Os autores concluíram que este biomarcador pode indicar o risco imunológico de pacientes transplantados renais, podendo ser usado como uma ferramenta de avaliação inflamatória (OMRANI et al., 2019).

Em uma pesquisa prospectiva que incluiu 65 pacientes transplantados renais que receberam o rim de doadores vivos, Ciftci e colaboradores (2018) mensuraram TNF- α no soro e na urina, no pré e pós transplante (1 dia, 7 dias, 1, 3 e 6 meses após o transplante). Os níveis de TNF- α no pré-transplante não mostraram diferenças significativas quando pacientes com e sem rejeição do aloenxerto foram comparados. Porém, no pós transplante, foram encontrados maiores níveis em pacientes que rejeitaram o aloenxerto em relação àqueles que mantiveram a função renal estável. Os autores então concluíram que níveis séricos e urinários de TNF- α poderiam ser utilizados como preditores para a rejeição no transplante (CIFTCI et al., 2018). Adicionalmente, Poppelaars e colaboradores (2022) demonstraram que pacientes com polimorfismos ligados à alta produção de TNF- α possuíam um maior risco de

perda imediata e a longo prazo do aloenxerto renal. Assim, o bloqueio de TNF- α poderia trazer melhores resultados no transplante renal (POPPELAARS et al., 2022).

Rech e colaboradores (2019) não encontraram associação entre os níveis plasmáticos de IL-6, TNF- α , IL-1 β e IFN- γ e o desenvolvimento de disfunção primária do aloenxerto, definida como a necessidade de diálise durante a primeira semana após o transplante renal. Em um estudo envolvendo pacientes transplantados renais com histórico de nefropatia associada à amiloidose AA, foi constatado que o tratamento com um inibidor de IL-1 β favoreceu os resultados no transplante (DEMIR et al., 2017). Além disso, um trabalho envolvendo camundongos tratados com um inibidor de IL-1 β , demonstrou uma atenuação significativa na progressão do declínio do ritmo de filtração glomerular e os autores concluíram que IL-1 β poderia contribuir para a progressão da DRC (LEI et al., 2019).

Fan e colaboradores (2022) fizeram uma pesquisa envolvendo camundongos e demonstraram que o tratamento com IL-10 após o infarto agudo do miocárdio levou a uma diminuição da injúria renal com atenuação da fibrose renal crônica e redução da albuminúria. Outros autores apresentaram um estudo prospectivo que incluiu RTR estáveis e constataram uma associação, de forma significativa e independente, entre os níveis séricos de IL-10, a mortalidade cardiovascular e as outras causas de morte dos pacientes avaliados (GAO et al., 2021). De forma semelhante ao presente trabalho, um estudo prospectivo que acompanhou por 1 ano pacientes transplantados renais, não demonstrou nenhuma associação entre os níveis de IL-10 e a presença de rejeição do aloenxerto renal (GARCÍA COVARRUBIAS et al., 2016).

7.2.4 Associação dos níveis de HC com a função renal e a evolução clínica de RTR

HC, outro biomarcador inflamatório, também foi avaliado no presente estudo. Embora entre grupos de filtração glomerular (R1 x R2), HC não tenha sido significativa, maiores níveis de HC foram encontrados em pacientes que atingiram o desfecho primário em relação àqueles que mantiveram função renal estável ao longo dos 5 anos de acompanhamento clínico (**Figura 7**). HC é reconhecida como um fator de risco independente para doenças cardiovasculares, e níveis elevados de HC podem induzir danos endoteliais e aumentar a atividade e a produção de fatores de coagulação e de várias citocinas pró-inflamatórias (BADRI et al., 2021; WELCH; LOSCALZO, 1998). A

taxa de filtração glomerular estimada e as concentrações plasmáticas de HC têm uma relação oposta (FRIEDMAN et al., 2003). Doenças renais impactam particularmente as vias metabólicas de transsulfuração e remetilação, responsáveis pela eliminação eficaz da HC do corpo (BRATTSTRÖM; WILCKEN, 2000; VAN GULDENER; STEHOUWER, 2005).

De forma semelhante ao corrente estudo, outros autores concluíram que a HC poderia ser usado como um marcador diagnóstico precoce para o risco de insuficiência renal e como um marcador prognóstico para a doença renal em estágio terminal (DRT), quando combinado com outros biomarcadores, como creatinina e proteína C reativa de alta sensibilidade (AMIN; EL-SAYED; LEHETA, 2016). Outros autores também relacionaram o declínio na função renal ao aumento nos níveis de HC (BOSTOM et al., 2001; FOLEY et al., 1998).

Em outro estudo, concentrações elevadas de HC foram associadas a um menor eRFG (COHEN et al., 2019). Além disso, em indivíduos com doença renal crônica (DRC), os níveis de HC também estavam relacionados aos estágios da disfunção renal, potencialmente aumentando o risco de desenvolver distúrbios cardiovasculares (COHEN et al., 2019). No entanto, um estudo que examinou RTR ao longo de cinco anos não encontrou uma associação significativa entre as concentrações de HC e a perda do enxerto renal. Neste mesmo estudo, os autores consideraram que a HC poderia servir como um preditor de mortalidade no transplante renal (FONSECA et al., 2005).

No presente estudo, os pacientes foram acompanhados por cinco anos e o perfil inflamatório foi avaliado pela determinação dos níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC. O perfil inflamatório dos pacientes transplantados renais analisados foi associado à função renal e ao desfecho primário no transplante. O perfil inflamatório pode refletir o estado imunológico dos receptores do transplante e, de acordo com nossos resultados preliminares, a mensuração de CXCL10 e HC na rotina clínica desses pacientes poderia contribuir para melhores resultados no transplante renal.

7.2.5 Análises de correlação

CXCL10 se correlacionou positivamente com MCP-1/CCL2, IL-10 e creatinina e TNF- α se correlacionou positivamente com IL-1 β e negativamente com IL-10 (**Tabela 3**).

CXCL10 e MCP-1/CCL2 são frequentemente avaliados em conjunto em pacientes transplantados renais (GNIEWKIEWICZ et al., 2019; HIRT-MINKOWSKI et al., 2016; MOCKLER et al., 2018). Um estudo que avaliou 40 pacientes transplantados renais com protocolo de biópsia um ano após o transplante concluiu que proporções CXCL10/creatinina e MCP-1/CCL2/creatinina poderiam prever a nefropatia por BK vírus (GNIEWKIEWICZ et al., 2019). Em outra pesquisa que envolveu RTR com desfecho clínico definido por perda do enxerto, declínio de 20% no eRFG entre 6 meses até o final do follow-up e rejeição do aloenxerto após 6 meses, as proporções urinárias de MCP-1/CCL2/creatinina e CXCL10/creatinina isoladamente apresentam um desempenho semelhante para prever o desfecho a longo prazo do aloenxerto renal. Os autores detectaram um pior prognóstico no transplante renal quando ambas as proporções estavam elevadas (HIRT-MINKOWSKI et al., 2016), o que é similar à correlação encontrada no corrente estudo.

De forma distinta, em pacientes com tireoidite autoimune crônica, níveis de CXCL10 e MCP-1 não foram correlacionados (ANTONELLI et al., 2005). De forma semelhante ao presente estudo, autores encontraram uma correlação entre CXCL10 e MCP-1/CCL2 em uma pesquisa que avaliou pacientes transplantados renais com idade inferior a 19 anos. Ambos os marcadores mensurados 6 meses após o transplante foram associados ao declínio do eRFG (MOCKLER et al., 2018).

Em concordância ao atual estudo, autores encontraram uma correlação positiva entre IL-10 e CXCL10 em indivíduos suscetíveis a se infectar pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) (KAHLE et al., 2015). Uma revisão sistemática recente que avaliou estudos contendo diversos marcadores, como CXCL10 e IL-10, concluiu que CXCL10 urinário é o biomarcador mais promissor para avaliar a rejeição renal, juntamente ao CXCL9 urinário (GUZZI et al., 2020).

CXCL10 é associada à migração de células T para sítios de inflamação (TAUB et al., 1993). O aumento de CXCL10 pode estar correlacionado ao aumento de IL-10, já que IL-10 é uma citocina imunomoduladora envolvida na inibição da resposta inflamatória, com ação inibitória sobre a proliferação de células T e um dos

marcadores responsáveis pelo aumento da ativação de células NK (CAI; KASTELEIN; HUNTER, 1999; TAGA; TOSATO, 1992). Isso explicaria a correlação positiva entre CXCL10 e IL-10 encontrada no corrente estudo.

Um estudo que avaliou amostras urinárias de pacientes transplantados renais com indicação de biópsia, constatou que a proporção dos níveis de CXCL10/creatinina foi significativamente mais elevada em pacientes com rejeição subclínica, com TCMR e ABMR em comparação aos pacientes com resultados normais de biópsia (BLYDT et al., 2015). Já autores de uma pesquisa que avaliou um grande grupo de RTR, não encontraram correlação entre níveis urinários de creatinina e de CXCL10, o que difere do presente estudo. Porém, nessa mesma investigação, as concentrações séricas de CXCL10 foram fortemente correlacionadas à proporção urinária de CXCL10/creatinina (HANDSCHIN et al., 2019).

De forma semelhante ao que foi encontrado na pesquisa atual, um artigo que avaliou pacientes com ESRD em hemodiálise, constatou que os níveis de creatinina foram diretamente correlacionados com CXCL10 (SILVA et al., 2021). A correlação positiva entre CXCL10 e creatinina encontrada no presente estudo pode ser explicada pela ação de CXCL10 como quimioatraente de leucócitos, contribuindo para a progressão da doença e a piora do prognóstico em pacientes com DRC (GAO et al., 2020).

Em relação à correlação positiva entre TNF- α e IL-1 β , ambas as citocinas participam da resposta imune inata, mediando o recrutamento e a ativação de macrófagos e neutrófilos (VIG et al., 1999). TNF- α atua aumentando a produção e liberação de IL-1 por macrófagos (HADDAD, 2002). Além disso, as vias de sinalização de TNF- α e IL-1 β levam a ativação de fatores de transcrição similares, como a proteína ativadora 1 (AP-1) e o NF- κ B (OTT et al., 2007). Nosso grupo de estudo encontrou resultados similares em uma análise de um painel de citocinas em pacientes transplantados renais, na qual foi constatado picos de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , em RTR com mais de 120 meses de transplante (MOTA et al., 2013). Outros autores também demonstraram maiores níveis dessas citocinas em pacientes com glomerulopatia após o transplante renal (DE SERRES et al., 2011).

Por outro lado, na pesquisa atual, TNF- α se correlacionou negativamente com IL-10. Esse resultado se difere de outro estudo que investigou pacientes transplantados renais e em hemodiálise e indivíduos saudáveis (grupo controle). Neste estudo específico, os autores encontraram maiores níveis de TNF- α e IL-10 nos

RTR e nos pacientes em hemodiálise em relação ao grupo controle (ALWAHAIBI et al., 2016). De fato, o balanço entre TNF- α e IL-10 é crucial para a manutenção da homeostase imunológica e o aumento de TNF- α , citocina que atua na exacerbação da resposta inflamatória e no dano aos tecidos, é acompanhado pelo aumento da síntese de IL-10 que suprime a produção de mediadores pró-inflamatórios como TNF- α (SHMARINA et al., 2001). De forma distinta aos nossos achados, em um estudo que avaliou indivíduos com lúpus eritematoso sistêmico (LES), foi encontrado uma correlação positiva entre TNF- α e IL-10 (ARORA et al., 2012). Já em um estudo que investigou pacientes com pré-eclâmpsia, foi constatada uma correlação negativa entre TNF- α e IL-10 (NUNES et al., 2021), assim como no presente estudo.

7.2.6 Avaliação dos níveis de CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-10 e HC de acordo com a terapia imunossupressora utilizada pelos RTR

Os marcadores inflamatórios também foram avaliados de acordo com os grupos de pacientes que utilizaram inibidores de calcineurina, TAC ou CsA, e de pacientes que não utilizavam nenhum desses imunossupressores. Tanto TAC como CsA são amplamente utilizados para prevenir a rejeição pós-transplante, melhorando as taxas de sobrevida do aloenxerto. Tanto CsA quanto TAC limitam a resposta imunológica por meio da inibição da atividade da calcineurina (FU et al., 2019). No presente estudo, foram encontrados níveis mais elevados de IL-6 no grupo que não utilizou nem TAC nem CsA (**Figura 9**).

Ao inibir a calcineurina, os CNIs podem reduzir a ativação das células T, diminuindo assim a produção de IL-6. Esses imunossupressores interferem na via de sinalização intracelular das células T, que inclui a ativação de fatores de transcrição, como o ativador do fator de transcrição nuclear de células T ativadas (NFAT). IL-6 é regulada por diferentes fatores de transcrição, e os CNIs podem afetar indiretamente a expressão de IL-6 por meio dessas vias (ABBOTT et al., 2000; FU et al., 2019; KELLER et al., 2006; RAO; LUO; HOGAN, 1997).

Diferentemente do observado em nosso estudo, autores encontraram níveis mais altos de IL-6 e outros biomarcadores inflamatórios, como proteína amiloide sérica A e receptor de interleucina-2 solúvel, em pacientes transplantados renais tratados

com CsA em comparação com aqueles tratados com TAC no período pós-transplante inicial (LAUZURICA et al., 2007).

Em um estudo envolvendo células musculares humanas, observou-se que a inibição da calcineurina suprime a expressão de IL-6, ao mesmo tempo em que aumenta a expressão de TNF- α . Esse achado destaca um contraste significativo entre a indução e a inibição dessas citocinas (KELLER et al., 2006). Mais estudos são necessários para compreender o mecanismo pelo qual os CNIs afetam de maneira diferente os marcadores envolvidos na resposta imunológica durante o transplante renal.

7.3 Avaliação de microRNAs em RTR

7.3.1 Avaliação da expressão de miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p em RTR de acordo com a função de filtração glomerular e a evolução clínica

Os miRNAs desempenham papéis importantes em diversos processos biológicos, como apoptose, migração, invasão, crescimento celular e progressão do ciclo celular (BERTACCHINI et al., 2015).

No presente estudo, um painel composto por miR-145-5p, miR-23b-3p, miR-15a-5p e miR-15b-5p foi avaliado de acordo com os grupos de pacientes transplantados renais, sendo eles: R1 (eRFG < 60 mL/min/ 1,73m²) e R2 (eRFG $\geq$ 60 mL/min/1,73m²), e desfecho primário (DP), caracterizado por declínio maior do que 30% no eRFG e/ou retorno à diálise e/ou rejeição ao aloenxerto renal e/ou retransplante, e função renal estável (FRE) ao longo dos 5 anos de acompanhamento clínico. É importante ressaltar novamente que o eRFG foi baseado nos níveis de creatinina no momento da coleta de sangue em 2016.

Na corrente pesquisa, uma maior expressão de miR-145-5p foi encontrada em pacientes com melhor função renal (**Figura 10**) e miR-145-5p teve a capacidade de distinguir entre pacientes com pior e melhor eRFG, com uma AUC igual a 0,68 (**Figura 11**). Similar ao que foi encontrado, Matz e colaboradores (2018) encontraram uma maior expressão de miR-145-5p em pacientes com função ao aloenxerto estável em relação àqueles com IFTA, com alta acurácia diagnóstica (AUC = 0,89), em uma investigação que envolveu pacientes transplantados renais.

De maneira contrária, Zhang e colaboradores (2021) fizeram um estudo em modelo animal e constataram que vesículas extracelulares contendo miR-145-5p induziram proteinúria e toxicidade/lesão celular em podócitos. Outros pesquisadores encontraram um aumento de miR-145 em pacientes com pielonefrite aguda em relação aos pacientes com biópsia normal e relacionaram o aumento da expressão deste miRNA à inflamação com predomínio de neutrófilos em um estudo que envolveu RTR (OGHUMU et al., 2014).

Nossos achados demonstraram uma maior expressão gênica de miR-23b-3p no grupo com pior eRFG (**Figura 10**). Contrariamente, a superexpressão de miR-23b foi associada a supressão de vias pró-inflamatórias sinalizadas por NF- κ B induzido por IL-1, TNF, IL-17 e quinases ativadas por TGF- β (BORDON, 2012; HU; O'CONNELL, 2012; ZHU et al., 2012). A expressão diminuída de miR-23b foi encontrada em LES, artrite reumatoide e esclerose múltipla (ZHU et al., 2012). Em um estudo em que os participantes foram RTR com rejeição aguda, pielonefrite aguda e função renal normal, foi constatada uma menor expressão de miR-23b em pacientes com rejeição em relação aos pacientes com função estável do rim. Os autores relacionaram esse resultado à indução de vias inflamatórias na rejeição por uma menor atuação inibitória de miR-23b (OGHUMU et al., 2014).

No presente estudo, foi encontrada uma maior expressão de miR-15a-5p no grupo de pacientes que atingiu o desfecho primário em relação ao grupo que manteve uma boa função renal ao longo dos cinco anos de acompanhamento clínico (**Figura 12**) e uma maior expressão deste miRNA em pacientes com pior função de filtração renal (**Figura 10**). Na análise da curva ROC, miR-15a-5p teve a capacidade de distinguir pacientes que atingiram o desfecho primário daqueles que mantiveram uma função renal estável no follow-up (**Figura 13**), além de discriminar pacientes com melhor eRFG daqueles com pior eRFG (**Figura 11**). De forma distinta, em um estudo que avaliou pacientes com ND e pacientes com DM tipo 1 (grupo controle), não foram encontradas diferenças significativas na expressão deste miRNA em relação aos dois grupos de indivíduos investigados (DIETER et al., 2019). Em um estudo recente que envolveu pacientes com nefropatia por IgA, outras nefropatias e indivíduos saudáveis (grupo controle), miR-15a-5p não foi associado com eRFG, proteinúria ou outros indicadores patológicos. Porém, uma maior expressão de miR-15a-5p foi encontrada em indivíduos com nefropatia por IgA em relação ao grupo controle e esse miRNA

teve uma sensibilidade de 72,9% e uma especificidade de 58,9% para diferenciar os grupos avaliados (ZHANG et al., 2023).

Já foi constatado que o miR-15a-5p consegue inibir o fator de crescimento do endotélio vascular A (VEGFA, do inglês *vascular endothelial growth factor A*), atuando como um miRNA que regula sua produção e subsequentemente diminui a inflamação e fibrose nas células mesoteliais peritoneais, o que de certa forma, é contrária aos nossos achados. Os autores concluíram neste estudo que a via miR-15a-5p/VEGFA poderia ser um alvo em pacientes submetidos à diálise peritoneal (SHANG et al. 2019). Outros autores demonstraram que tanto miR-15a-5p como miR-15b-5p ativam células T CD8+ e células NK e que a expressão reduzida desses miRNAs estaria associada à infiltração de linfócitos em pacientes com neuroblastoma em um estudo que utilizou modelo bioinformático (PATHANIA et al., 2022).

No presente estudo, uma maior expressão de miR-15b-5p foi encontrada tanto em pacientes com uma melhor função renal (**Figura 10**) como em pacientes que mantiveram uma boa evolução clínica ao longo dos cinco anos de acompanhamento (**Figura 12**). Além disso, na análise da curva ROC, miR-15b-5p teve a capacidade de distinguir pacientes com melhor função de filtração renal daqueles com pior eRFG (**Figura 11**), além de discriminar pacientes que atingiram o desfecho primário daqueles que mantiveram uma função renal estável ao longo do acompanhamento (**Figura 13**). Alfaro e colaboradores (2021) avaliaram miR-145-5p, miR-15a-5p, miR-15b-5p e outros miRNAs em RTR com e sem rejeição aguda. Nenhum dos miRNAs citados e pesquisados também no atual estudo mostraram diferentes expressões entre os grupos avaliados. Matz e colaboradores (2016b) investigaram RTR com rejeição vascular mediada por células T (TCMVR, do inglês *T cell-mediated vascular rejection*) e pacientes com função do aloenxerto estável e constataram que miR-15b-5p foi considerado um marcador altamente específico para detectar TCMVR. Além disso, neste mesmo estudo, os autores encontraram resultados divergentes aos nossos achados, com uma menor expressão de miR-15a-5p em pacientes com TCMVR em relação aos pacientes com função renal estável (MATZ et al., 2016b). Mais estudos avaliando o painel de miRNAs proposto na presente pesquisa são necessários para entender melhor o papel desses marcadores no transplante renal.

8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

É crucial observar que o presente estudo teve algumas limitações, como um tamanho amostral relativamente pequeno e com uma única população avaliada. Além disso, o cronograma inicial contava com coletas de amostras antes e após o transplante, com tempos pré-determinados. Porém, o período pandêmico inviabilizou esse planejamento. Dessa forma, somente foram analisadas amostras de pacientes que já haviam sido submetidos ao transplante renal, o que pode ter sido um fator limitante para a avaliação dos marcadores inflamatórios e epigenéticos propostos e sua relação com a função renal e o desfecho clínico dos pacientes avaliados.

9 CONCLUSÕES

A escolha de um dos principais imunossupressores, seja TAC ou CsA, parece não ter influência nos níveis dos biomarcadores inflamatórios avaliados. Além disso, CXCL10 se destacou como um biomarcador promissor para prever a deterioração da função renal em pacientes transplantados renais. A HC também demonstrou bom desempenho no contexto do transplante renal.

Em relação ao painel de miRNAs proposto, miR-15a-5p e miR-15b-5p se destacaram, demonstrando bons valores diagnósticos para identificar pacientes com alto risco imunológico ao distinguir função renal estável de desfecho primário, além de discriminar bem entre melhor e pior função de filtração glomerular.

10 PERSPECTIVAS DE ESTUDO

- Expandir o número de pacientes e diversificar as populações estudadas, além de coletar as amostras de indivíduos no período pré e pós transplante renal;
- Avaliar as vias de sinalização celular, identificando o papel específico de CXCL10 e do painel de miRNAs proposto no contexto do transplante renal;
- Utilizar *Machine Learnig* para extrair informações sobre o perfil inflamatório dos pacientes investigados, representá-lo por um modelo matemático e associá-lo a um monitoramento clínico mais preciso de pacientes transplantados renais.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, K.L. *et al.* Evidence that G α (q)-coupled receptor-induced interleukin-6 mRNA in vascular smooth muscle cells involves the nuclear factor of activated T cells. **Molecular Pharmacology**, v. 58, p. 946-953, 2000.

AGARWAL, V. *et al.* Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *Elife*, v. 4, 2015.

AKDIS, M. *et al.* Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 127, n. 3, p. 701-721.e1-70, 2011. Erratum in: J Allergy Clin Immunol. 2011 Oct;128(4):739. Quaked, Nadia [corrected to Ouaked, Nadia].

ALEGRE, M.L., CHONG, A. Toll-like receptors (TLRs) in transplantation. **Frontiers in Bioscience (Elite Ed)**, v. 1, n. 1, p. 36-43, 2009.

ALFARO, R. *et al.* MicroRNA Expression Changes in Kidney Transplant: Diagnostic Efficacy of miR-150-5p as Potential Rejection Biomarker, Pilot Study. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 13, 2748, 2021.

ALI, N. *et al.* Regulatory T Cells in Skin Facilitate Epithelial Stem Cell Differentiation. **Cell**, v. 169, n. 6, p. 1119-1129.e11, 2017.

ALWAHAIBI, N. *et al.* Serum levels of TNF- α , IL-6 and IL-10 in haemodialysis and renal transplant patients and in healthy subjects. **Corpus**, 2016.

AMIN, H.K., EL-SAYED, M.I., LEHETA, O.F. Homocysteine as a predictive biomarker in early diagnosis of renal failure susceptibility and prognostic diagnosis for end stages renal disease. **Renal Failure**, v. 38, p. 1267-1275, 2016.

ANDERS, H. J. *et al.* Chemokines and chemokine receptors in the resolution or progression of renal disease. **Kidney International**, v. 63, p. 401-415, 2003.

ANTONELLI, A. *et al.* Increase of interferon-gamma inducible alpha chemokine CXCL10 but not beta chemokine CCL2 serum levels in chronic autoimmune thyroiditis. **European Journal of Endocrinology**, v. 152, n. 2, p. 171-177, 2005.

ANTONELLI, A., FERRARI, S. M., CORRADO, A., FERRANNINI, E., FALLAHI, P. CXCR3, CXCL10 and type 1 diabetes. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 25, n. 1, p. 57–65, 2014. (a)

ANTONELLI, A., FERRARI, S. M., GIUGGIOLI, D., FERRANNINI, E., FERRI, C., FALLAHI, P. Chemokine (C-X-C motif) ligand (CXCL)10 in autoimmune diseases. **Autoimmunity Reviews**, v. 13, n. 3, p. 272–280, 2014. (b)

ANTUNES, S. A., CANZIANI, M. E. Heparin: an important iron metabolism regulator in chronic kidney disease. **Journal of Brasileiro de Nefrologia**, v. 38, n. 3, p. 351-355, 2016.

ARORA, V., VERMA, J., MARWAH, V., KUMAR, A., ANAND, D., DAS, N. Cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus: a study on northern Indian subjects. **Lupus**, v. 21, n. 6, p. 596-603, 2012.

ASPALTER, R. M., EIBL, M. M., WOLF, H. M. Regulation of TCR-mediated T cell activation by TNF-RII. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 74, p. 572–82, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS. Dados Numéricos da doação de órgãos e transplantes realizados por estado e instituição no período: janeiro/setembro - 2019. **Registro Brasileiro de Transplantes**, v. 15, p. 1-34, 2019. Disponível em: <http://www.abto.org.br/abtov03/Upload/file/RBT/2019/RBT-2019-jan-set-completo.pdf>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS. Dados Numéricos da doação de órgãos e transplantes realizados por estado e instituição no período: janeiro/setembro - 2020. **Registro Brasileiro de Transplantes**, v. 16, p. 1-21, 2020. Disponível em: https://site.abto.org.br/wp-content/uploads/2020/11/RBT-2020-trimestre-3-POPULAÇÃO_compressed.pdf.

AXTELL, *et al.* Vive la différence: biogenesis and evolution of microRNAs in plants and animals. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, p. 221, 2011.

BABA, M., SHIMBO, T., HORIO, M., *et al.* Longitudinal Study of the Decline in Renal Function in Healthy Subjects. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. e0129036, 2015 Jun 10. Erratum in: **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0135992, 2015.

BADRI, S. *et al.* Homocysteine-Lowering Interventions in Chronic Kidney Disease. **Journal of Research in Pharmacy Practice**, v. 10, p. 114-124, 2021.

BAKER, R.J. *et al.* Renal association clinical practice guideline in post-operative care in the kidney transplant recipient. **BMC Nephrology**, v. 18, p. 174, 2017.

BAKOS, E. *et al.* CCR2 Regulates the Immune Response by Modulating the Interconversion and Function of Effector and Regulatory T Cells. **Journal of Immunology**, v. 198, n. 12, p. 4659-4671, 2017.

BANDACH, I., SEGEV, Y., LANDAU, D. Experimental modulation of Interleukin 1 shows its key role in chronic kidney disease progression and anemia. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 6288, 2021.

BANDIERA, S. *et al.* Nuclear outsourcing of RNA interference components to human mitochondria. **PloS One**, v. 6, n. 6, p. e20746, 2011.

BARTEL, T. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. **Cell**, v. 136, n. 2, p. 215-33, 2009.

BASAK, O. S. *et al.* Association Between Graft Function and Urine CXCL10 and Acylcarnitines Levels in Kidney Transplant Recipients. **Laboratory Medicine**, v. 53, n. 1, p. 78-84, 2022.

BATAL, I., DE SERRES, S.A., MFARREJ, B.G., *et al.* Glomerular inflammation correlates with endothelial injury and with IL-6 and IL-1 β secretion in the peripheral blood. **Transplantation**, v. 97, p. 1034-1042, 2014.

BAUER, A.C., FRANCO, R.F., MANFRO, R.C. Immunosuppression in Kidney Transplantation: State of the Art and Current Protocols. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 28, p. 3440-3450, 2020.

BAUTISTA, E. *et al.* Angiogenic and inflammatory markers in acute respiratory distress syndrome and renal injury associated with A/H1N1 virus infection. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 94, n. 3, p. 486-492, 2013.

BENT, R. *et al.* Interleukin-1 Beta-A Friend or Foe in Malignancies? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 8, p. 2155, 2018.

BERTACCHINI, J. *et al.* Targeting PI3K/AKT/mTOR network for treatment of leukemia. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 72, p. 2337–2347, 2015.

BETRIU, A. *et al.* Prevalence of subclinical atheromatosis and associated risk factors in chronic kidney disease: the nefrona study. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 29, p. 1415–1422, 2014.

BHAT, M.A. *et al.* Association of IL1 beta gene polymorphism and allograft functions in renal transplant recipients: a case control study from Kashmir Valley. **BMC Nephrology**, v. 18, n. 1, p. 111, 2017.

BIJKERK, R. *et al.* Acute Rejection After Kidney Transplantation Associates With Circulating MicroRNAs and Vascular Injury. **Transplantation Direct**, v. 3, n. 7, p. e174, 2017.

BLAST. **NCBI**. Disponível em: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Acesso em 05 de julho de 2023.

BLYDT-HANSEN, T.D. *et al.* Elevated urinary CXCL10-to-creatinine ratio is associated with subclinical and clinical rejection in pediatric renal transplantation. **Transplantation**, v. 99, n. 4, p. 797-804, 2015.

BLYDT-HANSEN, T.D. *et al.* Validity and utility of urinary CXCL10/Cr immune monitoring in pediatric kidney transplant recipients. **American Journal of Transplantation**, v. 21, n. 4, p. 1545-1555, 2021.

BOLLYKY, P.L. *et al.* Th1 cytokines promote T-cell binding to antigen-presenting cells via enhanced hyaluronan production and accumulation at the immune synapse. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 7, n. 3, p. 211-220, 2010.

BOOTH, A.J. *et al.* IL-6 promotes cardiac graft rejection mediated by CD4⁺ cells. **Journal of Immunology**, v. 187, n. 11, p. 5764-5771, 2011.

BORDON, Y. Autoimmunity: microRNA-23b keeps TABs on tissue inflammation. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 8, n. 8, p. 438, 2012.

BOSTOM, A.G. *et al.* Proteinuria and plasma total homocysteine levels in chronic renal disease patients with a normal range serum creatinine: critical impact of true glomerular filtration rate. **Atherosclerosis**, v. 159, p. 219-223, 2001.

BRATTSTRÖM, L. & WILCKEN, D.E. Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 2, p. 315-323, 2000.

BRUNI, A. *et al.* Ferroptosis-inducing agents compromise in vitro human islet viability and function. **Cell Death & Disease**, v. 9, n. 6, p. 595, 2018.

BUDAK, D. *et al.* Association between graft function and serum TNF- α , TNFR1 and TNFR2 levels in patients with kidney transplantation. **Renal Failure**, v. 37, n. 5, p. 871-876, 2015.

CAI, G.; KASTELEIN, R.A.; HUNTER, C.A. IL-10 enhances NK cell proliferation, cytotoxicity and production of IFN-gamma when combined with IL-18. **European Journal of Immunology**, v. 29, p. 2658-2665, 1999.

CAMPANELLA, G.S. *et al.* Development of a novel chemokine-mediated in vivo T cell recruitment assay. **Journal of Immunological Methods**, v. 331, n. 1-2, p. 127-139, 2008.

CAMPANELLA, G.S. *et al.* CXCL10 can inhibit endothelial cell proliferation independently of CXCR3. **PLoS One**, v. 5, n. 9, p. e12700, 2010.

CAPPUCCILLI, M. *et al.* Vitamin B Supplementation and Nutritional Intake of Methyl Donors in Patients with Chronic Kidney Disease: A Critical Review of the Impact on Epigenetic Machinery. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1234, 2020.

CARRERO, J.J. *et al.* Sex and gender disparities in the epidemiology and outcomes of chronic kidney disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 14, n. 3, p. 151-164, 2018.

CARTHEW, R.W. & SONTHEIMER, E.J. Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs. **Cell**, v. 136, n. 4, p. 642-655, 2009.

CASCALHO, M. *et al.* The paradoxical functions of B cells and antibodies in transplantation. **Journal of Immunology**, v. 190, n. 3, p. 875–879, 2013.

CASIRAGHI, F. *et al.* Mesenchymal stromal cells in renal transplantation: opportunities and challenges. **Nature Reviews Nephrology**, v. 12, n. 4, p. 241-253, 2016.

CAVUSOGLU, E. *et al.* Plasma interleukin-10 levels and adverse outcomes in acute coronary syndrome. **American Journal of Medicine**, v. 124, n. 8, p. 724-730, 2011.

CELLA, M. *et al.* Inflammatory stimuli induce accumulation of MHC class II complexes on dendritic cells. **Nature**, v. 388, n. 6644, p. 782-787, 1997.

CERNILOGAR, F.M. *et al.* Chromatin-associated RNA interference components contribute to transcriptional regulation in *Drosophila*. **Nature**, v. 480, n. 7377, p. 391-395, 2011.

CERNOCH, M. & VIKLICKY, O. Complement in Kidney Transplantation. **Frontiers in Medicine**, v. 4, p. 66, 2017.

CHAPMAN, J.R. What are the key challenges we face in kidney transplantation today? **Transplantation Research**, v. 2, n. Suppl 1, p. S1, 2013.

CHEN, T. *et al.* Increased urinary exosomal microRNAs in children with idiopathic nephrotic syndrome. **EBioMedicine**, v. 39, p. 552-561, 2019.

CHEN, W. *et al.* Association of hyperhomocysteinemia and chronic kidney disease in the general population: a systematic review and meta-analysis. **BMC Nephrology**, v. 24, n. 1, p. 247, 2023.

CHENG, Y. *et al.* MicroRNA-145, a novel smooth muscle cell phenotypic marker and modulator, controls vascular neointimal lesion formation. **Circulation Research**, v. 105, n. 2, p. 158-166, 2009.

CHESNEAU, M. *et al.* Unique B cell differentiation profile in tolerant kidney transplant patients. **American Journal of Transplantation**, v. 14, n. 1, p. 144-155, 2014.

CHEUNG, G.T. *et al.* Homocysteine stimulates monocyte chemoattractant protein-1 expression in mesangial cells via NF-kappaB activation. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 86, n. 3, p. 88-96, 2008.

CHOI, J.Y.; KWON, O.J. The impact of post-transplant hemoglobin level on renal allograft outcome. **Transplantation Proceedings**, v. 45, n. 4, p. 1553-1557, 2013.

CHOY, E.H. *et al.* Translating IL-6 biology into effective treatments. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 16, n. 6, p. 335-345, 2020.

CHUNG, B.H. *et al.* Increase of Th17 Cell Phenotype in Kidney Transplant Recipients with Chronic Allograft Dysfunction. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0145258, 2015.

CIFTCI, H.S. *et al.* Serum and Urinary Levels of Tumor Necrosis Factor-Alpha in Renal Transplant Patients. **Experimental and Clinical Transplantation**, v. 16, n. 6, p. 671-675, 2018.

CIFTCI, H.S. *et al.* Urinary CXCL9 and CXCL10 Levels and Acute Renal Graft Rejection. **International Journal of Organ Transplantation Medicine**, v. 10, n. 2, p. 53-63, 2019.

COHEN, E. *et al.* The relationship between the concentration of plasma homocysteine and chronic kidney disease: a cross-sectional study of a large cohort. **Journal of Nephrology**, v. 32, p. 783-789, 2019.

COLLISON, A. *et al.* Inhibition of house dust mite-induced allergic airways disease by antagonism of microRNA-145 is comparable to glucocorticoid treatment. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 128, n. 1, p. 160-167.e4, 2011.

CORDES, K.R. *et al.* miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity. **Nature**, v. 460, n. 7256, p. 705-710, 2009.

COSTA, D.M. *et al.* Comparative analysis of primary and secondary glomerulopathies in the northeast of Brazil: data from the Pernambuco Registry of Glomerulopathies - REPEG. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 39, n. 1, p. 29-35, 2017.

DABIRI, S., KARIMINIK, A. & KENNEDY, D. The role of CXCR3 and its ligands in renal transplant outcome. **European Cytokine Network**, v. 27, n. 2, p. 34-40, 2016.

DALRYMPLE, L.S. *et al.* Chronic kidney disease and the risk of end-stage renal disease versus death. **Journal of General Internal Medicine**, v. 26, n. 4, p. 379-385, 2011.

DE SERRES, S.A. *et al.* Monocyte-secreted inflammatory cytokines are associated with transplant glomerulopathy in renal allograft recipients. **Transplantation**, v. 91, n. 5, p. 552-559, 2011.

DE VRIES, J.E. Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin 10. **Annals of Medicine**, v. 27, n. 5, p. 537-541, 1995.

DEGAUQUE, N. *et al.* Regulation of the Immune Response by the Inflammatory Metabolic Microenvironment in the Context of Allotransplantation. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1465, 2018.

DEHMEL, S. *et al.* Chemokine receptor Ccr5 deficiency induces alternative macrophage activation and improves long-term renal allograft outcome. **European Journal of Immunology**, v. 40, n. 1, p. 267-278, 2010.

DEMIR, E. *et al.* Effects of IL-1 β receptor antagonist in kidney transplant recipients. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 32, n. 3, p. 409, 2017.

DEUSSEN, A. *et al.* Effects of homocysteine on vascular and tissue adenosine: a stake in homocysteine pathogenicity? **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 43, n. 10, p. 1007-1010, 2005.

DEVINE, P.A. *et al.* Cardiovascular risk in renal transplant recipients. **Journal of Nephrology**, v. 32, n. 3, p. 389-399, 2019.

DE PAOLI, F. *et al.* Macrophage phenotypes and their modulation in atherosclerosis. **Circulation Journal**, v. 78, n. 8, p. 1775-1781, 2014.

DE SERRES, S.A. *et al.* Monocyte-secreted inflammatory cytokines are associated with transplant glomerulopathy in renal allograft recipients. **Transplantation**, v. 91, n. 5, p. 552-559, 2011.

DE SERRES, S.A. *et al.* Derivation and validation of a cytokine-based assay to screen for acute rejection in renal transplant recipients. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 7, n. 6, p. 1018-1025, 2012.

DE VRIES, J.E. Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin 10. **Annals of Medicine**, v. 27, n. 5, p. 537-541, 1995.

DIETER, C. *et al.* MiR-30e-5p and MiR-15a-5p Expressions in Plasma and Urine of Type 1 Diabetic Patients With Diabetic Kidney Disease. **Frontiers in Genetics**, v. 10, p. 563, 2019.

DINARELLO, C.A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. **Annual Review of Immunology**, v. 27, p. 519-550, 2009.

DINARELLO, C. *et al.* IL-1 family nomenclature. **Nature Immunology**, v. 11, p. 973, 2010.

DINARELLO, C.A. An expanding role for interleukin-1 blockade from gout to cancer. **Molecular Medicine**, v. 20, suppl 1, p. S43-S58, 2014.

DING, Y. *et al.* miR-145 inhibits proliferation and migration of breast cancer cells by directly or indirectly regulating TGF- β 1 expression. **International Journal of Oncology**, v. 50, n. 5, p. 1701-1710, 2017.

DOMÍNGUEZ-PANTOJA, M. *et al.* CD38 protein deficiency induces autoimmune characteristics and its activation enhances IL-10 production by regulatory B cells. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 87, n. 6, e12664, 2018.

DOS SANTOS, D.C. *et al.* Compartment-specific expression of natural killer cell markers in renal transplantation: immune profile in acute rejection. **Transplant International**, v. 29, n. 4, p. 443-452, 2016.

DOS SANTOS, D.C. *et al.* Expression patterns of CD56+ and CD16+ cells in renal transplant biopsies with acute rejection: Associations with microcirculation injuries and graft survival. **Nephrology**, v. 22, n. 12, p. 993-1001, 2017.

EISSA, S. *et al.* Urinary exosomal microRNA panel unravels novel biomarkers for diagnosis of type 2 diabetic kidney disease. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 30, n. 8, p. 1585-1592, 2016.

ELGUETA, R. *et al.* Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system. **Immunological Reviews**, v. 229, n. 1, p. 152-172, 2009.

ELNOKEETY, M.M. *et al.* Urinary interleukin-10 in renal transplant recipients: Does it predict a state of tolerance or rejection. **Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation**, v. 28, n. 5, p. 1196-1200, 2017.

ESKDALE, J. & GALLAGHER, G. A polymorphic dinucleotide repeat in the human IL-10 promoter. **Immunogenetics**, v. 42, n. 5, p. 444-445, 1995.

FAN, X. *et al.* Interleukin-10 attenuates renal injury after myocardial infarction in diabetes. **Journal of Investigative Medicine**, v. 70, n. 5, p. 1233-1242, 2022.

FIELD, M. *et al.* The use of NGAL and IP-10 in the prediction of early acute rejection in highly sensitized patients following HLA-incompatible renal transplantation. **Transplant International**, v. 27, n. 4, p. 362-370, 2014.

FILIOPOULOS, V. & VLASSOPOULOS, D. Inflammatory syndrome in chronic kidney disease: pathogenesis and influence on outcomes. **Inflammation & Allergy - Drug Targets**, v. 8, n. 5, p. 369-382, 2009.

FISCHEREDER, M. & SCHROPPEL, B. The role of chemokines in acute renal allograft rejection and chronic allograft injury. **Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)**, v. 14, n. 5, p. 1807-1814, 2009.

FERRARI, S.M. *et al.* CXCL10 in psoriasis. **Advances in Medical Sciences**, v. 60, n. 2, p. 349-354, 2015.

FOLEY, R.N., PARFREY, P.S. & SARNAK, M.J. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 32, suppl, p. S112-S119, 1998.

FONSECA, I. *et al.* Impact of Homocysteinemia on Long-Term Renal Transplant Survival. **Transplantation Proceedings**, v. 37, p. 2784-2788, 2005.

FRIEDMAN, A.N. *et al.* The effect of N-acetylcysteine on plasma total homocysteine levels in hemodialysis: a randomized, controlled study. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 41, p. 442-446, 2003.

FRIEDEWALD, J.J. *et al.* Development and clinical validity of a novel blood-based molecular biomarker for subclinical acute rejection following kidney transplant. **American Journal of Transplantation**, v. 19, n. 1, p. 98-109, 2019.

FRIEDMAN, R.C. *et al.* Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. **Genome Research**, v. 19, n. 1, p. 92-105, 2009.

FU, R. *et al.* Biomarkers for individualized dosage adjustments in immunosuppressive therapy using calcineurin inhibitors after organ transplantation. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 40, p. 151-159, 2019.

FUKAMI, A. *et al.* High white blood cell count and low estimated glomerular filtration rate are independently associated with serum level of monocyte chemoattractant protein-1 in a general population. **Clinical Cardiology**, v. 34, n. 3, p. 189-194, 2011.

FURUICHI, K., KANEKO, S. & WADA, T. Chemokine/chemokine receptor-mediated inflammation regulates pathologic changes from acute kidney injury to chronic kidney disease. **Clinical and Experimental Nephrology**, v. 13, n. 1, p. 9-14, 2009.

GABAY, C. Interleukin-6 and chronic inflammation. **Arthritis Research & Therapy**, v. 8, suppl 2, p. S3, 2006.

GARCIA, M.R. *et al.* Monocytic suppressive cells mediate cardiovascular transplantation tolerance in mice. **Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 7, p. 2486-2496, 2010.

GAO, C. *et al.* The Relationship Between Blood Interleukin-10 and Cardiovascular Mortality and All-Cause Mortality After Kidney Transplantation. **Risk Management and Healthcare Policy**, v. 14, p. 1481-1489, 2021.

GAO, J. *et al.* Role of Chemokine (C-X-C Motif) Ligand 10 (CXCL10) in Renal Diseases. **Mediators of Inflammation**, 2020.

GARCÍA-COVARRUBIAS, L. *et al.* Lack of Association Between Elevated Urinary Levels of Interleukin-10 and Interferon Gamma With the Presence of Inflammation in Kidney Transplant Recipients. **Transplantation Proceedings**, v. 48, n. 2, p. 583-587, 2016.

GHILDIYAL, M. *et al.* Sorting of Drosophila small silencing RNAs partitions microRNA* strands into the RNA interference pathway. **RNA**, v. 16, n. 1, p. 43-56, 2010.

GIBBS, P.J. *et al.* Immunomonitoring of Renal Transplant Recipients in the Early Posttransplant Period by Analysis of Cytokine Gene Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells. **Transplantation Proceedings**, v. 33, n. 7-8, p. 3285, 2001.

GIRDAUSKAS, E. *et al.* MiR-145 expression and rare NOTCH1 variants in bicuspid aortic valve-associated aortopathy. **PLoS One**, v. 13, n. 7, e0200205, 2018.

GNIEWKIEWICZ, M.S. *et al.* Urinary levels of CCL2 and CXCL10 chemokines as potential biomarkers of ongoing pathological processes in kidney allograft: an association with BK virus nephropathy. **Pol Arch Intern Med**, v. 129, n. 9, p. 592-597, 2019.

GO, A.S. *et al.* Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. **N Engl J Med**, v. 351, n. 13, p. 1296-1305, 2004.

GOSLING, J. *et al.* Mcp1 deficiency reduces susceptibility to atherosclerosis in mice that overexpress human apolipoprotein B. **J Clin Invest**, v. 103, p. 773–778, 1999.

GREGG, L.P. *et al.* Association of Monocyte Chemoattractant Protein-1 with Death and Atherosclerotic Events in Chronic Kidney Disease. **Am J Nephrol**, v. 47, n. 6, p. 395-405, 2018.

GRIFFITHS-JONES, S. *et al.* miRBase: tools for microRNA genomics. **Nucleic Acids Research**, v. 36, p. 154-158, 2008.

GROOM, J.R.; LUSTER, A.D. CXCR3 ligands: redundant, collaborative and antagonistic functions. **Immunol Cell Biol**, v. 89, n. 2, p. 207-215, 2011.

GRUESSNER, A.C.; GRUESSNER, R.W.G. Capítulo 36 - Pancreas and Kidney Transplantation for Diabetic Nephropathy. In: P. Morris, S. Knechtle (eds.), **Kidney Transplantation—Principles and Practice (Seventh Edition)**. W.B. Saunders, 2014, p. 584-605.

GUO, H. *et al.* Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. **Nature**, v. 466, n. 7308, p. 835-840, 2010.

GURSU, M. *et al.* Pentraxin 3 and C-reactive protein as inflammatory markers after a kidney transplant. **Experimental and Clinical Transplantation**, v. 12, n. 4, p. 295-299, 2014.

GUZZI, F. *et al.* Urinary Biomarkers for Diagnosis and Prediction of Acute Kidney Allograft Rejection: A Systematic Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 18, 6889, 2020. Published Sep 19.

HA, M.; KIM, V.N. Regulation of microRNA biogenesis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 15, n. 8, p. 509-524, 2014.

HADAD, U. *et al.* NK cells after transplantation: friend or foe. **Immunologic Research**, v. 58, p. 259-267, 2014.

HADDAD, J.J. Recombinant TNF-alpha mediated regulation of the I kappa B-alpha/NF-kappa B signaling pathway: evidence for the enhancement of pro- and anti-inflammatory cytokines in alveolar epithelial cells. **Cytokine**, v. 17, n. 6, p. 301-310, 2002.

HALLORAN, P.F. *et al.* Real Time Central Assessment of Kidney Transplant Indication Biopsies by Microarrays: The INTERCOMEX Study. **American Journal of Transplantation**, v. 17, n. 11, p. 2851-2862, 2017.

HANDSCHIN, J. *et al.* Technical Considerations and Confounders for Urine CXCL10 Chemokine Measurement. **Transplantation Direct**, v. 6, n. 1, e519, 2019.

HANDSCHIN, J. *et al.* Urinary CXCL10 Measurement in Late Renal Allograft Biopsies Predicts Outcome Even in Histologically Quiescent Patients. **Transplantation Proceedings**, v. 53, n. 7, p. 2168-2179, 2021.

HARDINGER, K.L. *et al.* Immunosuppressive Agents. In: P. Ljungman, D. Snyderman, M. Boeckh (eds.), **Transplant Infections**. Springer, Cham, 2016.

HARIHARAN, S. *et al.* Long-Term Survival after Kidney Transplantation. **New England Journal of Medicine**, v. 385, n. 8, p. 729-743, 2021.

HEIDT, S. *et al.* Pretransplant serum CXCL9 and CXCL10 levels fail to predict acute rejection in kidney transplant recipients receiving induction therapy. **Transplantation**, v. 91, n. 8, e59-61, 2011.

HENSBEGEN, P.J. *et al.* The CXCR3 Targeting Chemokine CXCL11 Has Potent Antitumor Activity In Vivo Involving Attraction of CD8+ T Lymphocytes But Not Inhibition of Angiogenesis. **Journal of Immunotherapy**, v. 28, n. 4, p. 343-351, 2005.

HERTZ, M.I. *et al.* Scientific Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: introduction to the 2011 annual reports. **Journal of Heart and Lung Transplantation**, v. 30, n. 10, p. 1071-1077, 2011.

HILL, G.R. *et al.* Differential roles of IL-1 and TNF-alpha on graft-versus-host disease and graft versus leukemia. **Journal of Clinical Investigation**, v. 104, p. 459–467, 1999.

HIROHASHI, T. *et al.* A novel pathway of chronic allograft rejection mediated by NK cells and alloantibody. **American Journal of Transplantation**, v. 12, p. 313–321, 2012.

HIRT-MINKOWSKI, P. *et al.* Detection of clinical and subclinical tubulo-interstitial inflammation by the urinary CXCL10 chemokine in a real-life setting. **American Journal of Transplantation**, v. 12, n. 7, p. 1811-1823, 2012.

HIRT-MINKOWSKI, P. *et al.* Prediction of Long-term Renal Allograft Outcome By Early Urinary CXCL10 Chemokine Levels. **Transplant Direct**, v. 1, n. 8, e31, 2015.

HIRT-MINKOWSKI, P. *et al.* Six-Month Urinary CCL2 and CXCL10 Levels Predict Long-term Renal Allograft Outcome. **Transplantation**, v. 100, n. 9, p. 1988-1996, 2016.

HO, J. *et al.* Mass spectrometry-based proteomic analysis of urine in acute kidney injury following cardiopulmonary bypass: a nested case-control study. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 53, n. 4, p. 584-595, 2009.

HO, J. *et al.* Early urinary CCL2 is associated with the later development of interstitial fibrosis and tubular atrophy in renal allografts. **Transplantation**, v. 90, p. 394–400, 2010.

HO, J. *et al.* Validation of urinary CXCL10 as a marker of borderline, subclinical, and clinical tubulitis. **Transplantation**, v. 92, n. 8, p. 878-882, 2011.

HO, J. *et al.* Increased urinary CCL2: Cr ratio at 6 months is associated with late renal allograft loss. **Transplantation**, v. 95, p. 595–602, 2013.

HO, J. *et al.* Elevated urinary CCL2: Cr at 6 months is associated with renal allograft interstitial fibrosis and inflammation at 24 months. **Transplantation**, v. 98, n. 1, p. 39-46, 2014.

HO, J. *et al.* Urinary CXCL10 Chemokine Is Associated With Alloimmune and Virus Compartment-Specific Renal Allograft Inflammation. **Transplantation**, v. 102, n. 3, p. 521-529, 2018.

HSIEH, G. Listeria induced TH1 development in $\alpha\beta$ TCR transgenic CD4₊ T cells occurs through macrophage production of IL-12. **Science**, v. 260, p. 547–549, 1992.

HU, B. *et al.* miRNA-mRNA regulatory network and factors associated with prediction of prognosis in hepatocellular carcinoma. **Genomics Proteomics Bioinformatics**, 2021.

HU, H. *et al.* Elevation of CXCR3-binding chemokines in urine indicates acute renal-allograft dysfunction. **American Journal of Transplantation**, v. 4, n. 3, p. 432–437, 2004.

HU, R.; O'CONNELL, R. M. MiR-23b is a safeguard against autoimmunity. **Nature Medicine**, v. 18, n. 7, p. 1009-1010, 2012.

HUANG, H. *et al.* Serum levels of CXCR3 ligands predict T cell-mediated acute rejection after kidney transplantation. **Molecular Medicine Reports**, v. 9, n. 1, p. 45-50, 2014.

HUANG, V. *et al.* Upregulation of Cyclin B1 by miRNA and its implications in cancer. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. 4, p. 1695-1707, 2012.

HUANG, V.; LI, L.C. miRNA goes nuclear. **RNA Biology**, v. 9, n. 3, p. 269-273, 2012.

HUNTER, C. A.; JONES, S. A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. **Nature Immunology**, v. 16, p. 448–457, 2015.

HUTCHINSON, J. A. Macrophages in Transplantation. **Transplantation**, v. 99, n. 5, p. 898-898, 2015.

IKEZUMI, Y. *et al.* Alternatively activated macrophages in the pathogenesis of chronic kidney allograft injury. **Pediatric Nephrology**, v. 30, n. 6, p. 1007–1017, 2015.

IQBAL, M. M. *et al.* Quality of Life Is Improved in Renal Transplant Recipients Versus That Shown in Patients With Chronic Kidney Disease With or Without Dialysis. **Experimental and Clinical Transplantation**, v. 18, Suppl 1, p. 64-67, 2020.

ITO, A. *et al.* Plasma cytokine levels before and 1 year after successful living-donor renal transplantation. **Renal Replacement Therapy**, v. 6, n. 48, 2020.

IX, J.H. *et al.* Urine Fibrosis Markers and Risk of Allograft Failure in Kidney Transplant Recipients: A Case-Cohort Ancillary Study of the FAVORIT Trial. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 69, n. 3, p. 410-419, 2017.

JACKSON, J.A. *et al.* Urinary chemokines CXCL9 and CXCL10 are noninvasive markers of renal allograft rejection and BK viral infection. **American Journal of Transplantation**, v. 11, n. 10, p. 2228-2234, 2011.

JAN, M. *et al.* Molecular processes mediating hyperhomocysteinemia-induced metabolic reprogramming, redox regulation and growth inhibition in endothelial cells. **Redox Biology**, v. 45, p. 102018, 2021.

JANG, H.R. *et al.* Early postoperative urinary MCP-1 as a potential biomarker predicting acute rejection in living donor kidney transplantation: a prospective cohort study. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 18832, 2021.

JELENCICS, K.; OBERBAUER, R. microRNA and Kidney Transplantation. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 888, p. 271-290, 2015.

JEONG, H.J. Diagnosis of renal transplant rejection: Banff classification and beyond. **Kidney Research and Clinical Practice**, v. 39, n. 1, p. 17-31, 2020.

JIANG, D. *et al.* Inhibition of pulmonary fibrosis in mice by CXCL10 requires glycosaminoglycan binding and syndecan-4. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 6, p. 2049-2057, 2010.

JIANG, S.; HERRERA, O.; LECHLER, R.I. New spectrum of allorecognition pathways: implications for graft rejection and transplantation tolerance. **Current Opinion in Immunology**, v. 16, n. 5, p. 550-557, 2004.

JIANG, Y. *et al.* Monocyte chemoattractant protein-1 regulates adhesion molecule expression and cytokine production in human monocytes. **Journal of Immunology**, v. 148, n. 8, p. 2423-2428, 1992.

JIN, P. *et al.* Essential role of microRNA-650 in the regulation of B-cell CLL/lymphoma 11B gene expression following transplantation: a novel mechanism behind the acute rejection of renal allografts. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 40, p. 1840-1850, 2017.

JOHNSON, A.M. Aminoácidos e proteínas. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R.; BRUNS, D.E. **Fundamentos de Química Clínica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 295-325.

JONES, S.A.; JENKINS, B.J. Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer. **Nature Reviews Immunology**, v. 18, n. 12, p. 773-789, 2018.

JORDAN, S.C. *et al.* Interleukin-6, A Cytokine Critical to Mediation of Inflammation, Autoimmunity and Allograft Rejection: Therapeutic Implications of IL-6 Receptor Blockade. **Transplantation**, v. 101, n. 1, p. 32-44, 2017.

JORDAN, S.C. *et al.* Evaluation of Clazakizumab (Anti-Interleukin-6) in Patients With Treatment-Resistant Chronic Active Antibody-Mediated Rejection of Kidney Allografts. **Kidney International Reports**, v. 7, n. 4, p. 720-731, 2022.

JOSEPHSON, M.A. Monitoring and managing graft health in the kidney transplant recipient. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 6, n. 7, p. 1774-1780, 2011.

JUNG, Y.J.; LEE, H.R.; KWON, O.J. Comparison of serum cystatin C and creatinine as a marker for early detection of decreasing glomerular filtration rate in renal transplants. **Journal of Korean Surgical Society**, v. 83, n. 2, p. 69-74, 2012.

KAHLE, E.M. *et al.* Plasma cytokine levels and risk of HIV type 1 (HIV-1) transmission and acquisition: a nested case-control study among HIV-1-serodiscordant couples. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 211, n. 9, p. 1451-1460, 2015.

KAHR, W.H. Complement halts angiogenesis gone wild. **Blood**, v. 116, n. 22, p. 4393-4394, 2010.

KAWASAKI, T.; KAWAI, T. Toll-like receptor signaling pathways. **Frontiers in Immunology**, v. 5, p. 461, 2014.

KAZI, A.M.; HASHMI, M.F. Glomerulonephritis. 2022 Jul 10. In: **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 32809479.

KELLER, C. *et al.* Differential regulation of IL-6 and TNF-alpha via calcineurin in human skeletal muscle cells. **Cytokine**, v. 36, p. 141-147, 2006. doi: 10.1016/j.cyto.2006.10.014.

KHALIL, M.A.M. *et al.* Dual Kidney Transplantation: A Review of Past and Prospect for Future. **International Scholarly Research Notices**, v. 2017, p. 2693681, 2017.

KILDEY, K. *et al.* Specialized roles of human natural killer cell subsets in kidney transplant rejection. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 1877, 2019.

KIM, D.H. *et al.* MicroRNA-directed transcriptional gene silencing in mammalian cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 16230-16235, 2008.

KIM, E.Y.; TEH, H.S. Critical role of TNF receptor type-2 (p75) as a costimulator for IL-2 induction and T cell survival: a functional link to CD28. **Journal of Immunology**, v. 173, p. 4500–4509, 2004.

KISHIMOTO, T. *et al.* The molecular biology of interleukin 6 and its receptor. **Ciba Foundation Symposia**, v. 167, p. 5-16, 1992.

KISHIMOTO, T. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. **Arthritis Research & Therapy**, v. 8, Suppl 2, p. S2, 2006.

KITAGAWA, K. *et al.* Blockade of CCR2 ameliorates progressive fibrosis in kidney. **American Journal of Pathology**, v. 165, n. 1, p. 237-246, 2004.

KLOC, M.; GHOBRIAL, R.M. Chronic allograft rejection: A significant hurdle to transplant success. **Burns & Trauma**, v. 2, n. 1, p. 3-10, 2014.

KOEDA, Y. *et al.* Serum c-reactive protein levels and death and cardiovascular events in mild to moderate chronic kidney disease. **International Heart Journal**, v. 52, p. 180-184, 2011.

KORN, T. *et al.* IL-17 and Th17 Cells. **Annual Review of Immunology**, v. 27, n. 1, p. 485-517, 2009.

KUTE, V.B. *et al.* Management strategies and outcomes in renal transplant recipients recovering from COVID-19: A retrospective, multicentre, cohort study. **EClinicalMedicine**, v. 46, p. 101359, 2022.

LACHMANN, N. *et al.* Treatment of Antibody-Mediated Renal Allograft Rejection: Improving Step by Step. **Journal of Immunology Research**, v. 2017, p. 6872046, 2017.

LAGUNA-GOYA, R. *et al.* Imbalance favoring follicular helper T cells over IL10(+) regulatory B cells is detrimental for the kidney allograft. **Kidney International**, v. 98, n. 3, p. 732-743, 2020.

LAMB, K.E. *et al.* Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. **American Journal of Transplantation**, v. 11, n. 3, p. 450-462, 2011.

LAPRISE, C. *et al.* Sex and Gender Considerations in Transplant Research: A Scoping Review. **Transplantation**, v. 103, n. 9, p. e239-e247, 2019.

LAUZURICA, R. *et al.* Subclinical inflammation in renal transplant recipients: impact of cyclosporine microemulsion versus tacrolimus. **Transplantation Proceedings**, v. 39, p. 2170-2172, 2007.

LAW, J.P. *et al.* Elevation of serum creatinine in a renal transplant patient following oral creatine supplementation. **Clinical Kidney Journal**, v. 12, n. 4, p. 600-601, 2018.

LAZZERI, E. *et al.* High CXCL10 expression in rejected kidneys and predictive role of pretransplant serum CXCL10 for acute rejection and chronic allograft nephropathy. **Transplantation**, v. 79, n. 9, p. 1215-1220, 2005-05-15.

LEDEGANCK, K.J. *et al.* MicroRNAs in AKI and Kidney Transplantation. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 14, n. 3, p. 454-468, 2019.

LEE, H. *et al.* Influence of recipient and donor IL-1 α , IL-4, and TNF α genotypes on the incidence of acute renal allograft rejection. **Journal of Clinical Pathology**, v. 57, n. 1, p. 101-103, 2004.

LEE, S. *et al.* Distinct macrophage phenotypes contribute to kidney injury and repair. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 22, n. 2, p. 317-326, 2011.

LEI, Y. *et al.* Interleukin-1 β Inhibition for Chronic Kidney Disease in Obese Mice With Type 2 Diabetes. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 1223, 2019.

LENTINE, K.L. *et al.* Survey of US Living Kidney Donation and Transplantation Practices in the COVID-19 Era. **Kidney International Reports**, v. 5, n. 11, p. 1894-1905, 2020.

LEY, K. *et al.* ATVB Distinguished Scientist Award: How Costimulatory and Coinhibitory Pathways Shape Atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 37, n. 5, p. 764-777, 2017.

LI, Y.J. *et al.* [The protective effect of interleukin-1 receptor antagonist on postischemic reperfused myocardium and its possible mechanism]. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, v. 84, n. 7, p. 548-553, 2004. (*Article in Chinese*)

LI, H. *et al.* MicroRNA-23b-3p Deletion Induces an IgA Nephropathy-like Disease Associated with Dysregulated Mucosal IgA Synthesis. **J Am Soc Nephrol**, v. 32, n. 10, p. 2561-2578, 2021. (a)

LI, H. *et al.* STAT3/miR-15a-5p/CX3CL1 Loop Regulates Proliferation and Migration of Vascular Endothelial Cells in Atherosclerosis. **International journal of medical sciences**, v. 18, n. 4, p. 964–974, 2021. (b)

LIBBY, P.; POBER, J.S. Chronic rejection. **Immunity**, v. 14, n. 4, p. 387-397, 2001.

LIN, Y. *et al.* Multi-omics network characterization reveals novel microRNA biomarkers and mechanisms for diagnosis and subtyping of kidney transplant rejection. **Journal of Translational Medicine**, v. 19, n. 1, p. 346, 2021.

LINKERMANN, A. *et al.* Regulated cell death in AKI. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 25, n. 12, p. 2689-2701, 2014. (a)

LINKERMANN, A. *et al.* Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 47, p. 16836-16841, 2014. (b)

LIU, M. *et al.* CXCL10/IP-10 in infectious diseases pathogenesis and potential therapeutic implications. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 22, n. 3, p. 121-130, 2011.

LIU, M.; GUO, S.; STILES, J.K. The emerging role of CXCL10 in cancer (review). **Oncology Letters**, v. 2, n. 4, p. 583-589, 2011.

LIU, X. *et al.* The biology behind interleukin-6 targeted interventions. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 28, n. 2, p. 152-160, 2016.

LO, D.J. *et al.* Chemokines and their receptors in human renal allotransplantation. **Transplantation**, v. 91, n. 1, p. 70-77, 2011.

LOETSCHER, M. *et al.* Chemokine receptor specific for IP10 and mig: structure, function, and expression in activated T-lymphocytes. **Journal of Experimental Medicine**, v. 184, n. 3, p. 963-969, 1996.

LOFARO, D. *et al.* Increasing levels of hemoglobin improve renal transplantation outcomes. **Transplantation Proceedings**, v. 43, n. 4, p. 1036-1038, 2011.

LONG, Y; NIE, J. Homocysteine in Renal Injury. **Kidney Disease (Basel)**, v. 2, n. 2, p. 80-87, 2016.

LOW, Q.E. *et al.* Wound healing in MIP-1alpha(-/-) and MCP-1(-/-) mice. **American Journal of Pathology**, v. 159, n. 2, p. 457-463, 2001.

LUO, Y. *et al.* Elevated Circulating IL-10 Producing Breg, but Not Regulatory B Cell Levels, Restrain Antibody-Mediated Rejection After Kidney Transplantation. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 627496, 2021.

LUSTER, A.D.; RAVETCH, J.V. Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10). **Journal of Experimental Medicine**, v. 166, n. 4, p. 1084-1097, 1987.

MAELARSTIG, A. *et al.* Raised interleukin-10 is an indicator of poor outcome and enhanced systemic inflammation in patients with acute coronary syndrome. **Heart**, v. 94, n. 6, p. 724-729, 2008.

MAKRIDES, S.C. Therapeutic inhibition of the complement system. **Pharmacological Reviews**, v. 50, n. 1, p. 59-87, 1998.

MALUF, D.G. *et al.* The urine microRNA profile may help monitor post-transplant renal graft function. **Kidney International**, v. 85, n. 2, p. 439-449, 2014.

MANSOUR, S.G. *et al.* Associations between Deceased-Donor Urine MCP-1 and Kidney Transplant Outcomes. **Kidney International Reports**, v. 2, n. 4, p. 749-758, 2017.

MAO, Y. *et al.* CXCL10 and CXCL13 Expression were highly up-regulated in peripheral blood mononuclear cells in acute rejection and poor response to anti-rejection therapy. **Journal of Clinical Immunology**, v. 31, n. 3, p. 414-418, 2011.

MATHIS, D.; SHOELSON, S.E. Immunometabolism: an emerging frontier. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 2, p. 81, 2011.

MATL, I. *et al.* Potential predictive markers in protocol biopsies for premature renal graft loss. **Kidney & Blood Pressure Research**, v. 33, n. 1, p. 7-14, 2010.

MATZ, M. *et al.* Early post-transplant urinary IP-10 expression after kidney transplantation is predictive of short- and long-term graft function. **Kidney International**, v. 69, n. 9, p. 1683-1690, 2006.

MATZ, M. *et al.* Free microRNA levels in plasma distinguish T-cell mediated rejection from stable graft function after kidney transplantation. **Transplant Immunology**, v. 39, p. 52-59, 2016. (a)

MATZ, M. *et al.* Identification of T Cell-Mediated Vascular Rejection After Kidney Transplantation by the Combined Measurement of 5 Specific MicroRNAs in Blood. **Transplantation**, v. 100, n. 4, p. 898-907, 2016. (b)

MATZ, M. *et al.* MicroRNA regulation in blood cells of renal transplanted patients with interstitial fibrosis/tubular atrophy and antibody-mediated rejection. **PloS One**, v. 13, n. 8, e0201925, 2018.

MAZANOWSKA, O. *et al.* Increased plasma tissue inhibitors of metalloproteinase concentrations as negative predictors associated with deterioration of kidney allograft function upon long-term observation. **Transplantation Proceedings**, v. 45, n. 4, p. 1458-1461, 2013.

MCCANN, F.E. *et al.* Selective tumor necrosis factor receptor I blockade is antiinflammatory and reveals immunoregulatory role of tumor necrosis factor receptor II in collagen-induced arthritis. **Arthritis & Rheumatology**, v. 66, n. 10, p. 2728-2738, 2014.

MENG, X.M. *et al.* TGF- β : the master regulator of fibrosis. **Nature Reviews Nephrology**, v. 12, n. 6, p. 325-338, 2016.

MENZIES, R.I. *et al.* Hyperglycemia-induced Renal P2X7 Receptor Activation Enhances Diabetes-related Injury. **EBioMedicine**, v. 19, p. 73-83, 2017.

MERHI, B. *et al.* Role for urinary biomarkers in diagnosis of acute rejection in the transplanted kidney. **World Journal of Transplantation**, v. 5, n. 4, p. 251-260, 2015.

MILLÁN, O. *et al.* Advantages of plasmatic CXCL-10 as a prognostic and diagnostic biomarker for the risk of rejection and subclinical rejection in kidney transplantation. **Clinical Immunology**, v. 229, p. 108792, 2021.

MITOMA, H. *et al.* Molecular mechanisms of action of anti-TNF- α agents—comparison among therapeutic TNF- α antagonists. **Cytokine**, v. 101, p. 56-63, 2018.

MITTAL, S.K.; ROCHE, PA. Suppression of antigen presentation by IL-10. **Current Opinion in Immunology**, v. 34, p. 22-27, 2015.

MOCKLER, C. *et al.* The prognostic value of urinary chemokines at 6 months after pediatric kidney transplantation. **Pediatric Transplantation**, v. 22, n. 5, p. e13205, 2018.

MOMPER, J.D. *et al.* Sex differences in transplantation. **Transplantation Reviews (Orlando)**, v. 31, n. 3, p. 145-150, 2017.

MORITA, Y. *et al.* Increased production of interleukin-10 and inflammatory cytokines in blood monocytes of hemodialysis patients. **Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology**, v. 98, n. 1, p. 19-33, 1997.

MOTA, A.P. *et al.* Cytokines signatures in short and long-term stable renal transplanted patients. **Cytokine**, v. 62, n. 2, p. 302-309, 2013.

MOTA, A.P. *et al.* Hemostatic Parameters according to Renal Function and Time after Transplantation in Brazilian Renal Transplanted Patients. **Disease Markers**, v. 2015, p. 472750, 2015.

MOTA, A.P. *et al.* Regulatory and pro-inflammatory cytokines in Brazilian living-related renal transplant recipients according to creatinine plasma levels. **Nephrology (Carlton)**, v. 23, n. 9, p. 867-875, 2018.

MUKAKA, M.M. Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. **Malawi Medical Journal**, v. 24, n. 3, p. 69-71, 2012.

MUKHADI, S. *et al.* The Role of MicroRNAs in Kidney Disease. **Noncoding RNA**, v. 1, n. 3, p. 192-221, 2015.

MÜLLER, T. *et al.* Necroptosis and ferroptosis are alternative cell death pathways that operate in acute kidney failure. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 74, n. 19, p. 3631-3645, 2017.

MURAKAMI, M. *et al.* Pleiotropy and Specificity: Insights from the Interleukin 6 Family of Cytokines. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 812-831, 2019.

MUREA, M. *et al.* Relationships between serum MCP-1 and subclinical kidney disease: African American-Diabetes Heart Study. **BMC Nephrology**, v. 13, p. 148, 2012.

MURRAY, P.J. *et al.* Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. **Immunity**, v. 41, n. 1, p. 14-20, 2014.

NERBASS, F.B. *et al.* Censo Brasileiro de Diálise 2020. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 00, n. 00, p. 00, 2022.

NORIS, M. *et al.* Overview of complement activation and regulation. **Seminars in Nephrology**, v. 33, n. 6, p. 479-492, 2013.

NOSBAUM, A. *et al.* Cutting Edge: Regulatory T Cells Facilitate Cutaneous Wound Healing. **Journal of Immunology**, v. 196, n. 5, p. 2010-2014, 2016.

NUNES, P.R. *et al.* Association between Adverse Maternal Clinical Outcomes and Imbalance of Cytokines and Angiogenic Factors in Preterm Preeclampsia. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 43, n. 9, p. 669-675, 2021.

OBERBARNSCHEIDT, M.H. *et al.* Non-self-recognition by monocytes initiates allograft rejection. **Journal of Clinical Investigation**, v. 124, n. 8, p. 3579-3589, 2014.

O'CALLAGHAN, J.M., KNIGHT, S.R. Noninvasive biomarkers in monitoring kidney allograft health. **Current Opinion in Organ Transplantation**, v. 24, p. 411-415, 2019.

OCHANDO, J. *et al.* The innate immune response to allotransplants: mechanisms and therapeutic potentials. **Cellular and Molecular Immunology**, v. 16, p. 350-356, 2019.

OGHUMU, S. *et al.* Acute pyelonephritis in renal allografts: a new role for microRNAs? **Transplantation**, v. 97, p. 559-568, 2014.

OKAMURA, K.; LIU, N.; LAI, E.C. Distinct mechanisms for microRNA strand selection by Drosophila Argonautes. **Molecular Cell**, v. 36, n. 3, p. 431-444, 2009.

OMRANI, H. *et al.* Evaluation of Serum Interleukin-6 Levels in the Renal Transplant Recipients: A Systematic Review and Meta-Analysis of Case-Control Studies. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 7, p. 174-178, 2019.

O'NEILL, L.A., KISHTON, R.J., RATHMELL, J.A. guide to immunometabolism for immunologists. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, p. 553-565, 2016.

ORDIKHANI, F. *et al.* Macrophages in Organ Transplantation. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 582939, 2020.

ORFANU, A.E. *et al.* The Importance of Haemogram Parameters in the Diagnosis and Prognosis of Septic Patients. **Journal of Critical Care Medicine (Targu Mures)**, v. 3, p. 105-110, 2017.

OTT, L.W. *et al.* Tumor Necrosis Factor-alpha- and interleukin-1-induced cellular responses: coupling proteomic and genomic information. **Journal of Proteome Research**, v. 6, p. 2176-2185, 2007.

PANZER, U. *et al.* CXCR3 and CCR5 positive T-cell recruitment in acute human renal allograft rejection. **Transplantation**, v. 78, p. 1341-1350, 2004.

PAPADAKIS, K.A.; TARGAN, S.R. Tumor necrosis factor: biology and therapeutic inhibitors. **Gastroenterology**, v. 119, p. 1148-1157, 2000.

PAPAYIANNI, A. *et al.* Circulating levels of icam-1, vcam-1, and mcp-1 are increased in haemodialysis patients: association with inflammation, dyslipidaemia, and vascular events. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 17, p. 435-441, 2002.

PATHANIA, A.S. *et al.* miR-15a and miR-15b modulate natural killer and CD8+T-cell activation and anti-tumor immune response by targeting PD-L1 in neuroblastoma. **Molecular Therapy - Oncolytics**, v. 25, p. 308-329, 2022.

PEREIRA, A.B. *et al.* Urinary chemokines and anti-inflammatory molecules in renal transplanted patients as potential biomarkers of graft function: a prospective study. **International Urology and Nephrology**, v. 44, p. 1539-1548, 2012.

PEREIRA, Tiago Campos. **Introdução ao mundo dos microRNAs**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2015. 342 p.

PERNA, A.F. *et al.* The gasotransmitter hydrogen sulfide in hemodialysis patients. **Journal of Nephrology**, v. 23, Suppl 16, p. S92-S96, 2010.

PETERS, L.J.F. *et al.* MicroRNAs in Chronic Kidney Disease: Four Candidates for Clinical Application. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, p. 6547, 2020.

PLACE, R.F. *et al.* MicroRNA-373 induces expression of genes with complementary promoter sequences. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 1608-1612, 2008.

PODDAR, R. *et al.* Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. **Circulation**, v. 103, p. 2717-2723, 2001.

POGGIO, E.D. *et al.* Long-term kidney transplant graft survival-Making progress when most needed. **American Journal of Transplantation**, v. 21, p. 2824-2832, 2021.

PONTICELLI, C. The mechanisms of acute transplant rejection revisited. **Journal of Nephrology**, v. 25, p. 150-158, 2012.

PONTRELLI, P. *et al.* The Role of Natural Killer Cells in the Immune Response in Kidney Transplantation. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1454, 2020.

POPPELAARS, F. *et al.* Donor genetic variants in interleukin-6 and interleukin-6 receptor associate with biopsy-proven rejection following kidney transplantation. **Scientific Reports**, v. 11, p. 16483, 2021.

POPPELAARS, F. *et al.* Tumor Necrosis Factor- α Gene Polymorphism is Associated with Short- and Long-Term Kidney Allograft Outcomes. **Journal of Inflammation Research**, v. 15, p. 2243-2254, 2022.

QUINN, C.S. *et al.* Management of Tumor Necrosis Factor α Inhibitor Therapy After Renal Transplantation: A Comparative Analysis and Associated Outcomes. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 53, p. 268-275, 2019.

RABB, H. *et al.* Inflammation in AKI: Current Understanding, Key Questions, and Knowledge Gaps. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 27, p. 371-379, 2016.

RAMIREZ-SANDOVAL, J.C. *et al.* Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in kidney transplantation: A review. **Transplantation Reviews (Orlando)**, v. 29, p. 139-144, 2015.

RAN, Z. *et al.* Regulatory B Cells and Its Role in Central Nervous System Inflammatory Demyelinating Diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1884, 2020.

RAO, A. *et al.* Transcription factors of the NFAT family: regulation and function. **Annual Review of Immunology**, v. 15, p. 707-747, 1997.

RAO, N.N. *et al.* Cardiovascular Disease After Kidney Transplant. **Seminars in Nephrology**, v. 38, p. 291-297, 2018.

RAUERT, H. *et al.* Membrane tumor necrosis factor (TNF) induces p100 processing via TNF receptor-2 (TNFR2). **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, p. 7394-7404, 2010.

RAZA, A. *et al.* Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1/CCL2) Levels and Its Association with Renal Allograft Rejection. **Immunological Investigations**, v. 46, p. 251-262, 2017. (a)

RAZA, A. *et al.* The association of urinary interferon-gamma inducible protein-10 (IP10/CXCL10) levels with kidney allograft rejection. **Inflammation Research**, v. 66, p. 425-432, 2017. (b)

RECH, T.H. *et al.* Brain death-induced cytokine release is not associated with primary graft dysfunction: a cohort study. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 31, p. 86-92, 2019.

RECIO-MAYORAL, A. *et al.* Endothelial dysfunction, inflammation and atherosclerosis in chronic kidney disease – a cross-sectional study of predialysis, dialysis and kidney transplantation patients. **Atherosclerosis**, v. 216, p. 446–451, 2011.

REDFIELD, R.R. *et al.* Nature, timing, and severity of complications from ultrasound-guided percutaneous renal transplant biopsy. **Transplant International**, v. 29, p. 167-172, 2016.

RIBEIRO JÚNIOR, M.A.F. *et al.* Current state of trauma and violence in São Paulo - Brazil during the COVID-19 pandemic. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 48, e20202875, 2021.

RICARDO, S.D. *et al.* Macrophage diversity in renal injury and repair. **Journal of Clinical Investigation**, v. 118, p. 3522–3530, 2008.

ROBB, G.B. *et al.* Specific and potent RNAi in the nucleus of human cells. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 12, n. 2, p. 133-137, 2005.

ROGULSKA, K. *et al.* The Most Promising Biomarkers of Allogeneic Kidney Transplant Rejection. **Journal of Immunology Research**, v. 2022, 6572338, 2022.

ROMAGNANI, P.; CRESCIOLI, C. CXCL10: a candidate biomarker in transplantation. **Clinical Chimica Acta**, v. 413, p. 1364-1373, 2012.

ROTONDI, M. *et al.* High pretransplant serum levels of CXCL10/IP-10 are related to increased risk of renal allograft failure. **American Journal of Transplantation**, v. 4, p. 1466-1474, 2004.

ROUFOSSE, C. *et al.* A 2018 Reference Guide to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology. **Transplantation**, v. 102, p. 1795-1814, 2018. *Erratum in: Transplantation*, v. 102, n. 12, p. e497, 2018.

RUAN, Y. *et al.* Carbon monoxide potently prevents ischemia-induced high-mobility group box 1 translocation and release and protects against lethal renal ischemia-reperfusion injury. **Kidney International**, v. 86, p. 525-537, 2014.

RYAN, D.K. *et al.* Inhibition of interleukin 6 signalling and renal function: A Mendelian randomization study. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 87, p. 3000-3013, 2021.

SADEGHI, M. *et al.* High urine sIL-6R as a predictor of late graft failure in renal transplant recipients. **Transplantation**, v. 76, p. 1190-1194, 2003.

SALEHI, S. *et al.* Transitional immature regulatory B cells and regulatory cytokines can discriminate chronic antibody-mediated rejection from stable graft function. **International Immunopharmacology**, v. 86, 106750, 2020.

SALVALAGGIO, P.R. *et al.* An International survey on living kidney donation and transplant practices during the COVID-19 pandemic. **Transplant Infectious Disease**, v. 23, e13526, 2021.

SANDERS, I. *et al.* Evaluation of reference genes for the analysis of serum miRNA in patients with prostate cancer, bladder cancer and renal cell carcinoma. **International Journal of Urology**, v. 19, n. 11, p. 1017-1025, 2012.

SARAN, R. *et al.* US Renal Data System 2019 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 75, n. 1 Suppl 1, p. A6-A7, 2020.

SARHAN, M. *et al.* Immunological consequences of kidney cell death. **Cell Death & Disease**, v. 9, n. 2, 114, 2018.

SCHAAPHERDER, A.F. *et al.* Donor characteristics and their impact on kidney transplantation outcomes: Results from two nationwide instrumental variable analyses based on outcomes of donor kidney pairs accepted for transplantation. **EClinicalMedicine**, v. 50, 101516, 2022.

SCHETT, G. *et al.* How cytokine networks fuel inflammation: Toward a cytokine-based disease taxonomy. **Nature Medicine**, v. 19, n. 7, p. 822-824, 2013.

SERÓN, D. *et al.* Histology and proteinuria after renal transplantation. **Transplantation Reviews (Orlando)**, v. 26, n. 1, p. 20-26, 2012.

SHANG, J. *et al.* miR-15a-5p suppresses inflammation and fibrosis of peritoneal mesothelial cells induced by peritoneal dialysis via targeting VEGFA. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 6, p. 9746-9755, 2019.

SHMARINA, G.V. *et al.* Tumor necrosis factor-alpha/interleukin-10 balance in normal and cystic fibrosis children. **Mediators of Inflammation**, v. 10, n. 4, p. 191-197, 2001.

SIERRA-FILARDI, E. *et al.* CCL2 shapes macrophage polarization by GM-CSF and M-CSF: identification of CCL2/CCR2-dependent gene expression profile. **Journal of Immunology**, v. 192, n. 8, p. 3858-3867, 2014.

SILVA, R.E. *et al.* Cytokines and chemokines systemic levels are related to dialysis adequacy and creatinine clearance in patients with end-stage renal disease undergoing hemodialysis. **International Immunopharmacology**, v. 100, p. 108154, 2021.

SIMS, J.E.; SMITH, D.E. The IL-1 family: regulators of immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 10, n. 2, p. 89-102, 2010.

ŠKOVIEROVÁ, H. *et al.* The Molecular and Cellular Effect of Homocysteine Metabolism Imbalance on Human Health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 10, 1733, 2016.

SMITH, K.A.; MAIZELS, R.M. IL-6 controls susceptibility to helminth infection by impeding Th2 responsiveness and altering the Treg phenotype in vivo. **European Journal of Immunology**, v. 44, p. 150–161, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. Disponível em <https://sbn.org.br/medicos/utilidades/calculadoras-nefrologicas/ckdepi/>. Acesso em 20 de setembro de 2023, 2023.

STEED, M.M.; TYAGI, S.C. Mechanisms of cardiovascular remodeling in hyperhomocysteinemia. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 7, p. 1927-1943, 2011.

STEGALL, M.D. *et al.* Improving long-term renal allograft survival via a road less traveled by. **American Journal of Transplantation**, v. 11, n. 7, p. 1382-1387, 2011.

STEINMETZ, O.M.; STAHL, R.A.; PANZER, U. Chemokines and B cells in renal inflammation and allograft rejection. **Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)**, v. 1, n. 1, p. 13-22, 2009.

STENVELKIN, P.; KETTELER, M.; JOHNSON, R.J. IL-10, IL-6, and TNF-alpha: central factors in the altered cytokine network of uremia—the good, the bad, and the ugly. **Kidney International**, v. 67, n. 4, p. 1216–1233, 2005.

STEVENS, L.A.; LEVEY, A.S. Measurement of kidney function. **Medical Clinics of North America**, v. 89, n. 3, p. 457-473, 2005.

STINGHEN, A.E. *et al.* Increased plasma and endothelial cell expression of chemokines and adhesion molecules in chronic kidney disease. **Nephron Clinical Practice**, v. 111, p. c117–c126, 2009.

STROO, I. *et al.* Deficiency for the chemokine monocyte chemoattractant protein-1 aggravates tubular damage after renal ischemia/reperfusion injury. **PLoS One**, v. 10, n. 4, e0123203, 2015.

SUBAUSTE, C.S. *et al.* Role of CD80 (B7.1) and CD86 (B7.2) in the immune response to an intracellular pathogen. **Journal of Immunology**, v. 160, n. 4, p. 1831-1840, 1998.

SWANSON, K.J. *et al.* Role of novel biomarkers in kidney transplantation. **World Journal of Transplantation**, v. 10, n. 9, p. 230-255, 2020.

SZABO, S.J.; SULLIVAN, B.M.; PENG, S.L.; GLIMCHER, L.H. Molecular mechanisms regulating Th1 immune responses. **Annual Review of Immunology**, v. 21, p. 713–758, 2003.

TAGA, K.; TOSATO, G. IL-10 inhibits human T cell proliferation and IL-2 production. **Journal of Immunology**, v. 148, p. 1143–1148, 1992.

TAIT, S.W.; ICHIM, G.; GREEN, D.R. Die another way--non-apoptotic mechanisms of cell death. **Journal of Cell Science**, v. 127, Pt 10, p. 2135-2144, 2014.

TAM, F.W.K.; ONG, A.C.M. Renal monocyte chemoattractant protein-1: an emerging universal biomarker and therapeutic target for kidney diseases? **Nephrology, Dialysis, Transplantation**, v. 35, n. 2, p. 198-203, 2020.

TAN, G.S. *et al.* Expanded RNA-binding activities of mammalian Argonaute 2. **Nucleic Acids Research**, v. 37, n. 22, p. 7533-7545, 2009.

TANAKA, T.; KISHIMOTO, T. The biology and medical implications of interleukin-6. **Cancer Immunology Research**, v. 2, n. 4, p. 288-294, 2014.

TANAKA, T.; NARAZAKI, M.; KISHIMOTO, T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 6, n. 10, a016295, 2014.

TANG, P.M. *et al.* Transforming growth factor-beta signalling in renal fibrosis: from Smads to non-coding RNAs. **Journal of Physiology**, v. 596, p. 3493–3503, 2018.

TATAPUDI, R.R. *et al.* Noninvasive detection of renal allograft inflammation by measurements of mRNA for IP-10 and CXCR3 in urine. **Kidney International**, v. 65, n. 6, p. 2390-2397, 2004.

TAUB, D.D. *et al.* Recombinant human interferon-inducible protein 10 is a chemoattractant for human monocytes and T lymphocytes and promotes T cell adhesion to endothelial cells. **Journal of Experimental Medicine**, v. 177, p. 1809–1814, 1993.

THAUNAT, O. *et al.* Lymphoid neogenesis in chronic rejection: evidence for a local humoral alloimmune response. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 41, p. 14723-14728, 2005.

TOKI, D. *et al.* The role of macrophages in the development of human renal allograft fibrosis in the first year after transplantation. **American Journal of Transplantation**, v. 14, n. 9, p. 2126-2136, 2014. (a)

TOKI, D. *et al.* The role of macrophages in the development of human renal allograft fibrosis in the first year after transplantation. **American Journal of Transplantation**, v. 14, n. 9, p. 2126-2136, 2014. (b)

TOSATO, G.; JONES, K.D. Interleukin-1 induces interleukin-6 production in peripheral blood monocytes. **Blood**, v. 75, n. 6, p. 1305-1310, 1990.

TSAI, J.C. *et al.* Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 14, p. 6369-6373, 1994.

TSAI, Y.C. *et al.* High Glucose Induces Mesangial Cell Apoptosis through miR-15b-5p and Promotes Diabetic Nephropathy by Extracellular Vesicle Delivery. **Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 28, n. 3, p. 963-974, 2020.

TSE, G.H. *et al.* Intrarenal B Cell Cytokines Promote Transplant Fibrosis and Tubular Atrophy. **American Journal of Transplantation**, v. 15, n. 12, p. 3067-3080, 2015.

TURNER, J.E. *et al.* Natural Killer Cells in Kidney Health and Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 587, 2019.

VAIDYA, V.S. *et al.* Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans. **Clinical and Translational Science**, v. 1, n. 3, p. 200-208, 2008.

VALENZUELA, N.M.; REED, E.F. Antibody-mediated rejection across solid organ transplants: manifestations, mechanisms, and therapies. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 7, p. 2492-2504, 2017.

VAN GULDENER, C.; STEHOUWER, C.D. Homocysteine and methionine metabolism in renal failure. **Seminars in Vascular Medicine**, v. 5, p. 201-208, 2005.

VENNER, J.M. *et al.* Molecular Landscape of T Cell-Mediated Rejection in Human Kidney Transplants: Prominence of CTLA4 and PD Ligands. **American Journal of Transplantation**, v. 14, n. 11, p. 2565–2576, 2014.

VIDIGAL, P.G. Investigação laboratorial do paciente com disfunção renal. In: ERICHSEN, E. *et al.* Medicina Laboratorial para o Clínico. Belo Horizonte: Coopmed, 2009. p. 439-468.

VIEDT, C. *et al.* Monocyte chemoattractant protein-1 induces proliferation and interleukin-6 production in human smooth muscle cells by differential activation of nuclear factor-kappaB and activator protein-1. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 22, n. 6, p. 914-920, 2002.

VIG, E. *et al.* Modulation of tumor necrosis factor and interleukin-1-dependent NF-kappaB activity by mPLK/IRAK. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 19, p. 13077–13084, 1999.

VO, A.A. *et al.* A Phase I/II Trial of the Interleukin-6 Receptor-Specific Humanized Monoclonal (Tocilizumab) + Intravenous Immunoglobulin in Difficult to Desensitize Patients. **Transplantation**, v. 99, p. 2356-2363, 2015.

VORONOV, E.; CARMI, Y.; APTE, R.N. The role IL-1 in tumor-mediated angiogenesis. **Frontiers in Physiology**, v. 5, p. 114, 2014.

WAJANT, H.; BEILHACK, A. Targeting Regulatory T Cells by Addressing Tumor Necrosis Factor and Its Receptors in Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation and Cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2040, 2019.

WANG, H. *et al.* Prolonged renal allograft survival by donor interleukin-6 deficiency: association with decreased alloantibodies and increased intragraft T regulatory cells. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 302, p. F276-283, 2012.

WANG, L. *et al.* Mechanisms of miR-145 regulating invasion and metastasis of ovarian carcinoma. **American Journal of Translational Research**, v. 9, p. 3443–3451, 2017. (a)

WANG, G.D. *et al.* Effects of miR-145 on the inhibition of chondrocyte proliferation and fibrosis by targeting TNFRSF11B in human osteoarthritis. **Molecular Medicine Reports**, v. 15, p. 75-80, 2017. (b)

WASSMANN, S. *et al.* Interleukin-6 induces oxidative stress and endothelial dysfunction by overexpression of the angiotensin II type 1 receptor. **Circulation Research**, v. 94, p. 534-541, 2004.

WATSON, D. *et al.* A Novel Multi-Biomarker Assay for Non-Invasive Quantitative Monitoring of Kidney Injury. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, p. 499, 2019.

WEAVER, J.D. *et al.* Vasculogenic hydrogel enhances islet survival, engraftment, and function in leading extrahepatic sites. **Science Advances**, v. 3, p. e1700184, 2017.

WEI, S. *et al.* Screening and evaluation of endogenous reference genes for miRNA expression analysis in forensic body fluid samples. **Forensic Science International: Genetics**, v. 63, p. 102827, 2023.

WEINER, I.D.; MITCH, W.E.; SANDS, J.M. Urea and Ammonia Metabolism and the Control of Renal Nitrogen Excretion. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 10, p. 1444-1458, 2015.

WEIR, M.R. *et al.* Assessment and management of hypertension in transplant patients. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 26, p. 1248-1260, 2015.

WELCH, G.N.; LOSCALZO, J. Homocysteine and atherothrombosis. **New England Journal of Medicine**, v. 338, p. 1042-1050, 1998.

WENDEL, M. *et al.* Natural killer cell accumulation in tumors is dependent on IFN-gamma and CXCR3 ligands. **Cancer Research**, v. 68, p. 8437-8445, 2008.

WU, J. *et al.* Progressive Aortic Dilation Is Regulated by miR-17-Associated miRNAs. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 67, p. 2965-2977, 2016.

WYNN, T.A.; VANNELLA, K.M. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. **Immunity**, v. 44, p. 450-462, 2016.

XIN, M. *et al.* MicroRNAs miR-143 and miR-145 modulate cytoskeletal dynamics and responsiveness of smooth muscle cells to injury. **Genes & Development**, v. 23, p. 2166-2178, 2009.

XU, D. *et al.* The Roles of IL-1 Family Cytokines in the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2025, 2019.

XU, G. *et al.* The progress of inflammation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. **Renal Failure**, v. 37, p. 45-49, 2015.

XUN, C.Q. *et al.* Effect of total body irradiation, busulfan-cyclophosphamide, or cyclophosphamide conditioning on inflammatory cytokine release and development of acute and chronic graft-versus-host disease in H-2-incompatible transplanted SCID mice. **Blood**, v. 83, p. 2360-2367, 1994.

YADAV, A. *et al.* MCP-1: chemoattractant with a role beyond immunity: a review. **Clinical Chimica Acta**, v. 411, p. 1570-1579, 2010.

YANG, H. Maintenance immunosuppression regimens: conversion, minimization, withdrawal, and avoidance. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 47, p. S37-S51, 2006.

YASWEN, L. *et al.* Autoimmune manifestations in the transforming growth factor-beta 1 knockout mouse. **Blood**, v. 87, p. 1439-1445, 1996.

YAZDANI, S. *et al.* Natural killer cell infiltration is discriminative for antibody-mediated rejection and predicts outcome after kidney transplantation. **Kidney International**, v. 95, p. 188-198, 2019.

YAZDI, A.S.; GHORESCHI, K. The Interleukin-1 Family. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 941, p. 21-29, 2016.

YOUNGER, S.T.; COREY, D.R. Transcriptional gene silencing in mammalian cells by miRNA mimics that target gene promoters. **Nucleic Acids Research**, v. 39, n. 13, p. 5682-5691, 2011.

YU, G. *et al.* NK cells promote transplant tolerance by killing donor antigen-presenting cells. **Journal of Experimental Medicine**, v. 203, p. 1851-1858, 2006.

ZAHARAN, A. *et al.* Contribution of diminished kidney transplant GFR to increased circulating chemokine ligand 27 level. **Journal of Inflammation**, v. 15, p. 18, 2018.

ZENG, X.K. *et al.* Signal pathways underlying homocysteine-induced production of MCP-1 and IL-8 in cultured human whole blood. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 26, p. 85-91, 2005.

ZHANG, S. *et al.* A novel approach to identify the mechanism of miR-145-5p toxicity to podocytes based on the essential genes targeting analysis. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, v. 26, p. 749-759, 2021.

ZHANG, M. *et al.* Urinary miR-16-5p can be used as a potential marker of endocapillary hypercellularity in IgA nephropathy. **Scientific Reports**, v. 13, Article ID 6048, 2023.

ZHAO, X. *et al.* Critical role of proinflammatory cytokine IL-6 in allograft rejection and tolerance. **American Journal of Transplantation**, v. 12, n. 1, p. 90-101, 2012.

ZHOU, L. *et al.* IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. **Nature Immunology**, v. 8, n. 9, p. 967-974, 2007.

ZHU, S. *et al.* The microRNA miR-23b suppresses IL-17-associated autoimmune inflammation by targeting TAB2, TAB3, and IKK- α . **Nature Medicine**, v. 18, n. 7, p. 1077-1086, 2012.

ZHU, X.; ZHU, R. Curcumin suppresses the progression of laryngeal squamous cell carcinoma through the upregulation of miR-145 and inhibition of the PI3K/Akt/mTOR pathway. **Onco Targets and Therapy**, v. 11, p. 3521-3531, 2018.

ZSCHIEDRICH, S. *et al.* An update on ABO-incompatible kidney transplantation. **Transplant International**, v. 28, n. 4, p. 387-397, 2015.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
(Grupo de Pacientes Transplantados Renais)

Título do Projeto: Avaliação de marcadores genéticos, inflamatórios e hemostáticos em pacientes transplantados renais

Professora orientadora e pesquisadora responsável:
Dra. Ana Paula Lucas Mota

Você está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) de uma pesquisa científica intitulada como: “Avaliação de marcadores genéticos, inflamatórios e hemostáticos em pacientes transplantados renais”, que está descrita a seguir:

A perda do enxerto por mecanismos diversos de rejeição e a ocorrência de complicações cardiovasculares ainda são frequentes no pós-transplante renal. A inflamação, a ativação do sistema imunológico, os distúrbios da coagulação e características genéticas desempenham um papel importante em pacientes transplantados renais, principalmente no que diz respeito à mortalidade cardiovascular e ao risco de rejeição. Na década de 1960, os transplantes de órgãos foram iniciados no Brasil, mas não evoluíram naquela época, em razão da baixa sobrevida dos receptores. Atualmente, com o aprimoramento de técnicas científicas, o Brasil detém o maior programa público de transplantes de órgãos e tecidos do mundo, destacando-se pelo crescente número de transplantes realizados a cada ano.

Esta pesquisa visa esclarecer sobre as alterações laboratoriais em exames de pacientes transplantados renais, que possam contribuir para o melhor tratamento e monitoramento pós-transplante. Você está sendo convidado para participar desta pesquisa de forma **voluntária e gratuita**.

Para decidir se você deve concordar ou não em participar desta pesquisa, leia atentamente todos os itens a seguir que irão informá-lo(a) e esclarecê-lo(a) de todos os procedimentos, riscos e benefícios pelos quais você passará segundo as exigências da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

1. Identificação do(a) voluntário(a) da pesquisa:

Nome: _____ Gênero: _____

Identidade: _____ Órgão Expedidor: _____

Data de Nascimento: ____/____/____ Médico: _____

Telefone: _____ Tempo de Transplante: _____

2. Objetivo da pesquisa:

Avaliar os marcadores genéticos, inflamatórios e hemostáticos e relacioná-los à evolução clínica e laboratorial de pacientes transplantados renais.

3. Descrição detalhada e explicação dos procedimentos realizados:

Sua participação é voluntária e se dará por meio de uma punção venosa de amostras sanguíneas, com agulhas estéreis e descartáveis e tubos a vácuo, também estéreis. Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa envolvem possíveis incômodos durante a punção venosa, como dor local, tonteira ou sensação de desmaio e, após a coleta, o possível surgimento de uma mancha roxa (hematoma), devido ao extravasamento de sangue de um vaso sanguíneo. Geralmente não há complicações e essa mancha roxa desaparecerá em poucos dias.

Descrição dos desconfortos e riscos da pesquisa:

(X) Risco Mínimo () Risco Baixo () Risco Médio () Risco Alto

4. Descrição dos benefícios da pesquisa:

Se você aceitar participar, estará contribuindo para a confirmação ou a exclusão das hipóteses geradas em torno das alterações em exames laboratoriais encontrados em pacientes transplantados renais, bem como irá contribuir para a geração de materiais didáticos, que possuem o objetivo de instruir e esclarecer os participantes sobre o tratamento e a prevenção de diversas complicações associadas ao transplante de rim.

5. Despesas, compensações e indenizações:

Você não terá despesa pessoal nessa pesquisa incluindo transporte, exames e consultas. As coletas serão realizadas sempre que você comparecer às consultas de rotina e/ou ao laboratório para exames. Você não terá compensação financeira relacionada a sua participação nessa pesquisa.

6. Direito de confidencialidade:

Você tem assegurado que todas as suas informações pessoais obtidas durante a pesquisa serão consideradas estritamente confidenciais e os registros estarão disponíveis apenas para os pesquisadores envolvidos no estudo. Os resultados obtidos nessa pesquisa poderão ser publicados com fins científicos, mas sua identidade será mantida em sigilo.

7. Acesso aos resultados da pesquisa:

Você tem direito de acesso atualizado aos resultados da pesquisa. Em caso de resultados que possam afetar seu monitoramento, entraremos em contato com você ou com o seu médico para que as devidas medidas possam ser tomadas.

8. Liberdade de retirada do consentimento:

Você tem direito de retirar seu consentimento, a qualquer momento, deixando de participar da pesquisa, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu cuidado e/ou tratamento na instituição.

9. Acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa:

Você tem garantido o acesso, em qualquer etapa da pesquisa, aos profissionais responsáveis pela mesma, para esclarecimento de eventuais dúvidas acerca de procedimentos, riscos, benefícios, etc., através dos contatos abaixo:

Professora orientadora e responsável pela pesquisa: Ana Paula Lucas Mota
Telefone: (31) 3409-6896
Email: aplmota@farmacia.ufmg.br

10. Acesso à instituição responsável pela pesquisa:

Você tem garantido o acesso, em qualquer etapa da pesquisa, à instituição responsável pela mesma para o esclarecimento de eventuais dúvidas acerca dos procedimentos éticos através do contato abaixo:

Comitê de ética do campus da UFMG
Avenida Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II – 2º andar, sala 2005,
Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG. CEP: 31270-901. Telefone (31)
3409-4592.
email coep@prpq.ufmg.br

11. Armazenamento das amostras:

O material biológico coletado estará vinculado a este projeto de pesquisa, assim como à pesquisas futuras, caso seja do seu consentimento. Você poderá retirar, a qualquer momento, o seu consentimento de guarda e de utilização do material biológico armazenado.

O Biorrepositório da Faculdade de Farmácia da UFMG será o local de armazenamento das amostras coletadas, as quais serão utilizadas apenas para fins de pesquisa. As amostras de plasma, soro e sangue total serão armazenadas em um freezer do laboratório de Bioquímica da Faculdade de Farmácia da UFMG em temperatura de -80°C até o momento de sua utilização.

Após o fim da pesquisa, as amostras serão descartadas em sacos brancos leitosos e passarão por processos de desinfecção e de descontaminação, sendo então desprezadas em um aterro sanitário seguindo as condições estabelecidas pela Faculdade de Farmácia da UFMG que atende as Resoluções nº 441/11 e nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Fui informado verbalmente e por escrito sobre os dados dessa pesquisa e minhas dúvidas com relação a minha participação foram satisfatoriamente respondidas.

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, os desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso aos pesquisadores e à instituição de ensino.

Tive tempo suficiente para decidir sobre minha participação e concordo voluntariamente em participar desta pesquisa e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante a mesma, sem penalidades, prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

A minha assinatura neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dará autorização aos pesquisadores, ao patrocinador do estudo e ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais de utilizarem os dados obtidos quando se fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando minha identidade.

Assino o presente documento com espaço destinado para rubricas em duas vias de igual teor e forma, ficando uma em minha posse. Declaro que:

() Concordo que o meu material biológico seja utilizado somente para esta pesquisa.

() Concordo que o meu material biológico possa ser utilizado em outras pesquisas, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado o material.

() Concordo que o meu material biológico possa ser utilizado nesta e em outras pesquisas.

Belo Horizonte, ____ de ____ de ____

Voluntário

Pesquisador Responsável

APÊNDICE B – Ficha clínica

Ficha Clínica

Número de ID do participante: _____ Data da coleta: ____/____/____ Prontuário: _____

1. Identificação:

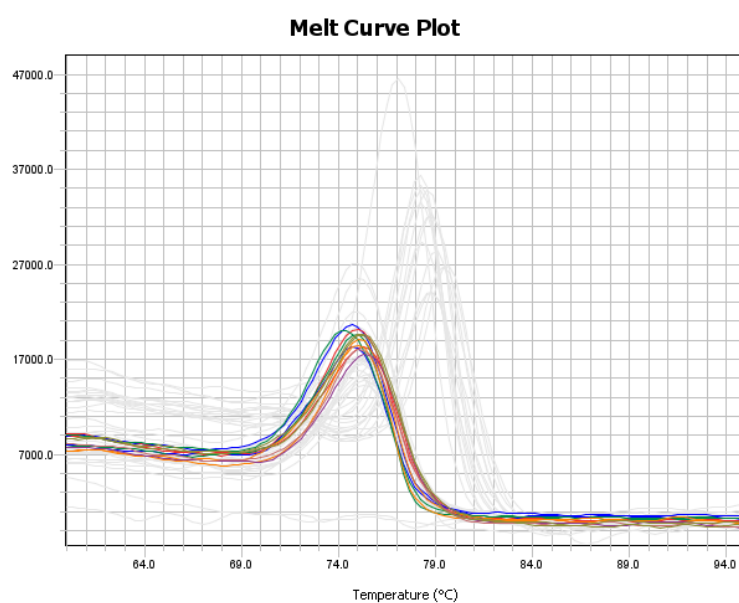
Nome: _____ DN: ____/____/____ Sexo: ____ Tel: _____
Etnia: _____ Médico: _____ Outras Infos: _____

2. Dados Clínicos: a) Peso (Kg): _____ Altura (m) _____ IMC (Kg/m²) _____ b) Diálise/Tempo: _____ c) Doença base: _____ d) Comorbidades: _____ e) Data do Tx renal: ____/____/____ f) Doador (tipo/idade/sexo): _____ g) Imunossupressores: _____

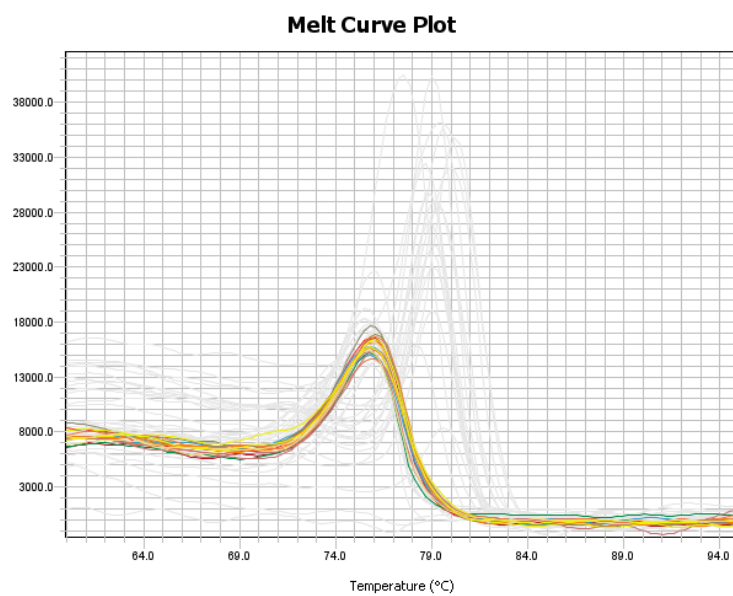
h) Tabagismo? _____ i) Consumo de bebida álcool? _____ j) Exercício físico? _____ k) Tipo sanguíneo: _____ l) Rejeição /data/biópsia: _____ m) Indução? _____

	2016	2017	2018	2019	2020	2021
UREIA						
CREATININA						
AC URICO						
EAS						
P/C URO						
TGO / TGP						
FA/GGT						
GLI / HBA1C						
HM / HT/ HB						
PLT						
GL						
S/BASO/EOS						
L/M						
RNI / PT / PTTA						
DDIMERO						
CT / LDL						
HDL / TG						
VDLD						
PTH						
Na /K/Mg/P						
Ca						
PCR						

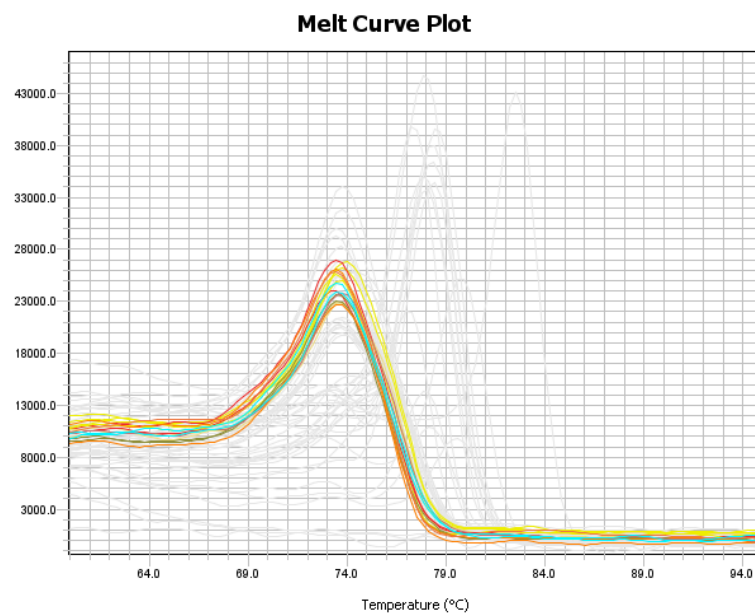
APÊNDICE C – Curvas de Melting dos miRNAs avaliados



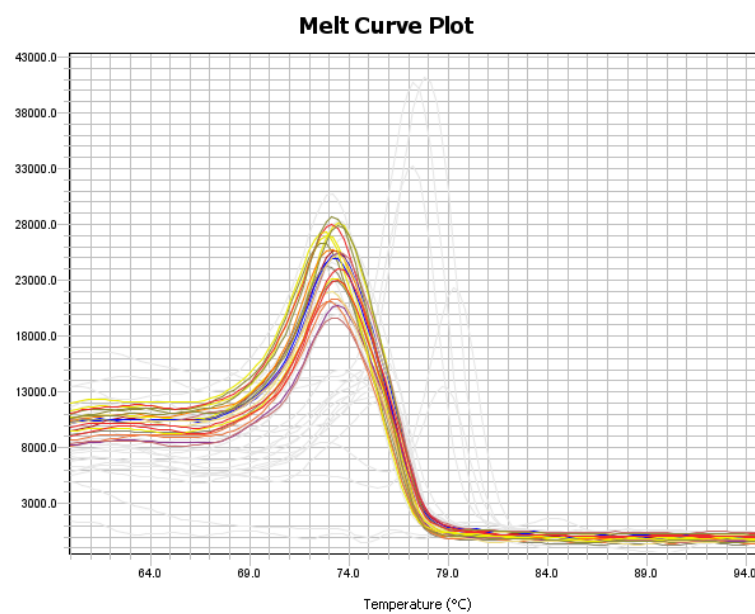
Legenda: Curva de melting (miR-145-5p). Fonte: dados da pesquisa.



Legenda: Curva de melting (miR-23b-3p). Fonte: dados da pesquisa.



Legenda: Curva de melting (miR-15a-5p). Fonte: dados da pesquisa.



Legenda: Curva de melting (miR-15b-5p). Fonte: dados da pesquisa.

**APÊNDICE D – Tabela de caracterização clínica e laboratorial dos integrantes
do estudo de acordo com a função renal avaliada pelo eRFG**

	R1 (n = 24)	R2 (n = 45)	Valor de p	Total (n = 69)
Receptor do transplante renal				
Sexo, n (%)			0,930	
Feminino	9 (37,5)	19 (42,2)		28 (40,6)
Masculino	15 (62,5)	26 (57,8)		41 (59,4)
Idade (anos)**	53 (65-44)	45 (58-32)	0,030*	50 (60-36)
Tempo pós transplante renal (anos)***	15 ± 5,5	14 ± 5,4	0,362	14 ± 5,4
Tipo de doador, n (%)			0,723	
Falecido	11 (45,8)	27 (60,0)		38 (55,1)
Vivo	13 (54,2)	17 (38,0)		30 (43,5)
Indeterminado	0 (0,0)	1 (2,0)		1 (1,4)
Doença de base, n (%)			0,969	
Glomerulopatias	6 (28,6)	6 (12,5)		12 (17,4)
Nefroesclerose hipertensiva	3 (14,2)	7 (14,6)		10 (14,5)
Uropatias obstrutivas	2 (9,5)	7 (14,6)		9 (13,0)
Doença renal do diabetes	2 (9,5)	5 (10,4)		7 (10,2)
Doença renal policística	1 (4,8)	4 (8,3)		5 (7,2)
Outras causas	1 (4,8)	7 (14,6)		8 (11,6)
Etiologias desconhecidas	6 (28,6)	9 (18,8)		15 (21,7)
Não informado	0 (0,0)	3 (6,2)		3 (4,4)
Comorbidades, n (%)			0,994	
HAS	19 (79,2)	26 (57,8)		45 (65,2)
Dislipidemia	10 (41,7)	10 (22,2)		20 (28,9)
DM	9 (37,5)	10 (22,2)		19 (27,5)
Hipotireoidismo	2 (8,3)	6 (13,3)		8 (11,6)

Doenças neurológicas/psiquiátricas	1 (4,2)	7 (15,6)		8 (11,6)
Anemia	4 (16,7)	3 (6,7)		7 (10,1)
ITU	3 (12,5)	4 (8,9)		7 (10,1)
Outras	15 (62,5)	21 (46,7)		36 (52,2)
Não tem/não relatado	3 (12,5)	4 (8,9)		7 (10,1)
Terapia imunossupressora, n (%)			0,962	
Diminuição da dose de imunossupressor	7 (29,2)	12 (26,7)		19 (27,5)
Aumento da dose de imunossupressor	8 (33,3)	7 (15,6)		15 (21,7)
Retirada de imunossupressor	2 (8,3)	6 (13,3)		8 (11,6)
Adição de imunossupressor	2 (8,3)	5 (11,1)		7 (10,1)
Conversão da imunossupressão	2 (8,3)	2 (4,4)		4 (5,8)
Dados laboratórios				
Creatinina (mg/dL)**	1,8 (2,3-1,5)	1,1 (1,5-0,8)	<0,001*	1,4 (1,7-1,0)
Ureia (mg/dL)**	64 (95,5-48,5)	42 (52,0-35,0)	<0,001*	48 (65,0-40,0)
Hemoglobina (g/dL)***	12,3 ± 2,4	13,9 ± 1,8	0,001*	13,7 ± 2,1
Global de leucócitos (/mm³)***	7005 ± 2588	7470 ± 2310	0,987	7260 ± 2391
Contagem de plaquetas (/mm³)**	248000 (294000-196000)	245000 (294500-209000)	0,775	246500 (294000-208500)
Glicemia em jejum (mg/dL)**	101 (117,5-90,5)	95 (116,5-86,5)	0,259	98 (116,8-87,8)

Legenda: TR: transplante renal; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: Diabetes mellitus; ITU: infecção do trato urinário; eRFG: ritmo de filtração glomerular estimado. R1: eRFG < 60 mL/min/1,73m² e R2: eRFG ≥ 60 mL/min/1,73m². Fonte: dados da pesquisa. *p < 0,05 foi considerado significativo. **Os dados não-paramétricos estão apresentados como mediana e intervalo interquartil (*Mann-Whitney*). ***Os dados paramétricos estão apresentados como média e desvio padrão (*T-student*). Dados de frequência (%) foram analisados pelo teste χ^2 ou pelo teste de Fisher.

ANEXO A – ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O DOUTORADO

Trabalho voluntário por 2 anos e 4 meses no Laboratório Institucional de Pesquisa em Biomarcadores (LINBIO) sob a supervisão do professor Adriano de Paula Sabino



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
(FACULDADE DE FARMÁCIA)
(CENTRO DE EXTENSÃO)

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que, **LORRAINE VIEIRA ALVES** atuou como discente voluntária, no projeto de extensão intitulado: LINBIO: Laboratório Institucional de Pesquisa em Biomarcadores (SIEX 302728), no período de 01/11/2020 a 28/02/2023, sob a coordenação do Professor Adriano de Paula Sabino da Faculdade de Farmácia da UFMG, carga horária semanal de 40 (quarenta) horas desenvolvendo as seguintes atividades conforme plano de trabalho:

- Extração de RNA;
- Execução da técnica de RT qPCR e interpretação de resultados para o diagnóstico molecular da Covid-19;
- Manutenção da limpeza e organização geral do laboratório;
- Autoclavação de materiais, transporte e armazenamento de amostras biológicas;
- Participação e apresentação de trabalhos em reuniões científicas.

Belo Horizonte, 28 de março de 2023.

Profa. Simone Odília Antunes Fernandes
Coordenadora do Centro de Extensão da Faculdade de Farmácia/UFMG

Prof. Adriano de Paula Sabino
Coordenador do Projeto de Extensão



Documento assinado eletronicamente por **Simone Odília Antunes Fernandes, Professora do Magistério Superior**, em 12/04/2023, às 15:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adriano de Paula Sabino, Professor do Magistério Superior**, em 15/04/2023, às 00:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2182167** e o código CRC **9D2F7BB2**.

Participação no 24º Encontro de Extensão da Semana do Conhecimento UFMG 2021 com o trabalho intitulado “Ações do Laboratório Institucional de Pesquisa em Biomarcadores (LINBIO) no combate à pandemia da covid-19”

SEMANA DO CONHECIMENTO UFMG
2021

*Transversalidade da ciência
para construção de futuros*

Certificamos que o trabalho intitulado AÇÕES DO LABORATÓRIO INSTITUCIONAL DE PESQUISA EM BIOMARCADORES (LINBIO) NO COMBATE À PANDEMIA DA COVID-19, foi apresentado no 24º Encontro de Extensão, promovido pela Pró-Reitoria de Extensão, no período de 02/08/2021 a 29/10/2021.

De autoria de: GEOVANA GOMES DORNELAS, ELIZÂNGELA ALMEIDA ROCHA, TÚLIO RESENDE FREITAS, FERNANDA DE FÁTIMA SOUZA DE OLIVEIRA, LAURA DO AMARAL XAVIER, THAÍS SALVIANA RIBEIRO, VIVIAN MORAES PAIXÃO, ANNA CLARA VENTURA FONSECA, BRUNO EDUARDO FERNANDES MOTA, KARINA BRAGA GOMES BORGES, ADRIANO DE PAULA SABINO, DANILA FELIX COUTINHO, SILVIA CRISTINA VERDE MENDES NOLASCO, LORRAINE VIEIRA ALVES, CRISTINA DE MELLO GOMIDE LOURES, NATALIA VIRTUDE CAROBIN, SIMONE RODRIGUES RIBEIRO

Orientador(a): IEDA DE FATIMA OLIVEIRA SILVA

Claudia Andrea Mayorga Borges
Pró-Reitora de Extensão



Apoio



Código de autenticidade: bc8dc2e92112275da59b6b407924744cb82bdfba1fc70703ccdcbbcd03d
Este documento dispensa carimbo e assinatura. Verifique sua autenticidade com o QRCode.

Realização
**SEMANA NACIONAL DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA 2021**



Participação como coautora do trabalho intitulado “*Characterization and evaluation of the content of extracellular vesicles from patients with covid-19: potential role of regulatory microRNAs in the pathogenesis of the disease*” apresentado em formato de pôster no 34º Congresso Brasileiro de Virologia

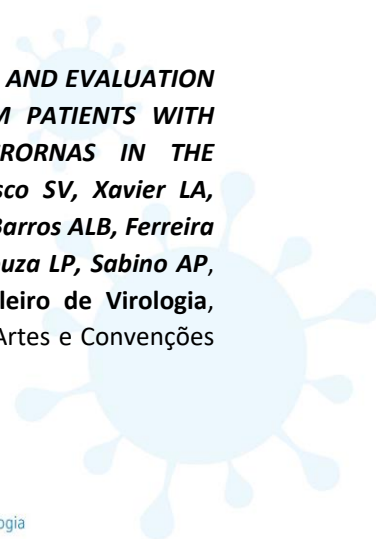


Certificado

Certificamos que o trabalho **PT.099, “CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF THE CONTENT OF EXTRACELLULAR VESICLES FROM PATIENTS WITH COVID-19: POTENTIAL ROLE OF REGULATORY MICRORNAS IN THE PATHOGENESIS OF THE DISEASE”**, de autoria de **Nolasco SV, Xavier LA, Rodrigues SR, Alves LV, Carobin NV, Oliveira JS, Silva JO, Barros ALB, Ferreira DS, Carneiro FS, Filgueiras PS, Assis JV, Miranda DAP, Souza LP, Sabino AP**, foi apresentado como **PÔSTER** no **34º Congresso Brasileiro de Virologia**, realizado de 24 a 27 de setembro de 2023 no Centro de Artes e Convenções da UFOP, Ouro Preto, MG.

Helena Lage Ferreira
Presidente Sociedade Brasileira de Virologia

José Luiz Proença Módena
Tesoureiro da Sociedade Brasileira de Virologia



Participação como membro da Comissão Organizadora do II Simpósio do Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da UFMG

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS FACULDADE DE FARMÁCIA DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS	
CERTIFICADO		
CONCEDEMOS ESTE CERTIFICADO A Lorraine Vieira Alves		
por compor a Comissão Organizadora do II Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da UFMG, realizado remotamente nos dias 03, 04 e 05 de novembro de 2021, com carga horária de 10 (dez) horas.		
Belo Horizonte, 05 de novembro de 2021		
 Profa. Dra. Ana Paula Lucas Mota Coordenadora do II SiACT	 Profa. Dra. Adriana Costa Oliveira Coordenadora do II PPGACT -UFMG	

Orientação de Monografia de Conclusão de Curso da aluna Isabella Silva de Sousa e Sá - Graduação em Biomedicina na UFMG

06/09/2021 10:42

SEI/UFMG - 0832466 - Certificado



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
COLEGIADO DO CURSO DE BIOMEDICINA

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS, PARA OS DEVIDOS FINS, QUE a Profa. ANA PAULA LUCAS MOTA, a doutoranda **LORRAINE VIEIRA ALVES** e a Me. **RAFAELA MIRANDA PESSOA**, participaram como membros da Comissão Examinadora da Monografia de Conclusão de Curso, intitulada **"COMPLICAÇÕES ASSOCIADAS AO PREENCHIMENTO FACIAL COM O USO DO ÁCIDO HIALURÔNICO"**, apresentada pelo(a) aluno(a) **Isabella Silva de Sousa e Sá**.

Belo Horizonte, 31 de Agosto de 2021.

Professora **ANA PAULA LUCAS MOTA**
Coordenadora do Colegiado do Curso de Biomedicina
Faculdade de Farmácia/UFMG

Professora **CRISTIANE DA SILVA MENEZES**
Coordenadora da disciplina de Monografia de Conclusão de Curso
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Faculdade de Farmácia/UFMG



Documento assinado eletronicamente por **Ana Paula Lucas Mota, Coordenador(a) de curso**, em 03/09/2021, às 18:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cristiane Alves da Silva Menezes, Subcoordenador(a)**, em 06/09/2021, às 07:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0832466** e o código CRC **9FC0E0A2**.

Referência: Processo nº 23072.235554/2021-11

SEI nº 0832466

Participação em banca de Trabalho de Conclusão de Curso da aluna Caroline Rezende Diniz - Graduação em Farmácia na UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
COLEGIADO DE COORDENAÇÃO DIDÁTICA DO CURSO DE FARMÁCIA

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS, PARA OS DEVIDOS FINS QUE

Prof. Dr. Lucas Antônio Miranda de Ferreira – orientador(a), **Profa. Dra. Ana Paula Lucas Mota** – FAFAR/UFMG, e **Msc. Lorraine Vieira Alves** – Doutoranda PPGACT – FAFAR - UFMG, participaram como membros da Comissão Examinadora da Monografia de Conclusão de Curso, intitulada “USO DE ANTIOXIDANTES TÓPICOS NO COMBATE AO ENVELHECIMENTO CUTÂNEO: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA”, apresentada pelo(a) aluno(a) Caroline Rezende Diniz, no dia 02 de dezembro de 2022.

Belo Horizonte, 02 de dezembro de 2022.

MÁRCIO DE MATOS COELHO
COORDENADOR DO COLEGIADO DE COORDENAÇÃO DIDÁTICA DO CURSO DE FARMÁCIA



Documento assinado eletronicamente por **Marcio de Matos Coelho, Coordenador(a)**, em 21/11/2022, às 21:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1911817** e o código CRC **8BA7594C**.

Apresentação oral do trabalho intitulado "Influência do polimorfismo -308G>A no gene de TNF sobre a função do enxerto de receptores do transplante renal" no XVI Congresso Brasileiro de Transplantes (ABTO 2019)



XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE TRANSPLANTES **CAMPINAS**
Royal Palm Hall
16 - 19 de Outubro

XVIII Congresso Luso Brasileiro de Transplantes
XV Encontro de Enfermagem em Transplantes
Fórum de Histocompatibilidade da ABH

ABTO2019 | Inovação e Integração



Certificado

CERTIFICAMOS que o trabalho

Influência do polimorfismo -308G>A no gene de TNF sobre a função do enxerto de receptores do transplante renal

foi apresentado no **XVI Congresso Brasileiro de Transplantes**, realizado no Royal Palm Hall, Campinas - SP, de 17 a 19 de outubro de 2019, como Tema Livre **ORAL**.

Autores: LORRAINE VIEIRA ALVES, SUELLEN RODRIGUES MARTINS, CAROLINA NERIS CARDOSO, FERNANDO DAS MERCÊS LUCAS JÚNIOR, KARINA BRAGA GOMES, ANA PAULA LUCAS MOTA

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - Minas Gerais - Brasil

Campinas, 19 de outubro de 2019

Paulo Manuel Pêgo Fernandes
Presidente da ABTO

Marilda Mazzali
Presidente do Congresso

Ilka de Fátima S. F. Boin
Presidente da Comissão Científica

Autora principal juntamente com a biomédica Suellen Rodrigues Martins do artigo intitulado “Covid-19 in renal-transplanted recipients: a narrative review” publicado no Jornal Brasileiro de Transplantes

COVID-19 IN RENAL-TRANSPLANTED RECIPIENTS: A NARRATIVE REVIEW

Covid-19 em pacientes transplantados renais: uma revisão narrativa

Suellen Rodrigues Martins*^a, Lorraine Vieira Alves*^a, Marta Lamounier Moura Vargas Corgozinho^a,
Jenner Karlisson Pimenta dos Reis^b, Bruno Eduardo Fernandes Mota^a, Kátia de Paula Farah^c,
Karina Braga Gomes^a, Luci Maria Santana Dusse^a, Patrícia Nessler Alpoim^a, Ana Paula Lucas Mota^a

ABSTRACT

COVID-19 is an emerging disease mainly associated with Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). This disease causes a cytokine storm release in response to viral infection, and can lead to several systemic complications. Acute kidney injury (AKI) is one of these complications and renal replacement therapy may be necessary for the infected patient. In this context, renal-transplanted recipients (RTR) and patients with chronic kidney diseases are in the risk groups for COVID-19 due to their increased inflammatory state and endothelial dysfunction. Furthermore, maintenance immunosuppressive therapy in RTR can also be another complicating factor, since it influences the response from the immune system against pathogens, including SARS-CoV-2. However, it is believed that the worst outcomes of COVID-19 are mainly caused by an exaggerated inflammatory response than to the direct virus action; therefore, in a hyper-inflammatory state, immunosuppression therapy could be beneficial. This narrative review aims to present the main clinical and laboratory findings of 22 studies involving RTR affected by COVID-19. This review can contribute to the management of COVID-19 and its consequences in this risk group.

Keywords: Communicable Disease; Coronavirus Infections; Renal Insufficiency; Kidney Transplantation.

Institution:

¹ Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais (MG), Brazil.

^{1a} Department of Clinical and Toxicological Analysis, Faculty of Pharmacy

^{1b} Department of Preventive Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine

^{1c} Department of Clinical Medicine, Faculty of Medicine

*Authors contributed equally to this work.

Correspondence:

Ana Paula Lucas Mota
analucasmota@gmail.com

<https://doi.org/10.53855/bjt.v24i2.015>

Received: 05/10/2020

Accepted: 19/05/2021

INTRODUCTION

The World Health Organization (WHO) declared a new pandemic in March 2020, which started on December 12th, 2019, in Wuhan, an important trade center in China.¹ The etiologic agent, isolated from airway epithelial cells of patients with unusual pneumonia was named Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2), formerly called HCoV-19, and the disease was designated as Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). This virus mainly affects the respiratory systems and can be related to fatal pneumonia. It also affects gastrointestinal and central nervous systems. In addition, it can alter liver and kidney function.²⁻⁴