

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA**

Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica

**QUIMIOCINAS E CITOCINAS URINÁRIAS NO
TRANSPLANTE RENAL**

André Barreto Pereira

**Belo Horizonte
2008**

QUIMIOCIAS E CITOCINAS URINÁRIAS NO TRANSPLANTE RENAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto: área de Concentração: Ciências Clínicas da Faculdade de Medicina da UFMG como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina.

**Orientador: Professor Nilton Alves de Rezende
Co-orientador: Professora Ana Cristina Simões e Silva**

Belo Horizonte
2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITOR

Professor Ronaldo Tadêu Penna

PRO-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO

Professor Jaime Arturo Ramirez

Diretor da Faculdade de Medicina

Professor Francisco José Penna

COORDENADOR DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Professor Carlos Faria Santos Amaral

COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS

APLICADAS A SAÚDE DO ADULTO

Professor Carlos Faria Santos Amaral (Coordenador)

Professora Tereza Cristina de Abreu Ferrara (Sub-coordenadora)

Professor Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Professora Valeria Maria de Azeredo Passos

Professora Suely Meireles Rezende

Professor Nilton Alves de Rezende

Elizabete Rosária de Miranda (Representante Discente)

DEDICATORIA

A Perla, minha linda e amada esposa, pela compreensão, confiança e carinho nos momentos mais delicados, dando me sempre um equilíbrio necessário.

Aos meus filhos João Pedro e Maria Clara, minhas maiores preciosidades deste mundo.

Ao meu irmão Leo, companheiro de todos os momentos,

A meus pais e irmãos,

A Deus, por me fazer parte de Seu projeto.

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários do laboratório da Santa Casa de Belo Horizonte e Hospital das Clínicas da UFMG, que sempre tiveram boa vontade na árdua coleta do material dos pacientes.

Aos pacientes, pela colaboração na participação do estudo.

Ao Dr Nilton Rezende e Dra Ana Cristina, por creditarem em mim esta dissertação

Aos Professores Mauro Martins Teixeira e Antônio Lúcio Teixeira Junior, à pós-graduanda de doutorado Kátia Daniela da Silveira e demais colegas do Laboratório de Imunofarmacologia do ICB-UFMG, pelo apoio na importante dosagem dos agentes inflamatórios deste estudo.

Ao Leonardo e Richard, pelo enorme apoio na coleta e processamento do material sanguíneo e urinário dos pacientes.

Ao Dr José Osmar Medina Pestana, que abriu portas para o início deste trabalho.

Ao povo brasileiro, que financia esta dissertação e a quem tentarei retribuir com os conhecimentos adquiridos.

EPÍGRAFE

“ Todo conhecimento e maravilhamento (que é a semente do conhecimento) estão
revestidos de prazer”

Francis Bacon

RESUMO

Introdução: O transplante renal é hoje a melhor forma de tratamento ao paciente com doença renal crônica dependente de diálise. O aumento da sobrevida do enxerto é um desafio contínuo, necessitando muitas vezes de biópsias renais para o diagnóstico de lesões ocultas. Métodos menos agressivos de monitoramento da função do enxerto renal são necessários.

Objetivos: Avaliar a função renal e os níveis urinários de quimiocinas e citocinas em pacientes transplantados renais aos 30, 90 e 300 dias após o transplante.

Casuística e Métodos: Foram avaliados 22 pacientes transplantados renais e 9 indivíduos hígidos. Avaliada a função renal e a concentração em urina de 24 horas de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2, IL1-RA, sTNFR1, sTNFR2, IP-10/CXCL10 e IL-8/CXCL8 em pacientes transplantados renais aos 30, 90 e 300 dias após o transplante, e nos controles em único momento. Realizadas avaliações de acordo com o tipo de doador, e presença ou não de rejeição ou infecção por citomegalovírus (CMV).

Considerações éticas: Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais ETIC número 490/05

Resultados: No grupo total de transplantados (GT), houve menores níveis de MIP-1 α /CCL3 entre 30 e 300 dias (p: 0,0248). No grupo com doadores vivos (Gdv) detectaram-se menores níveis de sTNFR1 (p: 0,0445) e MCP-1/CCL2 (p: 0,0452) entre 30 e 300 dias. Aqueles pacientes com rejeição aguda ou infecção pelo CMV (G1) apresentaram menores níveis de MIP-1 α /CCL3 entre 90 e 300 dias (p:0,048). No GT, aos 30 dias de transplante, houve uma correlação da função renal com o MIP-1 α /CCL3 (r:-0,46 p:0,0284) e IL-8/CXCL8 (r:-0,66 p:0,0008). A função renal aos 90 dias correlacionou-se com o MIP-1 α /CCL3 aos 300 dias (r:-0,72 p:0,026). No grupo sem rejeição aguda ou infecção por CMV, MIP-1 α /CCL3 apresentou boa correlação com a função renal aos 90 dias (r:-0,6 p:0,0302). Aqueles com doadores vivos (Gdv) apresentaram correlação significativa do sTNFR2 aos 30 dias com a função renal aos 300 dias (r:-0,57 p:0,039). No Gdf, IL-1Ra correlacionou-se aos 30 dias (r:0,84 p:0,0043) e aos 90 dias (r:0,77 e p:0,0133) com a função renal aos 300 dias. Gdv apresentou maiores níveis de MCP-1/CCL2 aos 30 dias em relação a Gdf (p:0,0390). G1 apresentou menores níveis de MIP-1 α /CCL3 aos 90 dias em relação a G2.

Conclusão: MIP-1 α /CCL3, IL-8/CXCL8, sTNFR2 e IL-1Ra apresentaram boa correlação com a função renal em algum dos períodos pós transplante. MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2 e sTNFR1 alteraram durante o seguimento dos pacientes transplantados de diferentes formas de acordo com a presença de RA, infecção pelo CMV e tipo de doador. RANTES e IP-10/CXCL10 urinários foram constantes nestes pacientes estudados. Quimiocinas e citocinas urinárias podem ser biomarcadores urinários para transplantados renais no futuro.

Palavras-chave: transplante renal, citocinas urinárias, rejeição aguda, função renal

ABSTRACT

Background: Nowadays, renal transplantation is considered the best treatment for patients with end stage renal disease. To extend the renal allograft survival remains to be a challenge. Sometimes the diagnosis of an injured graft is made only with the biopsy. Harmless diagnosis tools to monitor the renal allograft are necessary.

Aims: To study the renal function and urinary cytokines and chemokines of renal transplanted patients at 30, 90 and 300 days after the transplant

Methods: We evaluate 22 renal transplanted patients and 9 gender and age-matched healthy controls. We measured renal function and urinary levels RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2, IL1-Ra, sTNFR1, sTNFR2, IP-10/CXCL10 and IL-8/CXCL8 in the transplanted patients at 30, 90 and 300 days after the transplant, and in the controls at one time. Evaluations were based on the type of donor, and the presence of rejection or cytomegalovirus (CMV) infection.

Ethics issues: The study was approved by the ethic committee of our institution. Informed consent was obtained from all participants.

Results: In the total group of transplanted patients (GT), MIP-1 α /CCL3 levels reduced from 30 to 300 days (p: 0,0248). In the living donors group (Gdv), sTNFR1 (p: 0,0445) and MCP-1/CCL2 (p: 0,0452) levels were smaller in 300 days than in 30 days. Those patients with acute rejection or CMV infection (G1) showed lower levels of MIP-1 α /CCL3 at 300 days than at 90 days (p:0,048). MIP-1 α /CCL3 (r:-0,46 p:0,0284) and IL-8/CXCL8 (r:-0,66 p:0,0008) levels showed a significant correlation with renal function at 30 days after transplant, in the GT. The renal function at 90 days correlated with MIP-1 α /CCL3 levels at 300 days (r:-0,72 p:0,026) in G1. In the group without acute rejection and CMV infection (G2), MIP-1 α /CCL3 levels showed significant correlation with renal function at 90 days (r:-0,6 p:0,0302). The Gdv showed significant correlation of sTNFR2 levels with renal function at 30 and at 300 days (r:-0,57 p:0,039). In the Gdf, IL-1Ra levels at 30 days (r:0,84 p:0,0043) and at 90 days (r:0,77 e p:0,0133) correlated with renal function at 300 days. MCP-1/CCL2 levels at 30 days were higher in the Gdv than in the Gdf (p:0,0390). MIP-1 α /CCL3 levels at 90 days were higher in the G2 than in the G1.

Conclusion: MIP-1 α /CCL3, IL-8/CXCL8, sTNFR2 and IL-1Ra correlated with renal function after transplant. MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2 and sTNFR1 reduced during the follow up of the transplanted patients in different way according to presence of RA, CMV infections and type of donor. RANTES and IP-10/CXCL10 levels remained stable in these patients. Urinary chemokines and cytokines could be a good urinary biomarker for renal transplantation in the future.

Keywords: renal transplantation, urinary cytokines, acute rejection, renal function

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	IL-1Ra urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles	47
GRÁFICO 2	IL8/CXCL8 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles	47
GRÁFICO 3	IP-10/CXCL10 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles	48
GRÁFICO 4	MCP-1/CCL2 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles	48
GRÁFICO 5	MIP-1 α /CCL3 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles	49
GRÁFICO 6	RANTES/CCL5 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles	49
GRÁFICO 7	sTNFR1 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles	50
GRÁFICO 8	sTNFR2 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles	50
GRÁFICO 9	MCP-1/CCL2 no grupo Gdv com 30, 90 e 300 dias de transplante	51
GRÁFICO 10	sTNFR1 urinário no grupo Gdv com 30, 90 e 300 dias de transplante	51
GRÁFICO 11	MIP-1 α /CCL3 urinário em G1 com 30, 90 e 300 dias de transplante (p:0,048 entre 90 e 300 dias).	54
GRÁFICO 12	Correlação entre clearance de creatinina e MIP-1 α /CCL3 urinário aos 30 dias de transplante renal no GT	55
GRÁFICO 13	Correlação entre clearance de creatinina e IL-8/CXCL8 urinário aos 30 dias de transplante renal	56
GRÁFICO 14	Correlação entre clearance de creatinina e MIP-1 α /CCL3 urinário aos 90 dias de transplante renal no G1	57
GRÁFICO 15	Correlação entre clearance de creatinina e MIP-1 α /CCL2 urinário com 90 dias de transplante renal	58
GRÁFICO 16	Correlação entre clearance de creatinina aos 300 dias e sTNFR2 urinário aos 30 dias no Gdv	59
GRÁFICO 17	Correlação entre clearance de creatinina aos 300 dias e IL-1Ra urinário aos 30 dias no grupo Gdf	60
GRÁFICO 18	Correlação entre clearance de creatinina aos 300 dias e IL-1Ra urinários aos 90 dias de transplante renal no Gdf	60
GRÁFICO 19	MCP-1/CCL2 nos grupos Gdv e Gdf aos 30 dias de transplante renal	61
GRÁFICO 20	MIP-1 α /CCL3 nos grupos G1 e G2 aos 90 dias de transplante renal	62

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Publicações relacionadas a citocinas urinárias no transplante renal	28
TABELA 2	Características clínicas e níveis de citocinas urinárias de pacientes transplantados renais aos 30, 90 e 300 dias após o transplante	45
TABELA 3	Níveis urinários de RANTES/CCL5 e IP-10/CXCL10 nos grupos e subgrupos de pacientes com 30, 90 e 300 dias de transplante renal	52
TABELA 4	Níveis urinários de IL-8/CXCL8 e MIP-1 α /CCL3 nos grupos e subgrupos de pacientes com 30, 90 e 300 dias de transplante renal	52
TABELA 5	Níveis urinários de MCP-1/CCL2 e IL-1Ra nos grupos e subgrupos de pacientes com 30, 90 e 300 dias de transplante renal	53
TABELA 6	Níveis urinários de sTNFR1 e sTNFR2 nos grupos e subgrupos de pacientes com 30, 90 e 300 dias de transplante renal	53

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

APC	Células Apresentadoras de Antígenos
BSA	Albumina Sérica Bovina
Clear Cr	Clearance de Creatinina
CMV	Citomegalovírus
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
Cr	Creatinina
Csa	Ciclosporina
DC	Células Dendríticas
DRC	Doença Renal Crônica
EGF	Fator de Crescimento Epidermóide
G1	Grupo de Transplantados com Rejeição Aguda ou Infecção por Citomegalovírus
G2	Grupo de Transplantados sem Rejeição Aguda e sem Infecção por Citomegalovírus
Gdf	Grupo de Transplantados Renais com Doadores Falecidos
Gdv	Grupo de Transplantados Renais com Doadores Vivos
GT	Grupo Total de Transplantados
HLA	Antígeno de Histocompatibilidade Humano
ICAM -1	Molécula de Adesão Intercelular 1
IECA	Inibidores de Enzima Conversora de Angiotensina
IFN- α	Interferon – alfa
IGFBP-1	Proteína Ligadora do Fator de Crescimento "Insulina-like"- 1
IGFBP-2	Proteína Ligadora do Fator de Crescimento "Insulina-like"- 2
IGFBP-6	Proteína Ligadora do Fator de Crescimento "Insulina-like"- 6
IL-1	Interleucina - 1
IL-1Ra	Antagonista de Receptor de Interleucina 1
IL-2	Interleucina – 2
IL-4	Interleucina – 4
IL-5	Interleucina – 5
IL-6	Interleucina – 6
IL-7	Interleucina – 7

IL-8	Interleucina – 8
IL-10	Interleucina – 10
IL-12	Interleucina – 12
IL-17	Interleucina – 17
IL-18	Interleucina – 18
IP-10	Proteína 10 induzível por Interferon
IRA	Insuficiência Renal Aguda
I-TAC	T α -Quimioatraente Induzível por IFN- γ
ITU	Infecção do Trato Urinário
kg	Quilograma
KIM-1	Molécula de Injúria Renal - 1
LAG-3	Genes de Ativação Linfocitária -3
LPS	Lipopolissacárides
Lta	Linfócitos T ativados
LTh1	Linfócitos T Helper 1
LTh2	Linfócitos T Helper 2
MCP-1	Proteína Quimiotraente de Monócito-1
MDC	Quimiocina Derivada de Macrófagos
MG	Minas Gerais
mg	Miligrama
MIG	Monocina induzível por IFN- γ
min	Minutos
MIP-1 α	Proteína Inflamatória de Macrófago-1-alfa
MIP-1 β	Proteína Inflamatória de Macrófago-1-beta
MIP-1 δ	Proteína Inflamatória de Macrófago-1-delta
MIP-3 α	Proteína Inflamatória de Macrófago-3-alfa
mL	Mililitro
MMF	Micofenolato Mofetil
mmHg	Milímetros de mercúrio
n	Quantidade
NCE	Nefropatia Crônica do Enxerto
NGAL	Lipocalina Associada com Gelatinase de Neutrófilos Humanos
NK	Células “ <i>Natural Killer</i> ”
NTA	Necrose Tubular Aguda

OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato
PDGF-B	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas do tipo B
pg	Picograma
pred	prednisona
r	coeficiente de correlação
r ²	coeficiente de regressão linear simples
RA	Rejeição Aguda
RANTES	<i>“Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted”</i>
RCA	Rejeição Celular Aguda
RFG	Ritmo de Filtração Glomerular
SDF-1 α/β	Fator Derivado de Estroma 1 α/β
sIL-1Ra	Antagonista de Receptor de Interleucina 1 Solúvel
smf	Micofenolato Sódico
srl	sirolimus
sTNFR1	Receptor 1 de TNF solúvel
sTNFR2	Receptor 2 de TNF solúvel
Tac	Tacrolimus
TARC	Quimiocina do Timo Regulada por Ativação
TGF- β	Fator de Crescimento e Transformação – Beta
TIF	Tempo de Isquemia Fria
TIMs	Fator Derivado de Estroma 1 α/β
TNFR1	Receptor solúvel do tipo 1 de TNF
TNFR2	Receptor solúvel do tipo 2 de TNF
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral - alfa
TX	Transplante
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCAM-1	Molécula de Adesão Vasocelular 1

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Rejeição ao enxerto renal	17
1.2 Quimiocinas e citocinas no transplante renal	23
1.2.1 Quimiocinas e Citocinas em biópsia e sangue de transplantados renais	23
1.2.2 Citocinas e Quimiocinas em urina de transplantados renais	27
2 OBJETIVO	36
3 PACIENTES E MÉTODO	38
3.1 Pacientes	39
3.1.1 Critérios de inclusão	39
3.1.2 Critérios de exclusão	39
3.2 Aspectos éticos	39
3.3 Métodos	40
3.3.1 Protocolo do estudo	40
3.3.2 Coleta e processamento de amostras	41
3.3.3 Ensaio Imunoenzimáticos	41
3.3.3.1 Ensaio de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2, IL1-RA, Stnfr1, sTNFR2, IP-10/CXCL10 e IL-8/CXCL8 em urina de 24 horas	42
3.4 Análise Estatística	42
4 Resultados	44
4.1 Características gerais dos pacientes transplantados e controles	45
4.2 Níveis urinários de quimiocinas e citocinas nos pacientes transplantados e controles	46
4.3 Níveis urinários de quimiocinas e citocinas nos subgrupos com doador vivo e falecido (Gdv e Gdf)	50
4.4 Níveis urinários de quimiocinas e citocinas nos grupos com e sem rejeição aguda ou tratamento para citomegalovírus (G1 e G2)	54
4.5 Avaliação das citocinas em relação à função renal	54
4.5.1 Grupo Total de Transplantados (GT)	54
4.5.2 Subgrupo com rejeição aguda ou infecção pelo CMV (G1)	56
4.5.3 Subgrupo sem rejeição aguda ou infecção pelo CMV (G2)	57
4.5.4 Subgrupo de doador vivo (Gdv)	58
4.5.5 Subgrupo de doador falecido (Gdf)	59

4.6 Comparação dos níveis de Quimiocinas e Citocinas entre os subgrupos G1 x G2, e Gdf x Gdv	61
5 Discussao	63
5.1 Características gerais	66
5.2 Citocinas em grupo total e controle	67
5.3 IL-8/CXCL8	67
5.4 MCP-1/CCL2	68
5.5 IL-1Ra	69
5.6 TNF	70
5.7 RANTES/CCL5	71
5.8 IP-10/CXCL10	72
5.9 MIP-1 α /CCL3	73
6 CONCLUSÃO	75
7 REFERENCIAS	77
APÊNDICES E ANEXOS	94
APÊNDICE A - PROTOCOLO PARA A COLETA DE DADOS	96
APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	98
ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA - UFMG	100
ANEXO B - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA – SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE BELO HORIZONTE	102
ANEXO C – TERMO DE COMPROMISSO DO SERVIÇO DE TRANSPLANTE RENAL DO HC-UFMG	104
ANEXO D - TERMO DE COMPROMISSO DO SERVIÇO DE NEFROLOGIA DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE BELO HORIZONTE	106
ANEXO E – APROVAÇÃO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO PELA COMISSÃO EXAMINADORA	108

INTRODUÇÃO

1-INTRODUÇÃO

Em janeiro de 2007, segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia, existiam aproximadamente 73605 pacientes com doença renal crônica (DRC) em diálise no Brasil. Este número representa uma prevalência de 391 por milhão da população, revelando um aumento progressivo e expressivo nos últimos anos (SESSO, 2007). Apesar de não se ter dados exatos do número de pacientes potencialmente candidatos a receptores de transplante renal, estima-se que aproximadamente um terço destes pacientes são candidatos ao transplante renal (ZIVCIC-COSIC, 2003; PEREIRA, 2005). No Brasil, segundo a Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos, foram realizados em 2004 3332 transplantes renais e em 2007 3397 o que representa um aumento de 1,95%. Por outro lado, o número de pacientes em diálise aumentou de 59104 para 73605, ou seja um aumento de 24,53%. O aumento do número de pacientes em terapêutica renal substitutiva a aptos para o TX renal não foi acompanhado pelo aumento do número deste procedimento. Além disso, diferenças regionais nos índices de TX renal no Brasil revelam números assustadores (29,92 transplantes/milhão de habitantes na região Sul e 3,13 transplantes/milhão de habitantes na região Norte). É possível que fatores econômicos e culturais sejam os responsáveis por estas diferenças. Neste contexto, a sobrevida do enxerto (transplantado) torna-se fator importante para evitar o retorno destes pacientes à lista de espera para transplante renal e à terapêutica renal substitutiva (SESSO, 2007; RBT, 2007).

De acordo com a legislação brasileira, através da lei 9434 de 4 fevereiro de 1997, o transplante renal pode ser realizado com 3 tipos de doadores: o doador vivo relacionado, o doador vivo não relacionado e o doador falecido. O doador vivo relacionado inclui somente até o 4º grau de parentesco e o doador não relacionado, com exceção de cônjuge, necessita de autorização judicial.

A sobrevida do enxerto renal para receptores de transplante de doadores-falecidos está próxima de 90% no final do primeiro ano e 42% em 10 anos no Brasil (OPTN/SRTR, 2007).

A rejeição aguda (RA) e a nefropatia crônica do enxerto (NCE) são fatores importantes e decisivos na evolução do transplante renal. Embora a introdução de novas medicações imunossupressoras tenha propiciado melhor controle contra a RA, após 10 anos de transplante 50% dos pacientes apresentam NCE. Mesmo assim, 10 a 20% dos pacientes transplantados desenvolvem RA no primeiro ano. Trabalhos recentes demonstram que citocinas podem ser marcadores da RA e da NCE. Desta forma, a avaliação destes marcadores e/ou preditores de rejeição pode ser de importância prática, com a possibilidade de propiciar melhor controle clínico através do diagnóstico e tratamento precoce da rejeição ao transplante renal.

1.1 Rejeição ao enxerto renal

A rejeição do enxerto é classificada segundo as características histopatológicas ou do tempo de curso. De acordo com os padrões histopatológicos renais, a rejeição é classificada pelos critérios adotados após reunião em BANFF (CANADÁ), e conforme o tempo de curso, é considerada hiperaguda, aguda e crônica (RACUSEN, 1999, 2004).

A rejeição hiperaguda é caracterizada pela oclusão trombótica da vasculatura do enxerto que se inicia minutos a horas após a anastomose vascular do enxerto no receptor. É mediada por anticorpos pré-existentes na circulação do hospedeiro que se ligam a antígenos endoteliais do doador (ABBAS, 2003).

A rejeição aguda ocorre nos primeiros 6 meses pós transplante e é caracterizada por um aumento abrupto dos níveis de uréia e creatinina associado à redução do volume

urinário. Após a introdução da ciclosporina, há aproximadamente 20 anos, dor à palpação do enxerto e febre, freqüentemente observadas no passado, não são mais comuns.

A rejeição crônica denominada hoje como nefropatia crônica do enxerto, apresenta-se de forma insidiosa, com aumento lento dos níveis de uréia e creatinina. Para o seu diagnóstico é importante a biópsia renal, devendo ser diferenciada das glomerulopatias recidivadas, "*de novo*", infecções oportunistas e rejeições subclínicas. Estas últimas são caracterizadas pela presença histológica de rejeição aguda sem alteração de função renal (NANKIVELL, 2003; AFZALI, 2005).

Baseado nos critérios de BANFF, a biópsia do rim transplantado pode ser classificada em normal, rejeição mediada por anticorpos, rejeição *borderline*, rejeição celular aguda (RCA) e nefropatia crônica do enxerto (NCE) (RACUSEN, 1999; RACUSEN, 2004).

A rejeição mediada por anticorpos é caracterizada pela presença de pelo menos 3 dentre 4 alterações: C4d no enxerto renal, presença de anticorpo anti doador (anti-HLA), características tissulares de rejeição aguda e piora de função renal. A *borderline* é caracterizada pela suspeita clínica de RCA com focos de tubulite. A RCA é caracterizada histologicamente pela infiltração intersticial de células mononucleares e ocasionalmente eosinófilos, e rompimento da membrana basal tubular (tubulite) por infiltração celular. A nefropatia crônica tem como característica a presença de fibrose intersticial e atrofia tubular (ABBAS, 2003; RACUSEN, 2004).

A rejeição aguda é um processo de lesão vascular e parenquimatosa mediada por células T e anticorpos, que geralmente se inicia após a primeira semana do transplante. As células T ativadas, em resposta principalmente a moléculas de antígeno de histocompatibilidade humano (HLA) em células parenquimatosas e endoteliais destroem células do enxerto ou produzem citocinas que recrutam e ativam células inflamatórias com conseqüente lesão do enxerto. As células endoteliais são os alvos mais precoces a serem

lesados nos enxertos renais. Endotelite microvascular é um achado inicial freqüente em episódios de rejeição aguda. Endotelite ou arterite intimal em artérias de tamanho médio também ocorrem em um estágio inicial de rejeição aguda e é indicativa de rejeição grave. As células T CD4 e CD8 contribuem com a rejeição aguda. Várias evidências sugerem que o reconhecimento e morte de células do enxerto por linfócitos T CD8 são importantes mecanismos de rejeição aguda. As células T CD4, secretando citocinas e induzindo reações tipo hipersensibilidade no enxerto, parecem ser também importantes na rejeição aguda. Os anticorpos podem também mediar rejeição aguda, levando à necrose transmural da parede vascular com inflamação aguda, diferente da oclusão trombótica sem necrose da parede que ocorre na rejeição hiperaguda (ABBAS, 2003).

A rejeição crônica, também denominada de NCE, é caracterizada pela fibrose e distúrbios vasculares com perda da função do enxerto, ocorrendo por um período prolongado. Embora seja a principal causa de perda do enxerto sua patogênese é menos conhecida que a rejeição aguda e hiperaguda. A fibrose pode ser o resultado de reações imunes ou de produção de citocinas que estimulam fibroblastos ou representa cicatriz após a necrose celular da rejeição aguda (ABBAS, 2003).

As citocinas são proteínas solúveis, de baixo peso molecular, produzidas geralmente em resposta ao estímulo de antígeno e funcionam como um mensageiro químico para regulação de sistema imune adaptativo e inato (DALLMAN, 1995). Quando produzidas por fagócitos mononucleares são denominadas monocinas e quando produzidas por linfócitos, linfocinas. Por outro lado, existem evidências de que uma mesma proteína pode ser elaborada por linfócitos, monócitos e outras células, incluindo as células endoteliais. Historicamente, são denominadas interleucinas por serem citocinas produzidas por leucócitos e agirem em outros leucócitos. Em que pese a evidência de serem produzidas ou atuarem além dos leucócitos, a nomenclatura foi mantida por questões de padronização (ABBAS, 2003). Estas

proteínas são produzidas por todas as células envolvidas na resposta e na apresentação de antígeno, especialmente linfócitos T helper.

No enxerto renal, a detecção intraenxerto de mRNA de granzima B, interleucina (IL)-10 e IL-2 correlacionam com RA, enquanto a presença de fator de transformação e crescimento do tipo beta (TGF- β) está relacionada com NCE (SUTHANTHIRAN, 1997). Em outro estudo, foi identificado aumento da expressão intraenxerto de IL-7, IL-8/CXCL8, IL-10, IL-15, RANTES/CCL5, Fas ligand, perforina e granzima B, mas não IL-2, interferon (IFN)-alfa ou IL-4 na RA (STREHLAU, 1997).

As quimiocinas são citocinas que apresentam papel central na fisiologia leucocitária ao controlar o tráfego basal e inflamatório. São polipeptídeos de 8 a 12kD com duas alças internas de dissulfeto. São classificadas em famílias baseadas no número e localização de resíduos de cisteínas N-terminais. As duas principais famílias são as CC quimiocinas, com resíduos de cisteína adjacentes, e família CXC, onde estes resíduos são separados por um aminoácido (ABBAS, 2003). As quimiocinas podem ser categorizadas em induzíveis e constitutivas. As quimoquinas induzíveis podem ser estimuladas por qualquer estímulo que altera a homeostase celular, e o RNAm das quimoquinas pode aumentar mais de 300 vezes em poucas horas de ativação (GERARD, 2001). As constitutivas são responsáveis pelo tráfego leucocitário basal e pela formação da arquitetura de órgãos linfóides secundários (GERARD, 2001).

Segundo Cardoni e colaboradores, na etapa de indução da resposta inflamatória do transplante renal, células apresentadoras de antígenos (APC), linfócitos T ativados (LTa) e células natural killers (NK), na presença de IL-12, IL-18 e TNF-alfa levam ao aumento de produção de células T helper 1 (LTh1). Conseqüentemente, há um aumento da expressão de genes de CD-26 e LAG-3 (genes de ativação linfocitária), e de receptores CCR5 (receptores de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3 e MIP-1 β /CCL4) e CXCR3 (receptor de IP-10/CXCL10

(proteína induzida por IFN- γ), I-TAC/CXCL11 (T α -quimioattractante induzível por IFN- γ) e MIG/CXCL9 (monoquina induzível por IFN- γ), expresso em LTh1 ativados.

No caso de estarem presentes as IL4, IL10, IL13, ocorre aumento da produção de células T helper 2 (LTh2) e estímulo da expressão de CD30, CD62L (expressão em células ativas leva a entrada de órgãos linfóides periféricos), CCR3 (receptor de eotaxina em eosinófilos), CCR4 (receptor de TARC/CCL17, quimiocina do timo regulada por ativação) e MDC/CCL22 (quimiocina derivada de macrófagos), expresso em células T, NK e células dendríticas (DC), CCR8 (receptor de I-309/CCL1, derivado do gen 3 de ativação celular, que é expresso em células T e neutrófilos) e CXCR4 (receptor de SDF-1 α/β /CXCL12, fator derivado do estroma, que é expresso em T-CD4 ativadas, DC e eosinófilos) (CARDONI, 2005).

De acordo com Hu e Knechtle, as quimiocinas podem influenciar pelo menos três aspectos da biologia do enxerto renal: 1- a restauração do fluxo sanguíneo no enxerto pode levar à lesão de isquemia reperfusão, onde quimiocinas recrutam leucócitos; 2- respostas do receptor à infecção durante a supressão imune envolvem as quimiocinas e 3- os componentes inflamatórios na RA e NCE são controlados por quimiocinas.

Estes autores (HU & KNECHTLE), avaliando as quimiocinas e citocinas urinárias em transplantados renais as divide em três grupos:

1- Aquelas que estão aumentadas em receptores com RA, NTA (Necrose Tubular Aguda), NCE, função normal do enxerto, assim como indivíduos hígidos: angiogenina, TIMs (*tissues inhibitors of metalloproteinase*), receptor 2 de TNF solúvel, ligante de receptor 3 indutor de apoptose relacionado a TNF

2- Aquelas que têm baixa expressão em receptores de transplante renal e indivíduos hígidos: IL-1beta, IL-2, sR α , IL-6, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, MIP-3 α /CCL20, IL-18 e TNF- α .

3-Aquelas que estão mais aumentadas em receptores com RA, NTA, NCE, do que naqueles com função normal do enxerto e indivíduos hígidos: Adiponectina, IGFBP-1 (proteína ligadora de fator de crescimento “insulina-like”-1), IGFBP-2, IGFBP-6, IL-8/CXCL8, leptina, MCP-1/CCL2, MIP-1 δ , sTNFR1, osteoprotegerina e receptor ativador de urokinase plasminogênio (HU, 2006).

Neste sentido, Li e colaboradores mostraram um método para diagnóstico de RA em enxertos renais mensurando RNAm de perforina e granzima B em células de sedimento urinário com sensibilidade e especificidade maior que 80% (LI, 2005). Devarajan demonstrou promissores biomarcadores de injúria renal aguda, compostos de NGAL (lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos) e cistatina C para um painel plasmático e NGAL, IL-18 (citocina induzida e clivada em túbulo proximal) e KIM-1 (molécula de injúria renal 1, expressa em células tubulares renais proximais) para um painel urinário (DEVARAJAN, 2007).

1.2 Quimiocinas e citocinas no transplante renal

1.2.1 Quimiocinas e Citocinas em biópsia e sangue de transplantados renais

Várias quimiocinas e citocinas são pesquisadas em sangue e biópsia de transplantados renais. Descreveremos alguns dos fatores inflamatórios mais comumente relatados e sua relação com NCE, RAC, dislipidemia e infecções.

Na prática clínica do transplante renal, a biópsia renal ainda é o exame de referência para o diagnóstico de RA ou NCE. Por outro lado, na avaliação destes materiais tissulares, existe controvérsia na predominância de quimiocinas e citocinas. Entretanto, parece que receptores CCR5 e CXCR3, e seus ligantes, têm predomínio na RA.

Robertson et al, demonstraram maior apresentação de MCP-1/CCL2 e MIP-1 β /CCL4 em rejeições agudas BANFF 2 em relação a BANFF 1 num estudo de 47 biópsias

renais em menos de 48 dias de transplante, enquanto RANTES/CCL5 e MIP-1 α /CCL3 tenderam ao mesmo comportamento com diferença sem significância estatística (ROBERTSON, 2000). Entretanto, Oliveira e colaboradores não demonstraram aumento de expressão de MCP-1/CCL2, IL-8/CXCL8 e MIP-1 α /CCL3 e sim de IL1-Ra e IL-6 numa avaliação de biópsias renais com e sem RAC, apesar de MIP-1 α /CCL3, e não as outras citocinas, ser maior naqueles com NCE (OLIVEIRA, 1997). RANTES/CCL5 é uma quimiocina para céls T de memória, monócitos e eosinófilos. RANTES/CCL5 é expresso durante rejeição celular aguda, 3 a 5 dias após ativação de células T, e seu RNAm é detectado em células mononucleares infiltrativas e epitélio tubular renal (PATTISON, 1994). RANTES/CCL5 é quimioatraente para linfócitos T, monócitos, células natural Killer, basófilos, eosinófilos, além de ativar células inflamatórias. Por estes motivos, seria uma quimiocina importante como marcador da rejeição no transplante renal (KRENSKY, 2007). Apesar destas descobertas, Baer não demonstrou diferença dos níveis de RANTES/CCL5 séricos e urinários entre o 1º e 12º dia de transplante renal.(BAER, 2005).

Avaliando segmentos do enxerto, Ruster et al, em 2004, perceberam maior infiltração de células MCP-1/CCL2 e CCR5 (receptor celular de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3 e MIP-1 β /CCL4) positivas na região tubulointersticial justacortical em 15 enxertos renais com rejeição aguda em relação a 9 com NCE. Nestes últimos, houve maior expressão glomerular de MCP-1/CCL2 e tendência a menor infiltração generalizada de células RANTES/CCL5, MCP-1/CCL2, CCR2 e CCR5 positivas (RUSTER, 2004).

Apesar da observação desses autores, Segerer et al não encontraram diferença na expressão de MCP-1/CCL2 em 26 biópsias com rejeição aguda com relação a 5 controles não transplantados, mas um aumento de CXCR3 (receptor celular de IP-10/CXCL10, MIG/CXCL9 e I-TAC/CXCL11) e CCR5 (SEGERER, 2001). Este mesmo autor, em estudo anterior, já havia demonstrado que IP-10/CXCL10 (liga a receptor CXCR3), MIP-1 α /CCL3 e

MIP-1 β /CCL4 (ligam a receptor CCR5) estavam aumentados em biópsias renais durante RA (SEGERER, 1999). Células inflamatórias infiltrativas, especialmente as células T e macrófagos, expressaram os receptores de quimoquinas, CCR5 e CXCR3 (SEGERER, 1999).

Outro estudo demonstrou, em biópsias de 16 pacientes transplantados, maior expressão de MIG/CXCL9, CXCR3 e IP-10/CXCL10 naqueles com NCE e glomerulopatia do transplante em relação àqueles somente com NCE (AKALIN, 2003).

Os níveis plasmáticos pré transplante e o polimorfismo genético destas citocinas e quimiocinas são fatores importantes na evolução da NCE e RA. Kruger et al demonstraram, após genotipagem de leucócitos de sangue periférico de 261 pacientes transplantados renais, que diferentes polimorfismos de RANTES/CCL5, denominados -28G/G e -403G/A, interferem na taxa de rejeição aguda recorrente, sendo que 403G/A parece ser protetor da rejeição (KRUGER, 2007). Este mesmo autor, avaliando o polimorfismo genético de RANTES/CCL5, demonstrou que alguns genótipos se relacionam com a sobrevida do enxerto (KRUGER, 2002). Outros autores também demonstraram que a quantificação sérica pré transplante de IP-10/CXCL10 é capaz de predizer o risco de RAC e NCE (ROMAGNANI, 2005; ROTONDI, 2004; DUFOUR, 2002; WANG, 1996).

Nos momentos iniciais do transplante, quando acontece o primeiro contato da corrente sangüínea do receptor com o enxerto, algumas citocinas são de grande importância, como o MCP-1/CCL2, IL-8/CXCL8 e IP-10/CXCL10, influenciando na lesão de isquemia-reperfusão. Avaliando a expressão de citocinas em enxerto após reperfusão no transplante, Araki et al encontraram maior expressão de MCP-1/CCL2 sem correlação com o tempo de isquemia fria (TIF). Além do aumento de expressão destas quimiocinas, demonstrou também relação com o TIF, principalmente nos casos de doador falecido. Por outro lado, os níveis de IP-10/CXCL10 foram maiores somente nos casos de doador vivo, enquanto RANTES/CCL5 e CCR5 não apresentaram diferença entre doador vivo e falecido (ARAKI, 2006).

Sendo a infecção pelo Citomegalovírus (CMV), uma das infecções oportunistas mais frequentes no paciente transplantado renal e caracterizada por ser imunomoduladora, Nordoy et al avaliaram pacientes com doença por este vírus, com antigenemia positiva para este e sem doença, e com antigenemia negativa e sem doença. Conseguiram correlacionar a antigenemia de CMV com os níveis séricos de IL-8/CXCL8 ($r:0,63$) e MCP-1/CCL2 ($r:0,44$) durante o pico da doença ou período de positividade, e com o IL-8/CXCL8 ($r:0,57$) no seguimento da infecção. MIP-1 α /CCL3 não apresentou correlação com antigenemia ou doença por CMV (NORDOY, 2000). Em estudo recente em biópsias renais de ratos transplantados com e sem esta infecção, Soule e colaboradores demonstraram que os ratos infectados desenvolviam NCE mais precocemente além de maior expressão de RANTES/CCL5, MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3 e IP-10/CXCL10. RANTES/CCL5 e MCP-1/CCL2 apresentaram pico de expressão no final do acompanhamento e IP-10/CXCL10 ao início do processo (SOULE, 2006).

Algumas drogas com ação anti-inflamatória foram avaliadas no cenário do transplante renal. Grone e colaboradores avaliaram a ação de um antagonista do receptor de RANTES/CCL5, o Met-RANTES, em ratos transplantados em uso de ciclosporina (Csa), sem uso de Csa, usando Csa e Met-RANTES, e sem uso de Csa mas com uso de Met-Rantes. Demonstraram que este antagonista reduz a adesão dos leucócitos ao endotélio, e a expressão de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , TNF- β e IFN- δ (GRONE, 1999). Também avaliando esta droga, Song el al demonstraram uma redução da infiltração de linfócitos e macrófagos em enxertos de ratos tratados com ciclosporina após 2 semanas de transplante, além da redução da expressão de RNAm de IL-2, IL-1 β , TNF- α e RANTES/CCL5. Após 28 semanas houve redução da glomerulosclerose, da fibrose intersticial, da atrofia tubular, da proliferação intimal arterial e da infiltração de monócitos. O Met-RANTES também reduziu a expressão de TGF- β , PDGF-B (fator de crescimento derivado de plaquetas), apesar de não alterar a

depuração de creatinina (SONG, 2002). Horuk e colaboradores utilizaram um potente antagonista do receptor CCR1 (ligante de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3 e MCP-3/CCL7), o BX 471, em coelhos transplantados renais em uso de Csa e demonstraram que esta droga reduz a necrose do tecido renal, mas não é capaz de substituir o inibidor de calcineurina e está sendo apontado como um possível candidato na terapêutica imunossupressora (HORUK, 2001).

Os inibidores de enzima conversora de angiotensina (IECA) são amplamente conhecidos como renoprotetores através de suas ações antifibróticas e no endotélio vascular (REMUZZI, 1998; TAAL, 2000). Avaliando biópsias renais de grupos de ratos transplantados em uso de IECA, Noris e colaboradores demonstraram melhor função renal e menor expressão de MCP-1/CCL2, mas não de RANTES/CCL5 e TGF- β com 13 meses de acompanhamento (NORIS, 2003).

As estatinas são drogas efetivas no tratamento das dislipidemias. Estudos têm demonstrado sua ação antiinflamatória endovascular, estabilizando placas de ateroma e melhorando a função endotelial (SORRENTINO, 2005). Wang e colaboradores estudaram pacientes transplantados renais em uso de estatinas e demonstraram redução dos níveis séricos de MCP-1/CCL2, RANTES/CCL5, CCR5 e CCR2 após início da droga (WANG, 2006).

1.2.2 Citocinas e Quimiocinas em urina de transplantados renais

Foi realizada revisão sistemática da literatura, utilizando-se o software OVID no período de 1950 a 4ª semana de fevereiro de 2008. Nesta pesquisa foram utilizadas as palavras-chave: MIP-3 α /CCL20, IL-8/CXCL8, IL-6, TNF, IL-10, MCP-1/CCL2, I-TAC/CXCL11, MIG/CXCL9, IP-10/CXCL10, TGF- β , sIL1-RA, EGF, RANTES/CCL5 combinadas com transplante real e níveis urinários e rejeição ao transplante.

TABELA 1: Publicações relacionadas a citocinas urinárias no transplante renal

Autor	Ano	N	Citocina	Objetivo
Prodjosudjadi	1996	20	MCP-1	RA
Paolo	1997	29	EGF, IL-6	RA e NIA
Grandaliano	1997	20	MCP-1	RA
Sibbring	1998	27	IL-8, MIP-1 β	RA
Smith	2000	13	IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF	RA, ITU
Yamada	2003	16	TGF	Função enxerto
Hu	2004	99	I-TAC, MIG, IP-10	RA
Kanmaz	2004	7 (macacos)	MIG, IP-10	RA
Kotsch	2004	26	RANTES, IL-10, IL-2, TGF, TNF, IFN	RA
Tatapudi	2004	58	IP-10, CXCR3	Função enxerto
Teppo	2004	79	TGF	Função enxerto
Woltman	2005	80	MIP-3 α	RA
Jimenez	2005	19	IL2, IL-4, IL-5, IL-10, IFN, TNF	RA
Hauser	2005	54	MIG, IP-10	RA
Baer	2005	17	RANTES	proteínuria
Teppo	2005	46	TGF, I-CAM, TNF	CMV
Sadeghi	2005	66	IL-6, IL-8, sIL-1RA	Bacteriúria assintomática
Matz	2006	35	IP-10	Função enxerto
Ciszek	2006	47	IL-6, IL-8	Bacteriúria assintomática
Boratynska	2006	17	MCP-1	Decoy cells
Helantera	2006	46	TGF, I-CAM, TNF	CMV

Verificou-se grande variabilidade nos estudos, desde a metodologia até os desfechos clínicos avaliados (TAB. 1).

Woltman e colaboradores demonstraram que MIP-3 α /CCL20, em amostra de urina simples, num estudo com 80 pacientes, está aumentado na rejeição aguda, correlaciona-se com os níveis de creatinina, mas não precede alteração de função renal (WOLTMAN, 2005).

Outros trabalhos tentaram relacionar a excreção urinária de TGF- β com a rejeição crônica do rim transplantado. Yamada e colaboradores, avaliando 16 pacientes com função renal estável após 1 ano de transplante, correlacionaram o aumento do nível de TGF urinário e atividade de renina plasmática como preditores de má função renal. Neste estudo, 7 pacientes com NCE apresentaram maior excreção urinária de TGF- β e atividade de renina plasmática

em resposta a inibidores de enzima conversora de angiotensina, que aqueles sem nefropatia crônica (YAMADA, 2003). Teppo e colaboradores avaliaram 79 receptores 6 meses pós transplante renal e correlacionaram o aumento da excreção urinária de TGF- β com a lesão tubular proximal e piora da função renal (TEPPO, 2004). Matl e colaboradores evidenciaram em biópsias renais que a expressão tissular de TGF- β se correlacionava com a vasculopatia crônica, mas não com a nefropatia crônica do enxerto (MATL, 2005). Tinckam e Alakulppi demonstraram que determinados genótipos de TGF- β têm risco aumentado de rejeição aguda (TINCKAM, 2005; ALAKULPPI, 2004). De acordo com Citterio, o uso de diferentes imunossupressores tem influência na expressão de TGF- β sanguíneo (CITTERIO, 2004). Portanto, a determinação das concentrações sérica e urinária de TGF- β tem mostrado resultados promissores, correlacionando-se bem com o padrão de evolução da rejeição de enxerto renal. Existe a perspectiva de que a dosagem sanguínea e urinária de TGF- β possa ser instrumento importante na abordagem do transplante renal, principalmente no que diz respeito à intervenção terapêutica precoce e ao prognóstico.

Analisando 22 transplantados renais com bacteriúria assintomática (17 mulheres e 5 homens) e 25 (18 mulheres e 7 homens) sem estas alterações infecciosas, foi demonstrado que a IL-8/CXCL8 em amostra única está aumentada nos transplantados e que não há diferença nos níveis de IL-6 (CISZEK, 2006). Em amostras de urina de 24 horas na ausência de infecção urinária ou CMV, Sibbring e colaboradores demonstraram que IL-8/CXCL8 estava aumentado em 21 pacientes com rejeição aguda celular em relação a 6 com rejeição vascular crônica, mas sem alterações em imunohistoquímicas de rejeição nas biópsias renais. A produção de MIP-1 β /CCL4 urinário não diferiu entre os grupos e a expressão nos túbulos renais contorcidos e coletores foi maior para esta citocina e para IL-8/CXCL8 do que para MCP-1/CCL2 (SIBBRING, 1998).

O fator de crescimento epidermóide (EGF) é um peptídeo promotor de crescimento, que se encontra expresso na alça de Henle e túbulo contorcido distal (RALL, 1985; SALIDO, 1989; NOUWEN, 1994; GESUALDO, 1996). Sintetizado quase exclusivamente dentro do rim, sua concentração reduz dramaticamente em pacientes com IRA (TAIRA, 1993). Paolo e colaboradores avaliaram níveis urinários de 9 horas de coleta (7 dias e 21 dias de transplante, e pré tratamento de rejeição) e expressão em biópsia renal de EGF e IL-6 em 29 pacientes transplantados renais. Três transplantados renais com função renal estável e 10 amostras de tecidos viáveis de rins com carcinoma foram usadas como controle. Dos pacientes transplantados, 16 apresentavam rejeição aguda e 13 necrose tubular aguda ou nefrotoxicidade por ciclosporina. O EGF estava reduzido em ambas amostras. Já a IL-6 apresentou-se aumentada na rejeição aguda, mas inalterada na necrose tubular aguda ou nefrotoxicidade por ciclosporina (PAOLO, 1997). Smith e colaboradores demonstraram um aumento de IL-6, IL-8/CXCL8 e TNF- α em amostra única de 3 transplantados renais com rejeição aguda em um grupo de 13 pacientes (SMITH, 2000). Sadeghi e colaboradores avaliaram 2 grupos de 66 pacientes com e sem bacteriúria assintomática com 12 a 21 meses de transplante renal. Em análise única de urina e plasma demonstraram que os homens com bacteriúria apresentavam maior nível de IL-6, IL-8/CXCL8, antagonista do receptor solúvel de IL-1 (sIL-1Ra) e razão urina/plasma de IL-6 do que aqueles sem o fator estudado. Entre as mulheres, os níveis de IL-6 e IL-8/CXCL8 foram similares, com leve aumento dos níveis sIL-1Ra e da razão urina/plasma de IL-6 (SADEGHI, 2005).

Jimenez e colaboradores demonstraram que pacientes que desenvolvem rejeição ao enxerto renal apresentam níveis mais elevados de IL-10/CXCL10 e IFN- γ no plasma e urina comparado com pacientes sem rejeição. Este autor relata que as citocinas e quimoquinas podem se originar tanto de células inflamatórias infiltrativas como de células renais. (JIMENEZ, 2005).

Prodjosudjadi e colaboradores, na Holanda, avaliaram o nível de MCP-1/CCL2 em plasma e urina de 24h de 20 pacientes com rejeição aguda e em 20 pacientes sem rejeição. Correlacionaram o nível urinário desta citocina com o grau de rejeição, e demonstraram seu aumento no grupo que apresentava rejeição (PRODJOSUDJADI, 1996). Em urina de 9 horas, Grandaliano e colaboradores, avaliando 13 transplantados renais com rejeição aguda e 7 com necrose tubular aguda, demonstraram um aumento de MCP-1/CCL2 naqueles pacientes com rejeição aguda. Nos pacientes com necrose tubular aguda, a expressão de MCP-1/CCL2, embora maior do que nos controles, foi menor do que naqueles com RA (GRANDALIANO, 1997).

Níveis urinários elevados de TGF- β foram encontrados no período pós transplante inicial. Os níveis elevados dos primeiros dias reduzem gradualmente num período de 2 meses, mantendo-se entretanto maiores que em indivíduos hígidos (GOUMENOS, 2003). Resultados semelhantes destes níveis correlacionando com os da excreção de albumina urinária e α 1-microglobulina tem sido reportados em enxertos renais 6 meses após o transplante renal (TEPPO, 2004). Estes níveis elevados têm sido também relacionados ao grau de fibrose intersticial na nefropatia crônica do enxerto (BORATYNSKA, 1999; GRANDALIANO, 2001).

Ilkka e colaboradores demonstraram maior excreção urinária de TGF- β em transplantados renais na vigência de infecção por CMV (HELANTERA, 2006). Em outra avaliação de infecção oportunista, Boratynska e colaboradores avaliaram 174 transplantados renais em 5 anos, demonstrando aumento de MCP-1/CCL2 urinário. Isto foi constatado em 17 pacientes que apresentavam “*decoy cells*” em amostras únicas de urina com média de 20 semanas de transplante na detecção da alteração, em relação aos controles (BORATYNSKA, 2006).

Hu e colaboradores, analisando urina simples pré-biópsia renal de 99 pacientes, demonstraram elevação de I-TAC/CXCL11, MIG/CXCL9 e IP-10/CXCL10 em vigência de rejeição aguda, nefropatia por poliovírus e necrose tubular aguda, mas não em casos de rejeição borderline, NCE e função estável de enxerto, sendo o nível mais acentuado das últimas 2 citocinas, com sensibilidade de 88,6% e especificidade de 87%. Com o tratamento da rejeição aguda, MIG/CXCL9 e IP-10/CXCL10 reduziram dias antes da redução da creatinina sanguínea. IP-10/CXCL10 urinária reduziu em todos os pacientes, e esta redução iniciou-se 2 a 5 dias antes da Cr sérica. Estes resultados indicam que a elevação de níveis urinários de quimiocinas ligadoras a CXCR3 correlaciona bem com a disfunção do enxerto, e a determinação destas quimiocinas na urina pode ser útil para monitorar a efetividade da terapia antirejeição em conjunto com a Cr (HU, 2004). Kanmaz e colaboradores demonstraram que os níveis urinários de MIG/CXCL9 e IP-10/CXCL10 de 7 macacos transplantados renais aumentaram antes da elevação da creatinina na presença de rejeição aguda. Nas biópsias renais, houve aumento da expressão de MIG/CXCL9 em glomérulos, túbulos e células infiltrantes (KANMAZ, 2004). Hauser e colaboradores conseguiram demonstrar, em 15 pacientes com rejeição aguda dentro de um grupo de 69 transplantados renais, a predição deste evento através do MIG/CXCL9 e IP-10/CXCL10 em amostras únicas de urina assim como a boa resposta do tratamento. MIG/CXCL9 apresentou maior sensibilidade (93,3%) e especificidade (89%) para rejeição aguda, com boa correlação com IP-10/CXCL10 ($p < 0,01$), e não se alterou em presença de necrose tubular aguda. O aumento destas citocinas ocorreu de 2 a 3 dias antes do aumento da Cr e 6 a 7 dias antes do diagnóstico histopatológico de rejeição aguda (HAUSER, 2005). Matz e colaboradores acompanharam 35 transplantados renais por 6 meses e demonstraram que o RNAm de IP-10/CXCL10 urinário no 1º mês pós transplante apresentava uma sensibilidade de 58% e especificidade de 75% para a função renal de 3 e 6 meses. Uma sensibilidade de 71% com especificidade de 95% para

rejeição aguda foi mensurada para o IP-10/CXCL10 urinário 2 a 3 dias antes da biópsia renal (MATZ, 2006). Tatapudi e colaboradores hipotetizaram que a mensuração do RNAm do IP-10/CXCL10 ou do receptor de quimiocina CXCR3 em células urinárias oferece uma forma não invasiva de elucidar o tráfego celular causador de RA em enxertos renais humanos. Esses autores obtiveram 63 espécimes de urina de 58 transplantados submetidos à biópsia renal e 27 amostras urinárias de 24 indivíduos sem alteração de função renal. Foi detectado que o nível de mRNA de IP-10/CXCL10 ou CXCR3 prediz o tráfego celular intraenxerto, causando a RA (TATAPUDI, 2004).

Resultados do aumento da expressão do RANTES/CCL5 urinário em presença de rejeição aguda têm sido demonstrados por alguns autores. Baer e colaboradores analisaram amostras de urina de 24h e sangue de 17 transplantados renais com e sem rejeição aguda nos primeiros 12 dias de transplante renal. Esses autores não detectaram diferença estatisticamente significativa, apesar de haver aumento dos níveis de RANTES/CCL5 em relação ao grupo controle. Entretanto, encontraram correlação da proteinúria ($r:0,83$ $p:0,0001$) e albuminúria ($r:0,727$ $p:0,0062$) dos 17 pacientes com o nível de RANTES/CCL5 urinário, além de redução destes valores entre o 1º dia e 12º dia de transplante ($p<0,01$). Neste mesmo trabalho também foram dosados os níveis séricos desta quimiocina, sem que fossem detectadas diferenças ou correlação com os níveis urinários (BAER, 2005). Kotsch e colaboradores estudaram principalmente a expressão urinária de RNAm de RANTES/CCL5, CD3, granulosa em 14 pacientes transplantados renais com rejeição aguda comprovada por biópsia renal. Corroborando o achado de Baer, detectaram aumento de granulosa associado à elevação de RANTES e CD3 em, respectivamente, 8 e 5 pacientes, no momento do diagnóstico da rejeição (KOTSCH, 2004).

Na avaliação das citocinas e quimiocinas urinárias na vigência da rejeição aguda, os trabalhos relatados demonstraram uma elevação de MIP-3 α /CCL20, IL-8/CXCL8, IL-6,

TNF, IL10, IFN, MCP-1/CCL2, IP10/CXCL10, MIG/CXCL9, I-TAC/CXCL11, RANTES/CCL5 (WOLTMAN, 2005; SIBBRING, 1998; PAOLO, 1997; SMITH, 2000, JIMENEZ, 2005; PRODJOSUDJADI, 1996; GRANDALIANO, 1997; HU, 2004; HU, 2006; KANMAZ, 2004; HAUSER, 2005; BAER, 2005; KOTSCH, 2004). Somente MIP-1 β /CCL4 (SIBBRING, 1998), não demonstrou aumento, enquanto o EGF apresentou redução (PAOLO, 1997).

Como preditor de futuras alterações, TGF- β e IP-10/CXCL10 apresentaram correlação com a função renal de 6 meses e 4 anos (YAMADA, 2003; TEPPPO, 2004). IP-10/CXCL10, MIG/CXCL9, CXCR3, RANTES/CCL5 e o percentual de ligação de IL-2 correlacionaram com a ocorrência de rejeição aguda (SMITH, 2000; HAUSER, 2005; TATAPUDI, 2004). IP-10/CXCL10 e MIG/CXCL9 também demonstraram-se bons preditores de controle do tratamento da rejeição aguda (HU, 2004; HU, 2006, HAUSER, 2005).

Na bacteriúria assintomática, foi verificada maior excreção de IL-8/CXCL8, IL-6, e sIL-1Ra (CISZEK, 2006; SADEGHI, 2005). Por outro lado, um desses trabalhos não demonstrou alteração da excreção de IL-6 (CISZEK, 2006).

Durante infecções virais oportunistas, MCP-1/CCL2 apresentou maior excreção relacionada à doença de poliomavírus (BORATYNSKA, 2006), e TGF- β na infecção por CMV (HELANTERA, 2006)

Diante de tantas controvérsias na literatura, o papel das quimiocinas e das citocinas urinárias no acompanhamento do enxerto renal ainda está para ser estabelecido.

OBJETIVO

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de quimiocinas e citocinas em urina de 24 horas após 30, 90 e 300 dias em pacientes transplantados renais e em adultos saudáveis, pareados por idade e sexo.

PACIENTES E MÉTODOS

3- PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Pacientes

Nesse estudo foram avaliados pacientes adultos transplantados renais, com doador vivo ou falecido, no período de 06/12/2005 a 06/03/2007, provenientes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais e da Santa Casa de Belo Horizonte.

3.1.1 Critérios de inclusão

Os pacientes transplantados renais foram incluídos desde que maiores de 18 anos e com acompanhamento regular no ambulatório pós transplante renal do Hospital das Clínicas da UFMG e da Santa Casa de Belo Horizonte. Os pacientes do grupo controle foram incluídos após exame clínico que excluiu a possibilidade de doenças crônicas e/ ou agudas capazes de influenciarem as determinações urinárias das citocinas. O grupo controle foi pareado em idade e sexo com o grupo de pacientes transplantados.

A inclusão definitiva do paciente no estudo ocorreu apenas mediante consentimento livre e esclarecido (Termo de consentimento).

3.1.2 Critérios de exclusão

- Pacientes portadores de neoplasia
- Pacientes com infecção do trato urinário (ITU) de repetição.
- Pacientes portadores de hepatite C

3.2 Aspectos Éticos

Este trabalho foi aprovado pelo COEP UFMG (Parecer nº ETIC 490/05). Todos os pacientes foram esclarecidos sobre a natureza do estudo por meio da leitura e análise do termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 2). O protocolo de pesquisa não interferiu com qualquer recomendação ou prescrição médica. Ressalta-se ainda que o seguimento

clínico-laboratorial e a abordagem terapêutica dos pacientes foram assegurados, mesmo no caso de recusa em participar do estudo.

3.3 Métodos

3.3.1 Protocolo do estudo

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo, perfazendo um total de 22 pacientes (16 do sexo masculino). Foram abordados inicialmente 28 pacientes submetidos a transplante renal, sendo excluídos 6 casos: 2 não aceitaram participar do estudo, 2 perderam o enxerto ainda no primeiro mês e 2 desistiram da continuidade da coleta do material. Foram utilizados como grupo controle 9 adultos hígidos sem comorbidades.

Todos os pacientes incluídos no estudo foram submetidos a coletas sucessivas de sangue e urina de 24 horas com 30, 90, e 300 dias após o transplante renal para determinação da creatinina sérica e dos níveis urinários de creatinina, RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2, IL1-RA, sTNFR1, sTNFR2, IP-10/CXCL10 e IL-8/CXCL8. Foram também avaliados o tipo de imunossupressão e a dose usada, o ritmo de filtração glomerular (RFG) e a presença ou não de rejeição aguda ou infecção/doença por citomegalovírus (CMV). Os indivíduos do grupo controle foram submetidos a coleta de sangue e urina para realização dos mesmos exames, porém em uma única ocasião, por motivos éticos. O RFG foi calculado a partir de uma estimativa do clearance de creatinina através da fórmula de Cockcroft-Gault nos pacientes transplantados e estimado pelo clearance de creatinina mensurado em urina de 24h nos controles.

Inicialmente foi realizada análise geral dos dados dos 22 pacientes estudados (grupo total de transplantados, GT, n=22), comparando-se com os dados obtidos no grupo controle (C, n=9). A seguir, os pacientes transplantados foram subdivididos em 2 grupos de acordo com suas características clínico-laboratoriais: Grupo 1- formado pelos pacientes com

episódios de rejeição aguda ou doença/infecção por CMV (G1, n=9) e Grupo 2 constituído pelos pacientes sem episódios de rejeição aguda ou doença/infecção por CMV (G2, n=13). Os pacientes transplantados foram também subdivididos conforme a utilização de doador vivo (Gdv, n=13) e doador falecido (Gdf, n=9).

3.3.2 Coleta e Processamento de Amostras

As amostras de sangue foram colhidas em tubo estéril, contendo citrato como anti-coagulante. As amostras de urina foram coletadas durante 24 horas em recipiente limpo sem acréscimo de conservantes ou inibidores de protease. As amostras foram, então, transportadas em embalagem com gelo e processadas em até 30 minutos após a coleta. Foi utilizada centrífuga refrigerada (Jouhan BR4i) a 4°C, com o seguinte protocolo: foi feito inicialmente um ciclo a 700 g por 10 minutos; o plasma sobrenadante foi, a seguir, transferido para tubo estéril, que, por sua vez, foi centrifugado a 1300 g por 20 minutos para sedimentar plaquetas. Depois desta etapa, o plasma foi aliqotado em amostras de 0,5 ml, que foram armazenadas em freezer -80°C até a data do ensaio.

3.3.3 Ensaio Imunoenzimáticos

Os níveis plasmáticos e urinários de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2, IL1-RA, sTNFR1, sTNFR2, IP-10/CXCL10 e IL-8/CXCL8 foram medidos usando kits de ensaio imuno-enzimático (enzyme-linked immunoassay - ELISA) produzidos pelo laboratório R&D Systems (Minneapolis, MN, EUA). Foram seguidas as instruções do fabricante para cada kit. As amostras foram analisadas em duplicata.

O protocolo de ELISA utiliza um anticorpo monoclonal específico para determinação de cada citocina ou quimiocina estudada, fornecido pelo fabricante.

3.3.3.1 Ensaios de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2, IL1-RA, sTNFR1, sTNFR2, IP-10/CXCL10 e IL-8/CXCL8 em urina de 24 horas.

Resumidamente, os anticorpos de captura específicos (fornecido no kit) foram diluídos em tampão fosfato (PBS) e adicionados a cada poço de placas de poliestireno (96 poços). As placas foram, então, incubadas a 4°C por 12 horas. Em seguida, foram submetidas a quatro ciclos de lavagem com PBS e Tween 20 a 0,05% (Sigma). As placas foram então bloqueadas com albumina sérica bovina (BSA) 1% e PBS, e incubadas por uma hora em temperatura ambiente. Um novo procedimento de lavagem foi feito, como descrito acima. Em seguida, as amostras foram adicionadas às placas e incubadas por 12 horas a 4°C, sendo depois submetidas a novos ciclos de lavagem. Os anticorpos de detecção, diluídos em PBS, foram adicionados, e foi feita incubação por duas horas em temperatura ambiente, com novo procedimento de lavagem em seguida. O reagente de cor (fenilenediamina) foi adicionado a cada poço e as placas deixadas no escuro por 15 minutos. A reação foi parada com a adição de 1M H₂SO₄ aos poços. A absorbância foi lida em um leitor de placas (Emax, Molecular Devices, MN, EUA), ajustado no comprimento de onda de 492nm. Os níveis obtidos para cada quimiocina ou citocina urinária foram divididos pelo valor da creatinina urinária, sendo os valores resultantes utilizados para as análises.

3.4 Análise Estatística

Para análise estatística foi utilizado o software SPSS 10.0 e GraphPad Prism 4. Os dados foram expressos como mediana ou média \pm desvio padrão, quando apropriado. Os dados dos pacientes foram avaliados quanto a distribuição paramétrica ou não dos grupos gerais, com e sem RA e CMV, e com doador vivo e doador falecido. A partir de então, foram realizadas testes t pareados paramétricos e não paramétricos (teste da soma de Postos de Wilcoxon), testes t não pareados, correlação (Spearman e Pearson) e regressão. Foi

considerado como diferença estatisticamente significativa o $p < 0,05$. Para avaliação da similaridade do grupo controle com os pacientes transplantados em relação à idade e ao sexo foram realizados, respectivamente, o teste t de Student não pareado e o qui quadrado com teste exato de Fisher.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Características gerais dos pacientes transplantados e controles

O grupo total de transplantados (GT) e o grupo controle foram similares em relação à faixa etária, ao peso e à distribuição por sexo como mostrado na tabela 2. Esses parâmetros também não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos de transplantados com (G1) e sem rejeição aguda ou infecção por citomegalovírus (G2) bem como entre os subgrupos de transplantados com doador vivo (Gdv) e doador falecido (Gdf) (TAB. 2). Quanto à função renal, houve diferença significativa entre o GT e o grupo controle bem como entre os subgrupos Gdv e Gdf nos 3 períodos de tempo estudados (TAB. 2). Por outro lado, a função renal se mostrou similar nos subgrupos G1 e G2 nos 3 tempos avaliados (TAB. 2).

TABELA -2 Citocinas urinárias de pacientes transplantados renais colhidos com 30, 90 e 300 dias, e suas características (continua)

	C	GT	p	G1	G2	p	Gdv	Gdf	p
N	9	22		9	13		13	9	
Idade (anos)	37 ±4,7	43,27 ±2,45	0,2085	41,44 ±4,51	44,54 ±2,85	0,5490	41,46 ±3,47	45,89 ±3,33	0,3888
Peso (kg)	73,44 ±4,46	62,68 ±3,06	0,0636	66,22 ±5,66	60,23 ±3,49	0,3485	67,08 ±4,22	56,33 ±3,60	0,0842
masculino	44,44%	72,27%	0,1404	66,66%	76,92%	0,4767	84,61%	55,55%	0,1547
Clear Cr 30d	112,9 ± 7,64	48,48 ± 4,7	<0.0001 *	39,69 ± 9,19	54,57 ± 4,34	0,1713	57,95 ± 5,67	34,82 ± 5,72	0,0116*
Clear Cr 90d		49,69 ± 3,4	<0.0001 *	46,58 ± 5,73	51,83 ± 4,26	0,4618	56,78 ± 3,39	39,44 ± 5,20	0,0085*
Clear Cr 300d		50,8 ± 3,48	<0.0001 *	50,53 ± 5,72	50,99 ± 4,57	0,9495	57,41 ± 3,72	41,26 ± 5,36	0,0187*
RANTES 30d	21,17 ± 2,92	0,591 ± 0,05	0,0001*	0,61 ± 0,09	0,57 ± 0,07	0,7857	0,64 ± 0,06	0,51 ± 0,09	0,2810
RANTES 90d		0,599 ± 0,06	0,0001*	0,58 ± 0,11	0,61 ± 0,06	0,8174	0,57 ± 0,05	0,63 ± 0,13	0,6607
RANTES 300d		0,60 ± 0,06	0,0001*	0,66 ± 0,10	0,56 ± 0,09	0,4804	0,59 ± 0,08	0,60 ± 0,11	0,9568
IP-10 30d	0,80 ± 0,14	0,87 ± 0,15	0,7892	0,99 ± 0,25	0,79 ± 0,20	0,5423	0,91 ± 0,16	0,82 ± 0,32	0,7888
IP-10 90d		1,12 ± 0,21	0,2350	0,94 ± 0,24	1,24 ± 0,32	0,5129	1,00 ± 0,18	1,28 ± 0,46	0,5951
IP-10 300d		1,01 (0,41-1,85)	0,3065	1,62 (0,41-2,63)	0,96 ± 0,17	0,3166	1,19 ± 0,24	0,99 (0,50-1,84)	1,00

Nota: Dados representados como média ± erro padrão ou mediana (25%-75%). *Diferença estatisticamente significativa

TABELA -2 Citocinas urinárias de pacientes transplantados renais colhidos com 30, 90 e 300 dias, e suas características (conclusão)

	C	GT	p	G1	G2	p	Gdv	Gdf	p
IL-8	0,18	1,05	0,0015*	1,51	0,73	0,1702	0,86	1,32	0,3538
30d	± 0,05	± 0,23		± 0,49	± 0,16		± 0,23	± 0,47	
IL-8		0,62	0,0005*	0,66	0,60	0,7676	0,56	0,71	0,4748
90d		± 0,09		± 0,18	± 0,11		± 0,09	± 0,19	
IL-8		0,77	0,0067*	1,20	0,47	0,1150	0,61	1,00	0,3220
300d		± 0,0,19		± 0,40	± 0,11		± 0,20	± 0,36	
MIP	1,43	0,55	0,2418	0,74	0,42	0,2757	0,50	0,62	0,6496
30d	± 0,68	± 0,11		± 0,25	± 0,08		± 0,11	± 0,24	
MIP		0,39	0,1706	0,25	0,49	0,0468*	0,38	0,41	0,8573
90d		± 0,06		± 0,04	± 0,10		± 0,10	± 0,07	
MIP		0,32	0,1450	0,31	0,32	0,9466	0,31	0,32	0,9099
300d		± 0,05		± 0,06	± 0,07		± 0,07	± 0,07	
MCP-1	1,39	7,82	0,0007*	9,52	6,64	0,3603	10,16	4,45	0,0390*
30d	± 0,37	± 1,50		± 2,84	± 1,65		± 2,19	± 1,31	
MCP-1		6,84	0,0003*	6,29	7,22	0,7084	6,66	7,10	0,8602
90d		± 1,17		± 1,30	± 1,80		± 1,73	± 1,50	
MCP-1		5,76	0,0019*	5,97	5,61	0,8751	4,46	7,64	0,1587
300d		± 1,09		± 1,78	± 1,44		± 1,42	± 1,60	
IL1-RA	0,57	2,58	0,0016*	10,24	2,01	0,1609	2,76	12,69	0,1799
30d	± 0,31	(1,3-4,90)		± 6,23	(1,16-3,75)		± 0,61	± 6,72	
IL1-RA		2,11	0,0010*	8,84	16,48	0,5097	14,74	11,37	0,7723
90d		(0,74-15,75)		± 5,80	± 8,52		± 8,62	± 5,79	
IL1-RA		1,44	0,0022*	18,38	8,88	0,4870	5,56	23,17	0,2143
300d		(0,89-15,54)		± 12,41	± 4,22		± 2,23	± 12,86	
sTNFR1	1,35	9,31	<0,0001	10,61	8,41	0,28	9,72	8,73	0,6679
30d	± 0,15	± 0,98	*	± 1,63	± 1,22		± 0,98	± 2,02	
sTNFR1		9,14	<0,0001	10,1	8,48	0,4614	8,42	10,19	0,4216
90d		± 1,04	*	± 1,57	± 1,42		± 1,27	± 1,82	
sTNFR1		8,44	<0,0001	10,22	7,21	0,1564	7,47	9,85	0,2656
300d		± 1,03	*	± 1,86	± 1,11		± 1,10	± 1,93	
sTNFR2	4,71	17,41	<0,0001	18,04	16,97	0,80	18,38	16	0,62
30d	± 0,41	± 2,07	*	± 3,86	± 2,40		± 1,91	± 4,37	
sTNFR2		17,51	0,0001*	18,27	16,99	0,7321	16,98	18,28	0,72
90d		± 1,77		± 2,62	± 2,46		± 1,98	± 3,39	
sTNFR2		16,76	<0,0001	18,53	15,53	0,4541	16	17,85	0,6444
300d		± 1,90	*	± 3,43	± 2,24		± 2,18	± 3,57	

Nota: Dados representados como média ± erro padrão ou mediana (25%-75%). *Diferença estatisticamente significativa

4.2 Níveis urinários de quimiocinas e citocinas nos pacientes transplantados e

controles

Os níveis de citocinas dentro do GT nos 3 tempos estudados apresentaram diferença estatisticamente significativa somente para MIP-1 α na comparação entre 30 e 300 dias (p=0.0248, teste t pareado, GRÁF. 5).

Por outro lado, houve diferença estatisticamente significativa dos níveis urinários de IL1-Ra, IL-8, MCP-1, RANTES, sTNFR1, sTNFR2 entre o GT e o grupo controle nos 3 tempos avaliados (GRÁF. 1,2,4,6,7,8).

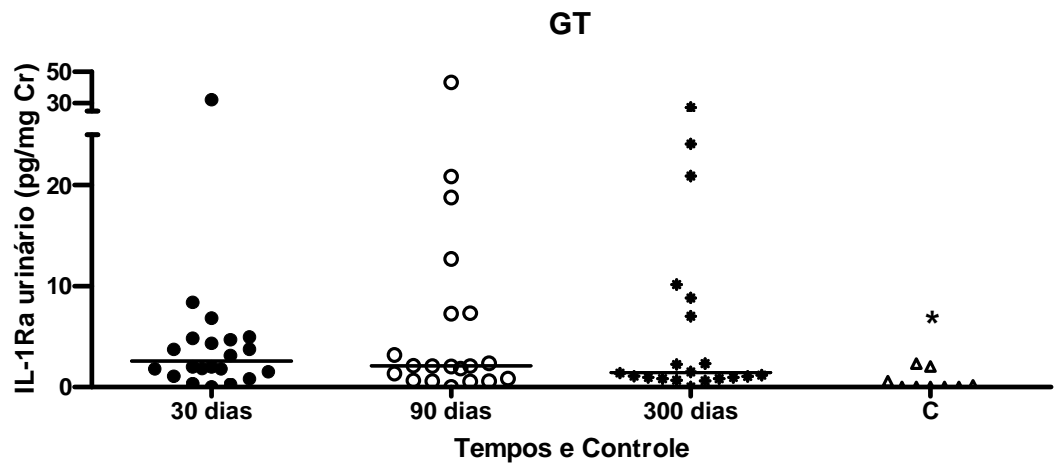


GRÁFICO 1 – IL-1Ra urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles. * $p < 0.05$ para a comparação dos 3 tempos do GT e o grupo C.

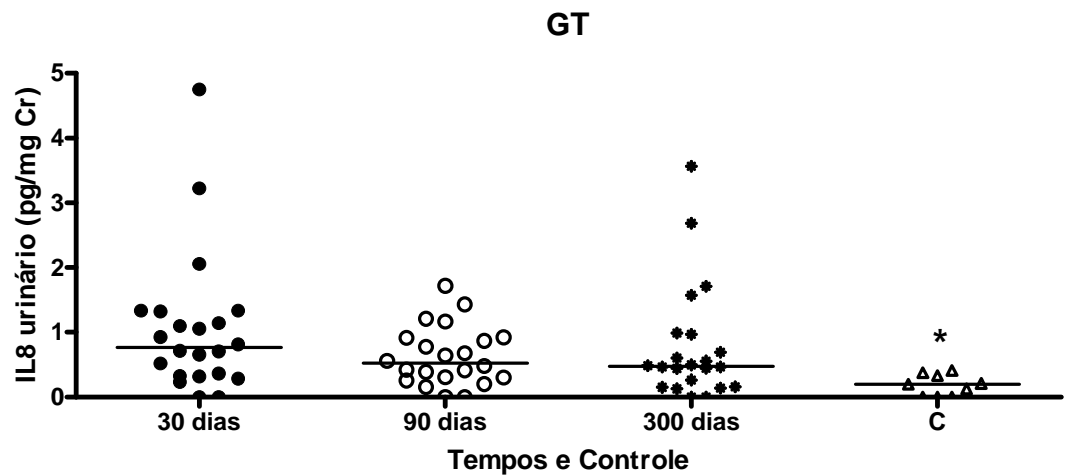


GRÁFICO 2 – IL8/CXCL8 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles. * $p < 0.05$ para a comparação dos 3 tempos do GT e o grupo C.

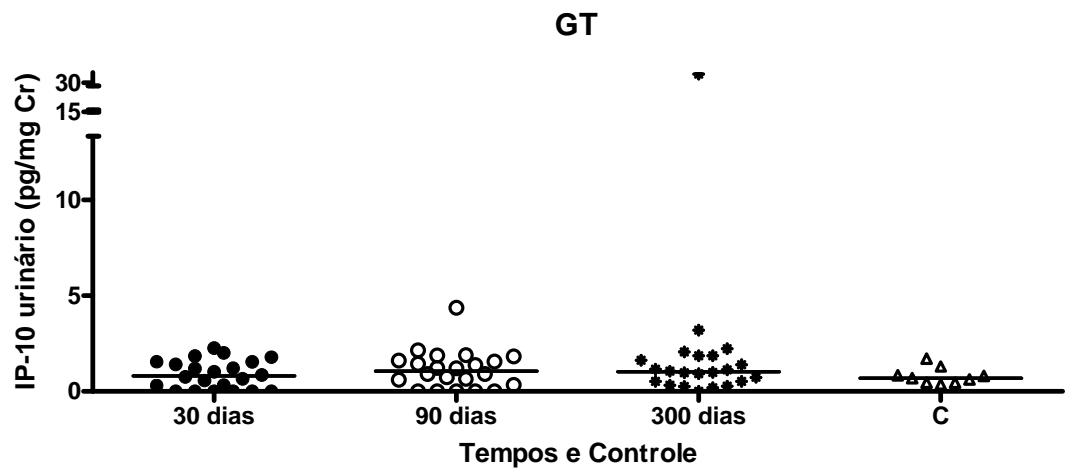


GRÁFICO 3 – IP-10/CXCL10 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles. $p > 0.05$ para a comparação dos 3 tempos do GT e o grupo C.

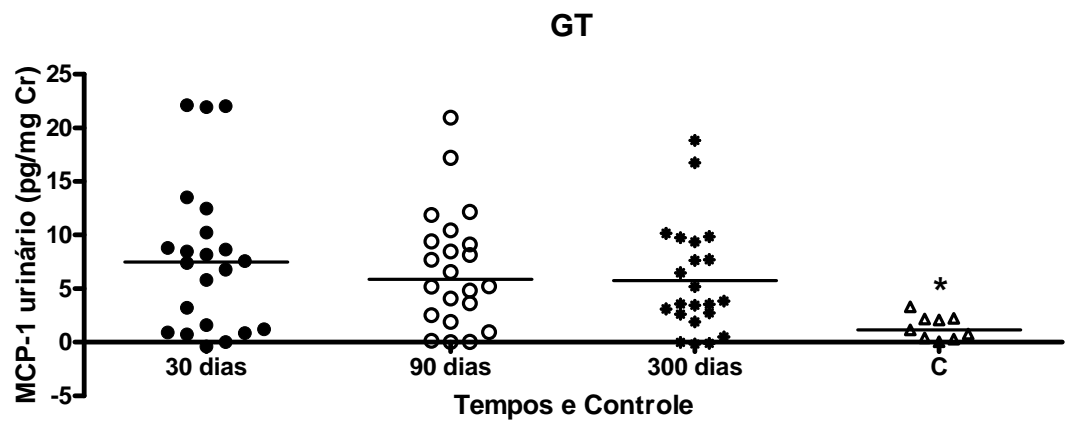


GRÁFICO 4 – MCP-1/CCL2 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles.

* $p < 0.05$ para a comparação dos 3 tempos do GT e o grupo C.

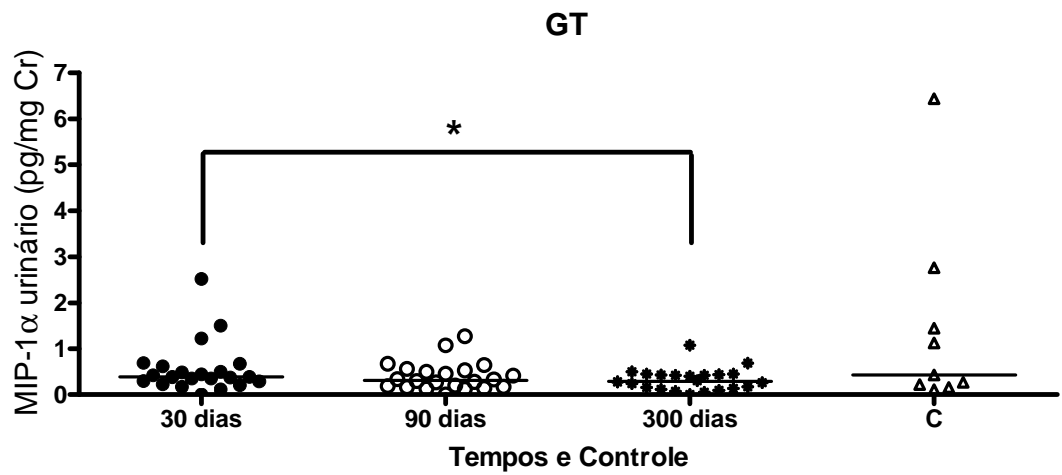


GRÁFICO 5 - MIP-1 α /CCL3 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles.

* $p < 0.05$ para a comparação do GT aos 30 e 300 dias.

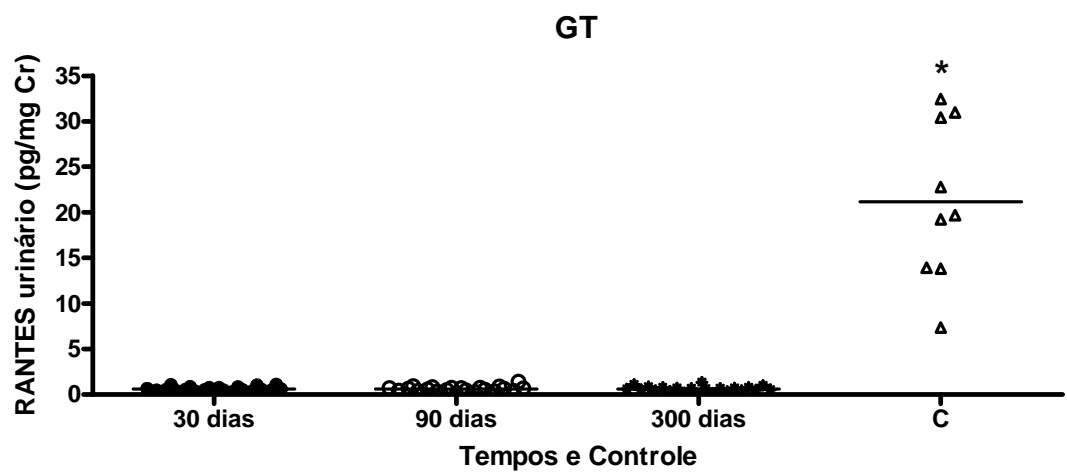


GRÁFICO 6 - RANTES/CCL5 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles.

* $p < 0.05$ para a comparação dos 3 tempos do GT e o grupo C.

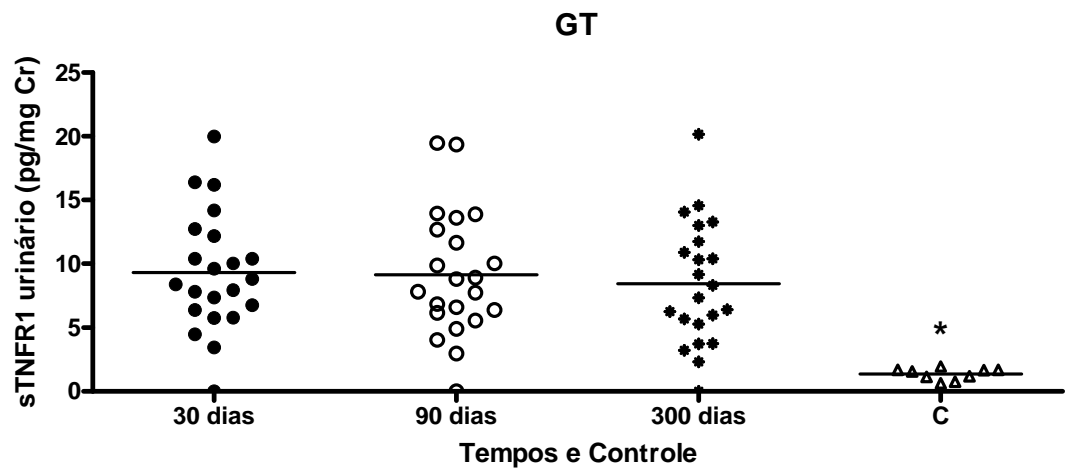


GRÁFICO 7 - sTNFR1 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles.

* $p < 0.05$ para a comparação dos 3 tempos do GT e o grupo C.

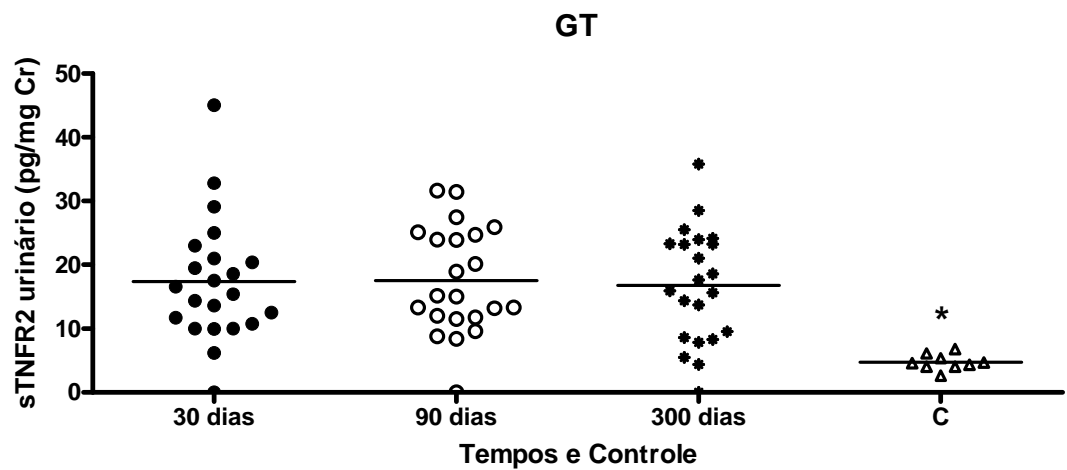


GRÁFICO 8 - sTNFR2 urinário em GT com 30, 90 e 300 dias e controles.

* $p < 0.05$ para a comparação dos 3 tempos do GT e o grupo C.

4.3 Níveis urinários de quimiocinas e citocinas nos subgrupos com doador vivo e falecido (Gdv e Gdf)

A avaliação das quimiocinas e citocinas urinárias dentro dos subgrupos de doador vivo (Gdv) e doador falecido (Gdf) nos 3 tempos estudados mostrou que somente os níveis de

sTNFR1 e MCP-1 entre 30 e 300 dias no Gdv apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p=0,0445$ e $p=0,0452$, GRÁF. 9 e 10). As demais mensurações não diferiram nos tempos estudados (TAB. 3 a 6). No grupo Gdf, não foram detectadas diferenças em nenhuma das quimiocinas e citocinas nos diferentes tempos avaliados (TAB. 3 a 6).

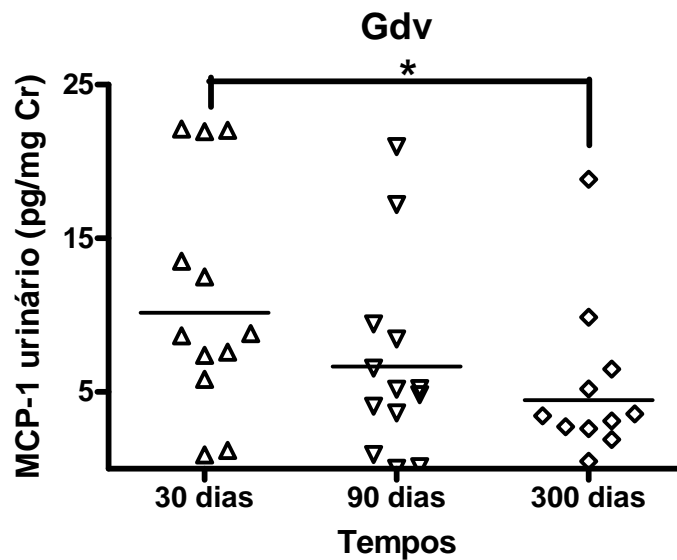


GRÁFICO 9 – MCP-1/CCL2 no subgrupo Gdv com 30, 90 e 300 dias de transplante. * $p<0.05$ para a comparação do Gdv aos 30 e 300 dias.

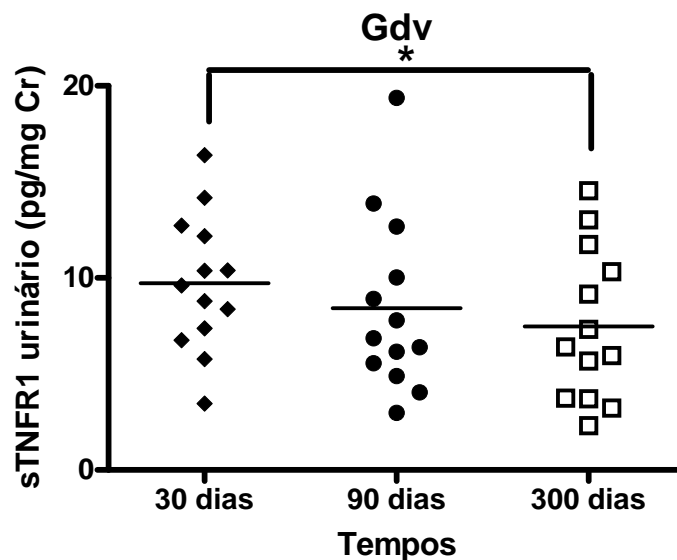


GRÁFICO 10 – sTNFR1 urinário no subgrupo Gdv com 30, 90 e 300 dias de transplante. * $p<0.05$ para a comparação do Gdv aos 30 e 300 dias.

TABELA 3: Níveis urinários de RANTES/CCL5 e IP-10/CXCL10 nos grupos e subgrupos de pacientes com 30, 90 e 300 dias de transplante renal

	RANTES/CCL5				IP-10/CXCL10			
	30 dias	90 dias	300 dias	P	30 dias	90 dias	300 dias	p
GT	0,591 ± 0,05	0,599 ± 0,06	0,60 ± 0,06	>0,05	0,87 ± 0,15	1,12 ± 0,21	1,01 (0,41-1,85)	>0,05
G1	0,61 ± 0,09	0,58 ± 0,11	0,66 ± 0,10	>0,05	0,99 ± 0,25	0,94 ± 0,24	1,62 (0,41-2,63)	>0,05
G2	0,57 ± 0,07	0,61 ± 0,06	0,56 ± 0,09	>0,05	0,79 ± 0,20	1,24 ± 0,32	0,96 ± 0,17	>0,05
Gdv	0,64 ± 0,06	0,57 ± 0,05	0,59 ± 0,08	>0,05	0,91 ± 0,16	1,00 ± 0,18	1,19 ± 0,24	>0,05
Gdf	0,51 ± 0,09	0,63 ± 0,13	0,60 ± 0,11	>0,05	0,82 ± 0,32	1,28 ± 0,46	0,99 (0,50-1,84)	>0,05

Nota: Dados representados como média ± erro padrão ou mediana (25%-75%).

TABELA 4: Níveis urinários de IL-8/CXCL8 e MIP-1α/CCL3 nos grupos e subgrupos de pacientes com 30, 90 e 300 dias de transplante renal

	IL-8/CXCL8				MIP-1α/CCL3			
	30 dias	90 dias	300 dias	P	30 dias	90 dias	300 dias	p
GT	1,05 ± 0,23	0,62 ± 0,09	0,77 ± 0,19	>0,05	0,55 ± 0,11	0,39 ± 0,06	0,32 ± 0,05	*0,0248
G1	1,51 ± 0,49	0,66 ± 0,18	1,20 ± 0,40	>0,05	0,74 ± 0,25	0,25 ± 0,04	0,31 ± 0,06	*0,048
G2	0,73 ± 0,16	0,60 ± 0,11	0,47 ± 0,11	>0,05	0,42 ± 0,08	0,49 ± 0,10	0,32 ± 0,07	>0,05
Gdv	0,86 ± 0,23	0,56 ± 0,09	0,61 ± 0,20	>0,05	0,50 ± 0,11	0,38 ± 0,10	0,31 ± 0,07	>0,05
Gdf	1,32 ± 0,47	0,71 ± 0,19	1,00 ± 0,36	>0,05	0,62 ± 0,24	0,41 ± 0,07	0,32 ± 0,07	>0,05

Nota: Dados representados como média ± erro padrão. *p<0.05 para a comparação entre 30 e 300 dias.

TABELA 5: Níveis urinários de MCP-1/CCL2 e IL-1Ra nos grupos e subgrupos de pacientes com 30, 90 e 300 dias de transplante renal

	MCP-1/CCL2				IL1Ra			
	30 dias	90 dias	300 dias	p	30 dias	90 dias	300 dias	p
GT	7,82 ± 1,50	6,84 ± 1,17	5,76 ± 1,09	>0,05	2,58 (1,3-4,90)	2,11 (0,74-15,75)	1,44 (0,89-15,54)	>0,05
G1	9,52 ± 2,84	6,29 ± 1,30	5,97 ± 1,78	>0,05	10,24 ± 6,23	8,84 ± 5,80	18,38 ± 12,41	>0,05
G2	6,64 ± 1,65	7,22 ± 1,80	5,61 ± 1,44	>0,05	2,01 (1,16-3,75)	16,48 ± 8,52	8,88 ± 4,22	>0,05
Gdv	10,16 ± 2,19	6,66 ± 1,73	4,46 ± 1,42	0,0452 *	2,76 ± 0,61	14,74 ± 8,62	5,56 ± 2,23	>0,05
Gdf	4,45 ± 1,31	7,10 ± 1,50	7,64 ± 1,60	>0,05	12,69 ± 6,72	11,37 ± 5,79	23,17 ± 12,86	>0,05

Nota: Dados representados como média ± erro padrão ou mediana (25%-75%). *Diferença estatisticamente significativa entre 30 e 300 dias

TABELA 6: Níveis urinários de sTNFR1 e sTNFR2 nos grupos e subgrupos de pacientes com 30, 90 e 300 dias de transplante renal

	sTNFR1				sTNFR2			
	30 dias	90 dias	300 dias	p	30 dias	90 dias	300 dias	p
GT	1,05 ± 0,23	0,62 ± 0,09	0,77 ± 0,19	>0,05	0,55 ± 0,11	0,39 ± 0,06	0,32 ± 0,05	>0,05
G1	1,51 ± 0,49	0,66 ± 0,18	1,20 ± 0,40	>0,05	0,74 ± 0,25	0,25 ± 0,04	0,31 ± 0,06	>0,05
G2	0,73 ± 0,16	0,60 ± 0,11	0,47 ± 0,11	>0,05	0,42 ± 0,08	0,49 ± 0,10	0,32 ± 0,07	>0,05
Gdv	0,86 ± 0,23	0,56 ± 0,09	0,61 ± 0,20	0,0445 *	0,50 ± 0,11	0,38 ± 0,10	0,31 ± 0,07	>0,05
Gdf	1,32 ± 0,47	0,71 ± 0,19	1,00 ± 0,36	>0,05	0,62 ± 0,24	0,41 ± 0,07	0,32 ± 0,07	>0,05

Nota: Dados representados como média ± erro padrão. *Diferença estatisticamente significativa entre 30 e 300 dias.

4.4 Níveis urinários de quimiocinas e citocinas nos subgrupos com e sem rejeição aguda ou tratamento para citomegalovírus (G1 e G2)

Após avaliação das 8 substâncias em estudo nos 3 tempos previamente estabelecidos, somente o nível urinário de MIP-1 α /CCL3 apresentou diferença no subgrupo com rejeição aguda ou infecção por citomegalovírus (G1), entre 90 e 300 dias ($p=0,048$), o que não ocorreu com nenhuma outra citocina ou quimiocina. No grupo sem rejeição aguda ou infecção por citomegalovírus (G2) não houve diferença de nenhum destes fatores inflamatórios entre nenhum dos 3 momentos (TAB. 3 a 6).

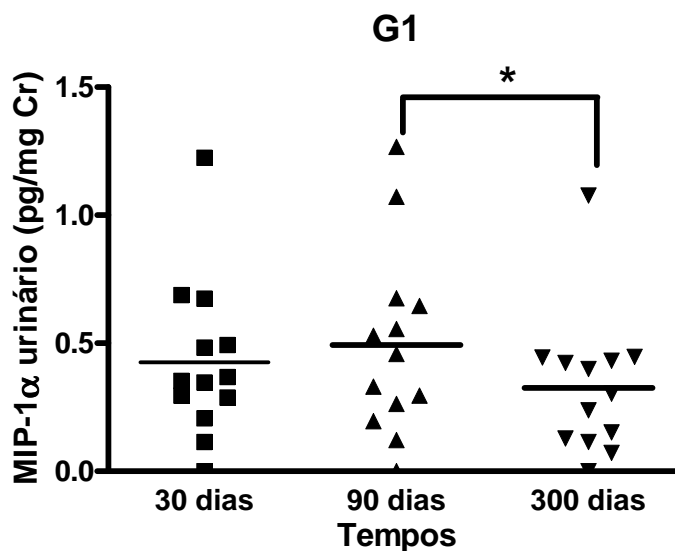


GRÁFICO 11 – Nível de MIP-1 α /CCL3 urinário em G1 com 30, 90 e 300 dias de transplante. * $p<0,05$ para a comparação do G1 aos 90 e 300 dias.

4.5 Avaliação das citocinas em relação à função renal

4.5.1 Grupo Total de Transplantados (GT)

Foi identificada uma correlação entre a função renal aos 30 dias após o transplante e os níveis de MIP-1 α /CCL3 neste mesmo período ($r=-0,46$; $p=0,0284$) ou IL-8/CXCL8 ($r=-0,66$; $p=0,0008$) no GT (GRÁFICOS 12 e 13). Não houve correlação significativa entre a

função renal 300 dias após o transplante e nenhum dos níveis de mediadores inflamatórios aos 30 dias neste mesmo grupo.

Realizando teste de regressão linear simples entre os níveis de mediadores inflamatórios aos 30, 90 e 300 dias com os *clearances* de creatinina, observaram-se valores estatisticamente significativos para MIP-1 α /CCL3 ($r^2= 0,21$; $p=0,02$) e IL-8/CXCL8 ($r^2=0,43$; $p=0,0008$) em relação ao *clearance* de creatinina 30 dias após o transplante.

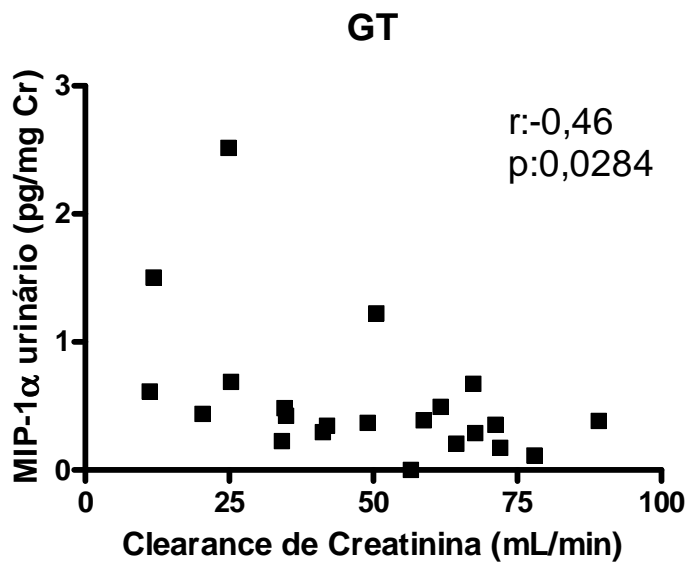


GRÁFICO 12 – Correlação entre clearance de creatinina e MIP-1 α /CCL3 urinário aos 30 dias de transplante renal no GT, avaliados pelo coeficiente de Pearson

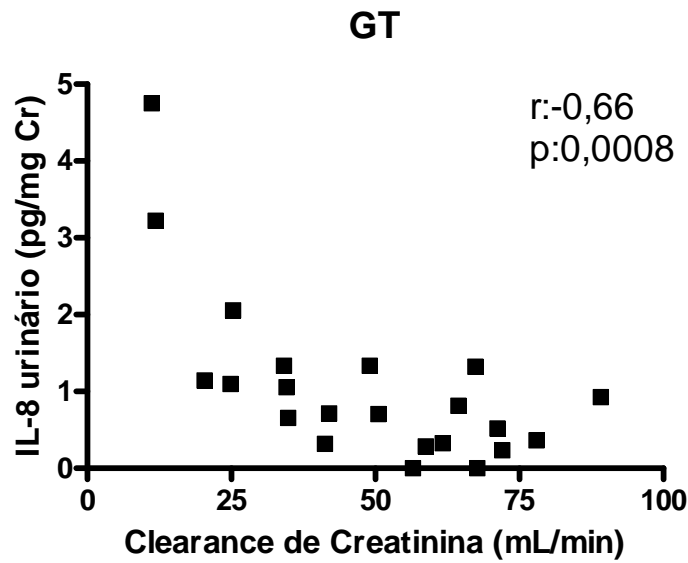


GRÁFICO 13 – Correlação entre clearance de creatinina e IL-8/CXCL8 urinário aos 30 dias de transplante renal, avaliados pelo coeficiente de Pearson

4.5.2 Subgrupo com rejeição aguda ou infecção pelo CMV (G1)

Neste subgrupo de pacientes transplantados com episódio de rejeição aguda ou doença/infecção por citomegalovírus, foi evidenciada uma correlação do clearance de creatinina aos 90 dias com o nível urinário de MIP-1 α /CCL3 aos 300 dias ($r=-0,72$; $p=0,0266$; GRÁFICO 14).

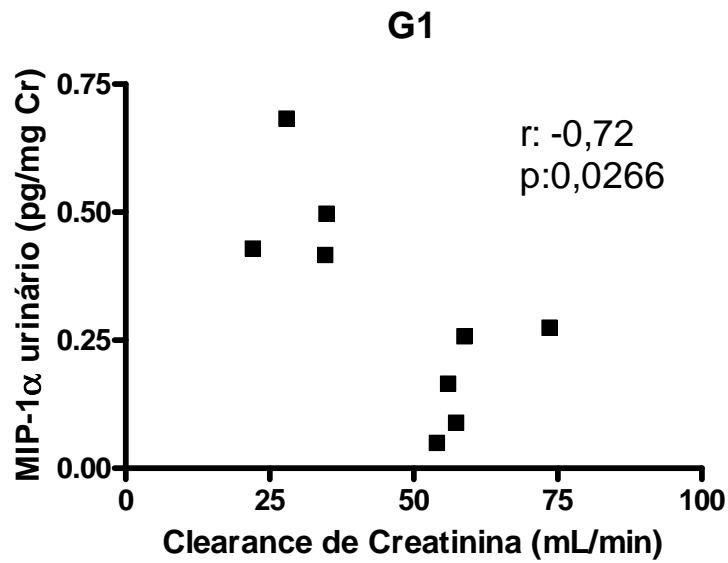


GRÁFICO 14 – Correlação entre clearance de creatinina e MIP-1 α /CCL3 urinário aos 90 dias de transplante renal no G1, avaliados pelo coeficiente de Pearson.

4.5.3 Subgrupo sem rejeição aguda ou infecção pelo CMV (G2)

Ao fazer os testes de regressão e correlação no G2, somente MIP-1 α /CCL3 aos 90 dias apresentou um coeficiente r de Spearman significativo ($r=-0,60$, $p=0,0302$ e $r^2= 0,359$ $p=0,0302$) com o clearance de creatinina neste mesmo período (GRÁFICO 15).

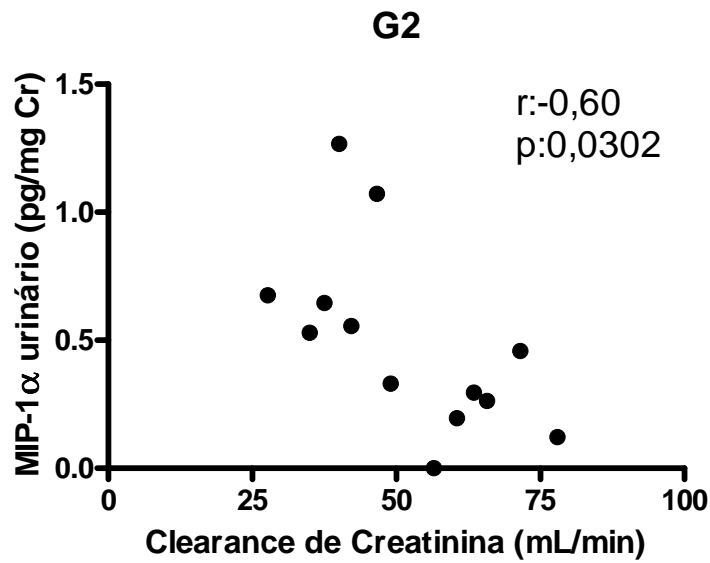


GRÁFICO 15 – Correlação entre clearance de creatinina e MIP-1 α /CCL2 urinário com 90 dias de transplante renal, avaliados pelo coeficiente de Pearson

4.5.4 Subgrupo de doador vivo (Gdv)

Neste subgrupo, o sTNF-R2 aos 30 dias apresentou significativa correlação de Pearson ($r = -0,57$; $p = 0,039$) e regressão linear ($r^2 = 0,331$; $p = 0,039$) com o *clearance* de creatinina 300 dias após o transplante (GRÁFICO 16).

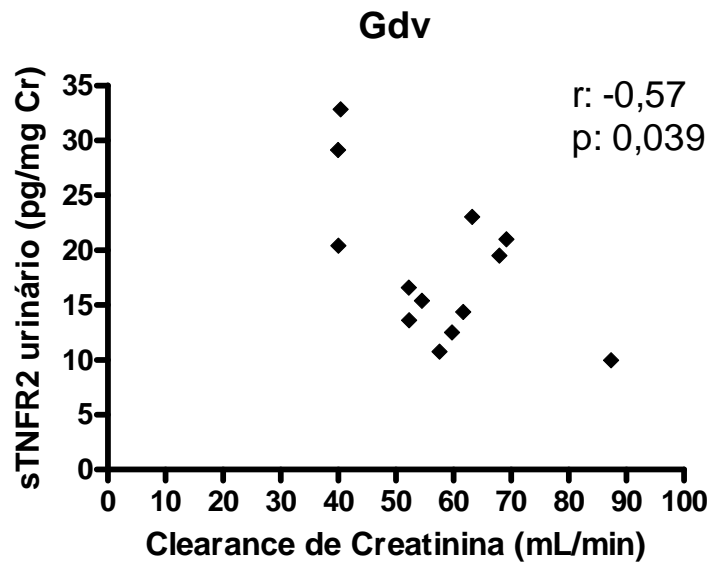


GRÁFICO 16 – Correlação entre o *clearance* de creatinina aos 300 dias e sTNFR2 urinário aos 30 dias avaliados pelo coeficiente de Pearson no Gdv

4.5.5 Subgrupo de doador falecido (Gdf)

Neste subgrupo ao se avaliar a função renal aos 300 dias, foi encontrada uma correlação com o IL1Ra aos 30 dias (Pearson $r=0,84$; $p=0,0043$) e aos 90 dias (Pearson $r=0,77$; $p=0,0133$). O *clearance* de creatinina e os níveis de IL-8/CXCL8 também apresentaram uma correlação significativa (Pearson $r=-0,689$; $p=0,0397$) aos 30 dias de transplante (GRÁFICOS 17 e 18).

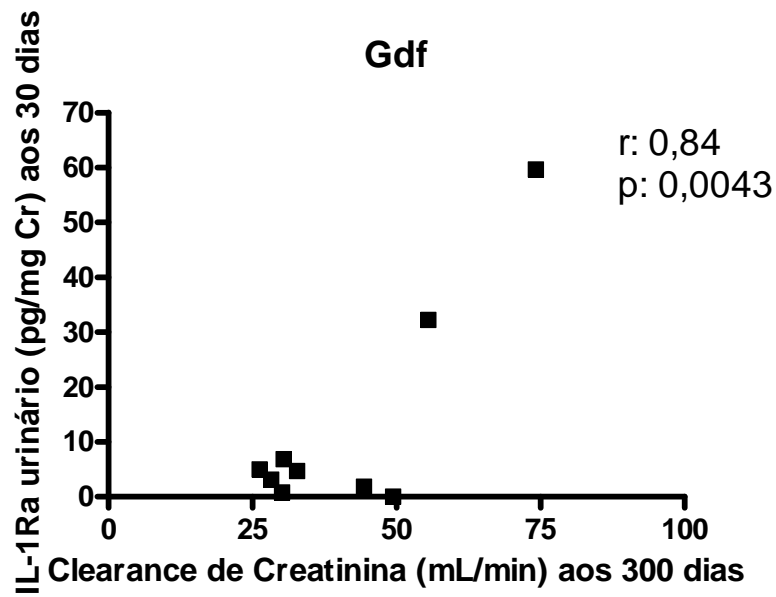


GRÁFICO 17 – Correlação entre *clearance* de creatinina aos 300 dias e IL-1Ra urinário aos 30 dias no subgrupo Gdf, avaliados pelo coeficiente de Pearson

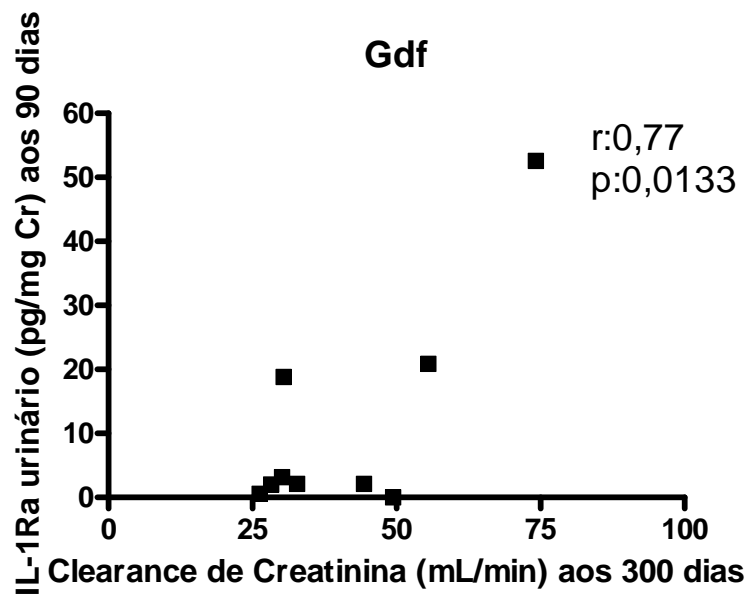


GRÁFICO 18 – Correlação entre *clearance* de creatinina aos 300 dias e IL-1Ra urinários aos 90 dias de transplante renal no Gdf, avaliados pelo coeficiente de Pearson

4.6 Comparação dos níveis de Quimiocinas e Citocinas entre os subgrupos G1 x G2 e Gdf x Gdv

Foram comparados os níveis urinários das quimiocinas e citocinas entre os subgrupos G1 e G2 nos 3 períodos de tempo estudados. Os valores foram comparados com o grupo controle. A mesma comparação foi realizada entre os subgrupos Gdv e Gdf.

Não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis urinários de IL1-Ra, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, RANTES/CCL5, sTNFR1 e sTNFR2 entre os subgrupos avaliados (TAB. 2).

Foi observada diferença estatisticamente significativa no nível urinário de MCP-1/CCL2 entre o Gdv e Gdf aos 30 dias ($p= 0,0390$).

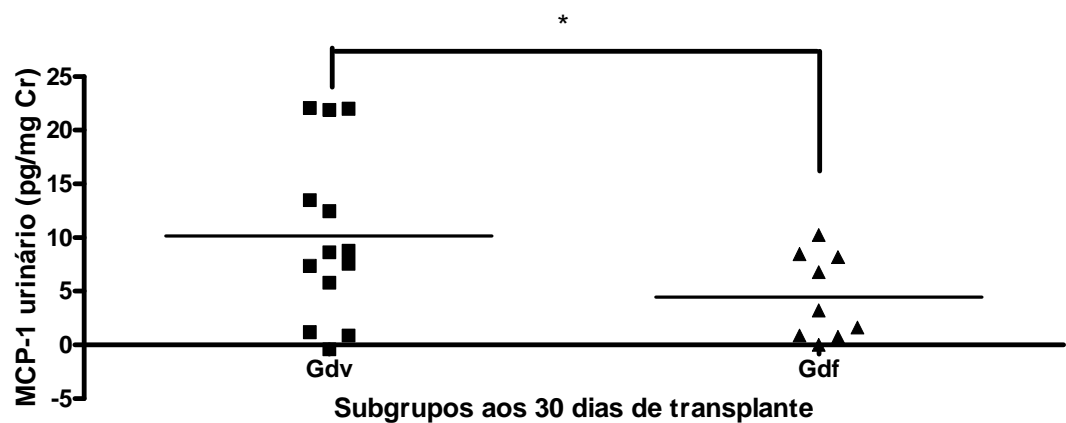


GRÁFICO 19 – MCP-1/CCL2 nos grupos Gdv e Gdf aos 30 dias de transplante renal. * $p<0.05$ para a comparação entre Gdv e Gdf.

Em relação aos níveis urinários de MIP-1 α /CCL3, apenas os grupos G1 e G2 aos 90 dias apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ($p= 0,0468$).

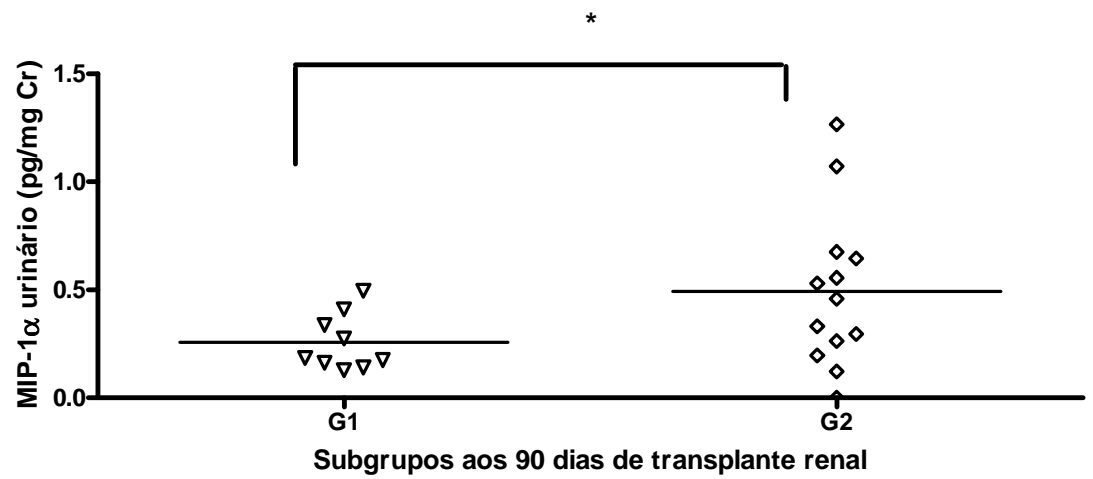


GRÁFICO 20 – MIP-1α/CCL3 nos subgrupos G1 e G2 aos 90 dias de transplante renal. * $p < 0.05$ para a comparação entre G1 e G2.

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

O transplante renal é a melhor forma de tratamento do paciente com DRC estágio 5 (FOLEY, 1998) desde que esteja apto a tal procedimento (KASISKE, 2001). Com tal procedimento, o risco de morte do receptor reduz mais de 10 vezes (FOLEY, 1998). Infelizmente, o número de transplantes renais no Brasil é bem aquém do necessário, pois existem atualmente em torno de 75000 pacientes em tratamento dialítico e há relato de apenas 3400 transplantes por ano (SESSO, 2007; RBT, 2007). Neste sentido, medidas que reduzam o número de pacientes nas listas de transplante e/ou aumentem a sobrevida do rim transplantado são de imensa valia. Dessa forma, o aumento da sobrevida do enxerto renal acarretaria em menor parcela de novos pacientes na lista de transplante renal com doador falecido. Para isto, rigoroso e pró-ativo acompanhamento do paciente transplantado seria uma eficiente forma de retardar a perda de rim transplantado.

Com esta intenção, vários trabalhos têm tentado encontrar soluções para reduzir a perda precoce do enxerto seja através de biópsia renal seriada (FURNESS, 2003) ou pela detecção de novos biomarcadores capazes de predizer a evolução do enxerto renal. Neste sentido, têm surgido alguns estudos que avaliam biomarcadores potenciais para a insuficiência renal aguda (IRA). Na prática clínica, a IRA é tipicamente diagnosticada pela mensuração da creatinina (Cr). Infelizmente, tal mensuração apresenta limitações como indicadora de alterações agudas da função renal (BELLOMO 2004). Primeiramente, a Cr não se altera até que aproximadamente 50% da função do enxerto esteja perdida. Em segundo lugar, a Cr não descreve adequadamente a função renal até que um nível estável seja alcançado, o que pode levar vários dias (DEVARAJAN 2007). Em adição ao diagnóstico precoce e predição, os biomarcadores têm várias outras propostas interessantes. São também necessários para: (a) discernir subtipos de IRA (pré-renal, intrínseca, e pós-renal); (b) identificar etiologias de IRA (isquemia, toxinas, sepse, ou uma combinação); (c) diferenciar

IRA de várias outras formas da doença (infecção do trato urinário, glomerulonefrite, nefrite intersticial); (d) predição da gravidade da IRA (estratificação de risco para prognóstico e terapia); (e) monitoramento da IRA, e (f) monitoramento da resposta a intervenções da IRA (DEVARAJAN 2007). Estudos recentes têm proposto a utilização de N-GAL, IL-18 e KIM-1 (PARIKH, 2006; DEVARAJAN, 2007). A identificação de novos biomarcadores de IRA tem sido considerada prioridade pela Sociedade Americana de Nefrologia (ASN 2005).

As características desejáveis de um biomarcador clinicamente aplicável incluem:

(a) não serem invasivos, com fácil realização, utilizando material mais acessível como urina e sangue; (b) a mensuração deve ser rápida, exequível e padronizada; (c) devem ser altamente sensíveis para detecção precoce; (d) devem ser altamente específicos, permitindo detecção de etiologias e subtipos (DEVARAJAN 2007).

Nesse contexto, tendo em vista a importância do sistema imune nos processos de rejeição e nas complicações relacionadas ao transplante renal (CORNELL 2008), as dosagens de mediadores imunológicos tais como as quimiocinas e citocinas em pacientes transplantados configuram-se como biomarcadores em potencial. Sendo assim, é possível que alterações nos níveis urinários desses mediadores sugiram a presença de complicações que possam requerer intervenções terapêuticas oportunas no sentido de evitar a perda do enxerto. Ressalta-se ainda que poucos estudos na literatura avaliam mediadores do sistema imune em pacientes submetidos a transplante renal (ALAKULPPI, 2004; AL-LAMKI, 2001; BAER, 2005; BENIGNI, 1999; BORATYNSKA, 2006; idem, 1999; CARDONI, 2005; CISZEK, 2006; CITTERIO, 2004; CLARKE, 2003; DALLMAN, 1995; DEVARAJAN, 2007; DI PAOLO, 1997; FRADE, 1997; GESUALDO, 1996; GOUMENOS, 2003; GRANDALIANO, 1997; HAUSER, 2005; HELANTERA, 2005; HU, 2004; idem, 2006; JIMENEZ, 2005; KANMAZ, 2004; KRENSKY, 2007; KRENSKY, 1999; MANNON, 1993; MATL, 2005; MATZ, 2006; NORDOY, 2000; PATTISON, 1994; PRODJOSUDJADI, 1996; ROBERTI, 2001,

ROBERTSON, 2000; SADEGHI, 2005; SEGERE, 1999; SIBBRING, 1998; SMITH, 2000; SONG, 2002; SORRENTINO, 2005; SOULE, 2006; STREHLAU, 1997; SUTHATHIRAN, 1997; TATAPUDI, 2004; TEPPPO, 2004; TINCKAM, 2005; TSAKAS, 2006; VIOLA, 2008; WANG, 2006; WOLTMAN, 2005; YAMADA, 2003), principalmente em relação às medidas urinárias destas substâncias (SIBBRING, 1998; HAUSER, 2005; KANMAZ, 2004; HU, 2004; PRODJODSUDJADI, 1996; SADEGHI, 2005; WOLTMAN, 2005; SMITH, 2000; DI PAOLO, 1997; MATZ, 2006; CISZEK, 2006; KOTSCH, 2004; BAER, 2005; BORATYNSKA, 2006; YAMADA, 2003; GRANDALIANO, 1997). Neste contexto, fica clara a importância do presente estudo, no qual foram avaliados os níveis urinários de 8 quimiocinas e citocinas em diferentes momentos durante a evolução do transplante renal de 22 pacientes .

A seguir, discutiremos os principais resultados obtidos neste estudo, confrontando-os com dados da literatura em relação a cada quimiocina/citocina avaliada.

5.1 Características gerais

A comparação dos pacientes transplantados, como um todo ou mesmo divididos em subgrupos, com os controles saudáveis mostrou características clínicas gerais similares no que se refere à idade, peso e sexo, possibilitando boa avaliação comparativa. Como já esperado pela afecção renal presente, houve diferença de função renal entre os transplantados e hígidos. Assim também se portaram os receptores em relação ao tipo de doador em todos os tempos estudados, como presentes dados da literatura (MEDINA-PESTANA, 2007). Surpreendentemente, a presença de rejeição aguda e/ou a infecção pelo citomegalovírus não apresentaram diferença significativa do clearance de creatinina em relação à ausência dessas alterações, contrapondo resultados obtidos em outros estudos (TESI, 1993; FERGUSON, 1994; FLECHNER, 1996). Talvez esta similaridade seja decorrente do pequeno número de pacientes do presente estudo.

5.2 Citocinas em transplantados e controles

A menor concentração urinária de IL-8/CXCL8, MCP-1/CCL2, IL-1Ra, sTNFR1 e sTNFR2 foi notada nos hígidos em relação aos transplantados. Por outro lado, os níveis urinários de RANTES/CCL5 foram maiores nos controles e não houve diferença estatística para IP-10/CXCL10 e MIP-1 α /CCL3 em relação aos transplantados. Era esperado que maior parte, senão todas, as citocinas apresentassem menor nível urinário nos controles, por não terem o fator imunogênico do rim transplantado. Entretanto, RANTES/CCL5 comportou-se de forma diferente, sugerindo uma possível inibição de seus níveis urinários pela imunossupressão medicamentosa. Em relação à ausência de diferença de IP-10/CXCL10 e MIP-1 α /CCL3 em controles e transplantados, não se pode excluir o tamanho reduzido da amostra, embora também essas quimiocinas possam ter sido afetadas pela imunossupressão. De toda forma, nossos resultados mostram claramente a imunorregulação diferencial que ocorre nos transplantados em relação a controles hígidos pareados por idade e sexo.

5.3 IL-8/CXCL8

IL-8/CXCL8 foi o primeiro quimiotraente leucócito subtipo seletivo a ser descoberto, tornando-se, portanto, um marco na história da imunologia (YOSHIMURA, 1987; WALZ, 1987). Sua descoberta estimulou a procura de funções de outras quimiocinas e novos membros das famílias. Recrutando principalmente neutrófilos e macrófagos, IL-8/CXCL8 age em receptores CXCR1 e CXCR2 (ABBAS, 2003). Vários artigos relacionam sua participação em grande variedade de doenças com acometimento renal glomerular e intersticial, de origem sistêmica ou não (TSAI, 2000; YOKOYAMA, 1998; TASHIRO, 2002; LONNEMANN, 1995; HSIEH, 2008; YOO, 2007; HUANG, 2001; SOUTO, 2008). No transplante renal, estudos relacionam sua excreção urinária com a presença de rejeição aguda e bacteriúria assintomática (SIBBRING, 1998; SMITH, 2000; SADEGHI, 2005; CISZEK, 2006). Seu nível sangüíneo e expressão tissular, entretanto, não apresentam relação com rejeição aguda

ou NCE (OLIVEIRA, 1997). Neste presente trabalho foi possível correlacionar a função renal no primeiro mês de transplante com o nível urinário de IL-8/CXCL8, o que não foi verificado em nenhum dos trabalhos anteriores. Tal observação nos indica a importância da supressão desta citocina para manutenção de um bom clearance de creatinina, e nos permite inferir a participação dos receptores CXCR1 e CXCR2 na fisiologia do transplante renal.

5.4 MCP-1/CCL2

MCP-1/CCL2 apresenta como único receptor de leucócito o CCR2. Esta quimiocina é importante na inflamação e tem sido detectada em monócitos, células T de memória ativadas, células B e basófilos (FRADE, 1997; RABIN, 1999). No transplante renal, MCP-1/CCL2 ocorre em biópsias renais e sangue de pacientes (ROBERTSON, 2000; RUSTER, 2004; JIMENEZ, 2005) com rejeição aguda ou nefropatia crônica do enxerto e infecção pelo CMV (NORDOY, 2000; SOULE, 2006). Os trabalhos não demonstram consenso em relação ao aumento dos níveis sanguíneos e da expressão histológica desta quimiocina perante a RA ou a NCE (ROBERTSON, 2000; OLIVEIRA, 1997; RUSTER, 2004; KRUGER, 2002; JIMENEZ, 2005). No entanto, vários estudos mostraram aumento de excreção urinária na rejeição aguda (PRODJOSUDJADI, 1996; GRANDALIANO, 1996). Também em presença de infecção pelo CMV, há aumento sanguíneo e tissular desta citocina (NORDOY, 2000; SOULE, 2006), e elevação dos níveis urinários na doença de poliomavírus (BORATYNSKA, 2006). Por outro lado, nenhum estudo até o momento relacionou este fator inflamatório com a função renal. Contrastando com os dados da literatura, o presente estudo não encontrou influência da rejeição aguda e/ou infecção pelo CMV nos níveis urinários de MCP-1/CCL2. Entretanto, ao avaliar a origem do doador, surpreendentemente aqueles com doadores falecidos apresentaram menor excreção desta quimiocina após o primeiro mês de transplante, o que não permaneceu no período intermediário e tardio (90 e 300 dias). Tal diferença talvez seja devida à maior imunossupressão aplicada aos pacientes com doador

falecido, uma vez que são mais imunogênicos, no intuito de reduzir a possibilidade de rejeição aguda. Reforçando esta idéia, foram somente aqueles pacientes com doador vivo que apresentaram redução significativa da excreção de MCP1/CCL2 entre o período inicial e final estudado

5.5 IL-1Ra

IL1 é uma molécula de 17kD em sua forma ativa, produzida principalmente por fagócitos mononucleares e induzida por produtos bacterianos como lipopolissacárides e por outras citocinas como TNF (ABBAS, 2003). Também é produzida por várias outras células como neutrófilos, células epiteliais, tubulares renais, mesangiais, linfócitos T e B, e endoteliais. Células do parênquima renal expostas a IL-1 produzem TNF- α , IL-6, IL-8/CXCL8 e aumentam a expressão de ICAM-1 (molécula de adesão intercelular 1) e VCAM-1 (molécula de adesão vasocelular 1) (ATKINS, 1995; ABBOTT, 1991; SEVENTER, 1991). Fibroblastos, neutrófilos e fagócitos mononucleares produzem um inibidor natural e estruturalmente homólogo de IL-1. O IL-1Ra liga-se aos mesmos receptores de IL-1, mas é biologicamente inativo, funcionando, portanto, como um inibidor competitivo de IL-1. Também denominado antagonista de receptor de IL-1 (IL-1Ra), é considerado um regulador endógeno da ação do IL-1 (ABBAS, 2003). IL-1 é produzida durante rejeição celular aguda (KERR, 1994; MANNON, 1993), e IL-1Ra parece antagonizar todas as ações de IL-1 (ATKINS, 1995). Alguns estudos no transplante renal demonstram maior expressão tissular de IL-1Ra na RA, sem alteração na NCE, e redução com uso de inibidor de RANTES/CCL5 (OLIVEIRA, 1997; GRONE, 1999). Sua excreção urinária foi demonstrada aumentada na presença de bacteriúria assintomática (SADEGHI, 2005).

Neste estudo, doador falecido foi fator para correlação entre seu nível urinário de IL1-Ra no primeiro e terceiro mês após o transplante com a função renal aos 10 meses de transplante, o que não foi demonstrado anteriormente na literatura. Considerando que o

transplante renal com doador falecido é mais imunogênico, imunossupressão mais ativa geralmente é usada em relação àqueles com doador vivo. Sendo a IL-1 uma citocina importante no início da cadeia imunológica da rejeição, provavelmente seu aumento ou baixo nível de seu antagonista no órgão transplantado seria fator de risco para a perda do enxerto. Portanto, o nível de IL-1ra seria importante preditor de função renal neste grupo de pacientes.

5.6 TNF

O Fator de Necrose Tumoral (TNF) é o principal mediador de respostas inflamatórias agudas a bactérias gram negativas e outros agentes infecciosos, sendo responsável por várias das complicações de infecções graves (ABBAS, 2003). Sua maior produção é através de fagócitos mononucleares, apesar de células T estimuladas por antígenos, células NK, e mastócitos também secretarem esta proteína. O mais potente estímulo para produção de TNF pelos macrófagos é o LPS (lipopolissacáride), liberado em grande quantidade por infecções bacterianas por gram negativos. IFN- γ , produzido por células T e NK, aumenta a síntese de TNF por macrófagos estimulados por LPS. Existem dois receptores distintos de TNF com 55kD (TNFR1) e 75kD (TNFR2). Apesar de ser uma quimiocina, TNF apresenta afinidade incomumente baixa por seus receptores, presentes em quase todos os tipos celulares (ABBAS, 2003). No transplante renal, células efetoras mediam a citotoxicidade secretando TNF. Este tem ação em células vizinhas por meio do receptor TNFR1, em células endoteliais. O receptor TNFR2 atua em células tubulares durante episódios de rejeição (AL-LAMKI, 2001). Em ratos, com deleção genética de ambos receptores de TNF apresentam maior sobrevida do enxerto. A ausência de TNFR1 no animal receptor também prolonga a sobrevida do enxerto, indicando que outro papel do TNF é a comunicação entre as células (SUZUKI, 2003).

Em pacientes transplantados renais, tem sido encontrado aumento da excreção de TNF na urina durante episódios de rejeição aguda (SMITH, 2000). Neste trabalho,

encontramos progressiva redução da excreção de TNFR1 no intervalo avaliado quando o transplante era com doador vivo. Por outro lado, isto não foi encontrado no mesmo procedimento com doador falecido, apesar de ser mais imunogênico por características do enxerto como o maior tempo de isquemia fria. Também neste grupo, houve correlação entre a excreção urinária de TNFR2 no período inicial do transplante e a função renal ao final do tempo de acompanhamento, sugerindo que quanto maior a excreção desta quimiocina ao início do transplante, menor será o clearance de creatinina durante o seguimento. TNFR2 está presente nas células tubulares, as quais são os alvos das rejeições de menor classificação de BANFF, enquanto o TNFR1 encontra-se nas células endoteliais acometidas em somente 25 a 40% das rejeições celulares agudas (MENGEL, 2007). Baseado neste dado, talvez uma inflamação intersticial inicial seja responsável por lesões cicatriciais que determinarão redução da função renal aos 10 meses de transplante.

5.7 RANTES/CCL5

RANTES/CCL5 (“regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted”) foi identificado por “screening” de hibridização subtrativa de genes expressos por linfócitos T humanos 3 a 5 dias após ativação (SCHALL, 1988). A importância do RANTES/CCL5 em doenças renais foi primeiramente verificada em um estudo de transplantados renais com rejeição (PATTISON, 1994). Esta quimiocina é quimiotraente para linfócitos T, monócitos, células NK, basófilos, eosinófilos, e pode também ativar células do sistema imune. Neste contexto, o mecanismo de expressão tardia é interessante para perspectivas biológicas e farmacêuticas (KRENSKY, 1999). Os enxertos renais rejeitados apresentam grande quantidade de RANTES/CCL5 ligado ao endotélio vascular ao contrário dos controles. Sabe-se hoje que RANTES/CCL5 é liberado de células do parênquima em tecidos lesionados, liga-se a glicosaminoglicanos no endotélio, onde funciona como um sinal para o recrutamento de células imunes (KRENSKY, 2007).

Em transplantados renais, os resultados são conflitantes sobre sua expressão tissular na rejeição aguda (PATTISON, 1994; ROBERTSON, 2000), apesar de influência do polimorfismo sangüíneo (KRUGER, 2007) e do nível estável sérico na própria RA (BAER, 2005) e na lesão de isquemia e reperfusão do enxerto (ARAKI, 2006). Com o uso de inibidores de RANTES, MET-RANTES (GRONE, 1999) e BX471 (HORUK, 2001), há uma redução de sua expressão em biópsias renais, mantendo-se inalterado em resposta ao uso de IECA (NORIS, 2003). O uso de estatinas também se apresenta como redutor do nível sangüíneo do RANTES/CCL5 (LI, 2006). Em doença por CMV, ocorre elevação de sua expressão tissular (SOULE, 2006), assim como na nefrotoxicidade por ciclosporina (BENIGNI, 1999). Existem pouco estudos que avaliam seus níveis na urina e, alguns deles, são conflitantes na sua relação com a rejeição aguda (BAER, 2005; KOTSCH, 2004).

Neste estudo, entre as 8 citocinas estudadas, RANTES/CCL5 foi a única que apresentou menor excreção nos transplantados em relação ao grupo controle, sem diferença estatística em nenhuma das outras avaliações realizadas. Até mesmo a presença de infecção por CMV e de RA não influenciou em seus níveis. Uma possível explicação para este achado seria sua pronta resposta a imunossupressão utilizada como observada na comparação com o grupo controle, com tal força que nem mesmo estímulos inflamatórios de CMV e RA poderiam alterá-la nestes primeiros 10 meses estudados. Talvez a dosagem das citocinas exatamente no momento destes eventos relatados mostraria uma diferença significativa

5.8 IP-10/CXCL10

IP-10/CXCL10 (proteína 10 induzível por interferon- γ) é uma das quimiocinas que age no receptor CXCR3 de linfócitos T helper 1, assim como I-TAC/CXCL11 e MIG/CXCL9 (VIOLA, 2008). Na indução da resposta inflamatória do transplante, há um estímulo à produção desta linhagem de células T com seus receptores CXCR3 e CCR5 (CARDONI, 2005). Vários estudos demonstram aumento de sua expressão em biópsias renais com rejeição

aguda (JIMENEZ, 2005), lesão de isquemia e reperfusão (ARAKI, 2006), glomerulopatia do transplante (AKALIN, 2003) e doença por CMV (SOULE, 2006). Seu nível sanguíneo pré-transplante parece ser preditor da função do enxerto (ROMAGNANI, 2005). Sua excreção urinária é aumentada durante episódios de rejeição aguda (HU, 2004; KANMAZ, 2004; HAUSER, 2005), sendo preditor deste acometimento (HAUSER, 2005; TATAPUDI, 2004), e controle de seu tratamento (HU, 2004; HAUSER, 2005). Além disso, seu nível urinário médio no 1º mês pós-transplante é considerado preditor da função do enxerto com 3 e 6 meses (MATZ, 2006). Apesar de tantos trabalhos demonstrando sua relação com o transplante renal, não conseguimos achar diferença estatisticamente significativa em nenhuma das situações avaliadas, nem mesmo entre os transplantados e os hígidos. Como esta citocina tem-se mostrado um preditor precoce da rejeição com pronta melhora após resposta a tratamento, talvez 30 dias seja um período muito longo para detectar suas alterações. É provável que detectássemos alterações em seus níveis se tais dosagens fossem realizadas na 1ª ou 2ª semana pós-transplante.

5.9 MIP-1 α /CCL3

MIP-1 α /CCL3 (proteína inflamatória de macrófago 1 α), assim como o RANTES/CCL5, age em receptores CCR1 e CCR5, tendo ações semelhantes. Tais quimiocinas agem, portanto, em monócitos, células T helper 1, NK, de memória e regulatórias (VIOLA, 2008). Em biópsias renais, sua expressão não apresenta aumento em presença de rejeição aguda (ROBERTSON, 2000; OLIVEIRA, 1997), enquanto na NCE isto acontece (OLIVEIRA, 1997). Não existem relatos publicados de sua dosagem urinária em transplantados, ao contrário de outras afecções renais (SAKAI, 2002). Neste estudo, esta foi a única citocina que apresentou redução significativa entre dois dos três tempos estudados, especificamente entre o 1º e 10º mês, no grupo de transplantados como um todo. Também neste pacientes houve correlação significativa entre seus níveis e a função renal no início do

período estudado. A presença de RA e/ou infecção pelo CMV foi fator determinante em sua redução entre o período intermediário e final estudado. No 3º mês, a presença destes fatores influenciou em sua menor excreção. Quanto melhor a função renal neste mesmo momento, menor o seu nível aos 10 meses. Teoricamente aqueles com menor quantidade de fatores inflamatórios, os que não apresentam CMV e RA, aos 3 meses demonstraram uma correlação entre seu nível e a função renal. Apesar de poucos relatos na literatura, esta quimiocina apresentou resultados promissores no presente estudo, indicando sua participação na evolução do transplante renal como preditor da função renal e marcador do estado inflamatório do enxerto.

Em resumo, MIP-1 α /CCL3, IL-8/CXCL8, sTNFR2 e IL-1Ra apresentaram correlação com a função renal em algum dos períodos pós transplante. MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2 e sTNFR1 alteraram durante o seguimento dos pacientes transplantados de diferentes formas de acordo com a presença de RA, infecção pelo CMV e tipo de doador. RANTES e IP-10/CXCL10 urinários foram constantes nestes pacientes estudados. Finalmente, este estudo corrobora a idéia de que quimiocinas e citocinas urinárias possam se constituir em biomarcadores urinários para o transplantado renal no futuro.

CONCLUSÃO E LIMITAÇÃO

6 CONCLUSÕES E LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Devido ao tardio diagnóstico da lesão renal aguda, tem sido relatado novos biomarcadores urinários de injúria como KIM-1 e NGAL. Entretanto, estes são resultantes de alterações da arquitetura renal. Marcadores inflamatórios renais com a possibilidade de prever futura lesão devido ao início de infiltração leucocitária renal não estão bem definidos. Tais marcadores, principalmente urinários, são pouco estudados.

Este estudo demonstrou que as quimiocinas e citocinas urinárias podem realmente refletir e prever funções e rejeições do enxerto, comportando-se como mais uma ferramenta no controle dos transplantados renais. É possível que não apenas uma substância seja importante na avaliação dos pacientes transplantados, mas um conjunto delas que seriam utilizadas para uma melhor predição não invasiva do estado do enxerto renal.

Neste contexto, o presente estudo mostrou que além de MIP-1 α /CCL3, MCP-1/CCL2 e sTNFR1 alteraram durante o seguimento dos pacientes transplantados de diferentes formas. Além disso, MIP-1 α /CCL3, sTNFR2 e, principalmente, IL-1Ra nos pacientes com doadores falecidos e IL-8/CXCL8 nos transplantados em geral, apresentaram boa correlação com a função renal em algum dos períodos pós transplante. Embora não tenham sido detectadas alterações nos níveis urinários de importantes citocinas inflamatórias como IP-10/CXCL10 e RANTES/CCL5, provavelmente em função do período de avaliação, fica clara a necessidade de estudos adicionais no intuito de determinar a utilidade prática da determinação desses importantes biomarcadores.

Tais resultados deste trabalho demonstram que as quimiocinas e citocinas urinárias podem realmente refletir e prever funções e a rejeição do enxerto renal, comportando se como mais uma ferramenta no controle clínico e laboratorial destes pacientes, já demonstrados em outros estudos. Por outro lado, conclusões definitivas devem ser consideradas com cautela tendo em vista o número reduzido de pacientes estudados.

7 REFERÊNCIAS

1. Abbas K. Abul, Lichtman H. Andrew. Cytokines. Cellular and Molecular Immunology. 5th Edition. 2003; 243-274
2. Abbott F, Ryan JJ, Ceska M, Matsushima K, Sarraf CE, Rees AJ. Interleukin-1 beta stimulates human mesangial cells to synthesize and release interleukin-6 and -8. *Kidney Int* 1991; 40: 597
3. Afzali B, Taylor AL, Goldsmith DJA. What we CAN do about chronic allograft nephropathy: Role of immunosuppressive modulations. *Kidney Int* 2005; 68; 2429–2443
4. Akalin E, Dikman S, Murphy B, Bromberg JS, Hancock. Glomerular infiltration by CXCR3+ ICOS+ activated T cells in chronic allograft nephropathy with transplant glomerulopathy. *American Journal of Transplantation* 2003; 3: 1116-1120
5. Alakulppi NS, Kyllönen LE, Jäntti VT, Matinlauri IH, Partanen J, Salmela KT, et al. Cytokine Gene Polymorphisms and Risks of Acute Rejection and Delayed Graft Function after Kidney Transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 1422-1428
6. Al-Lamki RS, Wang J, Skepper JN, Thiru S, Pober JS, Bradley JR. 2001. Expression of tumor necrosis factor receptors in normal kidney and rejecting renal transplants. *Lab. Invest.* 81:1503–15
7. American Society of Nephrology: American Society of Nephrology Renal Research Report. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:1886–1893
8. Araki M, Fahmy N, Zhou L, Kumon H, Krishnamurthi V, Goldfarb D, et al. Expression of IL-8 during reperfusion of renal allografts is dependent on ischemic time. *Transplantation* 2006; 81(5):783-788

9. Atkins RC. Interleukin-1 in crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995; 48: 576-586
10. Baer PC, Koziolok M, Fierlbeck W, Geiger H. CC-chemokine RANTES is increased in serum and urine in the early post-transplantation period of human renal allograft recipients. *Kidney Blood Press Res.* 2005; 28(1):48-54
11. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Defining acute renal failure: physiological principles. *Intensive Care Med* 2004; 30:33–37
12. Benigni A, Bruzzi I, Mister M, Azzollini N, Gaspari F, Perico N, et al. Nature and mediators of renal lesions in kidney transplant patients given cyclosporine for more than one year. *Kidney Int.* 1999; 55 (2): 674-685
13. Bohman SO, Wilczek HE, Reinholt FP, von Willebrand E, Häyry P. Immunopathological patterns in long-term renal allografts. *Transplantation* 1991; 51(3): 610-613
14. Boratynska M, Dubinski B, Rybka K, Jezior D, Szyber P, Klinger M. Immunocytological Urinalysis and Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Renal Transplant Recipients With Polyomavirus Replication. *Transplantation Proceedings.* 2006; 38: 151-154
15. Boratynska M. Urine excretion of transforming growth factor-beta 1 in chronic allograft nephropathy. *Ann Transplant* 1999; 4: 23–28
16. Cardoni RL, Prigoshin N, Tambutti ML, Ferraris JR. Regulatory cytokines in the response to the allogeneic renal transplant. *MEDICINA* 2005; 65 (1): 54-62
17. Cizek M, Paczek L, Bartłomiejczyk I, Mucha K. Urine Cytokines Profile in Renal Transplant Patients with Asymptomatic Bacteriuria. *Transplantation* 2006; 81 (12): 1653-1657

18. Citterio F, Pozzetto U, Romagnoli J, Tondolo E, Silvestri P, Nanni G, Castagneto M. plasma levels of Transforming Growth Factor- β 1 in Renal Transplant Recipients Receiving Different Immunosuppressive Regimens. *Transplantation Proceedings* 2004; 36: 698-699
19. Clarke W, Silverman BC, Zhang Z, Chan DW, Klein AS, Molmenti EP. Characterization of renal allograft rejection by urinary proteomic analysis. *Ann Surg* 2003; 237 (5): 660-664
20. Colvin RB. The renal allograft biopsy. *Kidney Int* 1996; 50 (3): 1069-1082.
21. Cornell LD, Smith RN, Colvin RB. Kidney transplantation: mechanisms of rejection and acceptance. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2008; 3:189-220
22. Dallman MJ. Cytokines and transplantation: Th1/Th2 regulation of the immune response to solid organ transplants in the adult. *Curr Opin Immunol* 1995; 7 (5): 632-638
23. Devarajan P. Emerging Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Contrib Nephrol. Basel, Karger, 2007; 156: 203-212*
24. Di Paolo S, Gesualdo L, Stallone G, Ranieri E, Schena FP. Renal expression and urinary concentration of EGF and IL-6 in acutely dysfunctioning kidney transplanted patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2687-2693
25. Dufour JH, Dziejman M, Liu MT, Leung JH, Lane TE, Luster AD. IFN-gamma-inducible protein 10 (IP-10;CXCL10)-deficient mice reveal a role for IP-10 in effector T cell generation and trafficking. *J Immunol* 2002; 168:3195-3204
26. Ferguson RM. Acute rejection episodes – Best predictor of long-term primary cadaveric renal transplant survival. *Clin Transplant* 1994; 8: 328-331

27. Flechner SM, Modlin CS, Serrano DP, Goldfarb DA, Papajcik D, Mastroianni B, et al. Determinants of chronic renal allograft rejection in cyclosporine-treated recipients. *Transplantation*. 1996; 62 (9): 1235-1241
28. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998; 32 (suppl 3): S112-S119
29. Frade JM, Mellado M, del Real G, Gutierrez-Ramos JC, Lind P, Martinez-AC. Characterization of the CCR2 chemokine receptor: Functional CCR2 receptor expression in B cells. *J Immunol* 1997; 159: 5576–5584
30. Furness PN, Philpott CM, Chorbajian MT, Nicholson ML, Bosmans JL, Corthouts BL, et al. Protocol biopsy of the stable renal transplant: a multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation* 2003; 76 (6): 969-973
31. Gerard C, Rollins BJ. Chemokines and disease. *Nat Immunol* 2001; 2 (2): 108 - 115
32. Gesualdo L, Di Paolo S, Calabro A, Milani S, Maiorano E, Ranieri E, et al. Expression of epidermal growth factor and its receptor in normal and diseased human kidney. An immunohistochemical and in situ hybridization study. *Kidney Int* 1996; 49: 656–665
33. Goumenos DS, Tsakas S, Savidaki I, Kalliakmani P, Karavias D, Karatzas T, Vlachojannis JG: Urinary transforming growth factor (TGF- β 1) excretion in renal allograft recipients during the early post-transplantation period. *Ren Fail* 2003; 25: 561–568
34. Gourishankar S, Halloran PF. Late deterioration of organ transplants: a problem in injury and homeostasis. *Curr Opin Immunol* 2002; 14 (5): 576-583

35. Grandaliano G, Di Paolo S, Monno R, Stallone G, Ranieri E, Pontrelli P, et al. Protease-activated receptor 1 and plasminogen activator inhibitor 1 expression in chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2001; 72: 1437-1443
36. Grandaliano G, Gesualdo L, Ranieri E, Monno R, Stallone G, Schena FP. Monocyte chemotactic peptide-1 expression and monocyte infiltration in acute renal transplant rejection. *Transplantation* 1997; 63 (3): 414-420
37. Grone H-J, Weber C, Weber KSC, Grone EF, Rabelink T, Klier CM, et al. MET-RANTES reduces vascular and tubular damage during acute renal transplant rejection: blocking monocyte arrest and recruitment. *FASEB J* 1999; 13:1371-1383
38. Hauser IA, Spiegler S, Kiss E, Gauer S, Sichler O, Scheuermann EH, et al. Prediction of acute renal allograft rejection by urinary monokine induced by IFN-gamma (MIG). *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (6): 1849-1858
39. Helanterä I, Teppo A-M, Koskinen P, Törnroth T, Grönhagen-Riska C, Lautenschlager I. Increased urinary excretion of transforming growth factor- β 1 in renal transplant recipients during cytomegalovirus infection. *Transplant Immunology* 2006; 15: 217-221
40. Horuk R, Shurey S, Ng HP, May K, Bauman JG, Islam I, et al. CCR1-specific non-peptide antagonist: efficacy in a rabbit allograft rejection model. *Immunology Letters* 2001; 76:193-201
41. Hsieh SC, Wu TH, Tsai CY, Li KJ, Lu MC, Wu CH, et al. Abnormal in vitro CXCR2 modulation and defective cationic ion transporter expression on polymorphonuclear neutrophils responsible for hyporesponsiveness to IL-8 stimulation in patients with active systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2008; 47(2):150-157

42. Hu H, Aizenstein BD, Puchalski A, Burmania JA, Hamawy MM, Knechtle SJ. Elevation of CXCR3-binding chemokines in urine indicates acute renal-allograft dysfunction. *Am J Transplant* 2004; 4 (3): 432-437.
43. Hu H, Knechtle SJ. Elevation of multiple cytokines/chemokines in urine of human renal transplant recipients with acute and chronic injuries: potential usage for diagnosis and monitoring. *Transplantation Reviews* 2006; 20: 165-171
44. Huang F, Horikoshi S, Kurusu A, Shibata T, Suzuki S, Funabiki K, et al. Urinary levels of interleukin-8 (IL-8) and disease activity in patients with IgA nephropathy. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2001; 15(1):30-34
45. Isoniemi HM, Krogerus L, von Willebrand E, Taskinen E, Ahonen J, Häyry P. Histopathological findings in well-functioning, long-term renal allografts. *Kidney Int* 1992; 41 (1): 155-160
46. Jimenez R, Ramírez R, Carracedo J, Agüera M, Navarro D, Santamaría R, et al. Cytometric bead array (CBA) for the measurement of cytokines in urine and plasma of patients undergoing renal rejection. *Cytokine* 2005; 32 (1): 45-50
47. Kanmaz T, Feng P, Torrealba J, Kwun J, Fechner JH, Schultz JM, et al. Surveillance of acute rejection in baboon renal transplantation by elevation of interferon-gamma inducible protein-10 and monokine induced by interferon-gamma in urine. *Transplantation* 2004; 78 (7): 1002-1007
48. Kasiske BL, Cangro CB, Hariharan S, Hricik DE, Kerman RH, Roth D, et al. The Evaluation of Renal Transplant Candidates: Clinical Practice Guidelines. *American Journal of Transplantation* 2001; Suppl. 1: (2): 5-95
49. Kerr PG, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY, Rainone S, Tesch G, Atkins RC. Deoxyspergualin suppresses local macrophage proliferation in renal allograft rejection. *Transplantation* 1994; 58: 596-601

50. Knight RJ, Burrows L, Bodian C. The influence of acute rejection on long-term renal allograft survival: a comparison of living and cadaveric donor transplantation. *Transplantation* 2001; 72 (10): 69-76
51. Kotsch K, Mashreghi MF, Bold G, Tretow P, Beyer J, Matz M, et al. Enhanced granulysin mRNA expression in urinary sediment in early and delayed acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2004; 77 (12): 1866-1875
52. Krensky AM, Ahn Y-T. Mechanism of Disease: regulation of RANTES (CCL5) in renal disease. *Nature Clin Pract* 2007; 3 (3): 164-170
53. Krensky AM. Biology and therapeutic implications of the chemokine RANTES. *ACI International* 1999; 11: 16–21
54. Kruger B, Borger CA, Obed A, Farkas S, Hoffmann U, Banas B, et al. RANTES/CCL5 polymorphism as a risk factor for recurrent acute rejection. *Clin Transplant* 2007; 21:385-390
55. Kruger B, Schroppel B, Ashkan R, Marder B, Zulke C, Murphy B, et al. A monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) polymorphism and outcome after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2585-2589
56. Li BG, Hartono C, Ding R, Sharma VK, Ramaswamy R, Qian B, et al. Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. *N Engl J Med* 2001; 344 (13): 947-954
57. Lonnemann G, Engler-Blum G, Muller GA, Koch KM, Dinarello CA. Cytokines in human renal interstitial fibrosis. II. Intrinsic interleukin (IL)-1 synthesis and IL-1-dependent production of IL-6 and IL-8 by cultured kidney fibroblasts. *Kidney International* 1995; 47(3):845-854

58. Mannon RB, Sundar SK, Sanfilippo FP, Coffman TM. Alterations in renal interleukin-1 production during kidney transplant rejection in the rat. *Transplantation* 1993; 56: 1157-1162
59. Matl I, Viklicky O, Voska L, Lodererova A, Vitko S. The effect of different immunosuppressive regimens on TGF-beta1 expression in kidney transplant patients. *Transpl Int.* 2005; 18 (6): 668-671.
60. Matz M, Byer J, Wunsch D, Mashreghi MF, Seiler M, Pratschke J et al. Early post-transplant urinary IP-10 expression after kidney transplantation is predictive of short- and long-term graft function. *Kidney Int* 2006; 69: 1683-1690
61. Medina-Pestana JO, Sampaio EM, Vaz ML, Pinheiro-Machado PG, Tedesco-Silva H Jr. Worse renal transplant outcomes observed among Afro-Brazilian patients on prospective registry data of 2461 renal transplants at least 1 year follow-up. *Transplant Proc.* 2007; 39 (2): 435-436
62. Mengel M, Gwinner W, Schwarz A, Bajeski R, Franz I, Bröcker V, et al. 2007. Infiltrates in protocol biopsies from renal allografts. *Am. J. Transplant.* 2007; 7: 356–365
63. Moreso F, Lopez M, Vallejos A, Giordani C, Riera L, Fulladosa X, et al. Serial protocol biopsies to quantify the progression of chronic transplant nephropathy in stable renal allografts. *Am J Transplant* 2001; 1 (1): 82-88
64. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL-S, O'Connell PJ, Allen RDM, Chapman JR. The Natural History of Chronic Allograft Nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349 (24): 2326-2333
65. Nordøy I, Müller F, Nordal KP, Rollag H, Aukrust P, Frøland SS. Chemokines and soluble adhesion molecules in renal transplant recipients with cytomegalovirus infection. *Clin Exp Immunol.* 2000; 120 (2): 333-337

66. Noris M, Mister M, Pezzotta A, Azzolini N, Cassis P, Benigni A, et al. ACE inhibition limits chronic injury of kidney transplant even with treatment started when lesions are established. *Kidney International* 2003; 64: 2253-2261
67. Nouwen EJ, De Broe ME. EGF and TGF- α in the human kidney: identification of octopal cells in the collecting duct. *Kidney Int* 1994; 45: 1510–1521
68. Oliveira JGG, Xavier P, Neto S, Mendes AA, Guerra LER. Monocytes-macrophages and cytokines/chemokines in fine-needle aspiration biopsy cultures: enhances interleukin-1 receptor antagonist synthesis in rejection-free kidney transplant patients. *Clinical Transplantation* 1997; 63(12); 1751-1756
69. OPTN/SRTR 2007 Annual Report 1-20. Disponível em “http://www.ustransplant.org/annual_Reports/current/survival_rates.htm” acessado em 26/08/2008
70. Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H, Dursun B, Ma Q, Kelly C, Dent C, Devarajan P, Edelstein CL: Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int* 2006;70:199–203.
71. Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolkoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002; 346 (8): 580-590
72. Pattison J, Nelson PJ, Huie P, von Leuttichau I, Farshid G, Sibley RK et al. RANTES chemokine expression in cell mediated transplant rejection of the kidney. *Lancet* 1994; 343 (8891): 209-11
73. Pereira AB, Penido MGG, Campos Neto MS, Silva GMC. Profile of candidates for the transplant waiting list of deceased kidney donor at a center providing renal replacement therapy in Brazil. *J Bras Transpl* 2005; 8:325-332

74. Prodjosudjadi W, Daha MR, Gerritsma JSJ, Florijin KW, Barendregt JNM, Bruijn JA, et al. Increased urinary excretion of monocyte chemoattractant protein-1 during acute renal allograft rejection. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 1096-1103
75. Rabin RL, Park MK, Liao F, Swofford R, Stephany D, Farber JM. Chemokine receptor responses on T cells are achieved through regulation of both receptor expression and signaling. *J Immunol* 1999; 162: 3840–3850
76. Racusen, LC, Halloran, PF, Solez, K. Banff 2003 meeting report: new diagnostic insights and standards. *Am J Transplant.* 2004; 4 (10): 1562-1566
77. Racusen, LC, Solez, K, Colvin, RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55: 713-723
78. Rall LB, Scott J, Bell GI, Crawford RJ, Penschow JD, Niall HD, et al. Mouse prepro-epiderma growth factor synthesis by the kidney and other tissues. *Nature* 1985; 313 (5999): 228–231
79. Registro Brasileiro de Transplantes - ABTO - Ano XIII - Núm 2 - Janeiro/Dezembro 2007
80. Remuzzi G, Perico N. Protecting single-kidney allografts from long-term functional deterioration. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:1321-1332
81. Roberti I, Reisman L. Serial evaluation of cell surface markers for immune activation after acute renal allograft rejection by urine flow cytometry—correlation with clinical outcome. *Transplantation* 2001; 71(9):1317-1320
82. Robertson H, Morley A, Talbot D, Callanan K, Kirby J. RENAL ALLOGRAFT REJECTION: [beta]-Chemokine Involvement in the Development of Tubulitis. *Transplantation* 2000; 69(4); 684-687

83. Romagnani P. From basic science to clinical practice: use of cytokines and chemokines as therapeutic targets in renal diseases. *J Nephrol* 2005; 18: 229-233
84. Rotondi M, Rosati A, Buonamano A, Lasagnani L, Lazzeri E, Pradella F, et al. High pretransplant serum levels of CXCL10/IP-10 are related to increased risk of renal allograft failure. *Am J Transplant* 2004; 4:1466-1474
85. Ruster M, Sperschneider H, Funfstuck R, Stein G, Grone H-J. Differential expression of β -chemokines MCP-1 and RANTES and their receptors CCR1, CCR2, CCR5 in acute rejection and chronic allograft nephropathy of human renal allografts. *Clinical Nephrology* 2004; 61(1):30-39
86. Sadeghi M, Daniel V, Naujokat C, Wiesel M, Hergesell O, Opelz, et al. Strong inflammatory cytokine response in male and strong anti-inflammatory response in female kidney transplant recipients with urinary tract infection. *Transplant International* 2005; 18: 177-185
87. Sakai N, Wada T, Furuichi K, Iwata Y, Yoshimoto K, Kitagawa K, et al. p38 MAPK phosphorylation and NF-kappa B activation in human crescentic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(6):998-1004
88. Salido EC, Yen PH, Shapiro LJ, Fisher DA, Barajas L. In situ hybridization of pre-pro epidermal growth factor mRNA in the mouse kidney. *Am J Physiol* 1989; 256: F632-F638
89. Schall TJ, Jongstra J, Dyer BJ, Jorgensen J, Clayberger C, Davis MM, et al. A human T cell-specific molecule is a member of a new gene family. *J Immunol* 1988; 141: 1018-1025
90. Segerer S, Cui Y, Eitner F, Goodpaster T, Hudkins KL, Mack M, Cartron J-P, Colin Y, Schlondorff D, Alpers CE. Expression of chemokines and chemokine

- receptors during human renal transplant rejection. *American Journal of Kidney Diseases* 2001; 37(3):518-531
91. Segerer S, Mack M, Regele H, Kerjaschki D, Schlöndorff D. Expression of the C-C chemokine receptor 5 in human kidney diseases. *Kidney Int* 1999; 56 (1): 52-64.
 92. Sesso R, Lopes AA, Thomé FS, Bevilacqua JL, Romao Junior JE, Lugon J. Dialysis Census Results – 2007 from the Brazilian Society of Nephrology. *Braz Jour Nephrol* 2007; 29 (4):197-202
 93. Seventer GAV, Shimizu Y, Horgan KJ, Luce GEG, Webb D, Shaw S. Remote T cell co-stimulation via LFA-1/ICAM-1 and CD2/LFA3: demonstration with immobilized ligand/mAb and implication in monocyte-mediated co-stimulation. *Eur J Immunol* 1991; 21: 1711-1718
 94. Shapiro R, Randhawa P, Jordan ML, Scantlebury VP, Vivas C, Jain A, et al. An analysis of early renal transplant protocol biopsies—the high incidence of subclinical tubulitis. *Am J Transplant* 2001; 1 (1): 47-50
 95. Sibbring JS, Sharma A, McDicken IW, Sells RA, Christmas SE. Localization of C-X-C and C-C chemokines to renal tubular epithelial cells in human kidney transplants is not confined to acute cellular rejection. *Transplant Immunology* 1998; 6: 203-208
 96. Smith SD, Wheeler MA, Lorber MI, Weiss RM. Temporal changes of cytokines and nitric oxide products in urine from renal transplant patients. *Kidney Int* 2000; 58: 829-837
 97. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal-allograft rejection—the Banff working classification of kidney-transplant pathology. *Kidney Int* 1993; 44 (2): 411-422

98. Song E, Zou H, Yao Y, Proudfoot A, Antus B, Liu S, et al. Early application of Met-RANTES ameliorates chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 2002; 61 (2): 676-685
99. Sorrentino S, Landmesser U. Nonlipid-lowering Effects of Statins. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2005; 7 (6): 459-466
100. Soule JL, Streblow DN, Andoh TF, Kreklywich CN, Orloff SL. Cytomegalovirus accelerates chronic allograft nephropathy in a rat renal transplant model with associated provocative chemokine profiles. *Transplant Proc.* 2006; 38 (10): 3214-3220
101. Souto MF, Teixeira AL, Russo RC, Penido MG, Silveira KD, Teixeira MM, et al. Immune mediators in idiopathic nephrotic syndrome: evidence for a relation between interleukin 8 and proteinuria. *Pediatr Res.* 2008; 64(6). In Press.
102. Strehlau J, Pavlakis M, Lipman M, Shapiro M, Vasconcellos L, Harmon W, et al. Quantitative detection of immune activation transcripts as a diagnostic tool in kidney transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94 (2): 695-700
103. Suthanthiran M. Clinical application of molecular biology: a study of allograft rejection with polymerase chain reaction. *Am J Med Sci* 1997; 313 (5): 264-267
104. Suzuki J, Cole SE, Batirel S, Kosuge H, Shimizu K, Isobe M, et al. Tumor necrosis factor receptor-1 and -2 double deficiency reduces graft arterial disease in murine cardiac allografts. *Am. J. Transplant* 2003; 3:968–76
105. Taal MW, Brenner BM. Renoprotective benefits of RAS inhibition: from ACEI to angiotensin II antagonists. *Kidney Int* 2000; 57: 1803-1817
106. Taira T, Yoshimura A, Iizuka K, Iwasaki S, Ideura T, Koshikawa S. Urinary epidermal growth factor levels in patients with acute renal failure. *Am J Kidney Dis* 1993; 22: 656–661

107. Tashiro K, Koyanagi I, Saitoh A, Shimizu A, Shike T, Ishiguro C, et al. Urinary levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and interleukin-8 (IL-8), and renal injuries in patients with type 2 diabetic nephropathy. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2002; 16(1):1-4
108. Tatapudi RR, Muthukumar T, Dadhania D, Ding R, Li B, Sharma VK, et al. Noninvasive detection of renal allograft inflammation by measurements of mRNA for IP-10 and CXCR3 in urine. *Kidney Int* 2004; 65 (6): 2390-2397
109. Teppo AM, Honkanen E, Finne P, Tornroth T, Gronhagen-Riska C. Increased urinary excretion of alpha1-microglobulin at 6 months after transplantation is associated with urinary excretion of transforming growth factor-beta1 and indicates poor long-term renal outcome. *Transplantation* 2004; 78 (5): 719-724
110. Tesi RJ, Elkhammas EA, Henry ML, Davies EA, Salazar A, Ferguson RM. Acute rejection episodes, best predictor of long-term primary cadaveric renal transplant survival. *Transplant Proc* 1993; 25: 901-902
111. Tinckam K, Rush D, Hutchinson I, Dembinski I, Pravica V, Jeffery J, et al. The Relative Importance of Cytokine Gene Polymorphisms in the Development of Early and Late Acute Rejection and Six-Month Renal Allograft Pathology. *Transplantation* 2005; 79: 836-841
112. Tsai CY, Wu TH, Yu CL, Lu JY, Tsai YY. Increased excretions of beta2-microglobulin, IL-6, and IL-8 and decreased excretion of Tamm-Horsfall glycoprotein in urine of patients with active lupus nephritis. *Nephron* 2000; 85(3):207-214
113. Tsakas S, Goumenos DS. Accurate measurement and clinical significance of urinary transforming growth factor-beta1. *Am J Nephrol.* 2006; 26 (2): 186-93

114. Viola A, Lustes AD. Chemokines and their receptors: drug targets in immunity and inflammation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2008; 48:171–97
115. Walz A, Peveri P, Aschauer H, Baggiolini M. Purification and amino acid sequencing of NAF, a novel neutrophil-activating factor produced by monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 149: 755–761
116. Wang X, Yue TL, Ohlstein EH, Sung CP, Feuerstein GZ. Interferon-inducible protein 10 involves vascular smooth muscle cell migration, proliferation, and inflammatory response. *J Biol Chem* 1996; 271:24286-24293
117. Wang J, Zou H, Li Q, Wang Y, Xu Q. The expression of monocyte chemoattractant protein-1 and C-C chemokine receptor 2 in post-kidney transplant patients and the influence of simvastatin treatment. *Clinica Chimica Acta* 2006; 373: 44-48
118. Woltman AM, Fijter JW, van der Kooij SW, Jie KE, Massacrier C, Caux C, et al. MIP-3 α /CCL20 in renal transplantation and its possible involvement as dendritic cell chemoattractant in allograft rejection. *American Journal of Transplantation* 2005; 5: 2114-2125
119. Yamada K, Hatakeyama E, Arita S, Sakamoto K, Kashiwabara H, Hamaguchi K. Prediction of chronic renal allograft dysfunction from evaluation of TGF β -1 and the renin-angiotensin system. *Clin Exp Nephrol* 2003; 7: 238-242
120. Yokoyama H, Wada T, Furuichi K, Segawa C, Shimizu M, Kobayashi K, et al. Urinary levels of chemokines (MCAF/MCP-1, IL-8) reflect distinct disease activities and phases of human IgA nephropathy. *Journal of Leukocyte Biology* 1998; 63(4):493-499
121. Yoo KH, Sung YH, Yang MH, Jeon JO, Yook YJ, Woo YM, et al. Inactivation of Mxi1 induces IL-8 secretion activation in polycystic kidney. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 2007; 356(1):85-90

122. Yoshimura T, Matsushima K, Tanaka S, Robinson EA, Appella E, Oppenheim JJ, et al. Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proc Natl Acad Sci* 1987; USA 84:9233–9237
123. Zivcic-Cosic S, Fucak M, Orlic P, Vujaklija-Stipanovic K, Orlic L, Racki S, et al. Evaluation and selection of candidates for renal transplantation at the Clinical Hospital Center in Rijeka. *Acta Med Croatica* 2003; 57(1): 65-68

APÊNDICE A- PROTOCOLO PARA A COLETA DE DADOS

Alta Hospitalar de Transplante Renal

Registro: _____

Data do TX: ___/___/___

Data da alta hospitalar: ___/___/___

Receptor: _____	
Início de TRS: ___/___/___	Sexo: _____ Idade: ___anos DN: ___/___/___
Centro de TRS: _____	
Etiologia: _____	
Cor: <u> </u> B <u> </u> N <u> </u> O () HD () DP Tel: _____	
Data últ tx: _____ Causa da perda do enxerto: _____	
Classificação ABO: _____	HLA: DR: ___/___ B: ___/___ A: ___/___
PRA (___/___/___): _____	
Diurese residual: _____ml/24hs	Peso seco: _____Kg
Medicação pré operatória: _____ _____ _____	
Doador: _____	
sexo: _____	Idade: _____ Obs: _____
Cadáver: _____	
Causa mortis: _____	
Comorbidade: _____	
Cr: _____	aminas: _____ TIF: _____
Vivo: _____	
Parentesco: _____	grau: _____ idade: _____
Classificação ABO: _____	HLA: DR: _____ B: _____ A: _____

Peroperatório: Cir vascular: _____

Urologista: _____

Nefrologista: _____

Tempo de anastomose: _____ Isquemia quente: _____ sítio de anastomose: _____

Art renal: ___ 1 ___ 2 ___>2 Perfusão renal ___boa ___média ___ruim

Implante ureter: ___Gregoir ___Politano

Duplo J ___S ___N

Diurese: ___imediato ___ horas ___dias FTE: ___S ___N

Necessidade de diálise: _____ tempo: _____

Medicação peroperatória:

Indução: ___ N ___basilixmab ___daclizumab ___okt3 ___timoglobulina

Solumedrol: _____mg Furosemida: _____mg Verapamil: _____mg

Tempo de CTI: ____ tempo de SVD: ____ tempo de acesso central: ____

Esquema imunossupressor inicial:

__ csa+aza+pred __ csa+mmf+pred __fk+mmf+pred __fk+srl+pred __mmf+srl+pred

__ csa+smf+pred __fk+smf+pred __smf+srl+pred

Outra: _____

INTERCORRÊNCIAS:

REJEIÇÃO

rej hiperaguda: ____ RAC: __S __N __DPO corticorresistente: ____

Biópsia renal: __ BANFF: ____

Medicação: __ timoglobulina __okt3 __solumedrol

Tempo de uso: ____ Resposta: __S __N

INFECÇÃO

ITU: __ __DPO Urocultura: __ Bactéria: _____

Tratamento: ____ dias ATB: _____

Infecção fúngica: __ sítio _____ Infecção viral: __ sítio _____ CMV __

Outras: _____

tratamento: ____ dias Medicamento: _____

COMPLICAÇÃO CIRÚRGICA: __S __N

__ seroma __ fístula urinária __urinoma __trombose __infecção FO __ deiscência
anastomose vascular Outro: _____

PERDA DO ENXERTO: __

Causa: __ rejeição __ trombose __ infecção __outra: _____

ÓBITO: __

causa: __ cardiovascular :__ infecção __ outras: _____

__DPO

Creatinina de alta: ____

Imunossupressão de alta:

__ csa+aza+pred __ csa+mmf+pred __fk+mmf+pred __fk+srl+pred __mmf+srl+pred

__ csa+smf+pred __fk+smf+pred __smf+srl+pred

Outra: _____

Outras intercorrências:

APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO (para pacientes a serem transplantados renais)

Por meio deste termo de consentimento, informamos que estamos desenvolvendo uma pesquisa no Hospital das Clínicas da UFMG para estudarmos uma substância do sangue e da urina chamada pelos médicos de fator de crescimento e transformação do tipo beta (TGF- β) e a relação desta substância com o funcionamento do rim transplantado.

Alguns estudos mostram que o chamado TGF- β pode participar do problema dos rins transplantados tendo relação com a rejeição e a perda do transplante.

Este estudo quer, então, saber qual é a quantidade de TGF- β que está no sangue e na urina dos pacientes transplantados renais, tentando ver se isso tem relação com o funcionamento do rim transplantado.

Os exames para determinação do TGF- β no sangue serão coletados através de punção de veia periférica durante a mesma coleta que é feita para outros exames de rotina do transplante renal. A dosagem do TGF- β na urina será feita utilizando uma parte da urina de 24 horas que é colhida de rotina para medir a proteinúria dos pacientes transplantados renais. Estamos garantindo que esses exames só serão coletados e realizados após sua autorização e assinatura deste termo de consentimento pós-informado.

Garantimos ainda que serão resguardadas sua identidade e privacidade e os resultados desse estudo somente serão utilizados para aumentar os conhecimentos da medicina.

Finalmente, você tem o direito de recusar em participar do trabalho em qualquer etapa do mesmo, sabendo-se que você continuará a receber o tratamento convencional para o transplante renal, tendo assim garantida sua assistência médica.

Eu, paciente _____, transplantado renal, entendi tudo que foi explicado sobre essa pesquisa e concordo em participar das coletas de sangue e urina para dosar o TGF- β . Este estudo será feito pelos Drs André Barreto Pereira, Nilton Alves Resende e Ana Cristina Simões e Silva do Hospital das Clínicas da UFMG. Confirmando que fui selecionado de forma voluntária para participar dessa pesquisa. Eu assinei e recebi uma cópia deste termo de consentimento.

Data e local: _____

Assinatura do paciente: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Contatos:

Dr André Barreto Pereira

Cel: (31)87270853

Dr Nilton Alves Resende

Cel: (31)99789545

COEP/UFMG - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Av Alfredo Balena, 110-1 Bairro Santa Efigênia CEP 30310100 Belo Horizonte MG

Tel:(31)32489364

ANEXO A- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA - UFMG

UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP

Parecer nº. ETIC 490/05

Interessado: Prof. Dr. Nilton Alves de Rezende
Depto. de Clínica Médica
Faculdade de Medicina-UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou no dia 29 de março de 2006, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação dos níveis circulantes e urinários do fator de transformação e crescimento do Tipo Beta (TGF- β) em pacientes transplantados renais**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Belo Horizonte, 25 de abril de 2008.



Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP/UFMG

2ª via

ANEXO B- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA - SANTA CASA DE
MISERICÓRDIA DE BELO HORIZONTE



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER CONSUBSTANCIADO

Registro CEP: 002/2006 (Este número deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto).

Título: "Avaliação dos níveis circulantes e urinários do fator de transformação e crescimento do tipo beta (TGF- β) em pacientes transplantados renais".

Pesquisadora Responsável: Dr. André Barreto Pereira

Instituição: Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte

Introdução:

Existem evidências da participação do TGF- β nos mecanismos fisiopatológicos de diversas doenças, incluindo as doenças renais e transplantes de órgãos. Atualmente, a sobrevida do enxerto renal para receptores de enxertos de doadores cadáveres está próxima de 90% no final do primeiro ano e a meia vida aproximada do enxerto de 13 anos. A rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto são fatores importantes e decisivos na evolução do transplante renal.

Objetivo:

O projeto tem como objetivo avaliar os níveis plasmáticos e urinários de TGF- β em pacientes transplantados renais e controles normais.

Desenho e metodologia:

Trata-se de um estudo prospectivo em que os pacientes transplantados renais serão submetidos à coleta de sangue e urina no

Comentários:

O projeto está bem fundamentado do ponto de vista teórico; a metodologia está adequada; a documentação que compõe o protocolo encontra-se completa; não há qualquer custo para a Instituição; o estudo será acompanhado pela Fisioterapeuta Juliana Caldas, Coordenadora de Fisioterapia Infantil da Santa Casa de Belo Horizonte.

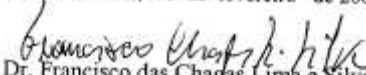
Parecer

Diante do exposto, o CEP da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, em reunião do dia 03 de fevereiro de 2006, **aprovou** o referido estudo, bem como o Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

OBS.:

1 - Após o início da pesquisa, o pesquisador responsável deverá enviar ao CEP relatórios semestrais e final (para o primeiro semestre o prazo é 30 de junho; para o segundo semestre é 31 de dezembro).

Belo Horizonte, 16 de fevereiro de 2006.

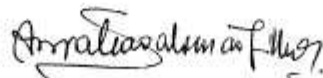

Dr. Francisco das Chagas Lima e Silva
Coordenador do CEP

ANEXO C – TERMO DE COMPROMISSO DO SERVIÇO DE TRANSPLANTE
RENAL DO HC-UFMG

Termo de Compromisso

Estou ciente e autorizo a realização do projeto de mestrado “Avaliação dos níveis circulantes e urinários do Fator de Transformação e Crescimento do tipo beta (TGF- β) em pacientes transplantados renais” pelo pesquisador Dr André Barreto Pereira, onde serão avaliados pacientes do Serviço de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da UFMG.

Belo Horizonte, 20 de outubro de 2005



Dr Abrahão Salomão Filho
Coordenador do Serviço de Transplante Renal do HC-UFMG

ANEXO D – TERMO DE COMPROMISSO DO SERVIÇO DE NEFRO:
DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE BELO HORIZONTE

Termo de Compromisso

Estou ciente e autorizo a realização do projeto de mestrado "Avaliação dos níveis circulantes e urinários do Fator de Transformação e Crescimento do tipo beta (TGF- β) em pacientes transplantados renais" pelo pesquisador Dr André Barreto Pereira, onde serão avaliados pacientes submetidos a transplante renal no Serviço de Nefrologia da Santa Casa de Belo Horizonte.

Belo Horizonte, 20 de outubro de 2005



Dr Gustavo Mário Capanema Silva
Chefe do Serviço de Nefrologia da Santa Casa de Belo Horizonte

ANEXO E – APROVAÇÃO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO PELA COMISSÃO
EXAMINADORA



**FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (31) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640
sps@medicina.ufmg.br



DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores: Nilton Alves Rezende, Ana Cristina Simões e Silva, Roberto Pecoits Filho e Kátia de Paula Farah, aprovou a defesa de dissertação intitulada: **“QUIMIOCINAS E CITOCINAS URINÁRIAS NO TRANSPLANTE RENAL”**, apresentada pelo mestrando **ANDRÉ BARRETO PEREIRA** para obtenção do título de Mestre em Medicina, pelo Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 24 de outubro de 2008.


Prof. Nilton Alves Rezende
Orientador


Profa. Ana Cristina Simões e Silva
Co-orientadora


Prof. Roberto Pecoits Filho


Profa. Kátia de Paula Farah