

**ELISÂNGELA DOS SANTOS PRADO**

**Efeito da conversão para sirolimo comparada  
à manutenção de baixos níveis de inibidores  
da calcineurina na progressão da nefropatia  
crônica do enxerto em transplantados renais**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Nefrologia

Orientador: Prof. Dr. Elias David Neto

São Paulo

2008

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Prado, Elisângela dos Santos

Efeito da conversão para sirolimo comparada à manutenção de baixos níveis de inibidores da calcineurina na progressão da nefropatia crônica do enxerto em transplantados renais / Elisângela dos Santos Prado. -- São Paulo, 2008.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Clínica.

Área de concentração: Nefrologia.

Orientador: Elias David Neto.

Descritores: 1.Rejeição de enxerto 2.Taxa de filtração glomerular  
3.Imunossupressão 4.Transplante de rim

USP/FM/SBD-162/08

Aos pacientes que compartilharam comigo seu sofrimento e suas esperanças no cotidiano da vida e são a minha fonte inesgotável de estímulo e entusiasmo na eterna busca por conhecimento e sabedoria.

## **Agradecimentos**

A todos os pacientes que participaram deste estudo, pela confiança, paciência e carinho que sempre me dispensaram.

Ao meu orientador, Professor Dr. Elias David-Neto, pelo apoio, pelo incentivo e pela orientação no desenvolvimento deste estudo e também na minha formação científica.

Ao Dr. Luiz Estevam Ianhez, mestre dedicado ao cuidado dos pacientes transplantados renais e “pai” de várias gerações de nefrologistas formados por esta Instituição.

Ao Dr. Rui Toledo Barros, por ser um exemplo de dedicação ao programa de pós-graduação em Nefrologia e por seu apoio irrestrito na execução deste trabalho.

À Dra. Francine Brambate Carvalhinho Lemos, por seu apoio científico no desenvolvimento deste estudo e também por me confortar nos momentos de dificuldade.

Aos médicos urologistas da Unidade de Transplante Renal, Dr. Willian Carlos Nahas, Dr. Afonso Piovesan, Dr. Hideki Kanashiro e Dr. Renato Falci Jr. pela amizade, imensa boa vontade e precisão técnica com que realizaram as biópsias renais que foram fundamentais para este estudo.

Aos colegas da Divisão de Anatomia Patológica, Dra. Daísa Silva Ribeiro David, Dr. Luiz Baltazar Saldanha, Dra. Sheila Aparecida Siqueira e Sra. Neila Aparecida de Souza, pela imensa contribuição na realização da avaliação histológica do trabalho.

À Fabiana Agena, enfermeira da Pesquisa Clínica da Urologia, cuja contribuição foi fundamental em toda a execução do projeto.

À Dra. Flavia Silva Reis Medeiros, cuja amizade e companheirismo na residência e na Pós-Graduação foram uma benção que recebi em minha vida.

À Dra. Patrícia Soares de Souza, por sua amizade generosa e por nossa agradável troca de conhecimentos e experiências de vida.

Ao Dr. Marcelo Tatit Sapienza, médico do setor de Medicina Nuclear, por sua valiosa contribuição para a realização e interpretação dos exames de filtração glomerular.

Aos funcionários do setor de Medicina Nuclear, pela sua contribuição na realização dos exames.

Aos funcionários da Pesquisa Clínica e meus amigos, Abram, Luciana, Kelli, Melissa, Rafael e Fabiana, pelo apoio no transcorrer do trabalho e pela nossa convivência especial que com muito carinho levo pela vida.

À Srta. Julia Fukushima por sua assessoria para realização da análise estatística do trabalho.

À Sra. Gizah Garcia Leal pelo carinho, amizade e grande auxílio na revisão da tese.

Aos funcionários do Serviço de Documentação da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pelo auxílio na confecção dos exemplares.

À Dra. Maria Cristina Ribeiro de Castro por seu especial auxílio nas tomadas de decisões médicas e por seu exemplo de médica e pesquisadora em Transplante Renal.

À Dra. Lílian Monteiro Pereira, por ter partilhado comigo o seu grande conhecimento técnico, sua amizade, seu aprendizado da vida e seu amor pelos pacientes pediátricos desta Instituição.

Ao Dr. Osmar de Cássio Saito, médico radiologista, pela boa amizade que me dedicou e por sua colaboração irrestrita nos momentos difíceis do trabalho.

Aos médicos do transplante renal, por compartilharem sua experiência e por me proporcionarem grandes oportunidades de aprendizado em nossa convivência nas reuniões clínicas e à beira dos leitos de nossos pacientes.

Aos professores que participaram da minha banca de qualificação da tese, doutores Helio Tedesco Silva Jr., Irene de Lourdes Noronha e Maria Cristina Ribeiro de Castro, pela atenção que dispensaram à análise do trabalho e pelas valiosas sugestões que muito contribuíram para a forma final da tese.

Às enfermeiras do Transplante Renal, por seu exemplo de amor ao próximo na execução de seu trabalho e sua imensa boa vontade em me ajudar em todos os momentos de necessidade.

Às secretarias da nefrologia, Sra. Eliana, Célia e Cristina, por me orientarem e ajudarem nas dificuldades burocráticas.

Aos funcionários do ambulatório de Urologia, pelo agradável convívio que desfrutei nesses anos de trabalho na assistência ambulatorial aos pacientes transplantados renais.

As secretárias do Transplante Renal, Fátima e Tatiana, sempre dispostas a nos ajudar nas dificuldades do cotidiano.

Aos funcionários do setor de Informática da Urologia, pelos levantamentos de dados rápidos e eficientes que foram importantes no desenvolvimento deste trabalho.

À Sra. Antonia, secretaria da Patologia, pela sua gentileza e sua boa vontade no trato de todos que a procuram.

Aos colegas do Laboratório de HLA - Instituto do Coração, pela amizade e boa vontade com que me brindaram em nosso convívio.

Às amigas Letícia e Paschoalina pela sua amizade, companhia e pelo estímulo constante nas horas difíceis.

Ao Dr. José Jaime e sua equipe no Instituto do Coração, pela atenção e cuidado com que assistem os pacientes transplantados naquele instituto.

Aos meus pais, Antenor (in memoriam) e Nézia, por terem plantado com amor as sementes da minha curiosidade e inquietude.

À minha irmã Maristela, minha eterna companheira em todos os momentos alegres e tristes da minha vida.

Aos meus sobrinhos Ian e Iago, fontes inesgotáveis de amor, alegria e entusiasmo, lembrando-me continuamente da necessidade de me divertir e ser feliz no meu caminho.

Ao Fabio, meu amado companheiro, pela paciência, amor e compreensão que tem feito a minha vida cada dia melhor.

Ao Sr. Barjon Casson, por sua imensa capacidade de ouvir e de me ajudar a encontrar o melhor caminho em todos os momentos da minha vida.

À minha fisioterapeuta, Dra. Dirce dos Santos, por me cuidar e ensinar a viver sem dor.

À Maria Cristina, minha professora de Yoga, por ter me ensinado buscar o equilíbrio e a paz interior.



*Para se chegar, aonde quer que seja, aprendi que  
não é preciso dominar a força, mas a razão.  
É preciso, antes de mais nada, querer.*

*Amyr Klink*

# SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Nefropatia Crônica do Enxerto .....	3
1.2 Abordagens Terapêuticas em Nefropatia Crônica do Enxerto .....	9
1.2.1 Esquemas de minimização de inibidores da calcineurina... ..	10
1.2.2 Conversão para Micofenolato mofetil .....	11
1.2.3 Conversão para Tacrolimo .....	15
1.2.4 Conversão para Sirolimo .....	17
2. HIPÓTESE DO ESTUDO .....	23
3. OBJETIVOS .....	25
3.1 Objetivo Primário.....	26
3.2 Objetivos Secundários .....	26
4. MÉTODOS.....	28
4.1 Casuística .....	31
4.2 Avaliação Preliminar e Randomização.....	33
4.4 Protocolo de Conversão.....	35
4.5 Seguimento Clínico .....	36
4.7 Avaliação de Segurança .....	39
4.8 Definições de Eventos Clínicos e Eventos Laboratoriais .....	40
4.8.1 Tratamento da Hipertensão Arterial Sistêmica .....	41
4.9 Metodologia dos Marcadores da Função do Enxerto .....	43
4.7.1 Determinação da concentração sérica de creatinina .....	43
4.7.2 Depuração de creatinina estimada por equação de Cockcroft-Gault .....	44
4.7.3 Depuração Plasmática de <sup>51</sup> Cr-EDTA .....	44

4.10 Metodologia de Avaliação Histológica.....	46
4.11 Metodologia de Realização de Exames Laboratoriais.....	50
4.12 Técnicas de Medida da Pressão Arterial.....	53
4.13 Análise Estatística.....	54
7. RESULTADOS.....	56
7.1 Inclusão dos Pacientes.....	57
7.2 Dados Demográficos e Imunológicos.....	61
7.3 Resultados Clínicos e Laboratoriais na Randomização.....	63
7.4 Doses e Níveis de Medicamentos Imunossuppressores.....	64
7.5 Avaliação de Eficácia.....	67
7.5.1 Avaliação do objetivo composto.....	67
7.5.2 Avaliação da função renal.....	68
7.6.3 Avaliação da histologia renal.....	70
7.7 Avaliação de Segurança.....	79
7.6.1 Colesterol total e Triglicérides.....	81
7.6.2 Excreção urinária de proteínas em 24 horas.....	83
7.6.3 Alterações hematológicas.....	84
7.6.4 Testosterona sérica.....	85
7.6.5 Avaliação da pressão arterial.....	86
8. DISCUSSÃO.....	87
9. CONCLUSÕES.....	101
10. ANEXOS.....	103
11. REFERÊNCIAS.....	108

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b><math>\alpha</math>-SMA</b>	Alfa-actina de músculo liso
<b>AZA</b>	Azatioprina
<b><math>\beta</math>-HCG</b>	Gonadotrofina coriônica humana
<b>C-G</b>	Cockroft-Gault
<b>CMV</b>	Citomegalovirus
<b>CNI</b>	Inibidor de calcineurina
<b>CsA</b>	Ciclosporina
<b><sup>51</sup>Cr-EDTA</b>	Ácido etilenodiaminotetracético marcado com cromo-51
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucléico
<b>HAS</b>	Hipertensão arterial sistêmica
<b>IL-2</b>	Interleucina 2
<b>HLA</b>	<i>Human leukocyte antigen</i>
<b>HPLC</b>	Cromatografia líquida de alta pressão
<b>MAPA</b>	Monitorização ambulatorial da pressão arterial
<b>MRPA</b>	Monitorização residencial da pressão arterial
<b>MEIA</b>	Enzimaimunoensaio de micropartículas
<b><i>m-TOR</i></b>	<i>Mammalian target of rapamycin</i>
<b>MMF</b>	Micofenolato mofetil
<b>MPS</b>	Micofenolato sódico
<b>NCE</b>	Nefropatia crônica do enxerto
<b>PRA</b>	Reatividade contra painel
<b>PRED</b>	Prednisona
<b>TFG</b>	Taxa de Filtração Glomerular
<b>SRL</b>	Sirolimo
<b>TAC</b>	Tacrolimo
<b><sup>99m</sup>Tc-DTPA</b>	Ácido dietilenotriaminopentacético marcado com tecnécio-99m
<b>TCLE</b>	Termo de consentimento livre e esclarecido

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	Desenho do estudo.....	30
<b>Figura 2 -</b>	Fluxograma de seleção dos pacientes .....	34
<b>Figura 3 -</b>	Fluxograma de seguimento clínico .....	37
<b>Figura 4 -</b>	Fluxograma de inclusão no estudo clínico.....	60
<b>Figura 5 -</b>	Distribuição dos níveis sangüíneos de SRL segundo o tempo.....	66
<b>Figura 6 -</b>	Distribuição dos níveis sangüíneos de CsA segundo o tempo.....	66
<b>Figura 7 -</b>	Distribuição dos níveis sangüíneos de TAC segundo o tempo.....	66
<b>Figura 8 -</b>	Distribuição dos pacientes por grupos, de acordo com a ocorrência de perda de filtração glomerular superior a 20%, nos meses 6º e 12º.....	67
<b>Figura 9 -</b>	Evolução do TFG mensurado pela depuração de 51Cr-EDTA ao longo do tempo .....	68
<b>Figura 10 -</b>	Evolução da creatinina sérica (mg/dL) ao longo do tempo, de acordo com os grupos .....	69
<b>Figura 11 -</b>	Distribuição de pacientes de acordo com o diagnóstico histológico inicial.....	71
<b>Figura 12 -</b>	Distribuição de pacientes de acordo com o diagnóstico histológico no mês 12 .....	71
<b>Figura 13-A -</b>	Distribuição dos pacientes do grupo SRL que apresentaram melhora/estabilização de função renal, de acordo com a evolução histológica no tempo de 0 e de 12 meses .....	72
<b>Figura 13-B -</b>	Distribuição dos pacientes do grupo SRL que apresentaram piora de função renal, de acordo com a evolução histológica no tempo de 0 e de 12 meses .....	72
<b>Figura 14-A -</b>	Distribuição dos pacientes do grupo CNI que apresentaram melhora/estabilização de função renal, de acordo com a evolução histológica no tempo de 0 e de 12 meses .....	73

<b>Figura 14-B</b> - Distribuição dos pacientes do grupo CNI que apresentaram piora de função renal, de acordo com a evolução histológica no tempo de 0 e de 12 meses .....	73
<b>Figura 15</b> - Evolução da marcação para $\alpha$ -actina de músculo liso em biópsias renais no grupo SRL, nos tempos 0 e 12 <sup>o</sup> mês .....	76
<b>Figura 16</b> - Evolução da marcação para $\alpha$ -actina de músculo liso em biópsias renais no grupo CNI, nos tempos 0 e 12 <sup>o</sup> mês .....	76
<b>Figura 17-A</b> - Reação imuno-histoquímica para miofibroblastos em biópsia renal no momento inicial em paciente do grupo SRL.....	77
<b>Figura 17-B</b> - Reação imuno-histoquímica para miofibroblastos em biópsia renal no 12 <sup>o</sup> mês em paciente do grupo SRL.....	77
<b>Figura 18-A</b> - Reação imuno-histoquímica para miofibroblastos em biópsia renal inicial em paciente do grupo CNI.....	78
<b>Figura 18-B</b> - Reação imuno-histoquímica para miofibroblastos em biópsia renal no 12 <sup>o</sup> mês em paciente do grupo CNI.....	78
<b>Figura 19</b> - Evolução dos valores de colesterol total (mg/dL), segundo o tempo .....	82
<b>Figura 20</b> - Evolução dos valores de triglicérides (mg/dL), segundo o tempo.....	82
<b>Figura 21</b> - Evolução da excreção urinária de proteínas em 24 horas de acordo com o tempo, segundo os grupos de randomização .....	83
<b>Figura 22</b> - Evolução dos níveis médios de hemoglobina ao longo do tempo, segundo os grupos de randomização .....	84
<b>Figura 23</b> - Evolução dos níveis de testosterona total ao longo do tempo, segundo os grupos de randomização.....	85

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Distribuição dos imunossupressores segundo os grupos de randomização .....	34
<b>Tabela 2</b> - Categorias de evolução da função renal de acordo com a TFG, mensurada por <sup>51</sup> Cr-EDTA, entre a randomização e o 12º mês.....	38
<b>Tabela 3</b> - Avaliação de segurança .....	39
<b>Tabela 4</b> - Definição de eventos adversos graves .....	39
<b>Tabela 5</b> - Critérios para interrupção/descontinuação do tratamento .....	40
<b>Tabela 6</b> - Definições de eventos clínicos e eventos laboratoriais e tratamento clínico proposto .....	41
<b>Tabela 7</b> - Esquema de tratamento hipotensor proposto.....	42
<b>Tabela 8</b> - Cálculo da depuração plasmática por <sup>51</sup> Cr-EDTA .....	45
<b>Tabela 9</b> - Motivos para exclusão do estudo clínico .....	58
<b>Tabela 10</b> - Distribuição dos pacientes segundo o motivo para falha de seleção .....	59
<b>Tabela 11</b> - Distribuição dos dados demográficos, segundo o grupo de randomização .....	61
<b>Tabela 12</b> - Distribuição dos dados imunológicos, segundo os grupos de randomização .....	62
<b>Tabela 13</b> - Distribuição dos dados clínicos e laboratoriais, no momento da randomização .....	63
<b>Tabela 14</b> - Distribuição de eventos adversos graves segundo os grupos..	79
<b>Tabela 15</b> - Distribuição de eventos adversos não-graves de acordo com os grupos .....	80

## Resumo

Prado ES. *Efeito da conversão para sirolimo comparada à manutenção de baixos níveis de inibidores da calcineurina na progressão da nefropatia crônica do enxerto em transplantados renais* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 123p.

**Introdução:** A nefropatia crônica do enxerto permanece sendo a principal causa de perda tardia de enxertos renais. No momento, não existe uma estratégia terapêutica definida para minimizar ou reverter a perda da função renal. Diversas tentativas terapêuticas foram empregadas sem resultados definitivos. As estratégias de minimização de inibidores da calcineurina (CNI) com conversão para Micofenolato mofetil (MMF) e conversão para Sirolimo (SRL) são as mais promissoras. Este estudo avaliou a segurança e a eficácia dessas duas estratégias terapêuticas na progressão da nefropatia crônica do enxerto em pacientes transplantados renais. **Métodos:** Foram selecionados pacientes com filtração glomerular (RFG) medida por depuração de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  entre 25 e 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> que apresentaram alterações histológicas compatíveis com nefropatia crônica do enxerto e que não apresentaram proteinúria 24 h superior a 800 mg/24 h. Os pacientes foram randomizados para serem convertidos ao SRL ou manterem-se sob níveis baixos de CNI associados ao MMF e prednisona. O objetivo primário foi avaliar um objetivo composto pelos seguintes eventos: morte, perda do enxerto, rejeição aguda ou perda de RFG inicial superior a 20%. Os pacientes foram acompanhados por 12 meses e a uma análise por intenção de tratar foi realizada ao fim desse período. **Resultados:** Vinte e nove pacientes foram randomizados para os grupos SRL (n=14) e CNI (n=15). Não houve diferença entre os grupos quanto a os dados demográficos e imunológicos. Os valores de creatinina sérica e a TFG foram semelhantes no momento da randomização. A sobrevida dos pacientes e dos enxertos foi de 100%. Não foram observados episódios de rejeição aguda. Após 12 meses, não houve diferença significativa entre os grupos com relação à TFG. Houve maior número de eventos adversos não-graves no grupo SRL, destacando-se, acne, edema, piora de dislipidemia e anemia. Entretanto, o número de eventos adversos graves não foi estatisticamente diferente entre os grupos. SRL foi descontinuado temporariamente em 1 paciente, mas não ocorreu descontinuação definitiva no estudo. **Conclusão:** Os dois esquemas terapêuticos apresentaram desempenhos rigorosamente semelhantes com relação à evolução da função renal e quanto à evolução histológica, mas houve um número maior de eventos adversos não-graves com o uso de sirolimo.

**Descritores:** 1.transplante renal, 2.nefropatia crônica do enxerto, 3.imunossupressão, 4.função renal.



## Summary

Prado ES. *Sirolimo conversion compared to low-level of calcineurin inhibitors in chronic allograft nephropathy* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2007. 123p.

Chronic allograft nephropathy is the main cause of late kidney graft loss. Several treatments have been proposed for this condition without conclusive results. Calcineurin inhibitors minimization and conversion to Sirolimus are the most promising alternatives. This study evaluated the safety and the efficacy of these therapeutic strategies on one-year progression of chronic allograft nephropathy in kidney transplant recipients. Patients with measured glomerular filtration rate ( $^{51}\text{Cr}$ -EDTA plasmatic clearance) between 25 e 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> and histological findings of CAN, with proteinuria less than 800 mg/24 h were included. They were randomized either to Sirolimus or to low-level of CNI (both groups received MMF and prednisone). The primary end-point was a composite of first occurrence of death, graft loss, acute rejection or a 20% decrease of initial GFR. Patients were followed for 12 months and evaluated as intention-to-treat analysis. Twenty-nine patients were included in this study. Fourteen patients were randomized to SRL group and fifteen to CNI group. At baseline, no differences were detected in any of the demographic and immunologic group characteristics. Also, serum creatinine and GFR were not different at randomization. One year after conversion, patient and graft survival was 100%. At 12 months, there were no differences in GFR between two groups, in SRL group was  $41,99 \pm 13,48$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> and in CNI group was  $41,21 \pm 9,10$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (p=0,96). Non-serious adverse events, like anemia (p=0,006), acne (p=0,006), edema (p=0,005) and mouth ulcers (p=0,017) were more frequently found in the SRL group. No significant difference in serious adverse events was observed. SRL was temporarily interrupted in one patient. None of the patients dropped-out from the study and none required study drug discontinuation. In conclusion both regimens conferred equal beneficial in GFR preservation in CAN patients. However, SRL was associated with more adverse events.

Descriptors: 1.graft rejection, 2.glomerular filtration rate, 3.immunosuppression, 4.kidney transplantation.

# **1. INTRODUÇÃO**

---

O transplante renal é a modalidade terapêutica de substituição renal que garante a melhor sobrevida para os pacientes com falência renal crônica <sup>(1)</sup>.

Diversos autores têm documentado o aumento expressivo da sobrevida do enxerto renal ao longo da história do transplante. Atualmente, a sobrevida do enxerto renal no primeiro ano ultrapassa 80%, independentemente do tipo de doadores, e a vida-média do enxerto renal também aumentou. Destaca-se que os benefícios observados na sobrevida do enxerto no primeiro ano após o transplante foram superiores àqueles observados após esse período <sup>(2, 3)</sup>.

Certamente, essa importante melhora da sobrevida do enxerto na fase inicial do transplante também se deve aos avanços observados na terapia imunossupressora, na melhor compreensão dos mecanismos imunológicos envolvidos nos processos de rejeição e na melhora do tratamento clínico do paciente tanto na fase dialítica quanto após o transplante.

A despeito desse cenário bastante favorável no que tange à fase inicial do transplante, a perda tardia dos enxertos, quer por disfunção crônica, quer por morte precoce do receptor, permanece desproporcionalmente elevada em relação aos ganhos de curto prazo. O desafio atual consiste na busca de regimes imunossupressores capazes de preservar a função do enxerto renal em longo prazo, livre de rejeição aguda, bem como livre dos efeitos da nefrotoxicidade por drogas e da rejeição crônica.

## 1.1 Nefropatia Crônica do Enxerto

A disfunção crônica do enxerto renal é uma síndrome clínica que se caracteriza pela perda progressiva da função renal, inclui vários mecanismos e apresenta diferentes substratos histológicos subjacentes.

O termo nefropatia crônica do enxerto (NCE) foi primeiramente introduzido na avaliação histológica da injúria crônica do enxerto renal na conferência de Banff em 1993 <sup>(4)</sup> e melhor elaborado pelos pesquisadores na conferência de Banff em 1997 <sup>(5)</sup> (Anexo A). Esse termo foi extensamente utilizado para denominar e classificar as alterações crônicas do enxerto renal. A NCE tornou-se a principal causa da perda tardia dos enxertos e, talvez por isso, alvo de grande interesse para a pesquisa.

Pela sua ambigüidade e por reunir sob uma única denominação condições mediadas por diferentes mecanismos, atualmente o uso da denominação NCE está sendo questionado. A tendência atual é classificar as alterações crônicas do enxerto renal de modo mais específico <sup>(6)</sup>.

A NCE caracteriza-se clinicamente pela perda gradual e progressiva de função renal sem origem urológica, vascular ou infecciosa. Em geral, associa-se à proteinúria discreta e ao surgimento de hipertensão arterial sistêmica ou então à piora do controle pressórico <sup>(7)</sup>.

Os fatores envolvidos no desenvolvimento e progressão da NCE podem decorrer de mecanismos imunológicos, tais como rejeição aguda ou crônica, e não imunológicos, como nefrotoxicidade por inibidores da

calcineurina (CNI), injúria de isquemia-reperfusão, infecção por Citomegalovirus (CMV), hipertensão arterial sistêmica e hiperlipidemia<sup>(8, 9)</sup>.

A apresentação clínica insidiosa e a falta de marcadores sensíveis capazes de detectar precocemente alterações na função renal tornam difícil a determinação da incidência de NCE. Entretanto, estudos com biópsias protocolares em receptores de transplante renal buscaram determinar essa incidência. No terceiro mês após o transplante, a incidência de NCE variou de 25 a 42%<sup>(10-12)</sup>; após o primeiro ano de transplante, variou de 50 a 94%<sup>(10,13,14)</sup>; ao final de 10 anos, foi observada em 100% dos casos<sup>(14)</sup>.

A taxa de filtração glomerular (TFG) avaliada, seja por marcadores isolados ou por medida direta, continua sendo o principal preditor da sobrevida do enxerto<sup>(2,15)</sup>.

Hariharam *et al.* identificaram que a creatinina sérica abaixo de 1,5 mg/dL e/ou uma variação menor que 0,3 mg/dL entre o sexto e o décimo segundo mês após o transplante renal foram preditores de maior sobrevida do enxerto renal<sup>(15)</sup>. Embora essa seja uma constatação populacional, é difícil detectar pequenas alterações de TFG que indiquem a ocorrência inicial da NCE para cada paciente.

A creatinina sérica é o marcador de função renal mais utilizado na prática clínica. Suas vantagens são a ampla disponibilidade na rotina laboratorial, a execução rápida, além de envolver técnica simples e baixo custo. Entretanto, apresenta limitações na acurácia dos resultados, especialmente em pacientes com pequena massa muscular. Levey *et al.* demonstraram que a creatinina é pouco sensível para detectar mudanças na função renal nas faixas

de filtração abaixo de 80 ml/min<sup>(16)</sup>, exatamente a faixa de função em que a maioria dos pacientes transplantados renais se situa.

Vários outros marcadores têm sido empregados para estimar ou medir diretamente a filtração glomerular. O padrão-ouro para determinação da filtração glomerular permanece sendo a depuração renal de Inulina, mas, por requerer uma técnica complexa, tem seu uso limitado à pesquisa clínica. A depuração de creatinina é um método simples, porém apresenta limitações pela falta de praticidade da coleta e por superestimar o TFG em valores baixos de filtração glomerular. Os radioisótopos, tais como <sup>99m</sup>Tc-DTPA, <sup>51</sup>Cr-EDTA, e os contrastes radiológicos, tais como Iotalamato e Iohexol, também estão disponíveis e podem identificar pequenas mudanças na TFG, mas não têm sido empregados no seguimento habitual dos transplantados renais pela demanda de tempo e trabalho que requerem.

Os parâmetros clínicos associam-se às alterações histológicas para o diagnóstico diferencial das afecções crônicas do enxerto renal.

As alterações histológicas observadas na NCE envolvem o endotélio vascular, os túbulos renais, o interstício e os glomérulos. A injúria renal pode ocorrer de modo isolado ou pode envolver simultaneamente todos esses segmentos. Quatro categorias de alterações são observadas: inflamação, fibrose, atrofia e injúria vascular.

O diagnóstico histológico das patologias do enxerto renal tanto agudas quanto crônicas tem sido norteado por critérios definidos em conferências periódicas de especialistas, visando uma uniformidade de linguagem para permitir a comparação entre os diversos estudos.

Desde a sua introdução em 1993 <sup>(4)</sup>, o termo NCE foi mantido nas revisões posteriores, até 2003 <sup>(5,17)</sup> (Anexo A).

Uma melhor compreensão dos mecanismos etiológicos envolvidos no processo de rejeição do enxerto renal, seja essa aguda ou crônica, foi alcançada pela introdução do uso da marcação por C4d na análise histológica de espécimes de biópsia renal em transplantados renais.

O C4d é um produto da degradação do fator C4 da via clássica do sistema complemento. Liga-se covalentemente (ligação forte e estável) à superfície da célula endotelial, o que facilita sua detecção por imunohistoquímica, e é um indicador indireto da ativação de complemento induzida pela reação antígeno-anticorpo no tecido renal <sup>(18)</sup>.

Tendo à disposição essa nova ferramenta, que facilitou a identificação da presença de atividade imunológica mediada por anticorpos, os critérios definidos pela Classificação de Banff 97 foram reavaliados, inicialmente no diagnóstico de rejeição aguda <sup>(17)</sup> e, mais recentemente, no diagnóstico de rejeição crônica <sup>(6)</sup>.

O esquema proposto na 8ª. Conferência de Banff em Patologia Renal (*8th Banff Conference on Allograft Pathology*) buscou eliminar o uso do termo genérico NCE do esquema de Banff para o diagnóstico de rejeição crônica. O objetivo foi tentar, sempre que possível, identificar os fatores etiológicos envolvidos de forma mais específica. O termo NCE ficou restrito a condição de fibrose intersticial e de atrofia tubular sem evidência de causa específica <sup>(6)</sup> (Anexo C).

O processo imunológico associado à rejeição aguda, quer seja ele mediado por anticorpos, células ou ambos, provavelmente tem importante papel na patogênese da rejeição crônica; entretanto, os mecanismos de progressão das lesões ainda não são bem compreendidos.

Nankivell *et al.* demonstraram, por meio do estudo de biópsias protocolares, que a injúria crônica do enxerto renal instala-se precocemente após o transplante. Foram identificadas duas fases na instalação das lesões crônicas do enxerto. A primeira fase, na qual predomina a lesão túbulo-intersticial, foi observada já a partir do terceiro mês e progrediu de forma significativa no primeiro ano após o transplante. A segunda fase, observada nos anos subseqüentes, envolveu de forma significativa os componentes vasculares e glomerulares. Após 10 anos de transplante, houve elevada incidência de esclerose glomerular (37,3%) e de alterações crônicas severas (58,4%). A prevalência de rejeição subclínica e nefrotoxicidade por drogas foi elevada em todos os períodos analisados <sup>(14)</sup>.

O papel do componente mediado por anticorpos nas lesões crônicas tem sido demonstrado por vários autores por meio do uso da marcação para C4d em pacientes com rejeição crônica <sup>(19,20)</sup> e glomerulopatia do transplante <sup>(21-24)</sup>, com ou sem a detecção de anticorpos doador-específicos.

Nosso grupo encontrou uma prevalência de 63% de positividade da marcação para C4d em capilares peri-tubulares no estudo de uma casuística de 80 pacientes com NCE comprovada por biópsia. Essa análise excluiu os casos de glomerulopatia do transplante <sup>(20)</sup>.



A patogênese da NCE, associada ou não a mecanismos imunológicos, é complexa e ainda pouco compreendida. Envolve vários tipos de células e citocinas, mas ainda não foram identificadas as funções de cada um dos marcadores no processo de gênese e da progressão da injúria crônica no enxerto renal.

A lesão do endotélio vascular é um mecanismo identificado nas lesões de NCE. A ativação do endotélio vascular pode ocorrer tanto por mecanismo imunológico quanto por mecanismo não imunológico e resulta em retração do endotélio, indução de um estado pró-coagulante, liberação de citocinas pró-inflamatórias, aumento da expressão de moléculas de adesão, ativação de leucócitos no local e vasoconstrição <sup>(25)</sup>. O endotélio ativado secreta uma variedade de citocinas, quimiocinas, proteínas inflamatórias de macrófagos e de fatores de crescimento <sup>(26)</sup>.

Lemström *et al.* formularam a hipótese de que a inflamação perivascular induz a uma lesão leve e persistente no endotélio vascular, que resulta na liberação de citocinas para o reparo das lesões. Desse processo, resulta a proliferação das células musculares lisas e seu influxo para a íntima arterial, a proliferação das células mesangias no glomérulo e a esclerose glomerular <sup>(27)</sup>.

A fibrose da rejeição crônica pode resultar de lesão imunológica com a produção de citocinas e estímulo para a ativação de fibroblastos ou pode representar a reparação dos tecidos lesados após a rejeição aguda <sup>(28)</sup>.

Noronha *et al.* caracterizaram a expressão de marcadores celulares e imunológicos por meio de análise imuno-histoquímica em transplantes de órgãos sólidos. Observou-se um aumento significativo do número de linfócitos,

macrófagos e predominantemente de mastócitos na rejeição crônica. Uma expressão marcante de  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) foi encontrada nesse grupo de biópsias, refletindo a presença de um número expressivo de fibroblastos ativados. Os pacientes com rejeição crônica também apresentaram uma maior expressão de citocinas ligadas à fibrose quando comparados aos pacientes sem alterações histológicas nas biópsias renais <sup>(29)</sup>.

Entretanto, a despeito dos avanços promissores na compreensão dos mecanismos de gênese e de progressão das lesões crônicas do enxerto renal, principalmente com o uso recente da tecnologia de ensaios de *DNA microarrays*, muitos aspectos desse processo ainda permanecem indefinidos e têm sido alvo de vários estudos. Provavelmente, um melhor entendimento desses mecanismos também deve orientar os avanços na área terapêutica.

## **1.2 Abordagens Terapêuticas em Nefropatia Crônica do Enxerto**

As evidências da literatura médica indicam que os CNI são fundamentais na fase inicial do transplante renal, por sua capacidade de prevenir rejeição aguda <sup>(30-32)</sup>. Entretanto, aparentemente os mesmos estão envolvidos na gênese e na evolução da NCE, tanto pelo seu potencial nefrotóxico, como por associação com hipertensão e diabetes mellitus <sup>(33)</sup>.

Da dualidade entre o potencial nefrotóxico dos CNIs e sua eficiência na prevenção de rejeição aguda surgiram os argumentos para as estratégias

terapêuticas atualmente estudadas, que visam à prevenção ou à redução da progressão da NCE. Essas estratégias incluem o uso de esquemas de minimização, suspensão precoce, conversão de imunossupressão ou esquemas sem o uso CNIs desde o início do transplante.

### **1.2.1 Esquemas de minimização de inibidores da calcineurina**

A introdução de Ciclosporina A (CsA) aos esquemas imunossupressores vigentes no início da década de 1980, que eram constituídos por Azatioprina (AZA) e Prednisona (PRED), trouxe indiscutível benefício ao transplante renal, reduzindo de modo drástico a incidência de rejeição aguda <sup>(30,31)</sup> e aumentando a sobrevida do enxerto <sup>(32)</sup>. Em pouco tempo, entretanto, ficou evidente a nefrotoxicidade relacionada ao medicamento <sup>(31)</sup>.

Estratégias de suspensão de CsA após o transplante, com AZA e PRED como terapia de manutenção, foram testadas. Uma elevada incidência de rejeição aguda ocorreu após a suspensão de CsA, e desencorajou essa estratégia terapêutica <sup>(34-36)</sup>.

Uma revisão sistemática dos estudos de minimização de imunossupressores em transplantados renais confirmou o aumento da incidência de rejeição aguda associada à suspensão dos inibidores de calcineurina. Entretanto, não foi demonstrada redução de sobrevida do enxerto renal com o uso dessa estratégia terapêutica <sup>(37)</sup>.

Micofenolato mofetil (MMF) é um potente medicamento anti-proliferativo, o qual bloqueia a proliferação de linfócitos por inibição da

síntese “de novo” das purinas. Sua adição ao arsenal imunossupressor foi um novo estímulo para os estudos de minimização e de suspensão de inibidor de calcineurina, por ser uma droga mais potente que a AZA e não nefrotóxica.

A partir da introdução de MMF, a história da terapia de conversão para MMF se imbrica com a história das estratégias de minimização e suspensão de CNIs tornando difícil individualizar os efeitos de cada uma delas. O novo foco dos estudos foi a utilização da conversão para MMF como ponte para as estratégias de minimização/suspensão de CNIs.

### **1.2.2 Conversão para Micofenolato mofetil**

O primeiro relato de experiência de introdução de MMF para redução de CsA em nefropatia crônica foi descrito por Weir *et al.*. O impacto da introdução de MMF na terapia imunossupressora foi avaliado em 28 pacientes com função reduzida do enxerto e diagnóstico de nefropatia crônica. Concluíram que ocorreu consistente melhora na função renal em dois anos de acompanhamento após a conversão, não sendo observados episódios de rejeição aguda <sup>(38)</sup>.

Esse mesmo autor estudou posteriormente a descontinuação ou redução de inibidores da calcineurina associado ao MMF, confirmando a segurança e a eficácia dessas estratégias na estabilização ou na melhora da função do enxerto renal com disfunção crônica <sup>(39)</sup>.

Em nossa Unidade de Transplante, Lemos *et al.* avaliaram prospectivamente o impacto da introdução de MMF associada à redução/eliminação de CsA em 52 pacientes. Os motivos para a conversão foram rejeição crônica, nefrotoxicidade crônica ou intolerância à AZA. A CsA foi suspensa em 13 pacientes. Não ocorreram episódios de rejeição aguda. Houve redução significativa da creatinina sérica nos pacientes com rejeição e nefrotoxicidade crônica. Não houve benefício adicional da suspensão de CsA se comparada à redução da dose<sup>(40)</sup>.

Dudley *et al.* conduziram estudo prospectivo, randomizado e controlado, que avaliou o efeito de MMF em 144 indivíduos com nefropatia crônica e piora progressiva da função do enxerto. Um grupo foi randomizado para suspender CsA e manter terapia dupla (MMF 2g/dia e corticóide) ou permanecer sob a imunossupressão a qual já vinha se mantendo (controle). Houve melhora da função renal avaliada pela recíproca da creatinina (1/sCr) no grupo de conversão para MMF, se comparada ao controle. Observou-se elevada incidência de eventos adversos com o uso de MMF 2g/dia nos pacientes com nefropatia crônica. Não ocorreram episódios de rejeição aguda, o que comprovou a segurança desse esquema imunossupressor<sup>(41)</sup>.

Stoves *et al.* estudaram o efeito de três esquemas imunossupressores em 42 receptores de transplante renal com perda de função do enxerto e diagnóstico de nefropatia crônica. Os esquemas foram: (A) MMF/CsA em dose baixa ( $C_0 = 75-100$  ng/ml); (B) conversão de CsA para Tacrolimo (TAC); (C) manutenção da terapia em uso. A função renal avaliada pela recíproca da creatinina mostrou vantagem no grupo A, que foi mais evidente

quando os pacientes com depuração abaixo de 20 ml/min foram excluídos da análise. Concluíram que MMF associado à CsA em dose baixa foi mais eficiente do que a conversão para TAC ou a manutenção de CsA nas doses convencionais <sup>(42)</sup>.

Também em nosso centro de pesquisa, David-Neto *et al.* analisou o efeito da redução da dose de CsA com a introdução de MMF em transplantes pediátricos. Houve uma reversão da perda funcional, que tinha sido observada nos meses anteriores à conversão. Essa mudança ocorreu nos primeiros meses que sucederam à conversão, e o benefício manteve-se por um ano de acompanhamento <sup>(43)</sup>.

Outros autores também confirmaram o efeito benéfico da conversão para MMF com redução ou suspensão de inibidores de calcineurina em adultos <sup>(44-46)</sup> e crianças <sup>(47,48)</sup>.

O papel de cada intervenção na melhora funcional observada com o uso da estratégia de conversão para MMF com redução das doses de CsA não é claro. Parece haver participação das duas intervenções: por um lado, MMF permite a redução do inibidor de calcineurina com segurança; por outro, é provável que também ocorra um efeito direto da droga na preservação do enxerto em longo prazo.

Poucos trabalhos, no entanto, avaliaram o impacto isolado da introdução de MMF ao esquema imunossupressor sem modificação de inibidor de calcineurina.

Em nosso meio, Noronha *et al.* mostraram melhora significativa da sobrevida do enxerto em um grupo de conversão para MMF em relação ao

grupo controle em pacientes com rejeição crônica, sem modificação da dose de CsA nos grupos <sup>(49)</sup>.

González-Molina *et al.* estudaram prospectivamente o efeito da adição de MMF (2 g/dia) ao esquema imunossupressor baseado em CsA associada à PRED e/ou AZA, em 121 receptores de transplante renal com nefropatia crônica comprovada por biópsia. A AZA foi suspensa e não houve intervenção na dose de CsA. Houve redução significativa da perda de filtração glomerular após a introdução de MMF <sup>(50)</sup>.

Uma limitação à estratégia de conversão para MMF foi o surgimento de eventos adversos. Alguns autores têm destacado a dificuldade na manutenção da dose de MMF ao redor de 2g nos pacientes com nefropatia crônica. François *et al.* observaram o benefício dessa intervenção sobre a função renal, mas mostraram aumento da incidência de efeitos colaterais com a adição de MMF provavelmente associado ao excesso de imunossupressão <sup>(51)</sup>.

Outra limitação a essa estratégia terapêutica pode ser a rejeição crônica ativa mediada por anticorpos. Recentemente, David-Neto *et al.* demonstraram que a introdução de MMF com minimização de CNIs não surtiu efeito nos casos de rejeição crônica com C4d positivo. É possível que esse esquema seja mais eficiente nas demais manifestações histológicas da disfunção crônica do enxerto <sup>(20)</sup>.

As evidências disponíveis até o momento tornam razoável afirmar que a associação de MMF ao tratamento de pacientes com perda funcional por comprovada NCE é segura e benéfica, além de permitir a redução/eliminação de inibidores de calcineurina com risco baixo de rejeição aguda.

Atualmente, a conversão para MMF com redução/eliminação de inibidores de calcineurina é o esquema mais estudado para o tratamento da nefropatia crônica. É possível que outros esquemas terapêuticos também sejam benéficos, mas são requeridos estudos prospectivos e controlados para demonstrar esses benefícios.

### 1.2.3 Conversão para Tacrolimo

Alguns estudos vêm advogando que TAC apresenta menor nefrotoxicidade do que a CsA, dentro de seus respectivos intervalos terapêuticos. Em voluntários sadios expostos a ambos CNIs observou-se que a CsA induziu à redução do fluxo plasmático renal e da taxa de filtração glomerular, mas o mesmo não foi observado com o uso de TAC nos mesmos indivíduos <sup>(52)</sup>.

TAC é um derivado macrolídeo que inibe de forma potente a expressão de interleucina-2 (IL-2) nos linfócitos.

Estudos multicêntricos mostraram sua superioridade em relação à CSA na prevenção de rejeição aguda <sup>(53,54)</sup> e na redução da ocorrência de rejeições subclínicas <sup>(55)</sup> em transplantes de órgãos sólidos.

A segurança e a eficácia de TAC foram comparadas à CsA em receptores de transplante com doadores falecidos, em associação com corticosteróide e AZA. Não houve diferença na sobrevida do paciente e do enxerto em 5 anos. Entretanto, a incidência de rejeição crônica foi significativamente menor no grupo TAC [6.6% versus 15, 3% (p<0,01)] <sup>(56)</sup>.



A menor nefrotoxicidade e a superioridade na prevenção de rejeição aguda e crônica demonstrada por TAC nos estudos na fase inicial do transplante motivaram os estudos de conversão para TAC nos pacientes com disfunção crônica do enxerto.

A primeira experiência relatada de conversão CSA para TAC associado ao MMF avaliou prospectivamente 27 pacientes com rejeição crônica comprovada por biópsia renal. Foi observada melhora ou estabilização da função do enxerto em 60% dos pacientes <sup>(57)</sup>.

Outros autores relataram a experiência de conversão CsA para TAC por disfunção do enxerto em adultos e crianças em estudos não controlados. A maioria dos pacientes apresentou melhora significativa da função do enxerto <sup>(58-60)</sup>.

Cantarovich *et al.* avaliaram prospectivamente o efeito da conversão para TAC em 133 receptores de transplante de rim, rim-pâncreas ou pâncreas após rim por perda progressiva de função renal (71%) ou intolerância à CsA (29%). Ocorreu melhora significativa da função renal depois do 1º e 4º ano. No período de seguimento, observou-se apenas um episódio de rejeição aguda, a morte de quatro pacientes e a perda do enxerto em 21 pacientes <sup>(61)</sup>.

Waid *et al.* conduziram um estudo prospectivo e controlado envolvendo 186 receptores de transplante renal que apresentavam creatinina elevada e usavam imunossupressão baseada em CsA. Os pacientes foram randomizados (2:1) para serem convertidos para TAC ou para manter-se sob CsA. A NCE foi comprovada por biópsia renal em 90% dos pacientes.

A sobrevida do enxerto nos dois grupos foi semelhante. A creatinina no grupo TAC significativamente menor ( $p=0,01$ ). Houve melhora do perfil de lipídico e redução de eventos cardiovasculares no grupo TAC <sup>(62)</sup>.

Méier *et al.* estudaram de modo prospectivo e randomizado a conversão para TAC comparada à manutenção de CSA na disfunção do enxerto renal com nefropatia crônica comprovada em 46 pacientes. Houve significativa melhora da função renal no grupo TAC em relação ao grupo CsA. Cabe ressaltar que o estudo incluiu pacientes com creatinina média elevada 3,9 mg/dL vs 3,7 mg/dL para TAC e CsA, respectivamente <sup>(63)</sup>.

As evidências disponíveis até o momento sobre a conversão para TAC em pacientes com NCE sugerem que a conversão parece ser segura e benéfica. Entretanto, a maior parte dos dados disponíveis provém de estudos pequenos, retrospectivos e não controlados, com ainda poucos estudos prospectivos e randomizados.

#### **1.2.4 Conversão para Sirolimo**

Sirolimo (SRL) é um imunossupressor mais recentemente introduzido e que tem sido estudado como opção aos inibidores de calcineurina tanto na imunossupressão inicial como nos protocolos de conversão por NCE.

É um derivado macrolídeo que se liga à FKBP12. O complexo Rapa-FKBP12 liga-se a *m-TOR* (*Mammalian Target of Rapamycin*) e inibe a síntese de citocinas. Ocorre o bloqueio da progressão do ciclo celular na fase G1 para S, inibindo a ativação e a proliferação do linfócito T <sup>(64, 65)</sup>.

A potência imunossupressora, o fato de não ser nefrotóxico em modelos experimentais e em humanos e a demonstração da ação inibitória na proliferação de células musculares lisas da parede arteriolar foram algumas características que despertaram o interesse em avaliar SRL como alternativa terapêutica na NCE <sup>(66, 67)</sup>.

A primeira experiência de conversão para SRL foi relatada por Dominguez *et al.* em 2000. Foram estudados 20 pacientes, 12 dos quais apresentavam nefrotoxicidade crônica por CNI e 8 apresentavam outros eventos adversos, tais como doença linfo-proliferativa pós-transplante e hepatotoxicidade. Os autores observaram significativa queda de creatinina sérica no 6º mês nos pacientes com nefrotoxicidade. Uma adequada imunossupressão foi obtida e foi possível a descontinuação de inibidor de calcineurina <sup>(68)</sup>.

Outros autores avaliaram a conversão para SRL de modo não controlado em casuísticas pequenas de pacientes transplantados renais <sup>(69, 70)</sup> e em pacientes transplantados de outros órgãos sólidos <sup>(71)</sup>. Os motivos para a conversão foram nefrotoxicidade por CNIs, comprovada NCE ou outros efeitos adversos, como diabetes pós-transplante e síndrome hemolítico-urêmica. Melhora ou estabilização da função renal foi obtida em cerca de 60% dos pacientes, predominantemente naqueles com nefrotoxicidade ou nefropatia crônica. Rejeição aguda foi um evento raro nesses estudos.

Wali *et al.* estudaram de modo não controlado a conversão de TAC para SRL em receptores de transplante renal com disfunção renal moderada a severa (creatinina sérica média de 3,7 mg/dL). Observaram melhora da função renal com essa estratégia em 74% dos pacientes <sup>(72)</sup>.

Os primeiros estudos prospectivos, randomizados e controlados que avaliaram a conversão para SRL em pacientes com disfunção do enxerto renal foram publicados a partir de 2005.

Watson *et al.* estudaram em 40 receptores de transplante renal com função do enxerto definida como sub-ótima a conversão para SRL comparada à manutenção do esquema imunossupressor baseada em CNI. Os demais imunossupressores foram mantidos, exceto por MMF que foi reduzido para dose de 1,0 g/dia no grupo SRL. Após 12 meses, foi observada significativa melhora da função renal, mensurada por depuração <sup>51</sup>Cr-EDTA, no grupo SRL quando comparado ao grupo controle. Os principais eventos adversos foram erupção cutânea, acne e úlceras orais. Não houve episódios de rejeição aguda <sup>(73)</sup>.

Stallone *et al.* também estudaram prospectivamente o uso da associação SRL/MMF de modo randomizado e controlado comparando-o à associação CNI/MMF em 84 pacientes com NCE comprovada por biópsia. Após 24 meses, o grupo SRL apresentou melhor sobrevida do enxerto e estabilização das lesões histológicas. Entretanto, não houve diferença significativa entre os grupos quanto à TFG, estimada pela equação de Nankivell. A excreção urinária de proteínas foi semelhante entre os grupos <sup>(74)</sup>.

Embora essas duas publicações tenham adicionado informações sobre o papel da conversão para SRL em NCE, estão longe de ser definitivas. Estudos adicionais com desenho prospectivo, randomizado e controlado utilizando marcadores diretos de filtração glomerular provavelmente trarão mais esclarecimentos a essa importante questão.

A conversão para SRL também foi avaliada na população pediátrica e os achados têm confirmado o benefício e a segurança dessa conversão em pequenas casuísticas nesse grupo de pacientes <sup>(75-77)</sup>.

Uma revisão sistemática analisou os resultados disponíveis acerca da conversão de CNI para SRL em 2006. Os dados apurados permitiram concluir que a conversão está associada à melhora da função renal em curto prazo. Entretanto, são necessários estudos randomizados, com poder de amostragem e com seguimento prolongado dos resultados para determinar se há benefício duradouro. Dessa análise, destaca-se que apenas cinco estudos foram prospectivos, randomizados e controlados, apenas quatro estudaram disfunção crônica do enxerto e desses, somente dois tiveram os resultados finais publicados <sup>(78)</sup>.

Uma limitação para a conversão para SRL e sua associação com MMF tem sido o aumento de eventos adversos. Os eventos adversos mais comumente relatados nos estudos foram anemia, dislipidemia, úlceras orais, erupções cutâneas e aumento de proteinúria.

Bumbea *et al.* realizaram a conversão de CNI para SRL em 43 pacientes transplantados renais, em virtude de NCE ou por câncer. SRL foi associado ao MMF ou AZA. Após 2 anos de seguimento médio, somente 60% dos pacientes conseguiram permanecer em esquema com SRL e 33% desses pacientes desenvolveram proteinúria significativa. No entanto, houve melhora da função renal, que aparentemente manteve-se até o fim do seguimento <sup>(79)</sup>.

Diekerman *et al.*, demonstraram que a proteinúria abaixo de 800 mg ao dia no momento da conversão para SRL foi preditora de melhor sobrevida do enxerto após a conversão. A proteinúria superior a 800 mg ao dia foi associada a um aumento do risco relativo para a perda do enxerto da ordem de 3,98<sup>(80)</sup>.

A avaliação retrospectiva de 116 casos de NCE não encontrou aumento da freqüência de proteinúria (> 300 mg/dia) associada à conversão para MMF com minimização de inibidor de calcineurina, mas houve aumento significativo de proteinúria nos casos convertidos para SRL<sup>(81)</sup>.

Outros estudos não controlados que avaliaram a conversão para SRL confirmaram o achado de proteinúria em cerca de 30% dos pacientes<sup>(82-84)</sup>. Entretanto, esse achado não foi confirmado nos estudos randomizados e controlados<sup>(73, 74)</sup>, o que suscita uma controvérsia adicional ao assunto.

Os efeitos benéficos da conversão para SRL também foram demonstrados em receptores de transplante não-renal com comprovada nefrotoxicidade por inibidores de calcineurina<sup>(85-88)</sup>.

Relatamos a experiência de conversão de imunossupressores, em pacientes transplantados renais com NCE, em nosso centro. Quatro tipos de tratamento foram identificados: G1 - CsA nível baixo/conversão para MMF (N=50), G2 - conversão para MMF sem CNI (N=17), G3 - SRL (N=19) e G4 - TAC nível baixo/MMF (N=25) ou SRL (N=5) associados à PRED. A sobrevida do enxerto em um seguimento médio de 18 meses foi de 85, 61, 61 e 64% (log rank p= 0,01 G1 vs G2). Houve melhora da função renal em todos os grupos (+9, +11,+9, +4 ml/min) (p < 0,05). A depuração de

---

creatinina na conversão abaixo de 34 ml/min foi preditora de perda do enxerto (sensibilidade = 70% e especificidade = 64%)<sup>(81)</sup>.

Até o momento, a conversão para SRL em NCE parece apresentar benefício para a função renal. No entanto, ainda existem discussões sobre a superioridade desse benefício em relação àqueles obtidos com o uso de outros esquemas, bem como quanto à tolerância aos eventos adversos de SRL.

As evidências da literatura médica parecem demonstrar benefícios nas mudanças do esquema imunossupressor no tratamento da NCE, mas não permitem conclusões definitivas sobre o melhor tratamento a ser usado. A conversão para MMF com redução/eliminação de CNI é o regime mais estudado até o momento.

De acordo com as evidências da literatura médica e a experiência acumulada na nossa Unidade de Transplante Renal, realizamos um estudo prospectivo, randomizado e paralelo que comparou o efeito e a segurança de dois esquemas imunossupressores. Essas estratégias fundamentaram-se na redução da nefrotoxicidade, na prevenção da rejeição aguda e na minimização da progressão da rejeição crônica em receptores de transplante renal com evidência histológica de NCE.

## **2. HIPÓTESE DO ESTUDO**

---



O emprego da associação SRL/MMF e corticóides resulta em benefício ao paciente com o diagnóstico de nefropatia crônica do enxerto quando comparado ao esquema tradicional, constituído por CNI (CSA ou TAC) em nível baixo associado ao MMF e à Prednisona.

### **3. OBJETIVOS**

---

### 3.1 Objetivo Primário

Comparar a evolução do enxerto renal e do paciente até o 12º mês de tratamento, através de um objetivo composto pela primeira ocorrência de:

- Perda do enxerto;
- Morte;
- Rejeição aguda comprovada por biópsia;
- Perda de filtração glomerular (mensurada por depuração plasmática de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ ) superior a 20% em relação ao momento da randomização

### 3.2 Objetivos Secundários

- Determinar a evolução da filtração glomerular medida pela depuração plasmática de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  em 12 meses de acompanhamento;
- Avaliar a ocorrência de eventos adversos e a suspensão dos esquemas terapêuticos por intolerância;

- Avaliar a evolução das manifestações de fibrose intersticial de acordo com os critérios da classificação de Banff 1997 e através da expressão de alfa actina de músculo liso em ambos os grupos no momento da conversão e após 12 meses de tratamento;

## **4. MÉTODOS**

---

O projeto de pesquisa intitulado, “Efeito da conversão de inibidores da calcineurina para Sirolimo e Micofenolato mofetil na progressão da nefropatia crônica do enxerto em transplantados renais de longo prazo”, foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) em 28/04/2005 sob o no. 1021/04.

Trata-se de um estudo unicêntrico, randomizado, controlado e comparativo para determinar a eficácia e a segurança de dois esquemas imunossupressores em receptores de transplante renais selecionados a partir da população de pacientes acompanhados na Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas/FMUSP. A inclusão foi iniciada em julho de 2005 e concluída em abril 2007. Os pacientes foram acompanhados por 12 meses para a análise dos resultados. O desenho do estudo é apresentado na figura 1.

## PROTOCOLO DE CONVERSÃO

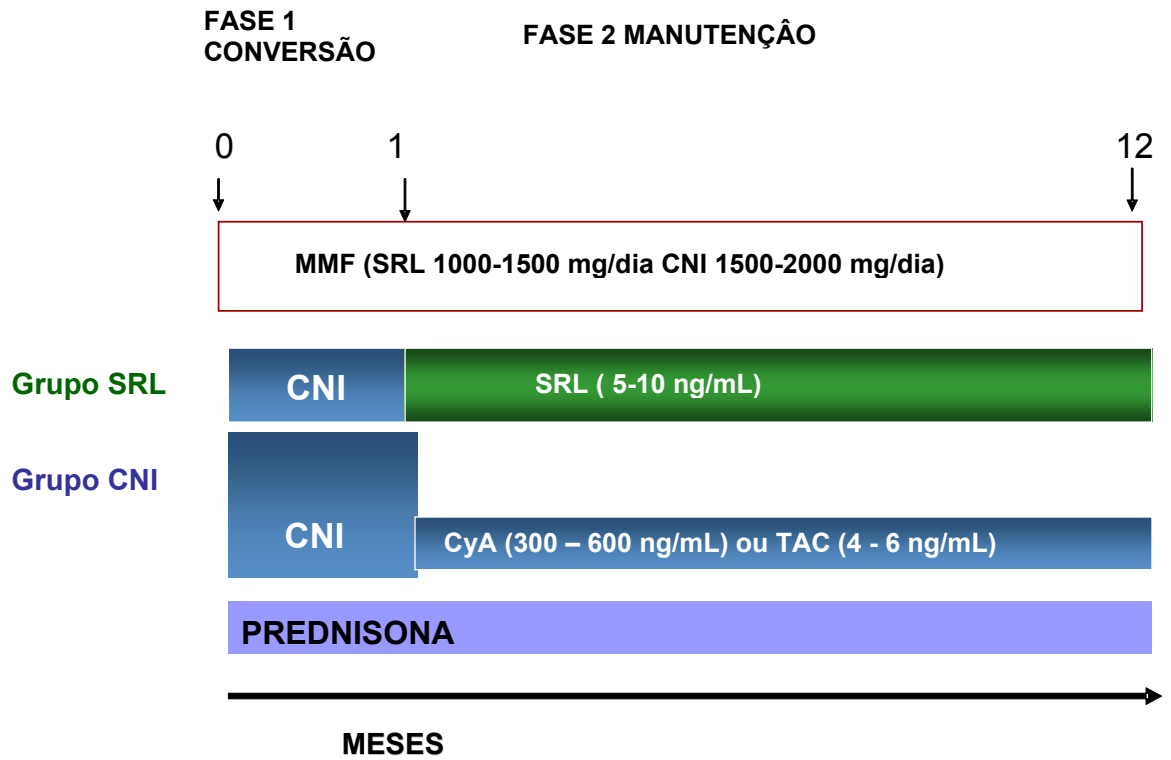


Figura 1 - Desenho do estudo

## 4.1 Casuística

Os prontuários clínicos de todos os receptores de transplante renal realizados entre 1º. de Janeiro de 1995 a 31 de abril 2006 foram analisados para realização de uma pré-seleção dos pacientes para inclusão no estudo. Foram identificados pacientes que apresentavam um dos critérios descritos: depuração de creatinina estimada pela equação de Cockcroft-Gault (C-G) em 30 e 65 ml/min e/ou evidência histológica de nefropatia crônica do enxerto em biópsia renal prévia.

Os pacientes que apresentaram os critérios supracitados foram convidados a participar do estudo, desde que preenchessem os critérios de inclusão e exclusão abaixo descritos.

### CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Idade maior que 18 anos e menor que 65 anos;
- Tempo após o transplante entre 6 meses e 10 anos;
- Imunossupressão baseada em inibidor da calcineurina;
- Filtração glomerular por depuração plasmática de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  entre 25 e 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>;
- Evidência histológica de nefropatia crônica do enxerto em biópsia renal;
- Pacientes que concordaram em participar e assinaram o TCLE.



## CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

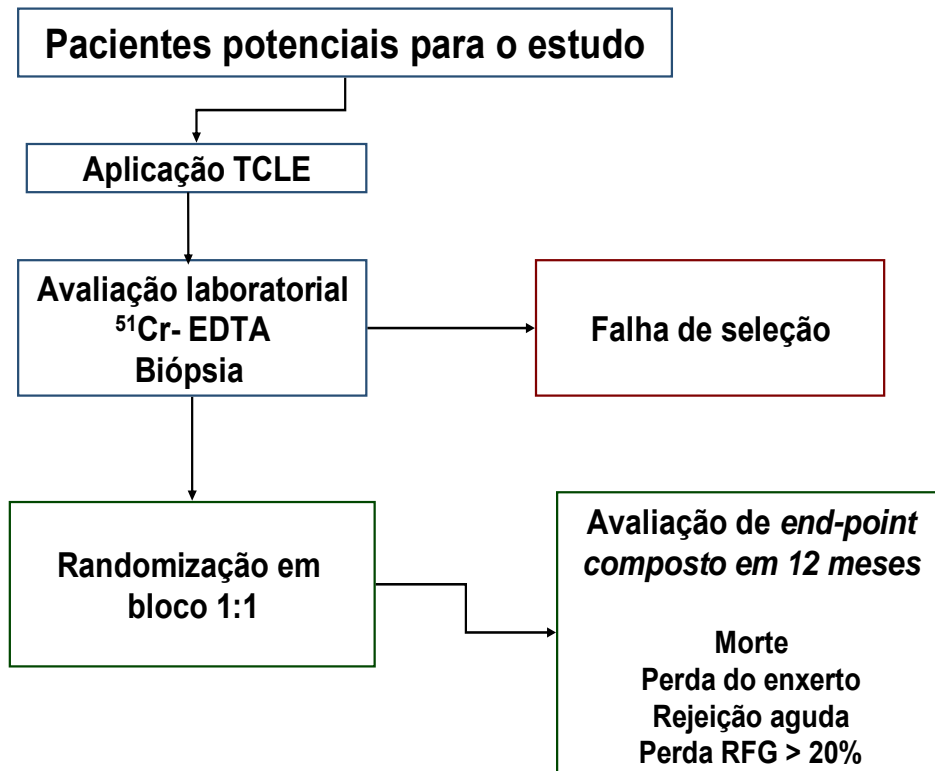
- Rejeição aguda, diagnosticada clinicamente ou por biópsia renal, tratada 12 semanas antes da randomização;
- Biópsias com presença de glomerulonefrite recidivada ou “de novo”;
- Transplantes múltiplos;
- Evidência de infecção sistêmica no momento da randomização;
- Síndrome coronariana aguda ou uso de medicação para arritmias graves;
- Neoplasia suspeitada ou confirmada há menos de 5 anos, exceto carcinoma baso ou espino-celular cutâneo tratado ou doença linfoproliferativa pós-transplante;
- Uso anterior ou atual de SRL;
- Uso de outras medicações sob estudo há menos de 4 semanas da randomização;
- Uso de outros imunossupressores além dos indicados por este estudo;
- Perda funcional urológica, vascular, e/ou recorrência de doença de base;
- Contagem de leucócitos abaixo de  $3000/\text{mm}^3$ , plaquetas abaixo de  $100.000/\text{mm}^3$ , triglicérides acima de 350 mg/dL, colesterol total acima de 300 mg/dL;
- Proteinúria maior que 800 mg/dia;
- Gestantes;
- Pacientes que não assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pela Comissão de Ética Médica do Hospital das Clínicas da FMUSP.

## 4.2 Avaliação Preliminar e Randomização

Todos os pacientes selecionados para o estudo e que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido realizaram o protocolo de inclusão do estudo, cujo objetivo foi determinar a presença dos critérios de inclusão e descartar a presença de critérios de exclusão por meio da realização de exames laboratoriais.

Foram determinados: proteinúria na urina de 24 horas, colesterol, triglicérides, hemograma completo. O  $\beta$ -HCG foi realizado em todas as participantes do o sexo feminino. Na seqüência, os pacientes foram submetidos à determinação da filtração glomerular mensurada pela depuração plasmática de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ . Somente permaneceram no estudo os pacientes que apresentaram valores entre 25 e 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> de depuração plasmática de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ .

Todos os pacientes foram submetidos à biópsia do rim transplantado. Os espécimes foram avaliados utilizando as colorações de rotina para avaliação de microscopia óptica renal e foram classificados de acordo com os critérios da classificação de Banff 1997. A avaliação da marcação para C4d, por imunofluorescência ou imuno-histoquímica, foi realizada sempre que houve material disponível para análise. O fluxograma da seleção de pacientes para o estudo é apresentado na figura 2.



**Figura 2** - Fluxograma de seleção dos pacientes

Os pacientes que obedeceram aos critérios de inclusão e não apresentaram critérios de exclusão foram randomizados em bloco 1:1 de acordo com a tabela 1.

**Tabela 1** - Distribuição dos imunossupressores segundo os grupos de randomização

<b>GRUPO</b>	<b>Esquema Imunossupressor</b>
GRUPO SRL	SRL/MMF/PREDNISONA
GRUPO CNI	CSA OU TAC/MMF/PREDNISONA

#### **4.4 Protocolo de Conversão**

Todos os pacientes estavam usando inibidores da calcineurina e prednisona, associados ou não à AZA ou ao MMF. O protocolo de conversão variou de acordo com o esquema imunossupressor em uso na randomização, sendo possível a necessidade de duas, uma ou nenhuma conversão de medicamento.

##### CONVERSÃO PARA MICOFENOLATO MOFETIL

Pacientes que estavam em uso de AZA ou de Micofenolato sódico (MPS) foram convertidos para MMF, com dose inicial de 1000 a 2000 mg/dia. Durante 30 dias, foram avaliados a tolerância e o surgimento de eventos adversos e realizada a segunda conversão, de acordo com o grupo de randomização.

##### CONVERSÃO GRUPO SRL - SRL/MMF/PRED

A dose de MMF foi ajustada para 1000 mg/dia e o SRL foi iniciado na dose de 3 mg/dia, com suspensão abrupta de CsA ou TAC. O objetivo do estudo foi manter um nível sanguíneo de SRL entre 5 e 12 ng/ml.

##### CONVERSÃO GRUPO CNI – CNI EM NÍVEL BAIXO/MMF/PRED

A dose de MMF foi ajustada com o intuito de manter uma dose 2000 mg/dia, de acordo com a tolerância do paciente. A dose de inibidor de

---

calcineurina (CsA ou TAC) foi ajustada para manter um nível sanguíneo de CsA tempo 2 entre 300 e 600 ng/ml ou TAC basal entre 4 e 6 ng/ml.

#### **4.5 Seguimento Clínico**

Após a conversão, os pacientes foram avaliados ambulatorialmente no 7º dia e, posteriormente, a cada 15 dias até a obtenção do adequado ajuste dos níveis de imunossuppressores. Após a estabilização do nível sanguíneo do imunossupressor, o acompanhamento foi mensal.

A avaliação de eventos adversos foi realizada a cada consulta. A figura 3 mostra o fluxograma de seguimento clínico.



**Figura 3** - Fluxograma de seguimento clínico

## 4.6 Avaliação de Eficácia

A eficácia dos dois esquemas de tratamento foi realizada, primariamente, por meio da observação da ocorrência dos eventos que compuseram o objetivo composto: óbito, perda do enxerto renal, rejeição aguda e perda de filtração glomerular superior a 20% da TFG observada no início do estudo.

Secundariamente, avaliou-se a filtração glomerular no momento da randomização e no 12º mês, visando a determinar a sua evolução. Para definir o que representou melhora, estabilização e queda de filtração glomerular foi utilizado como critério o percentual de variação interensaio da depuração plasmática de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ . Essa variação foi determinada anteriormente e foi de 6,8% (89). As categorias de comportamento da filtração glomerular estão apresentadas na tabela 2.

**Tabela 2** - Categorias de evolução da função renal de acordo com a TFG, mensurada por  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ , entre a randomização e o 12º mês

	<b>Varição do TFG</b>
<b>Melhora</b>	<b>Aumento de TFG superior a 6,8%</b>
<b>Estável</b>	<b>Varição do TFG entre + 6,8 e - 6,8%</b>
<b>Piora</b>	<b>Redução do TFG superior a 6,8%</b>

Por fim, foi realizada a avaliação comparativa dos cortes histológicos renais das biópsias realizadas no momento inicial e final do estudo, utilizando-se análise histológica convencional de acordo com os critérios de Banff 1997, com as avaliações da marcação para C4d e da presença de miofibroblastos por meio de imuno-histoquímica para  $\alpha$ -actina de músculo liso.

## 4.7 Avaliação de Segurança

A avaliação de segurança foi realizada nos meses 1º, 3º, 6º e 12º após a randomização, os parâmetros utilizados foram descritos na tabela 3.

**Tabela 3 - Avaliação de segurança**

---

<b>Parâmetros:</b>
Eventos Adversos Sérios
Proteinúria
Hemograma
Aminotransferases
Colesterol e frações
Triglicérides
Testosterona (basal - 6º e 12º meses).
Monitorização ambulatorial da pressão arterial (M.A.P.A.) de 24 horas (basal - 6º e 12º meses)

---

As pacientes do sexo feminino em idade fértil receberam orientação quanto à necessidade de anticoncepção durante o período do estudo.

Foi considerado evento adverso grave qualquer ocorrência, clínica ou laboratorial, com qualquer medicação que produzisse qualquer dos efeitos descritos na tabela 4.

**Tabela 4 - Definição de eventos adversos graves**

---

<b>Eventos</b>
Óbito do paciente
Risco de vida
Necessidade de internação ou extensão do tempo de internação hospitalar
Incapacidade permanente
Doença neoplásica diagnosticada após o início do estudo
Perda do enxerto renal
Evento clinicamente significante, a critério médico

---



Todo esforço foi feito para manter os pacientes no grupo de randomização. Permitiu-se que doses dos imunossupressores pudessem ser alteradas por falta de eficácia ou na presença de eventos adversos. Os critérios que nortearam a interrupção/descontinuação do tratamento são expressos na tabela 5.

**Tabela 5** - Critérios para interrupção/descontinuação do tratamento

<b>Critérios</b>
Evento adverso sério relacionado ao uso dos imunossupressores
Anormalidade laboratorial que não responda à redução de dose ou ao tratamento
Violação do protocolo
Retirada do consentimento livre e esclarecido
Abandono do tratamento

#### **4.8 Definições de Eventos Clínicos e Eventos Laboratoriais**

As definições de eventos clínicos e eventos laboratoriais e os tratamentos clínicos propostos são apresentados na tabela 6.

**Tabela 6** - Definições de eventos clínicos e eventos laboratoriais e tratamento clínico proposto

	<b>VALORES NORMAIS</b>	<b>ABORDAGEM CLÍNICA</b>
<b>Hipercolesterolemia</b>	Colesterol total > 200 mg/dL <sup>(90)</sup>	Sinvastatina 10 a 30 mg ao dia
<b>Hipertrigliceridemia</b>	Triglicérides > 130 mg/dL <sup>(90)</sup>	Orientação dietética e atividade física Fibratos
<b>Anemia</b>	Hb < 12g/dL Ht < 36% (fem) Hb < 13,5 Ht < 40% (masc) <sup>(91)</sup>	Investigação diagnóstica Ajuste de doses de imunossupressores Eritropoetina recombinante quando Ht <30%
<b>Leucopenia</b>	Leucócitos < 4000/mm <sup>3</sup> <sup>(91)</sup>	Ajuste de dose de imunossupressão Granulokine® pode ser utilizado a critério clínico
<b>Trombocitopenia</b>	Contagem plaquetas < 150mil/mm <sup>3</sup> <sup>(91)</sup>	Ajuste de dose de imunossupressores
<b>Diarréia</b>	Alteração do hábito intestinal referida pelo paciente	Investigação diagnóstica Ajuste de dose de imunossupressores
<b>Alteração de aminotransferases</b>	Elevação de 1,5 vezes os valores normais <sup>(91)</sup>	Investigação diagnóstica Ajuste de dose de imunossupressores
<b>Hipertensão arterial sistêmica (HAS)</b>	Pressão arterial sistólica > 140 mmHg Pressão arterial diastólica > 90 mmHg <sup>(92)</sup>	Controle de HAS monitorado por M.A.P.A. 24 h e M.R.P.A. Ajuste de medicação hipotensora

#### 4.8.1 Tratamento da Hipertensão Arterial Sistêmica

O controle da pressão arterial foi baseado na monitorização residencial da pressão arterial (M.R.P.A.), utilizando um aparelho semi-automático OMROM <sup>(93)</sup>. A M.R.P.A. foi realizada a cada 3 meses durante o estudo.

Os critérios para início ou ajuste de terapêutica anti-hipertensiva adotados foram definidos na literatura médica <sup>(94)</sup>.

O uso de inibidores de enzima de conversão de angiotensina ou inibidores seletivos de angiotensina foi evitado por serem potencialmente fatores de confusão para os resultados. Essas drogas foram utilizadas somente nas seguintes situações: pacientes com benefício inquestionável do uso dessas medicações por outras doenças associadas ou para tratamento de proteinúria que se desenvolveu após a randomização.

O esquema de tratamento hipotensor adotado está apresentado na tabela 7.

**Tabela 7** - Esquema de tratamento hipotensor proposto

<b>DROGA</b>	<b>Dose Inicial</b>	<b>Dose Máxima</b>
Amlodipina	2,5 mg 12/12 horas	10 mg 12/12 horas
Nifedipina retard	20mg 12/12 horas	20 mg 8/8 horas
Atenolol	25 mg 12/12 horas	50 mg 12/12 horas
Propranolol	40 mg 8/8 horas	80 mg 8/8 horas
Hidroclortiazida	12,5 mg ao dia	25 mg ao dia
Furosemida	20 mg ao dia	40 mg ao dia
Atensina	0,100 mg ao dia	0,2 mg 8/8 horas
Metildopa	250 mg 8/8 horas	500 mg 8/8 horas
Hidralazina	25 mg 8/8 horas	50 mg 8/8 horas

## **4.9 Metodologia dos Marcadores da Função do Enxerto**

A avaliação da função do enxerto foi realizada através da medida dos seguintes marcadores: medida da concentração sérica de creatinina e do ritmo de filtração glomerular (TFG) por depuração plasmática de  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA.

### **4.7.1 Determinação da concentração sérica de creatinina**

O método utilizado foi reação de Jaffé modificado, que consiste na reação, em solução alcalina, da creatinina com o ácido pícrico, formando um complexo amarelo avermelhado. Em seqüência é realizada a leitura espectrofotométrica, a qual é mensurada em comprimento de onda de 512 nm. A intensidade da cor é diretamente proporcional à concentração de creatinina.

Os insumos empregados foram produzidos pela empresa Roche Diagnóstica Suíça (artigo 11875418). O método foi adaptado para o analisador bioquímico automatizado Modular Hitachi 917 Roche Diagnóstica Suíça.

A sensibilidade e a linearidade para o ensaio de creatinina sérica são, respectivamente, 0,2 e 25 mg/dL. O coeficiente de variação intraensaio é de 1,67, interensaio de 1,09. Os valores de referência foram estabelecidos para homens em 0.7-1.2 mg/dL ( 62-106  $\mu\text{mol/l}$ ) e para mulheres 0.5-0.9 mg/dL (44-80 $\mu\text{mol/l}$ ).

#### 4.7.2 Depuração de creatinina estimada por equação de Cockcroft-Gault

Depuração (ml/min) =  $[140 - \text{Idade}] \times \text{Peso} / 72 \times \text{Cr sérica}$ .

Para pacientes do sexo feminino o valor encontrado foi multiplicado por 0,85.

#### 4.7.3 Depuração Plasmática de $^{51}\text{Cr-EDTA}$

##### Procedimento no paciente

O radiofármaco  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  foi administrado em dose única em bolus de 100 $\mu\text{Ci}$  (01mL) em veia periférica. As coletas foram feitas no braço contralateral à infusão, nos tempos 120, 240 e 480 minutos após infusão do marcador, com coleta de amostras de 10 mL de sangue. Para cada tempo foi feita uma anotação rigorosa do horário de coleta. As amostras foram centrifugadas a 3500 rpm, por 10 minutos, e encaminhadas ao Centro de Medicina Nuclear – HCFMUSP.

##### Atividade Radioativa

Uma amostra “padrão” foi obtida a partir da diluição de 100 $\mu\text{Ci}$  em 500 mL de solução fisiológica a 0,9%. Após homogeneização, retirou-se 03 mL dessa solução como “amostra padrão”. A contagem de radiação em uma amostra do padrão permite recuperar a informação sobre a atividade administrada ao paciente e é um parâmetro utilizado para o cálculo do volume de distribuição (tabela 8).

Os volumes de plasma e de padrão foram iguais a 3mL. O plasma separado das amostras de sangue e o padrão foram analisados em um contador de poço, calculando-se a atividade radioativa por mL. O tempo de leitura de uma amostra pelo contador foi de 5 minutos. A atividade de uma amostra contendo átomos radioativos é medida em Bq ou Ci.

Bq (Becquerel)= uma desintegração por segundo.

Ci (Curie) =  $3,7 \times 10^{10}$  Bq.

### **Depuração Plasmática**

A taxa ou constante de clareamento (k) multiplicada pelo volume de distribuição (v) do radiofármaco fornece o valor da depuração plasmática em ml/min. A tabela 8, define as variáveis utilizadas para o cálculo da depuração.

**Tabela 8** - Cálculo da depuração plasmática por  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA

---

$$\text{Depuração Plasmática (ml/min)} = k.V$$

---

V= volume de distribuição

K= constante de clareamento; obtida pela inclinação da curva (= *slope*); representa a taxa de clareamento do  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA por unidade de tempo.

Volume de distribuição = atividade administrada / Concentração plasmática no tempo zero.

Atividade administrada = (atividade/mL do padrão) x (volume de distribuição do padrão) x (relação entre as atividades do paciente e do padrão)

Concentração plasmática no tempo zero: o intercepto da curva plasmática (obtido por extrapolação da curva até o tempo zero). Representa a concentração inicial de  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA no plasma, assumindo-se que haja uma perfeita homogeneização no compartimento único extracelular, antes de se iniciar a eliminação renal.

---

As curvas de depuração plasmática foram calculadas por meio de planilha eletrônica (Excel), com base nos pontos de medida da atividade radioativa nas amostras obtidas em 120, 240 e 480 minutos após injeção do

marcador  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ . A correção de Brochner-Mortensen foi aplicada aos valores de filtração glomerular obtidos para correção de erros sistemáticos da técnica de inclinação-intercepto:

$\text{Cl}_1 = 0.99 \times \text{Cl}_2 - 0.0012 \times \text{Cl}_2^2$ , onde  $\text{Cl}_1$  é o *clearance* corrigido para 1ª exponencial e  $\text{Cl}_2$  é o *clearance* não corrigido.

A variação interensaio do método foi determinada, durante a validação do método de realização da depuração de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ , no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e para a técnica de exame adotada no estudo foi de 6,8% <sup>(89)</sup>.

## 4.10 Metodologia de Avaliação Histológica

### 4.10.1 Procedimento de realização da biópsia renal

As biópsias renais protocolares ou indicadas foram realizadas ambulatorialmente pelos médicos urologistas da equipe da Urologia do Transplante Renal, por via percutânea de acordo com a rotina da Unidade. Foram coletados fragmentos de biópsia renal para a realização de microscopia óptica e imunofluorescência.

Os pacientes não apresentaram anormalidades de coagulação. Os anti-agregantes plaquetários foram suspensos 10 dias antes do procedimento e reiniciados 10 dias após a biópsia. Após o procedimento, os

pacientes permaneceram em repouso absoluto por seis horas e foram liberados após esse período com orientação médica para repouso relativo. A pressão arterial foi monitorada durante todo o procedimento, bem como o aspecto da urina, para avaliação de complicações.

#### **4.10.2 Análise de microscopia óptica**

A leitura das lâminas foi realizada pelos dois patologistas da Divisão de Patologia que atuam na Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os fragmentos renais foram submetidos à avaliação histológica por microscopia óptica, utilizando as colorações habituais: hematoxilina-eosina, Periódico Ácido de Shiff, Tricrômio de Masson.

Todos os espécimes foram analisados de acordo com os critérios de Banff 97 para rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto.

#### **4.10.3 Imunofluorescência Indireta para C4d**

Os fragmentos de rim congelado foram cortados em uma espessura de 2 a 4 $\mu$ m e colocados em superfície seca para descongelar durante 30 minutos.

A seguir, receberam a aplicação de 150  $\mu$ l de avidina-D (Vector Laboratories, Burlingame, CA) durante 20 minutos. E, então, foi realizada a aplicação de anticorpo monoclonal de camundongo anti-C4d humano (1:100 clone 10-11, Biogenesis) durante 30 minutos.

A seguir, receberam a aplicação de anticorpo de cavalo IgG anti-camundongo 1:100 (Vector Laboratories, Burlingame, CA) durante 30 minutos.



Em seqüência, receberam a aplicação da FITC-estreptavidina 1:50 (Biomedica Grupp) durante 30 minutos. Finalmente, procedeu-se à leitura por microscopia óptica com imunofluorescência <sup>(95)</sup>.

O C4d foi considerado positivo quando a coloração foi forte, linear e envolveu circunferência maior que 50% do capilar peritubular no córtex ou medula renal, excluindo-se áreas cicatriciais e necróticas.

#### **4.10.4 Imunoperoxidase para C4d**

As lâminas contendo os cortes histológicos com 2 µm de espessura foram submetidas à desparafinização e hidratação, antes de iniciar o procedimento de imuno-histoquímica.

O bloqueio da atividade da peroxidase endógena foi realizado com peróxido de hidrogênio a 3%.

Para recuperar os antígenos, realizou-se a cocção em panela de pressão com eles imersos em tampão de ácido cítrico 10 Mm pH 6,0 por 5 minutos. Depois, procedeu-se a incubação com anticorpo primário do tipo policlonal de coelho anti-C4d humano 1:100 (Biomédica, Wien, Austria), a 4°C durante 18 horas.

A detecção foi feita com a técnica de polímeros para amplificação (Novolink Max Polymer, Novocastra and Newcastle, UK) durante 30 minutos a 37° C. A revelação foi feita com diaminobenzidina (DAB) a 37° C por 5 minutos. A contra-coloração foi realizada com hematoxilina de Harris.

O C4d foi positivo quando apresentou coloração linear em mais que 50% dos capilares peri-tubulares no córtex, medula renal ou em endotélio

capilar glomerular, excluindo-se áreas de necrose ou cicatriciais. Na imunoperoxidase, a coloração forte não foi requerida, uma vez que o pré-tratamento do tecido parafinado influencia a intensidade da coloração. <sup>(17)</sup>

#### **4.10.4 Imuno-histoquímica para $\alpha$ -actina de músculo liso**

As lâminas contendo os cortes histológicos com 2  $\mu$ m de espessura foram submetidas à desparafinização e hidratação, antes de iniciar o procedimento de imuno-histoquímica.

A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio a 3%. A recuperação dos antígenos foi realizada por cocção em panela de pressão dos cortes na presença de tampão de ácido cítrico 10 Mm pH 6,0 por 3 minutos.

Procedeu-se a incubação com anticorpo primário anti  $\alpha$ -actina de músculo liso humana, clone 1A4, código M0851 (Dako, Carpinteria, CA), na diluição de 1:1000, a 4°C durante 18 horas.

A amplificação foi realizada utilizando-se o método da streptavidina-biotina-peroxidase com o kit LSAB *plus*, código D0690, (Dako, Carpinteria, CA). A revelação foi feita com diaminobenzidina (DAB) a 37°C por 5 minutos na presença de água oxigenada. A contra-coloração foi realizada com hematoxilina de Carazzi. As células positivas apresentam a coloração acastanhada.

Foram obtidas imagens fotográficas de duas ou três áreas do córtex renal de cada lâmina, utilizando uma câmera Zeiss AxioCam MRC e o software AxioVision 3.0. A avaliação da expressão de  $\alpha$ -actina de músculo liso foi realizada de modo semiquantitativo, através da técnica de contagem de pontos. Para a contagem de pontos foi utilizado o software Image ProPlus

(MediaCybernetics, Bethesda, MD, USA). O programa foi primeiramente calibrado com um pool de amostras e procedeu-se a quantificação. O número de pontos positivos foi comparado com o número total de pontos do corte histológico e foi calculada a percentagem de área positiva. Por fim, foi calculada a média de área positiva obtida na quantificação dos cortes histológicos de cada paciente.

## **4.11 Metodologia de Realização de Exames Laboratoriais**

### **4.11.1 Determinação do nível sanguíneo de Tacrolimo**

As concentrações de Tacrolimo foram determinadas em sangue coletado em tubo com EDTA, 12 horas após a tomada da última dose do medicamento. A determinação da concentração foi realizada pelo método enzimaimunoensaio de micropartículas (MEIA), conjuntos diagnósticos para ensaio laboratorial em equipamento IMX – Abbott 8389-01. (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL).

### **4.11.2 Determinação do nível sanguíneo de Sirolimo**

As concentrações SRL foram determinadas em sangue coletado em tubo com EDTA, 24 horas após a tomada da última dose do medicamento. As determinações foram realizadas pela técnica de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), com detecção ultravioleta <sup>(55)</sup> até julho 2006.

---

A partir de agosto de 2006, a dosagem passou a ser realizada pelo método enzimaímunoensaio de micropartículas (MEIA), em equipamento IMX Abbott 8389-01 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL).

#### **4.11.3 Determinação do nível sanguíneo de Ciclosporina**

As concentrações de Ciclosporina foram determinadas em sangue coletado em tubo com EDTA pela técnica de imunofluorescência polarizada com equipamento TDX-FLX Abbott Laboratories, série 04A24, Abbott Park, Illinois, USA, após prévia desproteinização da amostra. A monitorização do nível de Ciclosporina foi realizada 2 horas após a dose da manhã, de acordo com a estratégia de monitorização adotada pela Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas FMUSP.

#### **4.11.4 Determinação dos níveis séricos de colesterol total**

A determinação do nível sérico de colesterol total foi realizada em amostra de soro por meio do método colorimétrico no qual esse parâmetro é determinado de modo enzimático, utilizando-se a colesterol-oxidase-peroxidase (CHOD-PAP). Os insumos empregados foram produzidos pela empresa Roche Diagnóstica Suíça (artigo 11491458). O método foi adaptado para o analisador bioquímico automatizado Modular Hitachi P800 Roche Diagnóstica Suíça.

#### **4.11.5 Determinação dos níveis séricos de triglicérides**

A determinação do nível de triglicérides foi realizada em amostra de soro pelo método enzimático colorimétrico lípase-glicerol-peroxidase (GPO-PAP). Os insumos empregados foram produzidos pela empresa Roche Diagnóstica Suíça (artigo 11730711). O método foi adaptado para o analisador bioquímico automatizado Modular Hitachi P800 Roche Diagnóstica Suíça.

#### **4.11.6 Hemograma completo**

A análise do hemograma foi realizada por método automatizado Sysmex Roche Diagnóstica na fase analítica. Quando necessário, foi realizado estudo morfológico dos esfregaços sangüíneos corados com corantes panópticos.

#### **4.11.7 Determinação da proteinúria de 24 horas**

O paciente foi orientado a realizar a coleta de toda a urina eliminada durante 24 horas. Essa coleta foi iniciada após o esvaziamento da bexiga pela manhã, ao acordar, e toda a urina eliminada até a manhã seguinte foi acondicionada em um frasco sem conservante, com capacidade para 2000 ml, e encaminhado ao laboratório.

A determinação da proteína urinária foi realizada por turbidimetria por método de ponto final com branco de amostra, em analisador bioquímico modelo Modular Hitachi P800 – Roche Diagnóstica Suíça. Os insumos utilizados também foram produzidos pela Roche Diagnóstica Suíça.

#### **4.11.8 Determinação dos níveis séricos de testosterona**

As amostras de sangue foram coletadas em tubos com EDTA em jejum. A dosagem foi realizada pelo método de eletroquimioluminescência (ECLA) utilizando o equipamento modelo Elecsys 2010 Hitachi da marca Roche Diagnóstica. Os insumos utilizados também são de procedência da Roche Diagnóstica Suíça.

### **4.12 Técnicas de Medida da Pressão Arterial**

#### **4.12.1 Medida ambulatorial da pressão arterial 24 horas**

O exame de monitorização ambulatorial da pressão arterial (M.A.P.A.) de 24 horas foi realizado utilizando o aparelho Spacelabs 90207. Os critérios de aceitação do exame são, no mínimo, 14 medidas durante o dia e 7 medidas durante a noite, sem intervalo maior que 2 horas entre qualquer uma delas, de acordo com o último consenso <sup>(93)</sup>. As médias de pressão arterial sistólica, diastólica e média nas 24 horas, na vigília e no sono foram consideradas para o diagnóstico e o tratamento.

#### **4.12.2 Medida residencial da pressão arterial**

O controle da pressão arterial foi baseado na monitorização residencial da pressão arterial (M.R.P.A.), utilizando um aparelho semi-automático OMRON.

---

O paciente foi orientado a realizar três medidas da pressão arterial, com intervalo de um minuto entre as medidas, na posição sentada, após 1 a 2 minutos de repouso, com o braço na altura do coração e com a palma da mão voltada para cima. A medida da pressão arterial foi feita duas vezes ao dia, pela manhã e à noite. As medidas do primeiro dia foram descartadas e foram analisadas todas as medidas do segundo ao quarto dia. O critério utilizado de aceitação do exame foi o número de medidas válidas de, pelo menos, 80% dos valores medidos <sup>(93)</sup>.

#### **4.13 Análise Estatística**

As variáveis categóricas foram apresentadas de modo descritivo em tabelas contendo frequências absolutas (n) e relativas (%). Os grupos foram comparados com o teste qui-quadrado ou com o teste da razão de verossimilhança ou com o teste exato de Fisher.

As variáveis com distribuição normal foram apresentadas também de modo descritivo em tabelas contendo média e desvio padrão; as que não apresentaram distribuição normal foram mostradas em mediana, valores mínimos e máximos.

As médias das variáveis mensuradas em uma condição de avaliação foram avaliadas com teste t-Student.

---

As médias das variáveis mensuradas em mais de uma condição de avaliação, com distribuição normal, foram avaliadas por análise de variância para medidas repetidas, e as seguintes hipóteses foram testadas:

H<sub>01</sub>: Os perfis de médias são paralelos, ou seja, o comportamento dos grupos é igual ao longo do tempo;

H<sub>02</sub>: Os perfis de médias são coincidentes, ou seja, não existe diferença de médias entre os grupos;

H<sub>03</sub>: Não há efeito de tempo, ou seja, os perfis são paralelos ao eixo das abscissas.

Quando a hipótese H<sub>01</sub> foi rejeitada, foram realizados contrastes entre grupos e tempos para discriminar as diferenças.

As distribuições das variáveis que foram mensuradas em mais de uma condição de avaliação e não apresentaram distribuição normal tiveram os tempos comparados com o teste de Friedman, e os grupos foram comparados com o teste de Mann-Whitney.

A avaliação do objetivo composto foi realizada por meio da análise de sobrevida estimada por Kaplan-Meier e teste log-rank.

Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.



## **7. RESULTADOS**

---

## 7.1 Inclusão dos Pacientes

Uma pesquisa que utilizou as informações geradas pelo prontuário eletrônico da Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas – FMUSP resultou na identificação de 255 pacientes que obedeciam aos critérios de pré-seleção para o estudo. Após a revisão das informações de prontuários, 197 pacientes foram excluídos por essa seleção. Os principais motivos para as exclusões foram o acompanhamento clínico em outros hospitais, a função renal adequada no momento da seleção (superior a  $65 \text{ ml/min/1,7m}^2$ ) e a presença de doenças graves associadas ao transplante renal. Todos os motivos de exclusão são apresentados na tabela 9.

**Tabela 9 - Motivos para exclusão do estudo clínico**

<b>CAUSAS DE EXCLUSÃO</b>	<b>N</b>
Acompanhamento clínico em outros hospitais	37
Depuração de creatinina CG > 65 ml/min/1,73m <sup>2</sup>	29
Perda funcional por outra causa <sup>[1]</sup>	28
Doença grave associada <sup>[2]</sup>	27
Idade > 65 anos	19
Recusa	18
Participação em outro estudo	10
Transplante duplo	9
Uso anterior de SRL ou sem ICN	8
Proteinúria	7
Antecedente de intolerância ao MMF	3
Outros <sup>3</sup>	2
<b>Total</b>	<b>197</b>

1 - causa urológica (19), causa vascular (1), recidiva de doença de base (8)

2- câncer (15), cardiopatia (9), psiquiátrico (3), intestinal (1)

3- dislipidemia, falta de acesso vascular

Setenta e seis pacientes foram abordados para a participação no estudo por preencheram os requisitos necessários. Desses, 58 pacientes concordaram em participar, dando seu consentimento livre e esclarecido, e 18 recusaram-se a tomar parte do estudo. Os 58 pacientes realizaram a avaliação inicial do estudo e 29 deles apresentaram falha de seleção. A tabela 10 apresenta os motivos das falhas de seleção.

**Tabela 10 - Distribuição dos pacientes segundo o motivo para falha de seleção**

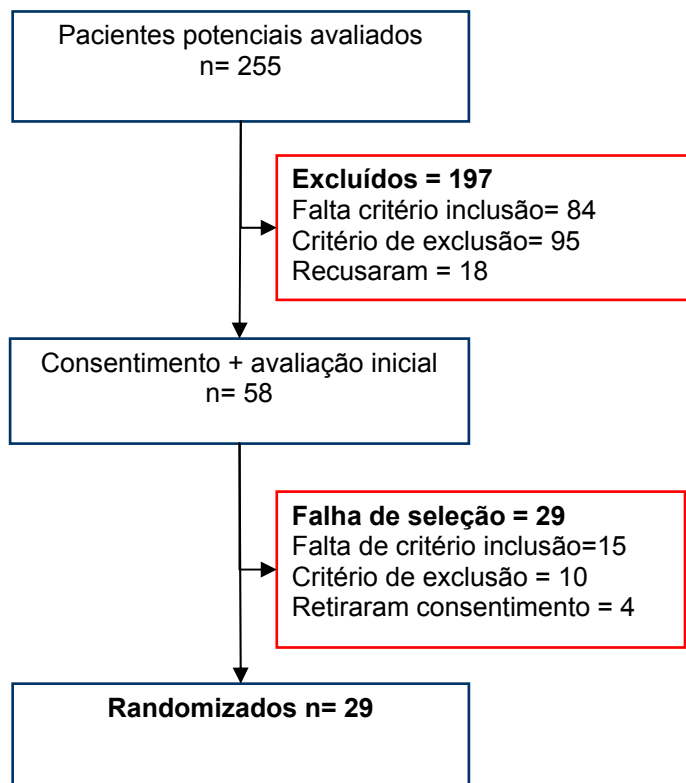
<b>MOTIVO DA FALHA DE SELEÇÃO</b>	<b>N</b>
<b>Depuração Cr-EDTA &lt; 25 e &gt; 60<sup>1</sup></b>	10
<b>Biópsia renal normal</b>	5
<b>Proteinúria</b>	5
<b>Retirou o consentimento</b>	4
<b>Alteração hematológica grave<sup>2</sup></b>	2
<b>Câncer</b>	1
<b>Perda de função renal de outra etiologia<sup>3</sup></b>	1
<b>Glomerulopatia do transplante</b>	1
<b>Total</b>	<b>29</b>

1- em ml/min/1,73m<sup>2</sup>

2 - plaquetopenia (1), alargamento TTPA (1)

3- causa urológica (1)

Desse modo, foram incluídos no estudo clínico 29 pacientes. O fluxograma de inclusão no estudo clínico é apresentado na figura 4.



**Figura 4** - Fluxograma de inclusão no estudo clínico

## 7.2 Dados Demográficos e Imunológicos

Dos vinte e nove pacientes incluídos no estudo, 14 pacientes foram randomizados para receber SRL e 15 para serem mantidos sob CNI. O tempo médio de transplante no momento da conversão foi de  $54 \pm 38$  meses e  $51 \pm 22$  meses, nos grupos SRL e CNI, respectivamente.

No momento da randomização, os grupos apresentaram comportamento semelhante em relação aos dados demográficos e à doença renal de base conforme mostra a tabela 11.

**Tabela 11** - Distribuição dos dados demográficos, segundo o grupo de randomização

Variável	GRUPO SRL	GRUPO CNI	p
<b>n</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	
<b>Idade (anos)</b>	$46 \pm 10$	$42 \pm 13$	0,42
<b>Sexo M/F° n (%)</b>	9 (64)/5 (36)	10 (67)/5 (33)	1,00
<b>Raça B/N/A§ n</b>	8/5/1	9/6/0	0,47
<b>Causa da doença renal crônica</b>			0,51
Hipertensão arterial sistêmica n (%)	5 (36)	1 (7)	
Glomerulonefrite crônica n (%)	4 (29)	7 (46)	
Doença urológica n (%)	1 (7)	2 (13)	
Diabetes mellitus	1 (7)	1 (7)	
Doença renal policística n (%)	1 (7)	1 (7)	
Desconhecida n (%)	2 (14)	3 (20)	

§ B – branco N – negro A – amarelo

° M – masculino F – feminino

A tabela 12 relata as informações relacionadas ao transplante renal. A maioria dos pacientes era receptora de primeiro transplante. Não houve diferença entre os grupos com relação à reatividade contra painel (PRA), ao uso de terapia de indução e ao tipo de imunossupressão inicial. Não foi possível obter a informação sobre PRA pré-transplante em 4 pacientes (SRL – 3 CNI – 1) e sobre o número de incompatibilidades HLA em 1 paciente (CNI).

Destacaram-se naquele momento a observação de uma tendência para maior idade do doador no grupo SRL e para um maior número de incompatibilidades HLA com o doador no grupo CNI; entretanto, a diferença não atingiu significância estatística.

**Tabela 12** - Distribuição dos dados imunológicos, segundo os grupos de randomização

Variável	GRUPO SRL	GRUPO CNI	p
<b>Doador F/VR/VNR* n</b>	11/2/1	10/3/2	0,76
<b>Idade do doador (anos)</b>	50 ±10	40 ±10	0,06
<b>1º. Transplante n (%)</b>	13 (93)	14 (95)	1,00
<b>Uso de indução (%)</b>	8 (57)	12 (80)	0,10
<b>PRA* pré-transplante = 0 n (%)</b>	9 (64)	11 (73)	1,00
<b>No. Incompatibilidades HLA</b>			<b>0,07</b>
0	1	0	
1-3	9	4	
4-6	4	10	
<b>Imunossupressão inicial</b>			
CSA/TAC° (%)	8(57)/6(43)	9(60)/6(40)	1,00
AZA‡/Micofenolato (%)	5(36)/9(64)	5(33)/10(67)	1,00
Prednisona (%)	14 (100)	15 (100)	1,00
<b>Tempo de transplante (meses)</b>	54 ± 38	51 ± 22	0,79
<b>Histórico de rejeição aguda (%)</b>	5 (36)	9 (60)	0,19
<b>Histórico de infecção por CMV§ (%)</b>	36	33	1,00

\* F – falecido VR – vivo relacionado VNR – vivo não relacionado

\* PRA – reatividade contra painel

°CSA – ciclosporina TAC – tacrolimo ‡ AZA – azatioprina

§CMV – *Citomegalovirus*

### 7.3 Resultados Clínicos e Laboratoriais na Randomização

No momento da conversão, os grupos apresentaram comportamento semelhante com relação ao tipo de imunossupressão, creatinina sérica e TFG. Além disso, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos nos parâmetros hematológicos, no perfil lipídico, testosterona total e excreção urinária de proteínas em 24 horas (tabela 13).

**Tabela 13** - Distribuição dos dados clínicos e laboratoriais, no momento da randomização

VARIÁVEL	GRUPO SRL	GRUPO CNI	p
CsA/TAC° (%)	43/57	40/60	1,0
AZA#/Micofenolato (%)	14/86	13/87	0,99
Creatinina (mg/dL)	1,9 ± 0,3	1,7 ± 0,4	0,31
Depuração de <sup>51</sup> Cr-EDTA*	39,3 ± 10,8	38,5 ± 6,6	0,96
Hemoglobina (g/dL)	12,3 ± 0,4	12,8 ± 0,5	0,45
Colesterol total (mg/dL)	177 ± 11	179 ± 8	0,88
Triglicérides (mg/dL)	152 ± 9	169 ± 18	0,43
Proteinúria (g/24 horas)	0,2 ± 0,03	0,2 ± 0,02	0,83
Testosterona (ng/dL)	492 ± 72	585 ± 121	0,53

°CsA – ciclosporina TAC – tacrolimo

#AZA – azatioprina

\* em ml/min/1,73 m<sup>2</sup>

As doses médias de CsA e TAC foram semelhantes entre os grupos no momento da randomização, e os valores foram, respectivamente, de 2,09 ± 0,7 e de 0,04 ± 0,01 mg/kg/dia no grupo SRL e de 1,9 ± 0,5 e de 0,07 ± 0,01 mg/kg/dia no grupo CNI.



Não houve diferenças entre os grupos com relação às doses médias de MMF e prednisona na randomização. As doses médias de MMF neste momento eram de  $1712 \pm 335$  mg/dia e de  $1592 \pm 550$  mg/dia, nos grupos SRL e CNI, respectivamente; e as doses médias de prednisona eram de  $0,09 \pm 0,01$  mg/kg/dia e de  $0,10 \pm 0,01$  mg/kg/dia, nos grupos SRL e CNI, respectivamente.

#### **7.4 Doses e Níveis de Medicamentos Imunossupressores**

Todos os pacientes receberam o esquema imunossupressor para o qual foram randomizados.

Ocorreu suspensão temporária de SRL em um paciente desse grupo por neutropenia febril, que se caracterizou como um evento adverso grave. Como o paciente apresentou boa recuperação com tratamento antibiótico e medidas de suporte, o medicamento foi reintroduzido e mantido em dose reduzida sem problemas adicionais. Não ocorreu suspensão definitiva de nenhum dos imunossupressores preconizados pelo estudo.

Não houve diferença entre os grupos com relação às doses médias de prednisona no momento da conversão ou no período de seguimento. Essas doses foram de  $0,09 \pm 0,01$  mg/kg/dia e de  $0,10 \pm 0,01$  mg/kg/dia nos grupos SRL e CNI, respectivamente.

As doses médias de MMF, no grupo SRL, foram de  $1712 \pm 335$  mg/dia, de  $1033 \pm 175$  mg/dia e de  $1124 \pm 233$  mg/dia na conversão, no mês 6º e no mês 12º, respectivamente. No grupo CNI, as doses médias de MMF foram de  $1592 \pm 550$  mg/dia, de  $1793 \pm 520$  mg/dia e de  $1788 \pm 502$  mg/dia nos mesmos tempos, respectivamente.

---

As doses médias de SRL, nos meses 6º e 12º, foram de  $1,79 \pm 0,89$  mg/dia e de  $1,85 \pm 1,02$  mg/dia, respectivamente.

As doses médias de CSA e TAC foram, respectivamente, de  $1,34 \pm 0,17$  e de  $0,05 \pm 0,03$  mg/kg/dia no 6º mês e de  $1,29 \pm 0,27$  e de  $0,06 \pm 0,03$  mg/kg/dia no 12º mês.

Os níveis sanguíneos de SRL, CsA e TAC durante o estudo são apresentados nas figuras 5, 6 e 7, respectivamente.

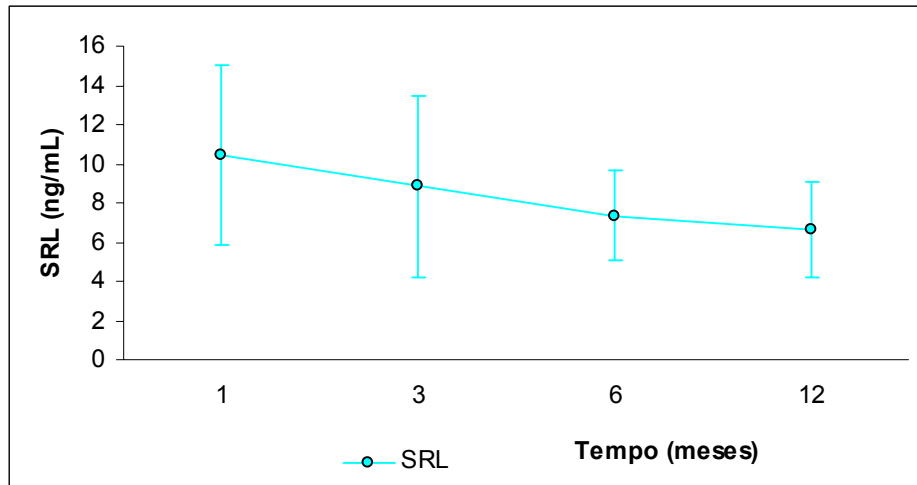


Figura 5 - Distribuição dos níveis sanguíneos de SRL segundo o tempo

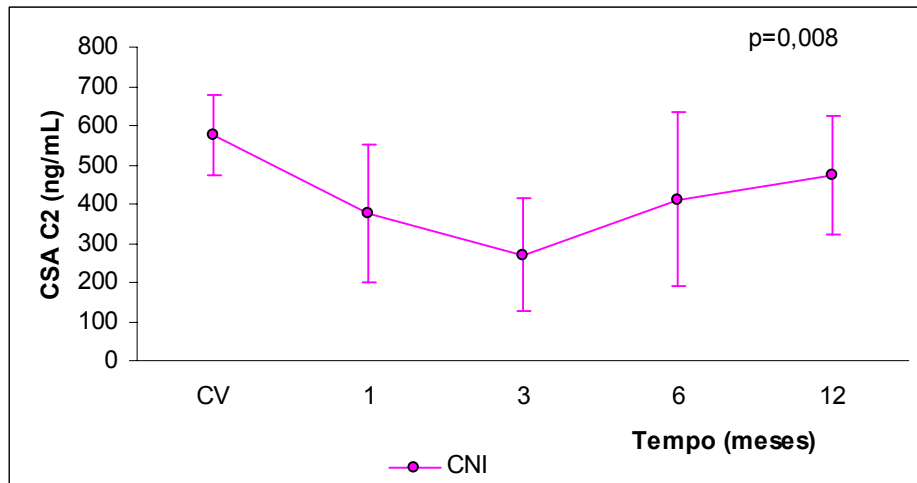


Figura 6 - Distribuição dos níveis sanguíneos de CsA segundo o tempo

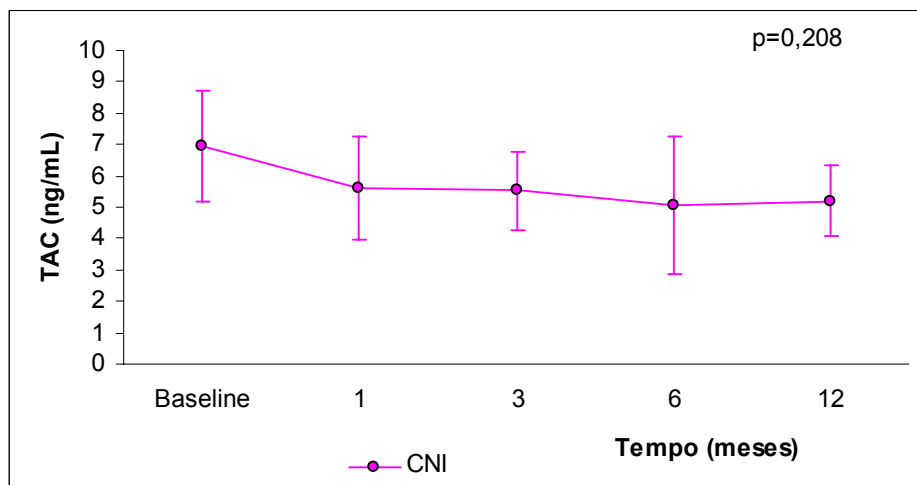


Figura 7 - Distribuição dos níveis sanguíneos de TAC segundo o tempo

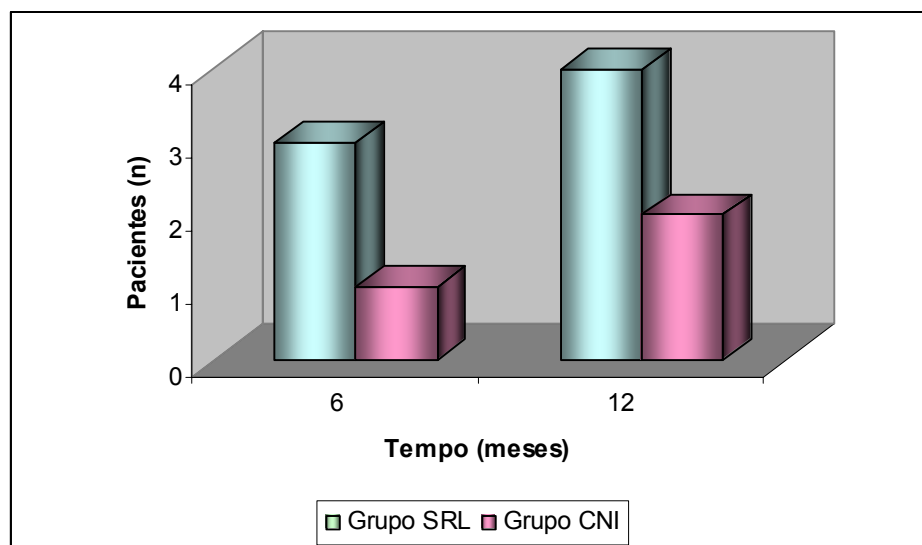
## 7.5 Avaliação de Eficácia

Todos os pacientes atingiram o tempo de seguimento de 12 meses para a análise de resultados e permaneceram nos grupos de randomização.

### 7.5.1 Avaliação do objetivo composto

No período de acompanhamento clínico, não ocorreu nenhum dos seguintes eventos do objetivo composto: óbito, perdas do enxerto renal ou episódios de rejeição aguda.

A perda de TFG superior a 20% ocorreu em 4 pacientes no grupo SRL e em 2 pacientes no grupo CNI, sem diferença significativa entre os grupos (figura 8). A avaliação de sobrevida livre do objetivo composto pela análise estatística de Kaplan-Meier não revelou diferenças entre os grupos (log-rank 0,3416).



**Figura 8** - Distribuição dos pacientes por grupos, de acordo com a ocorrência de perda de filtração glomerular superior a 20%, nos meses 6º e 12º

### 7.5.2 Avaliação da função renal

Houve um aumento discreto na TFG média em ambos os grupos, mas não atingiu significância estatística (figura 9).

No grupo SRL, a TFG aumentou de  $39,34 \pm 10,83$  para  $41,08 \pm 12,09$  e  $41,99 \pm 13,48$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, no 6º e 12º mês, respectivamente. No grupo CNI, a TFG foi de  $38,52 \pm 6,6$  na randomização para  $43,10 \pm 10,49$  e  $41,21 \pm 9,10$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, nos mesmos momentos, respectivamente.

A mediana do ganho de função foi de 6,15 mL/min/1,73m<sup>2</sup> (-21,9 a 17,7) no grupo SRL e de 5,0 mL/min/1,73m<sup>2</sup> (-7,5 a 20,9) no grupo CNI (p=0,96). No 12º mês ainda existe um ganho na mediana sobre o momento zero de 3,4 mL/min/1,73m<sup>2</sup> (-24,7 a 22) no grupo SRL e de 3,1 mL/min/1,73m<sup>2</sup> (-12,3 a 20,1) no grupo CNI (p=0,94). Não houve ganho de função renal entre o 6º e o 12º mês.

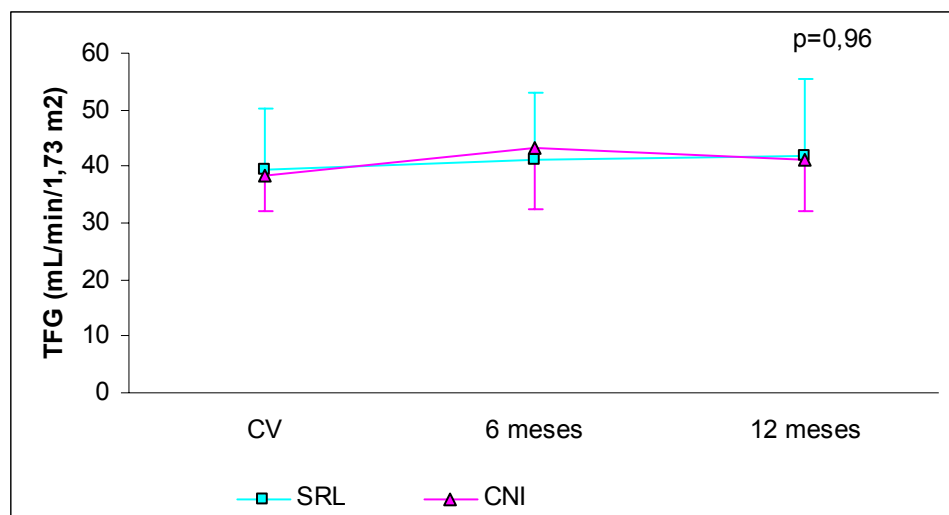
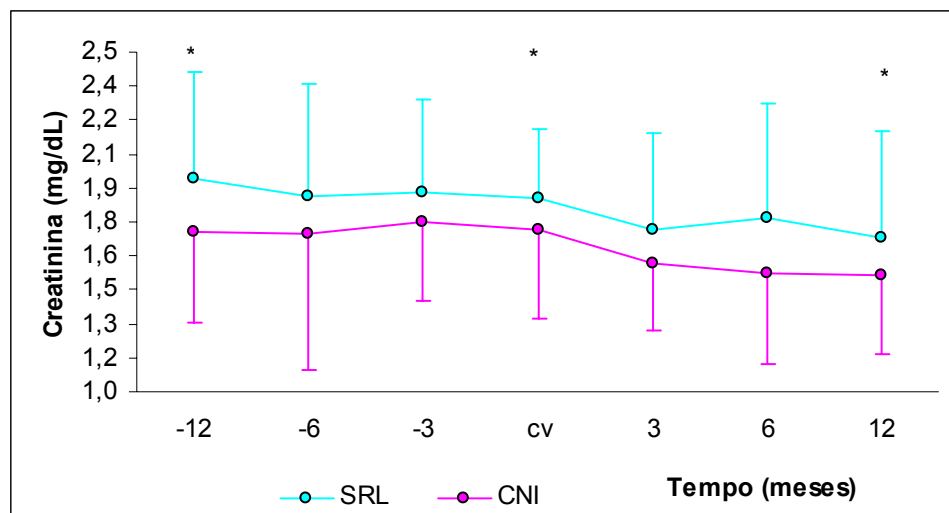


Figura 9 - Evolução do TFG mensurado pela depuração de 51Cr-EDTA ao longo do tempo

Foi observada a ocorrência de melhora da função renal ao fim de 12 meses no grupo SRL em 8 pacientes (57,1%), estabilização de função em 2 (14,2%) e piora de função em 4 (28,7%). No grupo CNI, observou-se melhora em 9 pacientes (60%), estabilização em 1 (7,7%) e piora de função em 5 (33,3%).

No período de 12 meses que precedeu a randomização, os pacientes apresentaram os valores médios de creatinina sérica estáveis ( $p=0,89$ ), sem diferenças entre os grupos. Os valores médios de creatinina sérica apresentaram uma redução significativa em ambos os grupos no final do estudo, se comparando esses valores com aqueles obtidos no momento da conversão ( $p=0,0001$ ) ou aos obtidos 12 meses antes da conversão ( $p=0,0001$ ).

Doze meses antes da intervenção, os valores médios de creatinina sérica foram de  $1,94 \pm 0,47$  e de  $1,71 \pm 0,41$  mg/dL, nos grupos SRL e CNI, respectivamente. No final do estudo, a creatinina sérica média foi de  $1,68 \pm 0,47$  e de  $1,51 \pm 0,35$  mg/dL, nos mesmos grupos, respectivamente. No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos.



\*  $p=0,0001$  entre -12 m vs. 12 m

\*  $p=0,0001$  entre cv vs. 12 m

$p=0,53$  entre -12 vs. cv

**Figura 10** - Evolução da creatinina sérica (mg/dL) ao longo do tempo, de acordo com os grupos

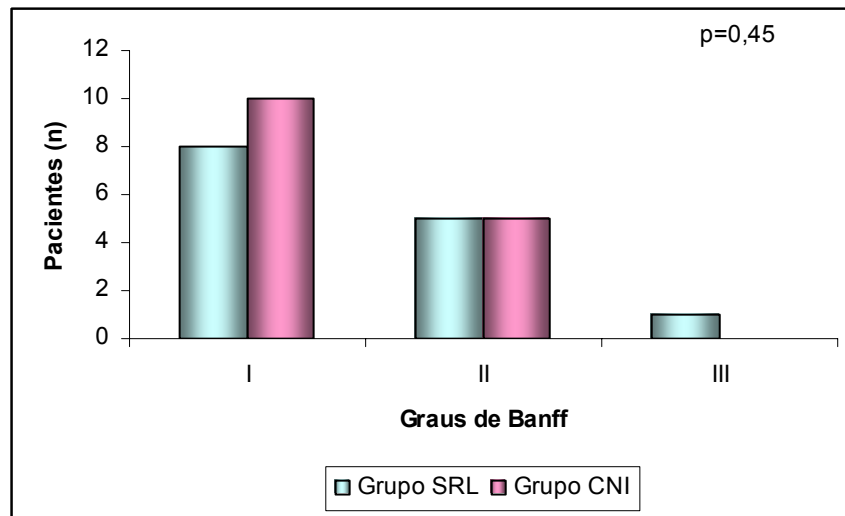
### 7.6.3 Avaliação da histologia renal

Todos os pacientes realizaram biópsia renal no início do estudo e 25 pacientes realizaram biópsia renal após 12 meses de tratamento. Quatro pacientes recusaram-se em realizar a biópsia ao fim de 12 meses.

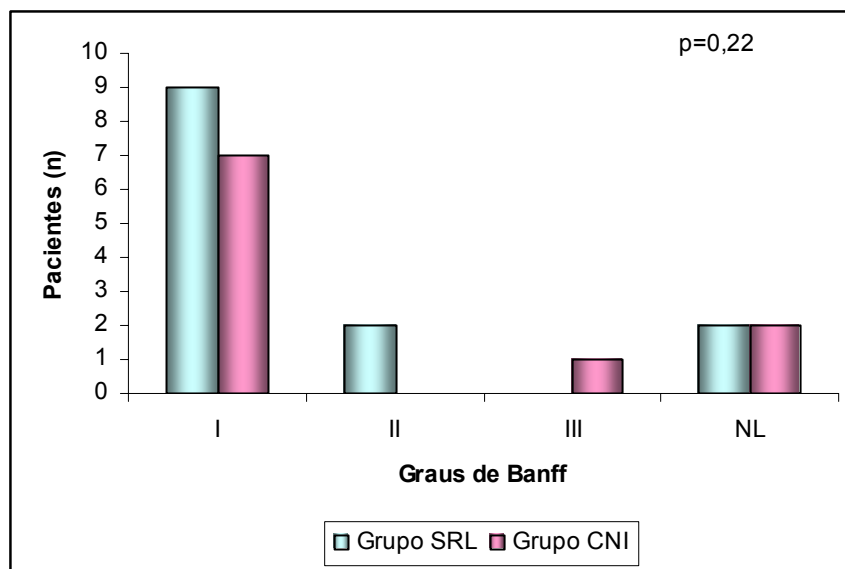
As biópsias renais foram representativas para a análise histológica, e não houve diferença significativa entre os grupos com relação ao número médio de glomérulos observados, quer no momento da conversão, quer após 12 meses de acompanhamento.

O número médio de glomérulos na biópsia inicial foi de  $17 \pm 9$  e  $20 \pm 11$  glomérulos nos grupos SRL e CNI, respectivamente. Nas biópsias realizadas no 12º mês, esse número foi de  $15 \pm 7$  e  $12 \pm 6$  glomérulos, nos mesmos grupos, respectivamente.

Não houve diferença significativa entre os grupos com relação aos graus de Banff, de acordo com a classificação de Banff 1997, no início do estudo e após 12 meses (figura 11 e 12, respectivamente).



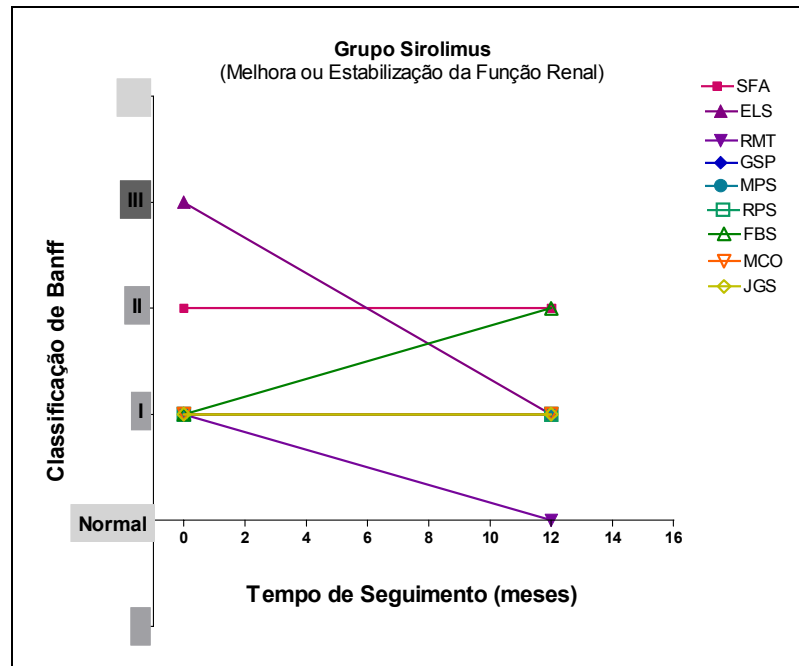
**Figura 11** - Distribuição de pacientes de acordo com o diagnóstico histológico inicial



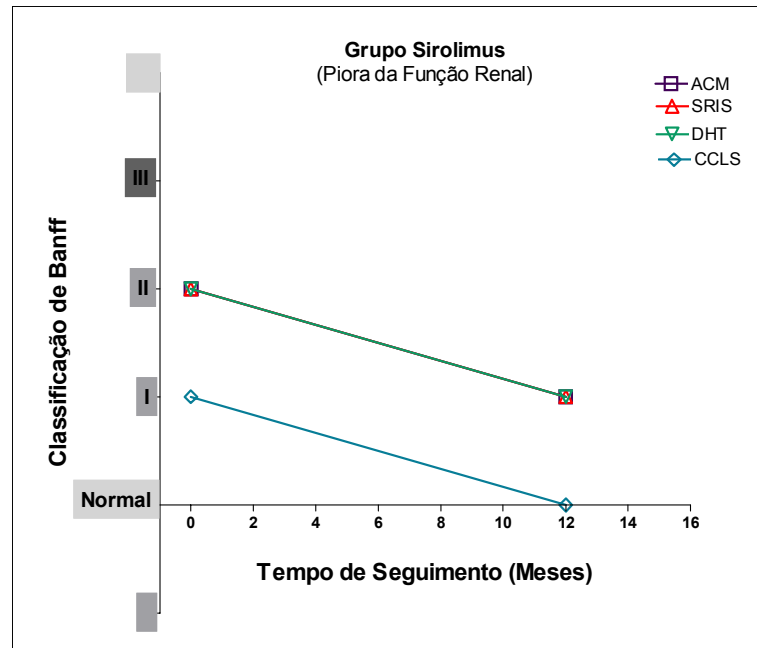
**Figura 12** - Distribuição de pacientes de acordo com o diagnóstico histológico no mês 12

A evolução das lesões histológicas entre o início e a finalização do estudo não mostrou relação com a melhora/estabilização ou piora da função renal, conforme ilustrado nas figuras 13-A e 13-B, para o grupo SRL, e 14-A e 14-B, para o grupo CNI.

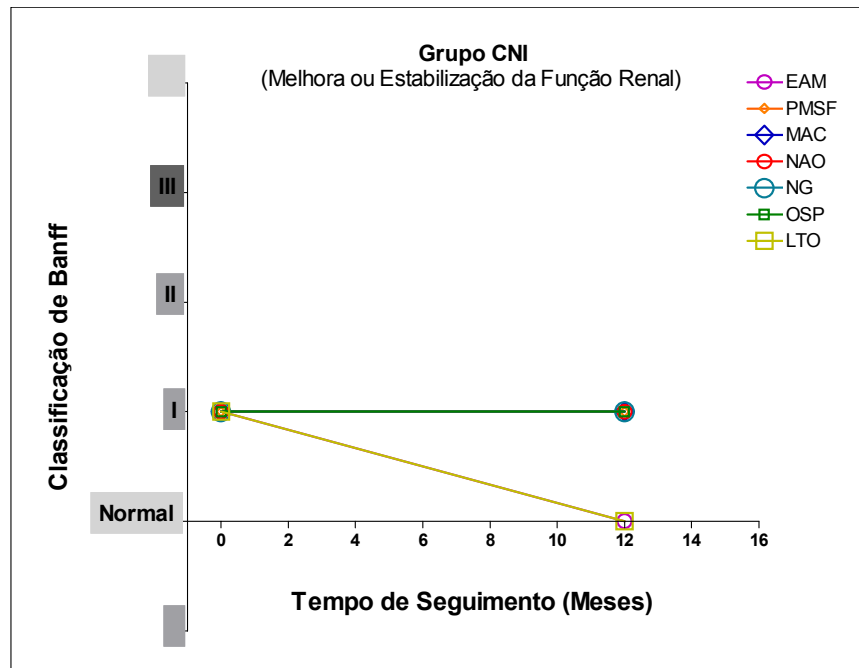




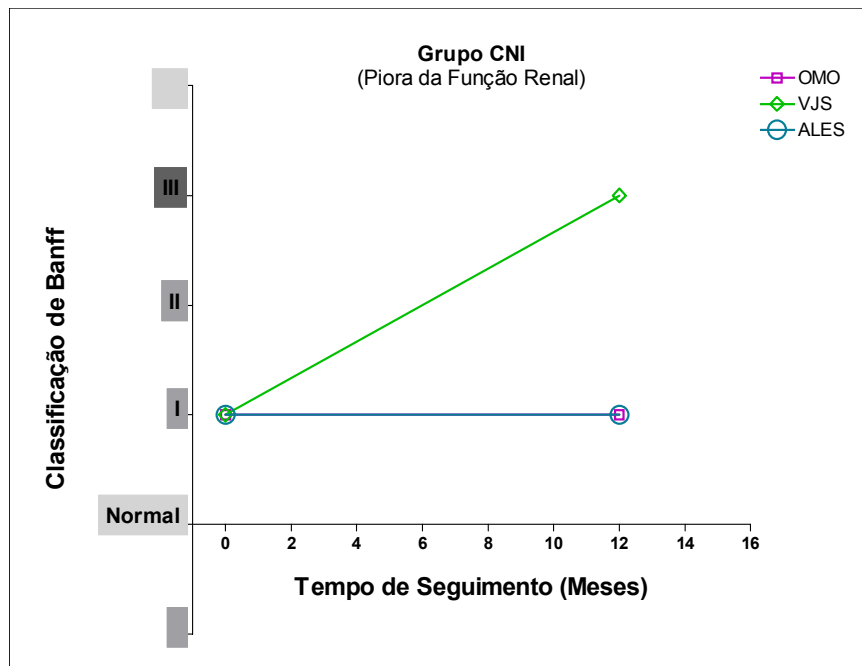
**Figura 13-A** - Distribuição dos pacientes do grupo SRL que apresentaram melhora/estabilização de função renal, de acordo com a evolução histológica no tempo de 0 e de 12 meses



**Figura 13-B** - Distribuição dos pacientes do grupo SRL que apresentaram piora de função renal, de acordo com a evolução histológica no tempo de 0 e de 12 meses



**Figura 14-A** - Distribuição dos pacientes do grupo CNI que apresentaram melhora/estabilização de função renal, de acordo com a evolução histológica no tempo de 0 e de 12 meses



**Figura 14-B** - Distribuição dos pacientes do grupo CNI que apresentaram piora de função renal, de acordo com a evolução histológica no tempo de 0 e de 12 meses

Foi realizada uma avaliação da marcação para C4d por imuno-histoquímica nas biópsias renais iniciais em 28 pacientes, e 1 paciente realizou essa avaliação por imunofluorescência. Um paciente do grupo SRL apresentou marcação focal em 40% dos capilares peri-tubulares, mas nenhum paciente do grupo CNI a apresentou.

Após 12 meses da randomização, os espécimes de biópsias de 24 pacientes foram avaliados pela marcação para C4d por imuno-histoquímica, um paciente do grupo SRL não teve material para esta avaliação. Apenas um paciente no grupo CNI apresentou positividade para essa marcação em 50% dos capilares peri-tubulares. A marcação para C4d naquele paciente do grupo SRL, que apresentava positividade no momento inicial, foi negativa no 12º mês.

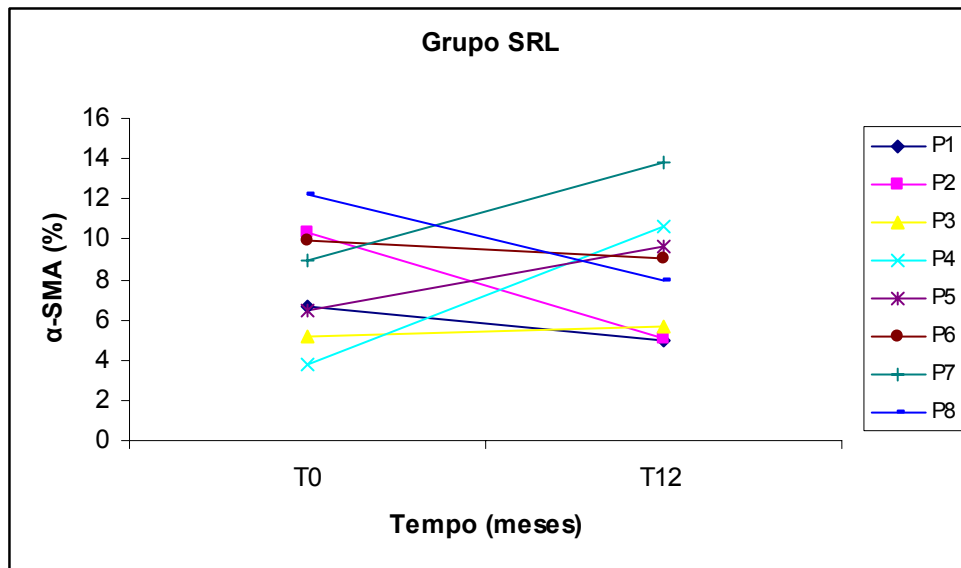
No 12º mês, nenhum dos dois pacientes que apresentaram marcação positiva para C4d, apresentou perda significativa de função renal.

Também procedemos à avaliação da presença de miofibroblastos, por meio da realização de imuno-histoquímica para o marcador  $\alpha$ -actina de músculo liso, em todos os pacientes que tinham material em bloco de parafina disponível. Esta avaliação foi realizada em 11 e 10 pacientes do grupo SRL e em 14 e 9 pacientes do grupo CNI, no momento inicial e no 12º mês, respectivamente.

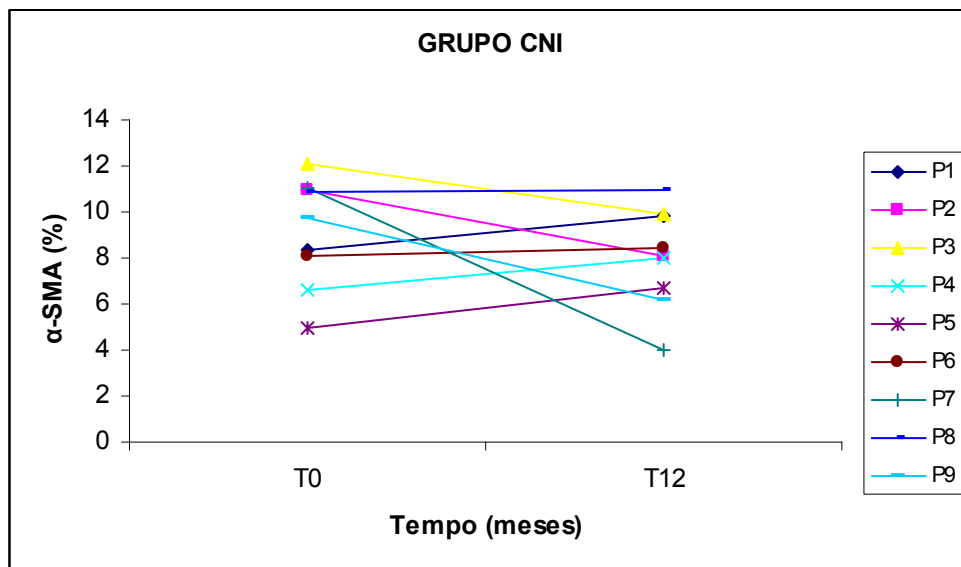
Não houve diferença entre os grupos quanto à mediana da percentagem de área marcada para  $\alpha$ -actina de músculo liso na biópsia inicial [SRL = 7,87 % (3,74 a 12,19) vs. CNI = 9,06%(0,57 a 12,12) p= 0,56]. A comparação entre os grupos após 12 meses também não foi diferente quanto a esse marcador [SRL = 8,47% (5,01 a 13,81) vs. CNI = 8,01% (4,03 a 10,99) p = 1,0].

A análise comparativa da quantificação da expressão da  $\alpha$ -actina de músculo liso nas biópsias, nos tempos 0 e 12<sup>o</sup> mês, também, não mostraram diferenças significativas entre os grupos. No grupo SRL, a mediana da área marcada pela  $\alpha$ -actina de músculo liso foi de SRL = 7,87 % (3,74 a 12,19) e de 8,47% (5,01 a 13,81) p=0,90, nos tempos 0 e 12<sup>o</sup> mês. No grupo CNI, os valores foram de 9,06%(0,57 a 12,12) e de 8,01% (4,03 a 10,99) p=0,43, nos mesmos momentos, respectivamente.

A evolução da marcação para  $\alpha$ -actina de músculo liso entre o momento inicial e no 12<sup>o</sup> mês, nos grupos SRL e CNI, é apresentada nas figuras 15 e 16, respectivamente.

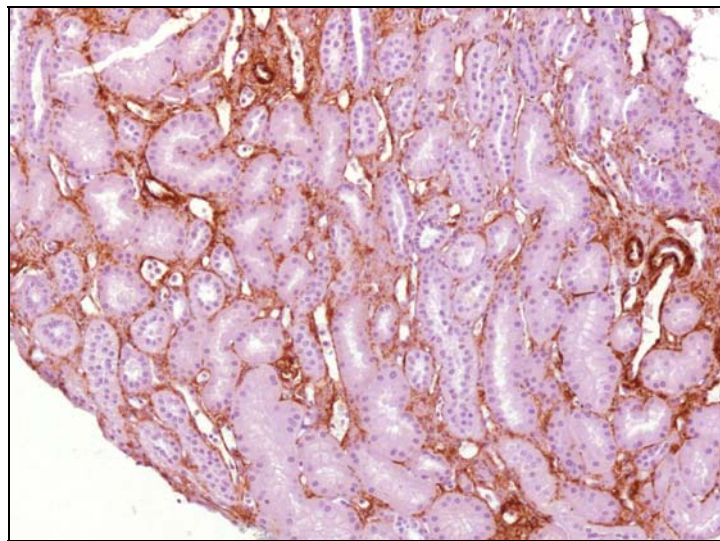


**Figura 15** - Evolução da marcação para  $\alpha$ -actina de músculo liso em biópsias renais no grupo SRL, nos tempo 0 e 12º mês

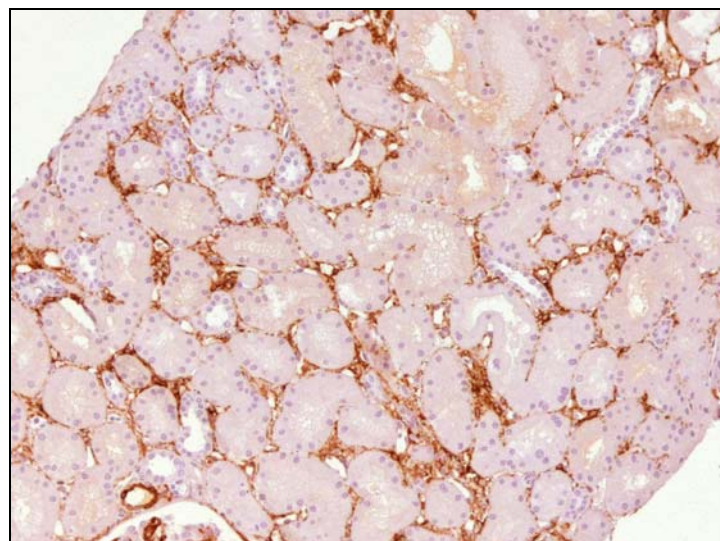


**Figura 16** - Evolução da marcação para  $\alpha$ -actina de músculo liso em biópsias renais no grupo CNI, nos tempos 0 e 12º mês

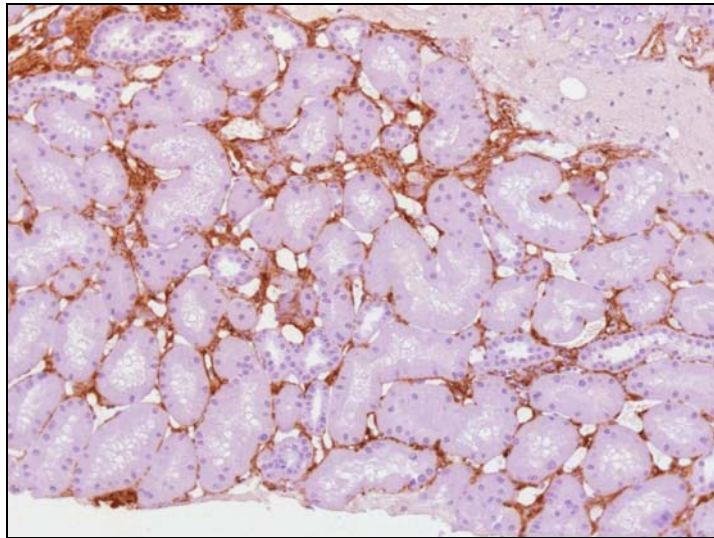
A figura 17-A e 17-B ilustra, respectivamente, a marcação por imunohistoquímica para  $\alpha$ -actina de músculo liso nas biópsias renais iniciais e no 12º mês em um paciente do grupo SRL e a figura 18-A e 18-B ilustra esse marcador em um paciente do grupo CNI, respectivamente, nos mesmos momentos.



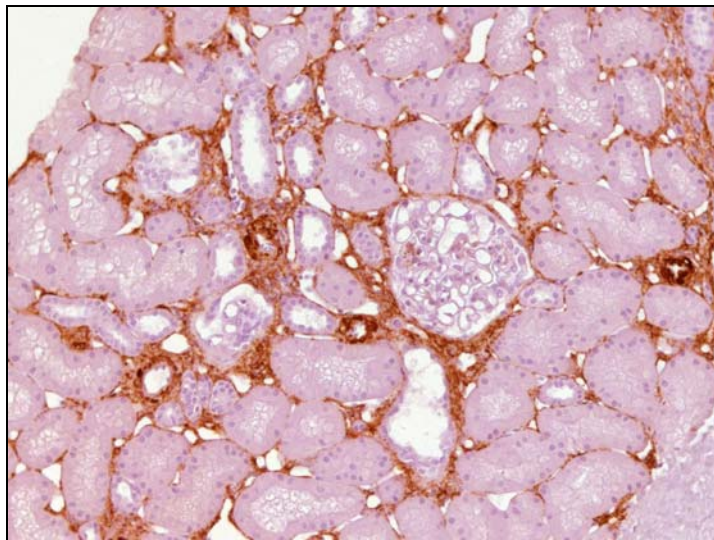
**Figura 17-A** - Reação imuno-histoquímica para miofibroblastos em biópsia renal no momento inicial em paciente do grupo SRL



**Figura 17-B** - Reação imuno-histoquímica para miofibroblastos em biópsia renal no 12º mês em paciente do grupo SRL



**Figura 18-A** - Reação imuno-histoquímica para miofibroblastos em biópsia renal inicial em paciente do grupo CNI



**Figura 18-B** - Reação imuno-histoquímica para miofibroblastos em biópsia renal no 12º mês em paciente do grupo CNI

## 7.7 Avaliação de Segurança

A sobrevida dos pacientes e dos enxertos renais foi de 100%. Ocorreram 2 eventos adversos graves no grupo SRL e 6 eventos adversos graves no grupo CNI, mas não houve diferença significativa entre os grupos (tabela 14).

**Tabela 14** - Distribuição de eventos adversos graves segundo os grupos

<b>Evento</b>	<b>Grupo</b>	<b>N</b>
Neutropenia febril	SRL	1
Celulite de membro inferior	CNI	1
Tuberculose pulmonar	SRL	1
FAV* intra-renal	CNI	1
Psicose grave	CNI	1
Obstrução intestinal	CNI	1
Lesão avulsiva em membro inferior	CNI	1
Erisipela em membro inferior	CNI	1

\* Fístula arterio-venosa

Houve um número significativamente maior de eventos adversos não sérios no grupo SRL (111 vs 66  $p= 0,0001$ ). Os eventos adversos não sérios que apresentaram frequência significativamente maior no grupo SRL foram: acne, edema, piora de dislipidemia e anemia. Todos os eventos adversos observados foram descritos na tabela 15.



**Tabela 15** - Distribuição de eventos adversos não-graves de acordo com os grupos

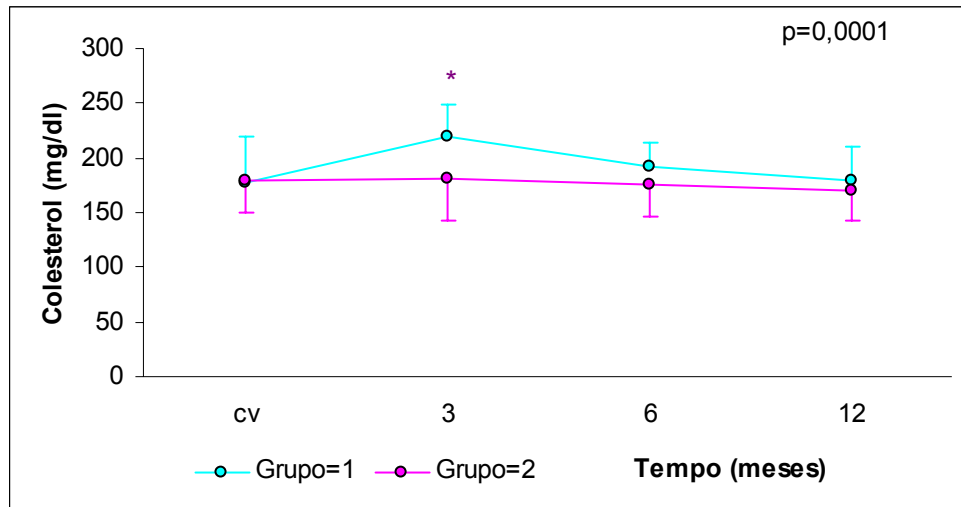
<b>Eventos adversos</b>	<b>Grupo SRL n (%)</b>	<b>Grupo CNI n (%)</b>	<b>p</b>
Abscesso	2 (14,3)	3 (20)	1,000
<b>Acne</b>	<b>6 (42,9)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0,006</b>
Adenomegalia	1 (7,1)	1 (6,7)	1,000
<b>Anemia</b>	<b>6 (42,9)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0,006</b>
Cefaléia	1 (7,1)	1 (6,7)	1,000
Diarréia	7 (50,0)	6 (40,0)	0,715
Dislipidemia	4 (28,6)	3 (20,0)	0,682
Dispepsia	2 (14,3)	3 (20,0)	1,000
Dor óssea	2 (14,3)	1 (6,7)	0,598
<b>Edema</b>	<b>8 (57,1)</b>	<b>1 (6,7)</b>	<b>0,005</b>
Enterorragia	0 (0,0)	1 (6,7)	1,000
FAV* intra-renal	1 (7,1)	2 (16,7)	0,580
Fibrilação atrial	1 (7,1)	0 (0)	0,483
Flatulência	1 (7,1)	0 (0)	0,483
Gota	2 (14,3)	2 (16,7)	1,000
Herpes simples	2 (14,3)	0 (0)	0,224
Herpes zoster	0 (0)	1 (6,7)	1,000
Hiperuricemia	2 (14,3)	4 (26,7)	0,651
Hipocalemia	5 (35,7)	1 (6,7)	0,080
Infecção de pele	6 (42,8)	2 (13,3)	0,109
Infecção ginecológica	1 (7,1)	0 (0)	0,483
Infecção respiratória alta	8 (57,1)	5 (33,3)	0,272
Infecção do trato urinário	2 (18,1)	1 (8,33)	0,590
Lesão traumática de pele	1 (7,1)	1 (6,7)	1,000
Leucopenia	1 (7,1)	1 (6,7)	1,000
Lombocialgia	0 (0)	1 (6,7)	1,000
Mialgia	3 (21,4)	2 (13,3)	0,651
Micose cutânea	1 (7,1)	0 (0)	0,483
Neutropenia febril	1 (7,1)	0 (0)	0,483
Parestesias	1 (7,1)	0 (0)	0,483
Piora de dislipidemia	6 (42,8)	1 (6,7)	0,035
Proteinúria > 300 mg/24 h	8 (57,1)	5 (33,3)	0,272
Psicose	0 (0)	1 (6,7)	1,000
Refluxo gastro-esofágico	0 (0)	1 (6,7)	1,000
Obstrução intestinal	0 (0)	1 (6,7)	1,000
Trombose de Fístula AV	0 (0)	1 (6,7)	1,000
Tuberculose pulmonar	1 (7,1)	0 (0)	0,483
Tumor de pele	0 (0)	1 (6,7)	1,000
<b>Úlceras orais</b>	<b>5 (35,7)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0,017</b>
Verrugas	0 (0)	1 (6,7)	1,000
Vertigem	1 (7,1)	2 (13,3)	1,000

\* Fístula arterio-venosa

### 7.6.1 Colesterol total e Triglicérides

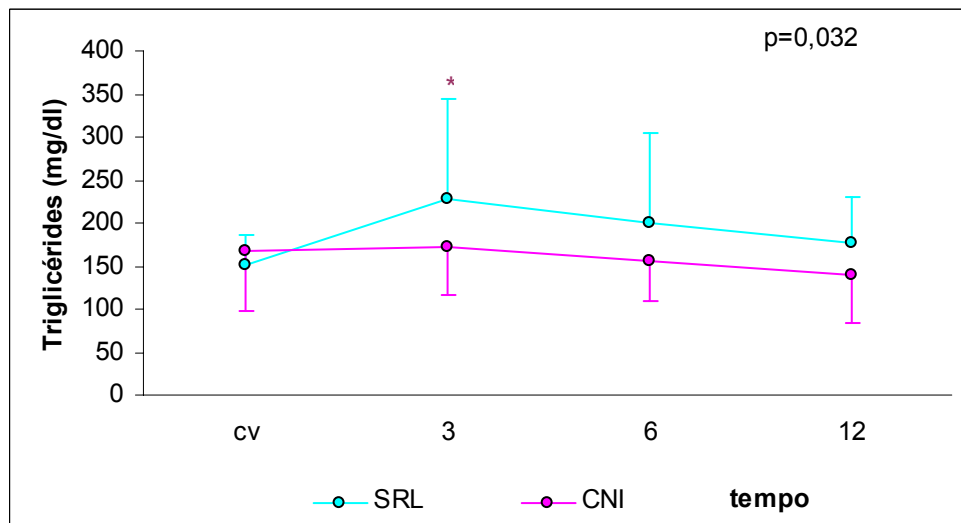
Ocorreu um aumento significativo nos valores de colesterol total (figura 19) e de triglicérides (figura 20) no grupo SRL, observado no terceiro e no sexto meses após a randomização. Ao final do 12º mês, não houve diferenças significativas no valor de colesterol e triglicérides séricos entre os grupos.

Os valores médios de colesterol total no grupo SRL foram de  $177 \pm 42$ ,  $219 \pm 28$ ,  $192 \pm 21$  e de  $178 \pm 31$  mg/dL, na randomização, 3º, 6º e 12º mês, respectivamente. No grupo CNI, os valores de colesterol total nos mesmos tempos, foram de  $179 \pm 29$ ,  $180 \pm 37$ ,  $174 \pm 29$  e de  $169 \pm 26$  mg/dL.



\* p=0,001

**Figura 19** - Evolução dos valores de colesterol total (mg/dL), segundo o tempo



\* p=0,032

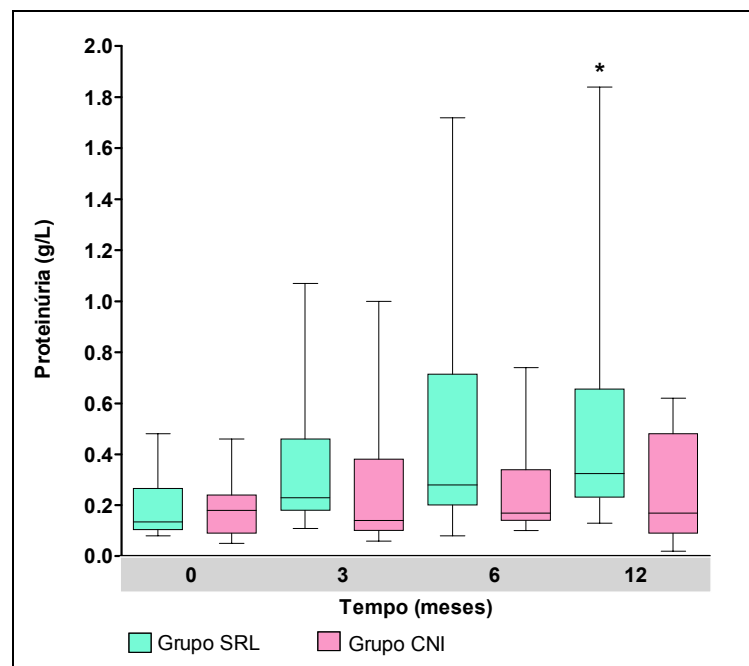
**Figura 20** - Evolução dos valores de triglicérides (mg/dL), segundo o tempo

Foi observado aumento significativo da necessidade de uso de estatinas no grupo SRL, quando comparado ao grupo CNI (SRL = 13 vs. CNI = 8 pacientes p=0,03). A necessidade de uso de fibratos foi semelhante entre os grupos (SRL = 4 vs. CNI = 1 p=0,17).

### 7.6.2 Excreção urinária de proteínas em 24 horas

Não houve diferença significativa entre os grupos com relação ao relato do evento proteinúria superior a 300 mg/24 horas (tabela 15). Proteinúria superior a 1 g/24 horas ocorreu em 4 pacientes durante o estudo (SRL 3 e CNI 1) e foi persistente apenas em 1 paciente do grupo SRL.

Entretanto, ocorreu um aumento significativo da mediana dos valores de proteínas urinárias excretadas em 24 horas no grupo SRL a partir do terceiro mês ( $p = 0,019$ ). Ao final de 12 meses, observamos uma diferença significativa na mediana dos valores de proteínas urinárias em 24 horas entre os grupos [SRL 0,33 g/24 h (0,13-1,84) vs. CNI 0,17 g/24 h (0,02-0,62)  $p = 0,04$ ] (figura 21).



\* $p=0,04$

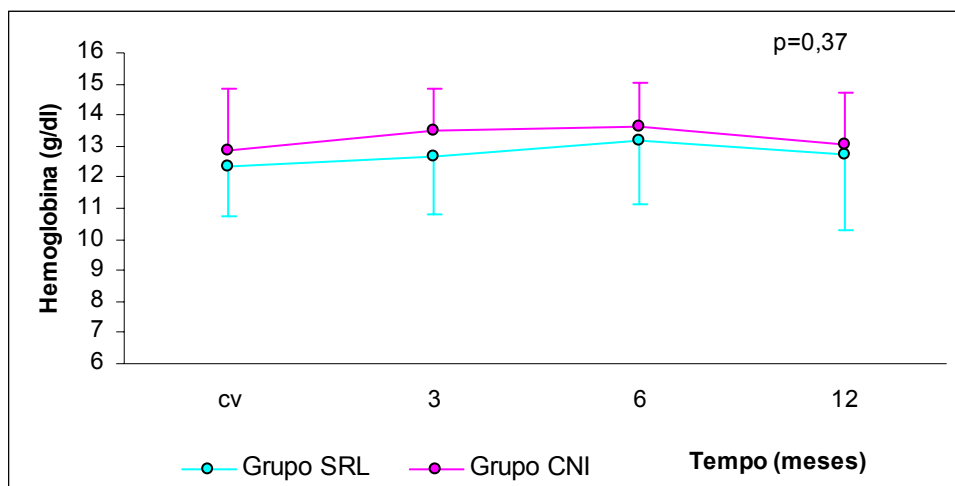
**Figura 21** - Evolução da excreção urinária de proteínas em 24 horas de acordo com o tempo, segundo os grupos de randomização

O uso de medicamentos anti-proteinúricos foi mais freqüente no grupo SRL, se comparado ao grupo CNI, mas essa diferença não foi estatisticamente significativa (6 vs. 5 pacientes  $p = 0,59$ ).

### 7.6.3 Alterações hematológicas

O evento anemia foi relatado mais freqüentemente no grupo SRL, com diferença significativa, entre os grupos como foi mostrado na tabela 15.

Entretanto, foi observado aumento dos níveis médios de hemoglobina (g/dL) em ambos os grupos. A figura 22 mostra a evolução dos níveis médios de hemoglobina ao longo do tempo. Houve discreta variação do número de leucócitos em ambos os grupos, mas dentro das faixas de normalidade. Leucopenia ocorreu em 2 pacientes (SRL=1 CNI=1), e plaquetopenia não foi observada nessa casuística.

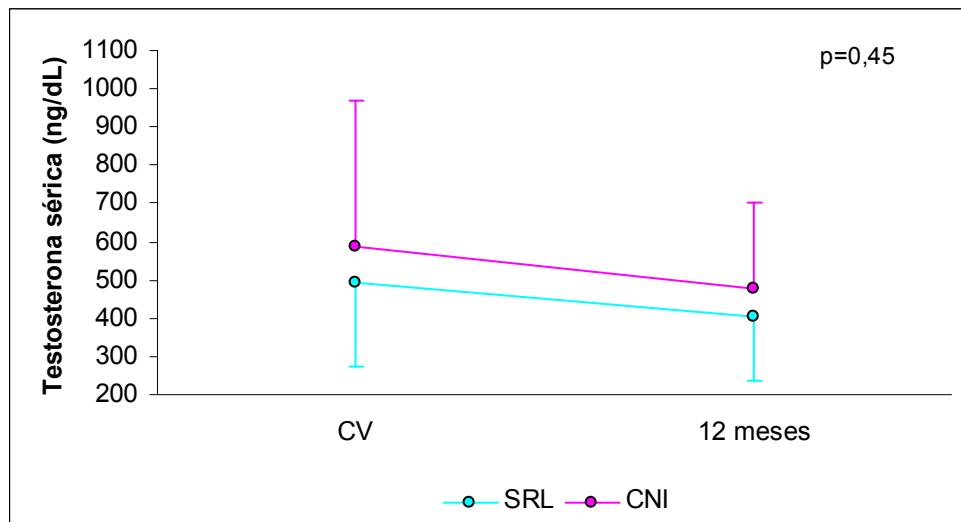


**Figura 22** - Evolução dos níveis médios de hemoglobina ao longo do tempo, segundo os grupos de randomização

#### 7.6.4 Testosterona sérica

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos com relação aos níveis séricos de testosterona total nos pacientes do sexo masculino ( $p= 0,45$ ). A evolução da média dos valores de testosterona total, entre a randomização e o 12º mês, está demonstrada na figura 23.

Os valores médios de testosterona total nos pacientes do sexo masculino no grupo SRL na randomização e ao fim de 12 meses foram de  $492 \pm 217$  e de  $402 \pm 168$  ng/dL, respectivamente. No grupo CNI, esses valores foram, respectivamente, de  $585 \pm 383$  e de  $475 \pm 229$  ng/dL.



**Figura 23** - Evolução dos níveis de testosterona total ao longo do tempo, segundo os grupos de randomização

### 7.6.5 Avaliação da pressão arterial

No momento da randomização a média de pressão arterial, mensurada pela M.A.P.A. 24 horas, foi semelhante entre os grupos. A média de pressão arterial sistólica foi de  $124 \pm 13$  e  $139 \pm 8$  mmHg e a média de pressão arterial diastólica no mesmo momento foi de  $76 \pm 8$  e  $80 \pm 9$  mmHg, nos grupos SRL e CNI, respectivamente.

Após 12 meses, não foi observada diferença significativa entre a pressão arterial mensurada pela mesma técnica, a qual foi de  $129 \pm 10$  e  $125 \pm 9$  mmHg para a média de pressão arterial sistólica e de  $79 \pm 7$  e  $79 \pm 8$  mmHg para a média de pressão arterial diastólica, nos grupos SRL e CNI, respectivamente.

Não foi observada diferença significativa entre os grupos com relação ao número de hipotensores requeridos para atingir adequado controle da pressão arterial ( $p=0,36$ ).

## **8. DISCUSSÃO**

---



O presente estudo demonstrou igualdade na segurança e na eficácia dos dois principais esquemas imunossupressores disponíveis no tratamento da nefropatia crônica do enxerto: a associação de SRL ao MMF e a minimização dos CNI associada ao uso de MMF

Entretanto, até o momento, não existe estratégia terapêutica específica que comprovadamente seja eficiente para reversão ou estabilização da nefropatia crônica do enxerto.

Em nosso conhecimento, apenas um estudo com 84 pacientes avaliou, de modo prospectivo e randomizado, a segurança e a eficácia, da associação de SRL ao MMF quando comparada ao uso de níveis reduzidos de CNI associados ao MMF em pacientes com nefropatia do enxerto. Esse estudo não utilizou um método direto para mensuração da medida da TFG e baseou a avaliação de função renal em creatinina sérica e depuração de creatinina estimada pela fórmula de Nankivell, o que enfraquece os resultados obtidos<sup>(74)</sup>. Em um problema tão importante em transplante renal, a avaliação direta da função renal apresenta maior precisão para a detecção de qualquer mudança que possa ocorrer com os tratamentos propostos.

O presente estudo teve uma população reduzida (n=29), quando comparado ao estudo anteriormente citado e também com o planejamento inicial da casuística.

A estimativa de tamanho da amostra desse estudo baseou-se em informações de melhora de função renal advindas de estudos retrospectivos<sup>(69-71)</sup>. No momento da elaboração do nosso estudo, não havia informações prospectivas referentes à eficácia de SRL para a melhora de função renal, pois os primeiros estudos prospectivos controlados foram publicados na literatura médica posteriormente. O cálculo do tamanho da amostra indicou a necessidade de incluir 40 pacientes em cada grupo para a detecção de diferenças na TFG.

A despeito de uma avaliação preliminar ter apontado um número adequado de pacientes potenciais para inclusão no estudo, o número de pacientes incluídos foi pequeno devido à presença de critérios de inclusão e exclusão muito estritos como os necessários para tal análise. Esse fato ressalta os desafios de se realizar estudos clínicos em um único centro de pesquisa.

No entanto, embora pequena, a população selecionada mostrou-se bastante homogênea e os grupos foram extremamente equilibrados, o que possibilitou a comparação entre eles, particularmente para a detecção de diferenças. Todavia, há de se ressaltar que o reduzido número de pacientes pode acrescentar potenciais falhas na interpretação dos resultados.

Outro aspecto que merece discussão foi a seleção do esquema de imunossupressão para a comparação com SRL. O esquema mais extensamente testado na terapêutica da NCE é a associação de minimização de CNI ao MMF. Essa estratégia pode ser considerada uma terapia padrão para NCE, dado o robusto corpo de evidências que a fundamenta<sup>(39-42, 50)</sup>.

A noção de que minimização/suspensão dos CNI é potencialmente benéfica em disfunção crônica do enxerto remonta a fase de início do uso de CsA. Naquela época ainda anterior à introdução de MMF, os resultados foram desencorajadores pelo aumento das taxas de rejeição aguda quando se reduzia ou suspendia a CsA <sup>(34-36)</sup>.

Entretanto, a segurança e a eficácia da minimização de CNI, associada ao uso de MMF, foi demonstrada por vários autores, quer em pacientes com nefropatia crônica <sup>(38,40-43)</sup>, quer como imunossupressão primária após o transplante renal <sup>(96-98)</sup>.

Desse modo, o esquema imunossupressor composto por baixos níveis de CNI associado ao MMF é a estratégia terapêutica mais bem estudada em pacientes com nefropatia crônica do enxerto e parece, até o momento, ser uma alternativa terapêutica segura e eficaz. Portanto é, a nosso ver, o esquema ideal para ser comparado a quaisquer outras propostas de esquemas terapêuticos.

Diversas publicações apontaram o benefício da utilização de SRL em pacientes com disfunção crônica do enxerto renal <sup>(68-70)</sup> ou com disfunção renal em transplantados de outros órgãos sólidos <sup>(71,85-87)</sup>. Esses estudos, no entanto, por serem não controlados, careciam do benefício da randomização para a análise dos resultados.

A segurança da conversão para SRL associado ao MMF, entretanto não estava bem estabelecida. O aumento da nefrotoxicidade de CsA, quando associada à SRL, já tinha sido demonstrado em modelos experimentais <sup>(67,99)</sup> e também em pacientes transplantados renais <sup>(100)</sup>,

---

reforçando a necessidade de se realizar uma interrupção abrupta de CNI para introdução a de SRL. Restava, porém, a dúvida de que essa estratégia fosse eficaz para evitar a precipitação de um processo de rejeição aguda.

O presente estudo demonstrou que o esquema de conversão com interrupção abrupta de CNI não acarretou nenhum episódio de rejeição aguda, em concordância com os achados de outros autores que também interromperam abruptamente CNI para a introdução de SRL <sup>(70,74,101,102)</sup>. Esse conjunto de evidências parece confirmar que a interrupção abrupta de CNI é o modo mais adequado para se proceder a conversão para esse imunossupressor.

No delineamento deste estudo, optamos por utilizar um objetivo composto que avaliou:

- 1- a mortalidade;
- 2- a perda do enxerto ou a ocorrência de rejeição aguda;
- 3- a perda de função renal superior a 20%.

Os esquemas de manutenção da imunossupressão em longo prazo, a nosso ver, não podem favorecer a ocorrência desses eventos.

Nossos resultados mostraram que os dois esquemas propostos cumpriram esses preceitos. Não foi observada mortalidade ou perda do enxerto durante os 12 meses de acompanhamento. No entanto, Stallone *et al.* encontraram diferenças na sobrevida do enxerto renal no fim de 24 meses, com melhor desempenho no grupo SRL <sup>(74)</sup>. Uma explicação para essa diferença possivelmente pode ser a diferença de tempos de seguimento entre os dois estudos.

O objetivo composto foi atingido em 4 pacientes (28,6%) do grupo SRL e em 2 pacientes (13,3%) no grupo CNI, destacando-se que esse objetivo foi composto apenas pela perda de TFG superior a 20%, visto que os outros eventos não ocorreram. Essa diferença, embora não tenha alcançado significância estatística na avaliação por Kaplan-Meier, foi duas vezes maior no grupo SRL. Supondo que essa tendência permanecesse constante seria necessária uma amostra com 120 pacientes para detectar uma diferença estatística com poder de 80%.

A função renal avaliada pela TFG ao final do estudo não foi diferente entre os grupos. Houve um ganho médio de função semelhante entre eles, mas sem alcançar significância estatística. Também não foram encontradas diferenças entre os grupos na proporção de pacientes que apresentaram melhora/estabilização de TFG ou naqueles que apresentaram piora de TFG.

A similaridade na estabilização da função renal com a utilização desses dois esquemas imunossupressores já havia sido relatada anteriormente por Stallone *et al* <sup>(74)</sup>. Pontrelli *et al.* recentemente relataram os resultados de uma casuística pequena de pacientes (n=18), que também foram randomizados para receber SRL ou manterem-se sob CNI, e não mostraram alterações na creatinina sérica após 24 meses de seguimento <sup>(103)</sup>.

Por outro lado, Watson *et al.* relataram um ganho significativo de função renal com a utilização de esquemas utilizando SRL, se comparado à manutenção de CNI em pacientes com função inadequada do enxerto renal. No entanto, mantiveram AZA como medicação concomitante, e os níveis de CNI não foram minimizados <sup>(73)</sup>, o que possivelmente explica as diferenças entre nossos estudos.

Como a TFG medida pela depuração de  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ , só foi realizada após a inclusão no estudo clínico, o único modo de demonstrar a desaceleração do processo de perda funcional foi utilizando como parâmetro os valores da creatinina sérica, avaliada um ano antes e um ano após a randomização. Evidenciou-se uma queda significativa e de dimensões semelhantes nesse parâmetro em ambos os grupos, mais uma vez documentando a eficácia comparável entre esses dois esquemas terapêuticos.

Uma vez estabelecido que, os benefícios no que tange à função renal, foram equiparáveis entre ambas as intervenções, poder-se-ia especular um benefício histológico maior de um dos esquemas. O impacto das estratégias terapêuticas, com as várias associações de imunossupressores, na progressão da fibrose e, portanto, da injúria renal, permanece pouco conhecido.

A falta de conhecimento acerca dos mecanismos pato-fisiológicos envolvidos na progressão da NCE torna difícil uma atuação eficaz e no momento adequado visando à preservação do enxerto renal. Aparentemente, o processo inicia-se de modo precoce na evolução do transplante, conforme já mostrado nos estudos com biópsias protocolares <sup>(10,11,14)</sup>, possivelmente, muito antes da percepção clínica do evento.

Em geral, o diagnóstico histológico de NCE é feito tardiamente, isto é, após a detecção da elevação da creatinina sérica, que é um marcador pouco sensível na faixa de função renal da população receptora de transplante <sup>(16)</sup>. É muito provável que, no momento do tratamento, nos deparemos com um processo já há muito tempo desencadeado e de difícil reversão.

Sirolimo possui propriedades anti-fibróticas que seriam de particular importância na interrupção do processo de fibrose intersticial <sup>(104)</sup>. Suas propriedades anti-proliferativas também poderiam contribuir para a redução da proliferação das células musculares lisas das paredes de artérias e arteríolas <sup>(105,106)</sup>. Essas duas propriedades poderiam atuar em dois mecanismos de grande importância na NCE.

O diagnóstico histológico das alterações crônicas do enxerto renal sofreu uma extensa revisão e foram propostas diversas modificações na classificação dessas lesões desde 2005.

Este estudo foi executado paralelamente ao desenvolvimento das novas recomendações de Banff que se tornaram disponíveis muito recentemente (2007) <sup>(6,107)</sup>. Optamos por utilizar os critérios de Banff 1997 (Anexo A) para a classificação das alterações crônicas do enxerto renal, pois neles foram baseados os diagnósticos que nortearam a inclusão dos pacientes no estudo.

O presente estudo não conseguiu mostrar mudanças na histologia renal observada nas biópsias iniciais, se comparadas às biópsias realizadas após 12 meses. Esse resultado difere sobremaneira daquele encontrado por Stallone *et al.*, quando avaliaram, após dois anos de seguimento, todos os pacientes que apresentavam biópsias renais com NCE grau I de Banff no momento inicial. Nesse estudo, o autor mostrou que todos os pacientes avaliados no grupo CNI (10/10), apresentaram evolução das lesões de grau I para grau II ou III, enquanto que, no grupo SRL apenas dois pacientes (2/15) apresentaram progressão de grau I para grau II <sup>(74)</sup>. A hipótese de que um

tempo maior de acompanhamento neste estudo poderia aproximar os nossos resultados é factível, porém ainda se trata de uma mera presunção.

A opção pela exclusão de pacientes com glomerulopatia do transplante revelou-se bastante oportuna, pois diversas evidências têm apontado essa lesão como uma forma de rejeição crônica ativa mediada por anticorpos <sup>(21-24)</sup>. A realização da marcação para C4d na população de estudo, ainda que retrospectiva em parte da casuística, também colaborou para tornar a amostra mais homogênea. Apenas um paciente apresentou positividade focal para C4d, mas não preencheu os critérios para rejeição crônica ativa mediada por anticorpos.

É pouco provável que a rejeição crônica mediada por anticorpos apresente resposta clínica ou histológica apenas com uma terapia de modificação da imunossupressão como a que propusemos <sup>(20)</sup>. Todavia, o não aparecimento de marcação positiva para C4d, ao fim de 12 meses após a randomização, demonstra indiretamente que ambos os esquemas não propiciaram o desenvolvimento de anticorpos.

A simples comparação dos graus de NCE poderia ser um fator muito grosseiro para se detectar diferenças sutis em um período tão curto de avaliação. Como os fibroblastos são os principais responsáveis pela resposta de fibrose e no processo de reparação se diferenciam em miofibroblastos. Sua detecção é possível utilizando-se a marcação positiva para a  $\alpha$ -actina de músculo liso no tecido renal. Diversos autores já relataram a marcação expressiva desse marcador em enxertos renais com rejeição crônica <sup>(29,108,109)</sup>.



No entanto, poucos estudos avaliaram o papel da conversão dos imunossupressores na progressão da fibrose do enxerto renal <sup>(74,100)</sup>. O presente estudo avaliou a histologia convencional e a marcação para  $\alpha$ -actina de músculo liso para determinar modificação no padrão de fibrose, mas não conseguiu detectar mudanças significativas.

Saunders *et al.* mostraram uma redução de fibrose marcada pela coloração picosirius red e a expressão de marcadores pró-fibróticos no grupo que utilizou a estratégia de minimização de CNI associado ao MMF quando comparado à associação de SRL com CsA <sup>(100)</sup>. Entretanto, Stallone *et al.* demonstrou a redução da expressão de  $\alpha$ -actina de músculo liso em pacientes tratados com a associação de SRL e MMF, quando comparada à manutenção de CNI <sup>(74)</sup>. As evidências, até o momento, são controversas e não há uma definição sobre o impacto dos imunossupressores na progressão histológica das lesões crônicas do enxerto.

Conforme já demonstrado, os critérios de eficácia foram semelhantes. Tornou-se então necessário avaliar os desempenhos dos esquemas quanto aos critérios de segurança.

O número de eventos adversos graves foi maior no grupo CNI se comparado ao grupo SRL (6 vs. 2  $p=0,21$ ). Suspensão temporária da medicação de estudo ocorreu apenas no grupo SRL, em decorrência de um evento adverso grave.

Ocorreu um número significativamente maior de eventos adversos não-graves no grupo SRL se comparado ao grupo CNI (SRL 111 vs. CNI 66  $p=0,0001$ ). Entretanto, esses eventos não implicaram em suspensão do

esquema e foram contornados com ajuste de dose dentro da faixa preconizada e tratamento habitual.

Outros estudos, também, apontaram uma incidência significativamente maior de eventos adversos após a conversão para SRL<sup>(73,110,111)</sup>, mas, assim como neste estudo, esse fato não foi indicação para suspensão do imunossupressor, mas trata-se, sem dúvida, de uma limitação ao uso da droga.

Foi observada elevação significativa dos valores de colesterol total e triglicérides no grupo SRL, a qual ocorreu precocemente após o início do uso do medicamento, conforme já relatado anteriormente<sup>(70,79,112)</sup>. Entretanto, esses eventos adversos foram tratados com o uso de estatinas, concordando também com os achados de outros autores<sup>(73,79,110,112)</sup>.

O desenvolvimento de proteinúria é uma das principais limitações da estratégia terapêutica baseada em SRL. Diversos autores relataram o surgimento ou o agravamento de proteinúria em protocolos de conversão para SRL por nefropatia crônica<sup>(79,81,82,113,114)</sup>, entretanto os estudos prospectivos de conversão não confirmaram universalmente esse evento<sup>(73,74)</sup>.

Neste estudo mostramos que ocorreu um aumento significativo de proteinúria nos pacientes sob SRL, mas esse achado não constituiu em uma limitação ao uso da medicação, pois a intensidade do evento foi leve e respondeu ao uso de anti-proteinúricos, exceto em um paciente.

É interessante notar que os estudos clínicos, que avaliaram imunossupressão primária com SRL, não relataram sequer o aumento da incidência de proteinúria<sup>(96,112,115)</sup>. Entretanto, Stephany *et al.* realizaram uma revisão retrospectiva de sua casuística e relataram um aumento

significativo de proteinúria nos pacientes com imunossupressão primária baseada em SRL quando comparada àquela baseada em CNI <sup>(116)</sup>.

Os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento de proteinúria relacionada ao uso de SRL não são bem conhecidos. Franco *et al.* relataram que não foram observadas alterações glomerulares específicas ou de imunofluorescência em uma série de casos publicados <sup>(82)</sup>.

Por algum tempo, tentou-se imputar o aparecimento de proteinúria ao aumento do fluxo sanguíneo intra-glomerular causado pela suspensão do CNI, e não propriamente relacionado ao uso de SRL. Entretanto, os estudos de conversão para MMF com suspensão de inibidores de calcineurina não relataram o aumento de proteinúria <sup>(40,41)</sup>.

O desenvolvimento de proteinúria parece ser um problema de maior repercussão em pacientes com rins cronicamente lesados conforme já citado, mas não se destacou como evento adverso nos estudos que avaliaram SRL como imunossupressão inicial <sup>(96,98,112,115)</sup>. Um papel deletério de inibidores da *m-TOR* na progressão da doença renal crônica e no desenvolvimento de proteinúria foi demonstrado em um modelo experimental de redução de massa renal por Vogelbacher *et al.* <sup>(117)</sup>. Em nosso conhecimento, não há relato na literatura médica do desenvolvimento de proteinúria em estudos experimentais com rins normais.

A despeito de alguns avanços empreendidos para ampliar a compreensão dos mecanismos relacionados à proteinúria induzida por SRL, a elucidação desses mecanismos permanece por ser esclarecida.

O presente estudo confirmou os achados de incidência aumentada de anemia no grupo SRL, conforme já relatado anteriormente por outros autores<sup>(73,75)</sup>. Entretanto, a anemia pôde ser controlada com tratamento habitual e não constituiu uma limitação à manutenção do imunossupressor.

Os níveis de testosterona em pacientes do sexo masculino foram semelhantes entre os grupos e não se alteraram ao longo do tempo. Desse modo, não se confirmou o achado relatado por Fritsche *et al.*<sup>(118)</sup>.

O presente estudo conseguiu obter adequado controle de pressão arterial na população de estudo, e não houve diferença quanto à necessidade de medicação hipotensora ou ao controle pressórico entre os grupos. Este fato é de marcada importância, pois a hipertensão é um importante fator de progressão para doença renal crônica e para o desenvolvimento de proteinúria.

Em resumo, este estudo se propôs a avaliar a segurança e eficácia de dois esquemas imunossupressores alternativos para o tratamento da NCE.

O desempenho de ambos os esquemas terapêuticos foi rigorosamente semelhante com relação à evolução da função renal e também quanto à evolução histológica no acompanhamento dos pacientes no período de 12 meses.

Apesar de os esquemas apresentarem perfis de segurança parecidos quanto à ocorrência de eventos adversos graves, houve um número significativamente maior de eventos adversos não-graves no grupo SRL. Embora, esses efeitos tenham sido toleráveis e passíveis de tratamento clínico, eles trazem à discussão a vantagem da utilização, em casos de

NCE, de um regime que pode trazer tais malefícios, principalmente se um regime com eficácia semelhante e de menor incidência de eventos adversos está disponível.

Entretanto, é possível que um tempo de acompanhamento mais prolongado possa revelar mudanças na evolução dos grupos. Está prevista a extensão do acompanhamento deste estudo por um período de 2 anos para tentar responder a essa questão.

## **9. CONCLUSÕES**

---

1. As evoluções do enxerto e do paciente, avaliadas pelo objetivo composto, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.
2. A evolução da TFG foi semelhante em ambos os grupos.
3. Não houve diferença estatística entre os grupos com relação à ocorrência de eventos adversos graves e à descontinuação temporária da medicação do estudo.
4. O número de eventos adversos não-graves relatados no grupo SRL foi significativamente maior do que no grupo CNI, mas não requereu suspensão da droga.
5. A evolução das lesões histológicas avaliadas por microscopia óptica e pela presença de miofibroblastos por imuno-histoquímica para  $\alpha$ -actina de músculo liso não mostrou modificação significativa no período do estudo em ambos os grupos.

## **10. ANEXOS**

---



## ANEXO A: Classificação de Banff 1997 de Patologia do Enxerto Renal

Categorias Diagnósticas para Biópsia do Enxerto Renal (Banff 1997)	
1. Normal	
2. Rejeição Mediada por Anticorpo	
Imediata (hiperaguda)	
Tardia (aguda acelerada)	
3. Alterações limítrofes (suspeita de rejeição) Categoria utilizada quando não há presença de arterite intimal, mas há focos de tubulite leve (1 a 4 células mononucleares/túbulo)	
4. Rejeição Aguda	
Tipo (Grau)	
I A	Casos com infiltrado intersticial significativos (afetando > 25% de parênquima) e focos de tubulite moderada (>4 células mononucleares/túbulo)
I B	Casos com infiltrado intersticial significativos (afetando > 25% de parênquima) e focos de tubulite severa (> 10 células mononucleares/túbulo)
II A	Casos com arterite intimal leve a moderada (v1)
II B	Casos com arterite intimal grave comprometendo > 25% da luz vascular (v2)
III	Casos com arterite transmural ou alterações fibrinóides e necrose de células de músculo liso da camada média (v3 com inflamação linfocítica)
5. Nefropatia crônica/esclerosante do enxerto	
Grau	Achados histopatológicos
I (leve)	Fibrose intersticial e atrofia tubular leve sem (A) ou com (B) alterações sugestivas de rejeição crônica
II (moderada)	Fibrose intersticial e atrofia tubular moderada sem (A) ou com (B) alterações sugestivas de rejeição crônica
III (grave)	Fibrose intersticial e atrofia tubular grave sem (A) ou com (B) alterações sugestivas de rejeição crônica
6. Outros	Alterações não sugestivas de rejeição

## ANEXO B: Critérios quantitativos da Classificação de Banff 1997 em Nefropatia Crônica do Enxerto Renal

Critérios quantitativos para tubulite (t)	
t 0	Nenhuma célula mononuclear nos túbulos
t 1	Focos com 1 a 4 células mononucleares/túbulo
t 2	Focos com 5 a 10 células mononucleares/túbulo
t 3	Focos com > 10 células mononucleares/túbulo ou presença de pelo menos 2 áreas de destruição da membrana basal tubular acompanhada por inflamação i2/i3 e tubulite t2 na biópsia
Critérios quantitativos para arterite intimal (v)	
v 0	Ausência de arterite
v 1	Arterite intimal leve a moderada em pelo menos 1 artéria
v 2	Arterite intimal grave com pelo menos 25% de perda da luz do vaso em pelo menos em 1 artéria
v 3	Arterite transmural e/ou alterações fibrinóides e necrose da camada muscular média com infiltrado linfocítico na artéria
Critérios quantitativos para infiltração inflamatória por células mononucleares (i)	
i 0	Infiltrado ausente ou discreto
i 1	Inflamação em 10 a 25 % do parênquima
i 2	Inflamação em 26 a 50 % do parênquima
i 3	Inflamação > 50 % do parênquima
Critérios quantitativos para glomerulite (g)	
g 0	Ausência de glomerulite
g 1	Glomerulite < 25 % dos glomérulos
g 2	Glomerulite global ou segmentar em 25 a 75 % dos glomérulos
g 3	Glomerulite (principalmente global) > 75% dos glomérulos
Critérios quantitativos para fibrose intersticial (ci)	
ci 0	Fibrose intersticial em até 5% da área cortical
ci 1	Leve - Fibrose intersticial em 6 a 25 % da área cortical
ci 2	Moderada - Fibrose intersticial em 26 a 50 % da área cortical
ci 3	Grave – Fibrose intersticial > 50% da área cortical
Critérios quantitativos para atrofia tubular (ct)	
ct 0	Ausência de atrofia tubular
ct 1	Atrofia tubular em até 25% da área de túbulos corticais
ct 2	Atrofia tubular envolvendo 26 a 50% da área de túbulos corticais

ct 3	Atrofia tubular > 50 % da área de túbulos corticais
Critérios quantitativos para glomerulopatia do transplante (cg)	
cg 0	Ausência de glomerulopatia
cg 1	Duplo contorno afetando até 25 % das alças capilares do glomérulo não esclerótico mais afetado
cg 2	Duplo contorno afetando 26 a 50 % das alças capilares do glomérulo não esclerótico mais afetado
cg 3	Duplo contorno afetando > 50 % das alças capilares do glomérulo não esclerótico mais afetado
Critérios quantitativos para aumento de matriz mesangial (mm)	
mm 0	Ausência de aumento de matriz mesangial
mm 1	Aumento pelo menos moderado de matriz mesangial em até 25% dos glomérulos não escleróticos
mm 2	Aumento pelo menos moderado de matriz mesangial em 26 a 50 % dos glomérulos não escleróticos
mm 3	Aumento pelo menos moderado de matriz mesangial > 50 % dos glomérulos não escleróticos
Critérios quantitativos para espessamento fibroso da íntima vascular (cv)	
cv 0	Ausência de alterações vasculares crônicas
cv 1	Estreitamento vascular de até 25% da luz vascular por espessamento fibro-intimal das artérias com ou sem ruptura da lâmina elástica interna ou presença de <i>foam cells</i> ou células mononucleares ocasionais
cv 2	Aumento da severidade das lesões descritas acima com 26 a 50% de estreitamento da luz vascular
cv 3	Alterações vasculares graves com > 50% de estreitamento da luz vascular
Critérios quantitativos para espessamento hialino da arteríola (ah)	
ah 0	Ausência de espessamento hialino PAS-positivo
ah 1	Espessamento hialino PAS-positivo leve a moderado em pelo menos uma arteríola
ah 2	Espessamento hialino PAS-positivo moderado a grave em mais do que uma arteríola
ah 3	Espessamento hialino PAS-positivo grave em muitas arteríolas

### ANEXO C: Atualização Banff 2005 para as categorias diagnósticas da Classificação de Banff 1997 na Patologia do Enxerto Renal

<b>Categorias Diagnósticas para Biópsia do Enxerto Renal (Banff 2005)</b>	
1. Normal	
2. Rejeição Mediada por Anticorpo	
Rejeição Aguda Mediada por Anticorpo	
Tipo	Achados histopatológicos
I	Necrose tubular aguda + C4d positivo, mínima inflamação
II	Marginação de capilares peri-tubulares e/ou trombozes + C4d positivo
III	Injúria arterial (v3) + C4d positivo
Rejeição Crônica Mediada por Anticorpo	
Duplo contorno das membranas basais glomerulares e/ou multilaminação da membrana basal dos capilares peri-tubulares e/ ou fibrose/atrofia tubular e/ou espessamento fibro-intimal em artérias + C4d positivo	
3. Alterações limítrofes – Suspeita de Rejeição Aguda mediada por Célula-T	
Categoria usada quando não há arterite intimal, mas há áreas focais de tubulite (t1, t2 ou t3 com i0 ou i1)	
4. Rejeição Mediada por Célula-T	
Rejeição Aguda Mediada por Célula-T	
Tipo	Achados histopatológicos
I A	Caso com infiltrado intersticial importante (>25% do parênquima afetado, i2 e i3) com focos de tubulite moderada (t2)
I B	Caso com infiltrado intersticial importante (>25% do parênquima afetado, i2 e i3) com focos de tubulite grave (t3)
II A	Caso com arterite intimal leve a moderada (v1)
II B	Casos com arterite intimal grave comprometendo > 25% da luz arterial (v2)
III	Casos com arterite transmural ou alterações fibrinóides e necrose de células de músculo liso da camada média acompanhada por infiltrado inflamatório linfocítico (v3)
Rejeição crônica ativa mediada por Célula-T	
Arteriopatia crônica do enxerto (fibrose de íntima arterial com infiltração de células mononuclear na fibrose, formação de neo-íntima)	
5. Fibrose intersticial e atrofia tubular, sem evidência de etiologia específica	
I	Fibrose intersticial e atrofia tubular leve (< 25% de área cortical)
II	Fibrose intersticial e atrofia tubular moderada (26 a 50 %de área cortical)
III	Fibrose intersticial e atrofia tubular grave (> 50% de área cortical)
6. Outros	
Alterações não sugestivas de rejeição aguda e crônica	

## **11. REFERÊNCIAS**

---

1. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999;341(23):1725-30.
2. Seron D, Arias M, Campistol JM, Morales JM. Late renal allograft failure between 1990 and 1998 in Spain: a changing scenario. *Transplantation* 2003;76(11):1588-94.
3. Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, McIntosh MJ, Stablein D. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 2000;342(9):605-12.
4. 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):411-22.
5. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999;55(2):713-23.
6. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Sis B, Halloran PF, Birk PE, et al. Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007;7(3):518-26.
7. Paul LC. Chronic allograft nephropathy: An update. *Kidney Int* 1999;56(3):783-93.

8. Kreis HA, Ponticelli C. Causes of late renal allograft loss: chronic allograft dysfunction, death, and other factors. *Transplantation* 2001;71(11 Suppl):SS5-9.
9. Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolloff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002;346(8):580-90.
10. Legendre C, Therivet E, Skhiri H, Mamzer-Bruneel MF, Cantarovich F, Noel LH, et al. Histologic features of chronic allograft nephropathy revealed by protocol biopsies in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1998;65(11):1506-9.
11. Seron D, Moreso F, Bover J, Condom E, Gil-Vernet S, Canas C, et al. Early protocol renal allograft biopsies and graft outcome. *Kidney Int* 1997;51(1):310-6.
12. Kuypers DR, Chapman JR, O'Connell PJ, Allen RD, Nankivell BJ. Predictors of renal transplant histology at three months. *Transplantation* 1999;67(9):1222-30.
13. Solez K, Vincenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1998;66(12):1736-40.
14. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003;349(24):2326-33.
15. Hariharan S, McBride MA, Cherikh WS, Tolleris CB, Bresnahan BA, Johnson CP. Post-transplant renal function in the first year predicts long-term kidney transplant survival. *Kidney Int* 2002;62(1):311-8.
16. Levey AS. Measurement of renal function in chronic renal disease. *Kidney Int* 1990;38(1):167-84.

17. Racusen LC, Halloran PF, Solez K. Banff 2003 meeting report: new diagnostic insights and standards. *Am J Transplant* 2004;4(10):1562-6.
18. Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G, Burkhardt K, Weiss M, Riethmuller G, et al. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int* 1993;43(6):1333-8.
19. Mauiyyedi S, Pelle PD, Saidman S, Collins AB, Pascual M, Tolkoff-Rubin NE, et al. Chronic humoral rejection: identification of antibody-mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(3):574-82.
20. David-Neto E, Prado E, Beutel A, Ventura CG, Siqueira SA, Hung J, et al. C4d-positive chronic rejection: a frequent entity with a poor outcome. *Transplantation* 2007;84(11):1391-8.
21. Regele H, Bohmig GA, Habicht A, Gollowitzer D, Schillinger M, Rockenschaub S, et al. Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: a contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(9):2371-80.
22. Sijpkens YW, Joosten SA, Wong MC, Dekker FW, Benediktsson H, Bajema IM, et al. Immunologic risk factors and glomerular C4d deposits in chronic transplant glomerulopathy. *Kidney Int* 2004;65(6):2409-18.
23. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, Park WD, Moore SB, DeGoey S, et al. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant* 2007;7(9):2124-32.
24. Sis B, Campbell PM, Mueller T, Hunter C, Cockfield SM, Cruz J, et al. Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant* 2007;7(7):1743-52.



25. Karimova A, Pinsky DJ. The endothelial response to oxygen deprivation: biology and clinical implications. *Intensive Care Med* 2001;27(1):19-31.
26. Yates PJ, Nicholson ML. The aetiology and pathogenesis of chronic allograft nephropathy. *Transpl Immunol* 2006;16(3-4):148-57.
27. Lemstrom K, Koskinen P, Hayry P. Molecular mechanisms of chronic renal allograft rejection. *Kidney Int Suppl* 1995;52:S2-10.
28. Abbas A, Lichtman A. Imunologia do Transplante. In: *Imunologia Celular e Molecular*. 5a. ed ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda; 2005. p. 379-400.
29. Noronha IL. *Análise dos mecanismos celulares e imunológicos envolvidos na rejeição ao aloenxerto em transplante de órgãos*. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2002.
30. Najarian JS, Fryd DS, Strand M, Canafax DM, Ascher NL, Payne WD, et al. A single institution, randomized, prospective trial of cyclosporin versus azathioprine-antilymphocyte globulin for immunosuppression in renal allograft recipients. *Ann Surg* 1985;201(2):142-57.
31. Henny FC, Kootte AM, Van Bockel JH, Baldwin WM, Hermans J, Bos B, et al. A prospective randomised comparative study on the influence of cyclosporin and azathioprine on renal allograft survival and function. *Nephrol Dial Transplant* 1986;1(1):44-9.
32. Starzl TE, Klintmalm GB, Weil R, 3rd, Porter KA, Iwatsuki S, Schroter GP, et al. Cyclosporin A and steroid therapy in sixty-six cadaver kidney recipients. *Surg Gynecol Obstet* 1981;153(4):486-94.
33. David-Neto E, Lemos FC, Fadel LM, Agena F, Sato MY, Coccuza C, et al. The dynamics of glucose metabolism under calcineurin inhibitors in the first year after renal transplantation in nonobese patients. *Transplantation* 2007;84(1):50-5.

34. Morris PJ, Chapman JR, Allen RD, Ting A, Thompson JF, Dunnill MS, et al. Cyclosporin conversion versus conventional immunosuppression: long-term follow-up and histological evaluation. *Lancet* 1987;1(8533):586-91.
35. Delmonico FL, Conti D, Auchincloss H, Jr., Russell PS, Tolkoff-Rubin N, Fang LT, et al. Long-term, low-dose cyclosporine treatment of renal allograft recipients. A randomized trial. *Transplantation* 1990;49(5):899-904.
36. Hall BM, Tiller DJ, Hardie I, Mahony J, Mathew T, Thatcher G, et al. Comparison of three immunosuppressive regimens in cadaver renal transplantation: long-term cyclosporine, short-term cyclosporine followed by azathioprine and prednisolone, and azathioprine and prednisolone without cyclosporine. *N Engl J Med* 1988;318(23):1499-507.
37. Kasiske BL, Chakkera HA, Louis TA, Ma JZ. A meta-analysis of immunosuppression withdrawal trials in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2000;11(10):1910-7.
38. Weir MR, Anderson L, Fink JC, Gabregiorgish K, Schweitzer EJ, Hoehn-Saric E, et al. A novel approach to the treatment of chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 1997;64(12):1706-10.
39. Weir MR, Ward MT, Blahut SA, Klassen DK, Cangro CB, Bartlett ST, et al. Long-term impact of discontinued or reduced calcineurin inhibitor in patients with chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 2001;59(4):1567-73.
40. Lemos FBCI, L.E.; Sabbaga, E.; David-Neto, E. Is the improvement of renal function in chronic allograft nephropathy, after MMF introduction, related to cyclosporin A reduction? (abstract). *Transplantation* 1999;67(7):S-86.
41. Dudley C, Pohanka E, Riad H, Dedochova J, Wijngaard P, Sutter C, et al. Mycophenolate mofetil substitution for cyclosporine a in renal transplant recipients with chronic progressive allograft dysfunction: the "creeping creatinine" study. *Transplantation* 2005;79(4):466-75.

42. Stoves J, Newstead CG, Baczkowski AJ, Owens G, Paraoan M, Hammad AQ. A randomized controlled trial of immunosuppression conversion for the treatment of chronic allograft nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(8):2113-20.
43. David-Neto E, Araujo LM, Lemos FC, David DS, Mazzucchi E, Nahas WC, et al. Introduction of mycophenolate mofetil and cyclosporin reduction in children with chronic transplant nephropathy. *Pediatr Transplant* 2001;5(4):302-9.
44. Di Maria L, Bertoni E, Rosati A, Zanazzi M, Piperno R, Moscarelli L, et al. Mycophenolate mofetil (MMF) in the treatment of chronic renal rejection. *Clin Nephrol* 2000;53(4):suppl 33-4.
45. Ducloux D, Motte G, Billerey C, Bresson-Vautrin C, Vautrin P, Rebibou JM, et al. Cyclosporin withdrawal with concomitant conversion from azathioprine to mycophenolate mofetil in renal transplant recipients with chronic allograft nephropathy: a 2-year follow-up. *Transpl Int* 2002;15(8):387-92.
46. Henne T, Latta K, Strehlau J, Pape L, Ehrich JH, Offner G. Mycophenolate mofetil-induced reversal of glomerular filtration loss in children with chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2003;76(9):1326-30.
47. Suwelack B, Gerhardt U, Hohage H. Withdrawal of cyclosporine or tacrolimus after addition of mycophenolate mofetil in patients with chronic allograft nephropathy. *Am J Transplant* 2004;4(4):655-62.
48. Garcia R, Pinheiro-Machado PG, Felipe CR, Park SI, Silva LA, Franco MF, et al. Conversion from azathioprine to mycophenolate mofetil followed by calcineurin inhibitor minimization or elimination in patients with chronic allograft dysfunction. *Transplant Proc* 2006;38(9):2872-8.

49. Noronha IL, Oliveira AC, Abensur H, Romao JE, Araujo MR, Zatz R. Mycophenolate mofetil in the treatment of chronic rejection in renal transplantation: 3-year follow-up. *Transplant Proc* 2002;34(2):491-3.
50. Gonzalez Molina M, Seron D, Garcia del Moral R, Carrera M, Sola E, Jesus Alferez M, et al. Mycophenolate mofetil reduces deterioration of renal function in patients with chronic allograft nephropathy. A follow-up study by the Spanish Cooperative Study Group of Chronic Allograft Nephropathy. *Transplantation* 2004;77(2):215-20.
51. Francois H, Durrbach A, Amor M, Djeflal R, Kriaa F, Paradis V, et al. The long-term effect of switching from cyclosporin A to mycophenolate mofetil in chronic renal graft dysfunction compared with conventional management. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(9):1909-16.
52. Klein IH, Abrahams A, van Ede T, Hene RJ, Koomans HA, Ligtenberg G. Different effects of tacrolimus and cyclosporine on renal hemodynamics and blood pressure in healthy subjects. *Transplantation* 2002;73(5):732-6.
53. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1997;63(7):977-83.
54. Mayer AD, Dmitrewski J, Squifflet JP, Besse T, Grabensee B, Klein B, et al. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. *Transplantation* 1997;64(3):436-43.
55. Gloor JM, Cohen AJ, Lager DJ, Grande JP, Fidler ME, Velosa JA, et al. Subclinical rejection in tacrolimus-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 2002;73(12):1965-8.

56. Mayer AD. Chronic rejection and graft half-life: five-year follow-up of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study. *Transplant Proc* 2002;34(5):1491-2.
57. Citterio F, Rigotti P, Scata MC, Romagnoli J, Baldan N, Marchini F, et al. Steroid withdrawal from tacrolimus-based therapy in renal transplant patients. *Transplant Proc* 2002;34(5):1707-8.
58. Lee WC, Lian JD, Wu MJ, Cheng CH, Chen CH, Shu KH. Long-term beneficial effect of tacrolimus conversion on renal transplant recipients. *Ren Fail* 2005;27(5):501-6.
59. Hohage H, Welling U, Zeh M, Gerhardt U, Suwelack B. Switching immunosuppression from cyclosporine to tacrolimus improves long-term kidney function: a 6-year study. *Transplant Proc* 2005;37(4):1898-9.
60. Woodside KJ, Nichols SD, Hunter GC, Gugliuzza KK, Daller JA. Conversion from cyclosporine to tacrolimus results in improved creatinine but does not alter lipid profile. *Transplant Proc* 2005;37(4):1877-9.
61. Cantarovich D, Renou M, Megnigbeto A, Giral-Classe M, Hourmant M, Dantal J, et al. Switching from cyclosporine to tacrolimus in patients with chronic transplant dysfunction or cyclosporine-induced adverse events. *Transplantation* 2005;79(1):72-8.
62. Waid T. Tacrolimus as secondary intervention vs. cyclosporine continuation in patients at risk for chronic renal allograft failure. *Clin Transplant* 2005;19(5):573-80.
63. Meier M, Nitschke M, Weidtmann B, Jabs WJ, Wong W, Suefke S, et al. Slowing the progression of chronic allograft nephropathy by conversion from cyclosporine to tacrolimus: a randomized controlled trial. *Transplantation* 2006;81(7):1035-40.
64. Saunders RN, Metcalfe MS, Nicholson ML. Rapamycin in transplantation: a review of the evidence. *Kidney Int* 2001;59(1):3-16.

65. Terada N, Lucas JJ, Szepesi A, Franklin RA, Domenico J, Gelfand EW. Rapamycin blocks cell cycle progression of activated T cells prior to events characteristic of the middle to late G1 phase of the cycle. *J Cell Physiol* 1993;154(1):7-15.
66. Kahan BD. Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. The Rapamune US Study Group. *Lancet* 2000;356(9225):194-202.
67. Andoh TF, Lindsley J, Franceschini N, Bennett WM. Synergistic effects of cyclosporine and rapamycin in a chronic nephrotoxicity model. *Transplantation* 1996;62(3):311-6.
68. Dominguez J, Mahalati K, Kiberd B, McAlister VC, MacDonald AS. Conversion to rapamycin immunosuppression in renal transplant recipients: report of an initial experience. *Transplantation* 2000;70(8):1244-7.
69. Diekmann F, Waiser J, Fritsche L, Dragun D, Neumayer HH, Budde K. Conversion to rapamycin in renal allograft recipients with biopsy-proven calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *Transplant Proc* 2001;33(7-8):3234-5.
70. Citterlo F, Scata MC, Violi P, Romagnoli J, Pozzetto U, Nanni G, et al. Rapid conversion to sirolimus for chronic progressive deterioration of the renal function in kidney allograft recipients. *Transplant Proc* 2003;35(4):1292-4.
71. Egidi MF, Cowan PA, Naseer A, Gaber AO. Conversion to sirolimus in solid organ transplantation: a single-center experience. *Transplant Proc* 2003;35(3 Suppl):131S-137S.
72. Wali RK, Mohanlal V, Ramos E, Blahut S, Drachenberg C, Papadimitriou J, et al. Early withdrawal of calcineurin inhibitors and rescue immunosuppression with sirolimus-based therapy in renal transplant recipients with moderate to severe renal dysfunction. *Am J Transplant* 2007;7(6):1572-83.

73. Watson CJ, Firth J, Williams PF, Bradley JR, Pritchard N, Chaudhry A, et al. A randomized controlled trial of late conversion from CNI-based to sirolimus-based immunosuppression following renal transplantation. *Am J Transplant* 2005;5(10):2496-503.
74. Stallone G, Infante B, Schena A, Battaglia M, Ditunno P, Loverre A, et al. Rapamycin for treatment of chronic allograft nephropathy in renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(12):3755-62.
75. Garcia CD, Bittencourt VB, Alves AB, Garcia VD, Tumelero A, Antonello JS, et al. Conversion to sirolimus in pediatric renal transplantation recipients. *Transplant Proc* 2006;38(6):1901-3.
76. Falger JC, Mueller T, Arbeiter K, Boehm M, Regele H, Balzar E, et al. Conversion from calcineurin inhibitor to sirolimus in pediatric chronic allograft nephropathy. *Pediatr Transplant* 2006;10(5):565-9.
77. Hocker B, Feneberg R, Kopf S, Weber LT, Waldherr R, Wuhl E, et al. SRL-based immunosuppression vs. CNI minimization in pediatric renal transplant recipients with chronic CNI nephrotoxicity. *Pediatr Transplant* 2006;10(5):593-601.
78. Mulay AV, Cockfield S, Stryker R, Fergusson D, Knoll GA. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus for chronic renal allograft dysfunction: a systematic review of the evidence. *Transplantation* 2006;82(9):1153-62.
79. Bumbea V, Kamar N, Ribes D, Esposito L, Modesto A, Guitard J, et al. Long-term results in renal transplant patients with allograft dysfunction after switching from calcineurin inhibitors to sirolimus. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20(11):2517-23.
80. Diekmann F, Budde K, Slowinski T, Oppenheimer F, Fritsche L, Neumayer HH, et al. Conversion to sirolimus for chronic allograft dysfunction: long-term results confirm predictive value of proteinuria. *Transpl Int* 2008;21(2):152-5.

81. Prado E, Ventura C, Hung J, David D, Castro M, Lemos F, et al. Treatment of established chronic allograft nephropathy: Is there a best approach? *Am J Transplant* 2006;6(Suppl 12).
82. Franco AF, Martini D, Abensur H, Noronha IL. Proteinuria in transplant patients associated with sirolimus. *Transplant Proc* 2007;39(2):449-52.
83. Wyzgal J, Paczek L, Senatorski G, Zygier J, Rowinski W, Szmidt J, et al. Sirolimus rescue treatment in calcineurin-inhibitor nephrotoxicity after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2002;34(8):3185-7.
84. Ruiz JC, Diekmann F, Campistol JM, Sanchez-Fructuoso A, Rivera C, Oliver J, et al. Evolution of proteinuria after conversion from calcineurin inhibitors (CNI) to sirolimus (SRL) in renal transplant patients: a multicenter study. *Transplant Proc* 2005;37(9):3833-5.
85. Groetzner J, Meiser B, Landwehr P, Buehse L, Mueller M, Kaczmarek I, et al. Mycophenolate mofetil and sirolimus as calcineurin inhibitor-free immunosuppression for late cardiac-transplant recipients with chronic renal failure. *Transplantation* 2004;77(4):568-74.
86. Hunt J, Lerman M, Magee MJ, Dewey TM, Herbert M, Mack MJ. Improvement of renal dysfunction by conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005;24(11):1863-7.
87. Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Tscheliessnigg KH. Sirolimus and mycophenolate mofetil after liver transplantation. *Transpl Int* 2003;16(7):504-9.
88. Sanchez EQ, Martin AP, Ikegami T, Uemura T, Narasimhan G, Goldstein RM, et al. Sirolimus conversion after liver transplantation: improvement in measured glomerular filtration rate after 2 years. *Transplant Proc* 2005;37(10):4416-23.



89. Medeiros FSR. *Avaliação da dosagem sérica de cistatina C para detecção precoce de alterações na função do enxerto pós transplante renal*. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2008.
90. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama* 2001;285(19):2486-97.
91. Wallach J. Normal Blood Values. In: *Handbook of interpretation of diagnostic tests*: Lippincott-Raven Publishers; 1998. p. 3-18.
92. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42(6):1206-52.
93. Alessi A, Brandao AA, Pierin A, Feitosa AM, Machado CA, de Moraes Forjaz CL, et al. [IV Guideline for ambulatory blood pressure monitoring. II Guideline for home blood pressure monitoring. IV ABPM/II HBPM.]. *Arq Bras Cardiol* 2005;85 Suppl 2:1-18.
94. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. In: *V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial*. São Paulo; 2006. p. 1-50.
95. Nickeleit V, Mihatsch MJ. Kidney transplants, antibodies and rejection: is C4d a magic marker? *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(11):2232-9.
96. Kreis H, Oberbauer R, Campistol JM, Mathew T, Daloz P, Schena FP, et al. Long-term benefits with sirolimus-based therapy after early cyclosporine withdrawal. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(3):809-17.
97. Ruiz JC, Campistol JM, Grinyo JM, Mota A, Prats D, Gutierrez JA, et al. Early cyclosporine withdrawal in kidney-transplant recipients receiving sirolimus prevents progression of chronic pathologic allograft lesions. *Transplantation* 2004;78(9):1312-8.

- 
98. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gurkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* 2007;357(25):2562-75.
  99. Shihab FS, Bennett WM, Yi H, Choi SO, Andoh TF. Sirolimus increases transforming growth factor-beta1 expression and potentiates chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 2004;65(4):1262-71.
  100. Saunders RN, Bicknell GR, Nicholson ML. The impact of cyclosporine dose reduction with or without the addition of rapamycin on functional, molecular, and histological markers of chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2003;75(6):772-80.
  101. Renders L, Steinbach R, Valerius T, Schocklmann HO, Kunzendorf U. Low-dose sirolimus in combination with mycophenolate mofetil improves kidney graft function late after renal transplantation and suggests pharmacokinetic interaction of both immunosuppressive drugs. *Kidney Blood Press Res* 2004;27(3):181-5.
  102. Martinez-Mier G, Mendez-Lopez MT, Estrada-Oros J, Budar-Fernandez LF, Soto-Gonzalez JI, Mendez-Machado GF, et al. Conversion from calcineurin inhibitor to sirolimus for renal function deterioration in kidney allograft recipients. *Arch Med Res* 2006;37(5):635-8.
  103. Pontrelli P, Rossini M, Infante B, Stallone G, Schena A, Loverre A, et al. Rapamycin inhibits PAI-1 expression and reduces interstitial fibrosis and glomerulosclerosis in chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2008;85(1):125-34.
  104. Liu M, Zhang W, Gu M, Yin C, Zhang WY, Lv Q, et al. Protective effects of sirolimus by attenuating connective tissue growth factor expression in human chronic allograft nephropathy. *Transplant Proc* 2007;39(5):1410-5.
  105. Marx SO, Jayaraman T, Go LO, Marks AR. Rapamycin-FKBP inhibits cell cycle regulators of proliferation in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1995;76(3):412-7.

106. Mohacsi PJ, Tuller D, Hulliger B, Wijngaard PL. Different inhibitory effects of immunosuppressive drugs on human and rat aortic smooth muscle and endothelial cell proliferation stimulated by platelet-derived growth factor or endothelial cell growth factor. *J Heart Lung Transplant* 1997;16(5):484-92.
107. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008;8(4):753-60.
108. Pedagogos E, Hewitson TD, Walker RG, Nicholis KM, Becker GJ. Myofibroblast involvement in chronic transplant rejection. *Transplantation* 1997;64(8):1192-7.
109. Malheiros D. *Estudo de variáveis morfológicas e clínicas na nefropatia crônica do enxerto e sua relação com sobrevida do órgão*. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2001.
110. Sennesael JJ, Bosmans JL, Bogers JP, Verbeelen D, Verpooten GA. Conversion from cyclosporine to sirolimus in stable renal transplant recipients. *Transplantation* 2005;80(11):1578-85.
111. Fischereider M, Graeb C, Kruger B, Kammerl MC, Zulke C, Jauch KW, et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in patients with chronic renal allograft dysfunction. *Transplant Proc* 2006;38(5):1295-7.
112. Kreis H, Cisterne JM, Land W, Wramner L, Squifflet JP, Abramowicz D, et al. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 2000;69(7):1252-60.
113. Diekmann F, Gutierrez-Dalmau A, Torregrosa JV, Oppenheimer F, Campistol JM. Sirolimus monotherapy: feasible immunosuppression for long-term follow-up of kidney transplantation--a pilot experience. *Transplantation* 2005;80(9):1344-8.

- 
114. Boratynska M, Banasik M, Watorek E, Falkiewicz K, Patrzalek D, Szyber P, et al. Conversion to sirolimus from cyclosporine may induce nephrotic proteinuria and progressive deterioration of renal function in chronic allograft nephropathy patients. *Transplant Proc* 2006;38(1):101-4.
  115. Baboolal K. A phase III prospective, randomized study to evaluate concentration-controlled sirolimus (rapamune) with cyclosporine dose minimization or elimination at six months in de novo renal allograft recipients. *Transplantation* 2003;75(8):1404-8.
  116. Stephany BR, Augustine JJ, Krishnamurthi V, Goldfarb DA, Flechner SM, Braun WE, et al. Differences in Proteinuria and Graft Function in De Novo Sirolimus-Based vs. Calcineurin Inhibitor-Based Immunosuppression in Live Donor Kidney Transplantation. *Transplantation* 2006;82(3):368-74.
  117. Vogelbacher R, Wittmann S, Braun A, Daniel C, Hugo C. The mTOR inhibitor everolimus induces proteinuria and renal deterioration in the remnant kidney model in the rat. *Transplantation* 2007;84(11):1492-9.
  118. Fritsche L, Budde K, Dragun D, Einecke G, Diekmann F, Neumayer HH. Testosterone concentrations and sirolimus in male renal transplant patients. *Am J Transplant* 2004;4(1):130-1.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)