

*Universidade Federal do Triângulo Mineiro*

***Detecção de Complemento - C4d em  
Capilares Peritubulares e Análise  
Morfológica de Biópsias de Enxerto Renal***

*Ana Carolina Guimarães Faleiros*

*Uberaba - Minas Gerais*

*2009*

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Ana Carolina Guimarães Faleiros

***Detecção de complemento - C4d em  
capilares peritubulares e análise  
morfológica de biópsias de enxerto renal***

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia, área de concentração “Patologia Geral”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor.

**Orientadora: Marlene Antônia dos Reis**

*Uberaba - Minas Gerais*

*Abril/2009*

**Agradecimentos:**

A Deus, por tudo.

Ao meu marido Mauricio Llaguno,  
Mais que marido, amigo, cúmplice em todos os momentos.  
Obrigada pelo amor, paciência e compreensão pela minha ausência.

À minha família, especialmente,  
Minha Avó Lourdes.  
Minha mãe Aliacir e meu pai Jairo  
Meus irmãos Cristiano e Jairo Jr.  
Pela força e acolhida.

À minha orientadora Marlene,  
Muito obrigada pela confiança, por me devolver a esperança  
e compartilhar comigo seu saber. Sua forma de conduzir a vida ao mesmo  
tempo com bravura e ternura é admirável e um exemplo para mim.

À colaboradora Maria Laura P. Rodrigues,  
Obrigada pela importante ajuda na realização dessa tese.

Aos amigos,  
Luiz Eduardo Ramirez, Eliane Lages Silva,  
Wendell F. Meira, André Luiz Pedrosa.  
Pelo carinho e apoio de sempre.

Aos meus alunos de iniciação científica,  
Cristhiane F. de Aguiar, Leandro C. D. Breda, Cristiane Naffah de Souza.

Pelo trabalho, carinho, entusiasmo e alegria contagiantes.

Aos amigos do Curso de Especialização em Docência na Educação Superior  
e aos amigos do Curso de Pós-graduação em Patologia.

Pelo suporte e companheirismo.

Aos funcionários das Disciplinas de Patologia Geral, Biologia Celular  
e do Curso de Pós-graduação em Patologia.

O presente trabalho foi realizado com o auxílio financeiro da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), da Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (FUNEP), da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

*“Ninguém ignora tudo, ninguém sabe tudo.  
Todos nós sabemos alguma coisa.  
Todos nós ignoramos alguma coisa.  
Por isso, aprendemos sempre”.*

*Paulo Freire*

---

## **SUMÁRIO**

Lista de Abreviaturas.....	VII
Lista de Figuras.....	X
Lista de Pranchas.....	XIII
Resumo.....	XIV
Abstract.....	XV
Introdução.....	16
Hipótese.....	29
Objetivos Gerais e Específicos.....	29
Materiais e Métodos.....	32
Resultados.....	42
Discussão.....	66
Conclusões.....	73
Referências.....	76
Anexos.....	89



---

## ***LISTA DE ABREVIATURAS***

AH: aterosclerose hialina

ATN: *acude tubular necrosis*

AZA: azatioprina

B: branco

BKV: polioma vírus BK

BOR: lesão borderline

C: complemento

C4d-: C4d negativo

C4d+: C4d positivo

CD:

CG: glomerulopatia do enxerto

CI: fibrose intersticial

CMV: citomegalovírus

CPGP: Curso de Pós-Graduação em Patologia

Cre: creatinina

CsA: ciclosporina A

CT: atrofia tubular

CV: espessamento vascular fibroelástico

F: feminino

FIAT: fibrose intersticial/atrofia tubular

G: glomerulite

GESF: glomeruloesclerose segmentar e focal

GPE: glomerulonefrite proliferativa endocapilar

---

H: Kruskal-Wallis

HE: hematoxilina-eosina

HLA: antígeno leucocitário humano

HSV: herpes simplex vírus

I: inflamação

IF: imunofluorescência direta

Ig: imunoglobulina

IL: interleucina

M: masculino

ME: microscopia eletrônica de transmissão

MHC: complexo de histocompatibilidade principal

MIFORT: mifortic

MMF: micofenolato mofetil

MT: microangiopatia trombótica

N: normal

NB: não branco

NF- $\kappa$ B: *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*

NFAT: *nuclear factor of activated T cells*

NL: nefrite lúpica

NTA: necrose tubular aguda

NTCA: nefrotoxicidade por ciclosporina

NTCD: nefrotoxicidade por drogas

NTII: nefrite túbulo intersticial inespecífica

P: pielonefrite

p: probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade

---

PAMS: prata metenamina

PBS: *Phosphate Buffer Solution*

PMP: prevalência por milhão da população

PS: picro-sírius

PRED: prednisona

PT: peritubular

PV: parede vascular

r: correlação de Spearman

RAMA: rejeição aguda mediada por anticorpo

RAMC: rejeição aguda mediada por célula

RAPA: rapamicina

RCMA: rejeição crônica mediada por anticorpo

RMA: rejeição mediada por anticorpo

RMC: rejeição mediada por célula

SOLUM: solumedrol

T: tubulite

“T”: Mann-Whitney

t: “t” de Student

TACRO: tacrolimus

TM: tricrômico masson

TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa

U: uréia

UFTM: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

WT: *weight*

$\chi^2$ : Qui-quadrado

## Lista de Figuras

- Figura 1. Distribuição dos 207 pacientes transplantados renais de acordo com o tempo transcorrido desde o transplante de rim até a realização da biópsia.....43
- Figura 2. Distribuição dos 207 pacientes transplantados renais de acordo com a procedência.....44
- Figura 3. Distribuição dos 207 transplantados renais segundo a origem do enxerto (doador vivo ou cadáver).....44
- Figura 4. Distribuição dos 207 transplantados renais segundo o grau de parentesco do doador com o receptor (relacionado ou não relacionado).....45
- Figura 5 – Distribuição em porcentagem dos 140 transplantados renais segundo o tipo de medicação imunossupressora utilizada na época da realização da biópsia renal: Azatioprina (AZA), Ciclosporina A (CsA), Prednisona (PRED), Rapamicina (RAPA), Tacrolimus (TACRO), Micofenolato Mofetil (MMF), Solumedrol (SOLUM) e Mifortic (MIFORT).....45
- Figura 6. Distribuição dos 207 transplantados renais segundo o tipo de medicação imunossupressora utilizada.....46
- Figura 7. Mediana dos valores de uréia (U) e creatinina (Cre) nos 98 e 128 pacientes transplantados renais, respectivamente.....48
- Figura 8. Distribuição dos 207 transplantados renais segundo a ocorrência de doenças anteriores.....49
- Figura 9. Distribuição das biópsias segundo o resultado da imunohistoquímica para C4d.....49
- Figura 10. Distribuição das biópsias de acordo com a imunohistoquímica para C4d quanto a tipo de doador do enxerto renal.....49
- Figura 11. Média dos níveis de uréia nos pacientes de acordo com a imunohistoquímica para C4d nas biópsias renais.....51

Figura 12. Correlação entre C4d e os níveis de uréia nos pacientes transplantados renais.....	51
Figura 13. Média dos níveis de creatinina nos pacientes de acordo com a imunohistoquímica para C4d nas biópsias renais.....	52
Figura 14. Correlação entre C4d e os níveis de creatinina dos pacientes transplantados renais.....	52
Figura 15 – Porcentagem de cada medicação imunossupressora (Ciclosporina A – CsA, Azatioprina – AZA, Prednisona – PRED, Micofenolato Mofetil – MMF, Tacrolimus - TACRO, Solumedrol - SOLUM, Rapamicina - RAPA, Mifortic - MIFOR) utilizadas em 58 pacientes transplantados nos 4 grupos de acordo com a imunohistoquímica para C4d nas biópsias renais.....	53
Figura 16. Distribuição dos casos positivos para IgA de acordo com a imunohistoquímica para C4d.....	54
Figura 17. Distribuição dos casos positivos para IgM de acordo com a imunohistoquímica para C4d.....	55
Figura 18. Distribuição dos casos positivos para IgG de acordo com a imunohistoquímica para C4d.....	55
Figura 19. Distribuição dos casos positivos para C3 em cilindros tubulares (CT), Glomérulos (G), parede vascular (PV) e peritubular (PT) de biópsias renais de pacientes transplantados nos 4 grupos de acordo com a imunohistoquímica para C4d.....	55
Figura 20. Distribuição dos casos positivos para C1q de acordo com a imunohistoquímica para C4d.....	56
Figura 21. Distribuição dos casos positivos para Lambda de acordo com a imunohistoquímica para C4d.....	56
Figura 22. Distribuição dos casos positivos para Kappa de acordo com a imunohistoquímica para C4d.....	56
Figura 23. Distribuição dos casos positivos para Fibrinogênio de acordo com a imunohistoquímica para C4d.....	57

Figura 24 – Distribuição de 85 biópsias de enxerto renal, segundo a porcentagem de diagnóstico em normal (N), rejeição medida por anticorpo (RMA), rejeição mediada por célula (RMC), lesão Borderline (BOR) e fibrose intersticial e atrofia tubular (FIAT).....	58
Figura 25. Distribuição de 85 biópsias de enxerto renal, segundo a porcentagem de diagnóstico outros: hialinose arteriolar (AH), espessamento fibroso (CV), glomerulite (G), nefrite túbulo intersticial inespecífica (NTII), microangiopatia trombótica (MT), pielonefrite (P), nefrite lúpica (NL), glomeruloesclerose segmentar e focal (GESF), necrose tubular aguda (NTA), nefrototoxicidade por drogas (NTCA) e glomerulonefrite proliferativa endocapilar (GPE).....	58
Figura 26. Mediana da porcentagem de fibrose nas biópsias renais de pacientes transplantados no gênero e na cor.....	62
Figura 27. Correlação entre porcentagem de fibrose e idade (anos) dos pacientes transplantados renais.....	62
Figura 28. Correlação entre porcentagem de fibrose e os níveis de uréia dos pacientes transplantados renais.....	63
Figura 29. Correlação entre porcentagem de fibrose e os níveis de creatinina dos pacientes transplantados renais.....	63
Figura 30. Mediana da porcentagem de fibrose nas biópsias renais de pacientes transplantados nos 4 grupos de acordo com a imunohistoquímica para C4d.....	64
Figura 31. Correlação entre porcentagem de fibrose e C4d.....	64
Figura 32. Mediana da porcentagem de fibrose em 47 biópsias de enxerto renal, de acordo com o diagnóstico: rejeição aguda mediada por anticorpo (RAMA), rejeição aguda mediada por células (RAMC), Rejeição crônica mediada por anticorpos (RCMA), lesão borderline (BOR), fibrose intersticial e atrofia tubular (FIAT).....	65

## Lista de Pranchas

- Prancha 1. Biópsias: BR08-0607, BKV, (Hematoxilina - Eosina, objetiva 20X), (Imunohistoquímica para BKV, objetiva 20X). BR08-0712, BKV, (Microscopia Eletrônica - ME, 20.000X), (ME, 30.000X), (Hematoxilina Eosina, objetiva 20X, optovar 2,0X) BR97-1847, CMV, (Hematoxilina Eosina, 20X).....47
- Prancha 2. Biópsias: B06-1784: C4d0 (Imunohistoquímica para C4d, objetiva 10X). B05-3768: C4d1 (Imunohistoquímica para C4d, objetiva 10X). B04-6198: C4d2 (Imunohistoquímica para C4d, objetiva 10X). B03-0945: C4d3 (Imunohistoquímica para C4d, objetiva 20X).....50
- Prancha 3. Biópsia: B03-0945, (Hematoxilina e Eosina, objetiva 63X, optovar 1X), (Tricômico de Masson, objetiva 63X, optovar 1X), B07-0738, (Tricômico de Masson, objetiva 10X, optovar 1,6X), (Microscopia Eletrônica - ME, 4.400X), (IF, soro anti-C3, objetiva 20X, optovar 2,0X), (IF, soro anti-IgM, objetiva 20X, optovar 2,0X).....59
- Prancha 4. Biópsia: B03-3838, (Imunohistoquímica para C4d, objetiva 10X), (Imunohistoquímica para C4d, objetiva 20X), (Hematoxilina Eosina, objetiva 40, optovar 1,6X), (Hematoxilina Eosina, objetiva 40, optovar 1,6X), (Picrosírius, 320X), (Picrosírius, luz Polarizada, 320X).....60
- Prancha 5. Biópsia: B04-6198, (Hematoxilina Eosina, objetiva 40X, Optovar 1,25X), (Picrosírius, objetiva 40X, Optovar 1,25X), (PAMS, objetiva 40X, Optovar 1,25X), (Tricômico Masson, objetiva 20X, Optovar 1,0X), (IF soro anti-IgM, objetiva 20X, Optovar 1,6X), (IF soro anti-C3, objetiva 20X, Optovar 1,6X).....61

---

## Resumo

O C4d é um produto da degradação do componente C4 da via clássica do complemento e permanece no local da ativação ligado covalentemente ao tecido na interface entre endotélio e membrana basal. A deposição de C4d em capilar peritubular tem sido descrita em enxerto renal e isso representa a resposta imune humoral contra o rim transplantado. Nossos objetivos foram caracterizar clínico e epidemiologicamente os pacientes transplantados renais do Serviço de Nefropatologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, bem como, analisar suas biópsias morfológicamente e por imunohistoquímica para C4d e classificar o diagnóstico de acordo com Banff 07. Para análise da fibrose utilizamos fragmentos corados com Picro-sírius. As lâminas foram visualizadas sob luz polarizada, com objetiva de 40x e calculamos o percentual de fibrose por área do campo analisado (%F) utilizando os programas KS300 e ImageJ. Para a detecção de C4d peritubular utilizamos a técnica de imunoperoxidase com anticorpo primário anti-C4d. Para a detecção de IgA, IgG, IgM, C3 e C1q foi utilizada técnica de imunofluorescência direta. As lâminas foram visualizadas em microscópio para fluorescência e analisadas segundo sua positividade, a forma e o local do depósito. Os diagnósticos foram dados de acordo com o resultado do C4d (C4d0, C4d1, C4d2 e C4d3) e classificados segundo Banff 07. A média de idade foi de 41,1 anos e teve correlação positiva com a %F ( $r=0,452$ ,  $p=0,005$ ). A mediana da %F foi de 1% no grupo C4d0, 1% no C4d1, 2% no C4d2 e 3% no C4d3 ( $H=3,4$ ,  $p=0,32$ ) e a correlação entre a intensidade de fibrose e a deposição de C4d foi positiva ( $r=0,264$ ,  $p=0,113$ ). Dentre os diagnósticos a RMA representa 36,7%, RMC 16,7%, BOR 25%, FIAT 18,3%. Sendo que, o grupo RAMA teve mediana de fibrose de 2%, RAMC 1%, RCMA 5%, BOR 2,5%, FIAT 4%, O 1 ( $H=6,484$ ;  $p=0,166$ ). Ocorreu positividade para IgA, IgM e C3 nos grupos C4d0, 1, 2 e 3, IgG e fibrinogênio nos grupos C4d2 e 3, C1q nos grupos C4d1, 2 e 3. O grupo que apresentou maior porcentagem de fibrose foi o C4d3, que também teve níveis mais elevados de creatinina, e houve uma correlação positiva da fibrose com a intensidade de deposição de C4d. O C4d é um importante marcador de resposta imune humoral e foi imprescindível para determinarmos os diagnósticos de rejeição humoral, porém, apresenta suas limitações. A co-expressão de C4d com IgG e C3 indica que a via clássica do complemento poderia estar sendo ativada. A relação entre C4d, fibrose e creatinina pode estar indicando diminuição da função renal e pior prognóstico.



---

## Abstract

C4d is the degradation product of the activated complement factor C4, a component of the classical complement cascade which is covalently bound to the tissue at the interface between endothelium and basement membrane. C4d deposition in peritubular capillaries has been described as a marker of humoral renal graft rejection. The objectives of this study were to characterize the epidemiological and clinical features of kidney transplant patients of the Nephropathology Department of the University of Triangulo Mineiro, and to analyze morphologically and by immunohistochemistry for C4d their biopsies to classify it according to Banff 07. To analyze the fibrosis the fragments were stained with Picro-sírius. The slides were viewed under polarized light with the 40x objective and calculate the percentage of fibrosis per area of the examined field (% F) using KS300 and ImageJ programs. For peritubular C4d detection was used the technique of immunohistochemistry with primary antibody anti-C4d. For detection of IgA, IgG, IgM, C3 and C1q was used direct immunofluorescence technique. The slides were viewed by fluorescence microscope and analyzed according to their positivity and site of deposit. The diagnoses were made according to the presence of C4d (C4d0, C4d1, C4d2 and C4d3) and classified according to Banff 07. The mean age was 41.1 years and had positive correlation with the percentage of fibroses ( $r = 0,452$ ,  $p = 0005$ ). The median of the percentage of fibrosis was 1% in the group C4d0, 1% in C4d1, 2% in C4d2, and 3% in C4d3 ( $H = 3.4$ ,  $p = 0.32$ ) and the correlation between the intensity of fibrosis and deposition of C4d was positive ( $r = 0,264$ ,  $p = 0113$ ). Between the diagnosis, rejection mediated by antibodies (RMA) represented 36.7%, rejection mediated by cells (RMC) 16.7%, borderline lesions (BL) 25% and interstitial fibrosis/tubular atrophy (TF/TA) 18,3%. Comparing according to the type of diagnosis, the mean fibrosis for ARMA was 2%, ARMC 1%, CRMA 5%, BL 2.5%, TF/TA 4% and others 1% ( $H = 6.484$ ,  $p = 0.166$ ). There was positivity for IgA, IgM and C3 in groups C4d0, 1, 2 and 3, for IgG and fibrinogen in groups C4d2 and 3, and for C1q in groups C4d1, 2 and 3. C4d3 group showed a higher percentage of fibrosis, with elevated serum creatinine levels, and a positive correlation between fibrosis and intensity of C4d expression. C4d is an important marker of humoral renal graft rejection and essential to determine the diagnosis, however, it has some limitations. The co-expression of C4d with IgG and C3 could indicate the activation of the classical complement pathway. The relation between C4d, fibrosis and creatinine levels may be indicative of renal function decline and worse prognosis.

*INTRODUÇÃO*

---

## **EPIDEMIOLOGIA DA TERAPIA RENAL SUBSTITUTIVA**

A doença renal crônica tem elevada morbidade e mortalidade, e sua incidência e prevalência tem aumentado progressivamente, a cada ano, em proporções epidêmicas, no Brasil e em todo o mundo. O custo elevado para manter pacientes em tratamento renal substitutivo tem sido motivo de grande preocupação por parte de órgãos governamentais. Em janeiro de 2006 estimava-se terem sido gastos R\$ 1,9 bilhões no tratamento de pacientes em diálise crônica e com transplante renal.(Sesso e Gordan, 2007).

Segundo dados do relatório do censo brasileiro de diálise, das 684 unidades de diálise cadastradas na sociedade brasileira de nefrologia em janeiro de 2008, 327 (47,8%) responderam ao questionário informando que o número de pacientes em diálise foi de aproximadamente 87.044 que corresponde a 468 pmp (prevalência por milhão da população). Nos anos anteriores a estimativa do número de pacientes foi de 73.605 (391 pmp) em 2007, 70.872 (383 pmp) em 2006, 65.121 (361 pmp) em 2005 e 59.154 (333 pmp) em 2004. Com relação aos transplantes, em março de 2008 o número de pacientes inscritos na fila de espera era de 37.573 (Sesso *et al.*, 2008).

O diagnóstico da doença renal primária mostra que as mais frequentes foram hipertensão arterial (36%), diabetes mellitus (26%) e glomerulonefrite (15,7%) (Sesso *et al.*, 2008). Entre as glomerulopatias, a glomeruloesclerose segmentar e focal e a glomerulonefrite membrano proliferativa são as que mais frequentemente conduzem a doença renal crônica em estágio terminal. Levantamentos feitos na Universidade de São Paulo mostram que a glomeruloesclerose segmentar e focal ocorre em 43% das glomerulopatias primárias, enquanto glomerulonefrite membranosa representa 20% e membranoproliferativa 14% (Mazzarolo Cruz *et al.*, 1996). Destaque-se que, pode haver associação desta última com agentes infecciosos como *streptococcus*, vírus das hepatites B e C, *Schistosoma mansoni* e outros (Sesso e Gordan, 2007). A prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B entre pacientes em diálise crônica varia de 0 a 15% e em unidades de hemodiálise é de 16% a 82% (Cendoroglo Neto *et al.*, 1995; Vanderborght *et al.*, 1995). Entretanto, a incidência de glomerulonefrite pós-estreptocócica, uma doença mais intimamente relacionada à baixa condição social, permanece elevada, em contraste com o declínio de sua incidência observada nos países desenvolvidos (Noronha *et al.*, 1997).

## TRANSPLANTE RENAL

A partir de 1950, após décadas de procedimentos experimentais, o transplante renal começou a ser realizado com sucesso em seres humanos. A partir da introdução de drogas imunossupressoras, este procedimento passou a ser realizado em grande escala. No Brasil, iniciou-se efetivamente em 1965, na cidade de São Paulo (Ferreira *et al.*, 1993). Para a maioria dos pacientes portadores de insuficiência renal crônica, o transplante renal é a terapêutica mais eficaz, pois melhora a sobrevida e a qualidade de vida (Humar *et al.*, 2003; Pereira *et al.*, 2003). Atualmente o transplante renal representa o tratamento de escolha para a maioria dos pacientes portadores de insuficiência renal terminal. Avanços ocorridos nas últimas décadas no que se refere à imunossupressão levaram ao aumento na sobrevida de enxertos a curto e longo prazo (Cortesini, 2001).

O primeiro transplante renal no Brasil foi feito em 1964 no Rio de Janeiro e em 1965 deu-se início o primeiro Programa de Transplante Renal na Universidade de São Paulo. Quase todos os centros de transplante renal do Brasil iniciaram seus respectivos programas utilizando doadores vivos (Noronha *et al.*, 1997). Em 1968 foi feito o primeiro transplante de doador cadáver na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (Reis, 1992). Nos anos seguintes, consideráveis esforços foram feitos para desenvolver o Programa de doadores cadáveres, resultando em um grande aumento de aproximadamente 200 transplantes renais/ano em 1977, para cerca de 1.700 em 1995. Enquanto que o número de doadores vivos no mesmo período correspondeu à aproximadamente 200 transplantes renais/ano para cerca de 800, respectivamente (Noronha *et al.*, 1997).

Atualmente sabe-se que alguns fatores influenciam a sobrevida do enxerto a curto e longo prazo, como o complexo de histocompatibilidade principal (MHC), as crises de rejeição aguda, necrose tubular aguda no pós-operatório, imunossupressão inadequada, tempo de isquemia do órgão, raça, sexo, idade do doador e do receptor, incompatibilidade com o tamanho do órgão doado para as necessidades do receptor, hiperlipidemia, infecções, hipertensão arterial, tempo em diálise, dentre outros (Paul, 1995; Tullius e Tilney, 1995; Johnson *et al.*, 1999).

No caso das infecções, em especial as causadas por vírus, os que mais frequentemente acometem o transplantado renal são citomegalovírus (CMV), que tem sido associado ao vírus herpes simplex (HSV) (Anton *et al.*, 2008), e poliomavírus BK (BKV) (Egli *et al.*, 2007).

A infecção pelo CMV pode levar ao desenvolvimento de insuficiência renal aguda ou retardo de função renal do enxerto após o transplante renal. Porém, a insuficiência renal pode

ter etiologia multifatorial, decorrendo tanto de fatores isquêmicos, imunológicos ou não imunológicos como associados a nefrotoxicidade das drogas imunossupressoras (Mazzali *et al.*, 1999; Cavdar *et al.*, 2008). No que diz respeito ao risco de infecção por CMV, várias categorias de pacientes transplantados renais podem ser identificados, sendo que, o maior risco de infecção está associado com a combinação de doadores soropositivos e destinatário soronegativos para CMV (Wertheim *et al.*, 1985).

Além disso, nos últimos anos têm-se assistido a um crescente interesse no papel do HSV tipo 6 e tipo 7 como patógenos emergentes em transplantados. Após a infecção primária, estes vírus permanecem latentes no hospedeiro humano e pode reativar após o transplante. Várias evidências sugerem que o grande impacto do HSV-6 e HSV-7 nos transplantados estão relacionados a efeitos indiretos, tais como a sua associação com CMV, ao aumento de infecções oportunistas, disfunção do enxerto e rejeição (Benito *et al.*, 2003).

O BKV é um agente infeccioso encontrado na forma latente em mais de 90% da população em geral, podendo causar doenças como cistite hemorrágica, estenose de uretra, pneumonites, vasculopatia e falência múltipla dos órgãos (Hirsch e Steiger, 2003). A reativação do BKV ocorre em situações de imunossupressão, sendo uma importante causa de morbidade em pacientes transplantados renais, pois contribui para a disfunção do enxerto em 2-5% dos casos resultando em perda do enxerto em 45% dos casos (Randhawa e Demetris, 2000; Hirsch *et al.*, 2002). Apesar de a importância da soropositividade em ambos doadores e receptores ainda ser controversa, a investigação sorológica relata que a prevalência de reativação do BKV aumenta de 7,3% para 33,7% quando o rim é de doador soropositivo (Andrews *et al.*, 1988).

Com relação ao tipo de doador, um estudo que analisou a sobrevida de enxertos e receptores de 188 transplantes renais no grupo de doador vivo idêntico ocorreram 20 perdas do enxerto, sendo 6 (10,9%) causadas por óbito com rim funcionante, 6 (10,9%) devido a rejeição aguda, 6 (10,9%) devido a rejeição crônica e 2 (3,6%) por trombose arterial. No grupo de doador vivo não idêntico ocorreram 41 perdas do enxerto, sendo 19 (21,8%) causadas por óbito com rim funcionante, 11 (12,6%) devido a rejeição aguda, 8 (9,2%) devido a rejeição crônica, 1 (1,1%) por trombose arterial, 1 (1,1%) por recorrência de glomeruloesclerose segmentar e focal e 1 (1,1%) devido a síndrome hemolítico urêmica. No grupo de doador cadáver, ocorreram 30 perdas do enxerto, 16 (34,8%) causada por óbito com rim funcionante, 5 (10,9%) devido a rejeição aguda, 3 (6,5%) devido a rejeição crônica e 1 (2,2%) por trombose arterial (Peres *et al.*, 2003). Porém, a perda do enxerto por rejeição, seja aguda ou crônica, constituiu-se um grande obstáculo na sobrevida do órgão transplantado.

---

A rejeição aguda ainda é, entre outras, uma importante causa de perda de enxertos e, quando associada à disfunção inicial do enxerto, um fator de impacto negativo na sobrevida tardia (Meier-Kriesche *et al.*, 2004b). Com o advento de novos fármacos imunossupressores, os índices de rejeição aguda diminuíram significativamente, embora o impacto na meia vida dos enxertos tenha sido menos importante (Meier-Kriesche *et al.*, 2004a).

Um outro ponto a ser considerado é a quase que completa ausência de sinais e de sintomas nos atuais processos de rejeição, devido a uma potente imunossupressão, o que torna indispensável o uso de técnicas invasivas para o diagnóstico da rejeição aguda (Dias *et al.*, 2005).

Atualmente a monitorização dos enxertos renais é feita pela medida de sua função, determinando-se rotineiramente a creatinina sanguínea, cujas variações não são específicas para a rejeição. Outra forma de monitoramento é pela biópsia renal, um procedimento invasivo com potencial morbidade, caro e sujeito a erros de amostragem, uma vez que os processos inflamatórios podem ser focais e que na biópsia examina-se um fragmento renal (Dias *et al.*, 2005).

Porém, apesar de suas limitações evidentes, é o método “padrão-ouro” no diagnóstico diferencial da disfunção aguda do enxerto. Atualmente, a biópsia renal do rim transplantado é largamente utilizada na avaliação da disfunção renal aguda dos enxertos. É possível obter pequenos fragmentos do parênquima renal através de biópsia a fim de estabelecer o diagnóstico ou pelo menos excluir outros possíveis diagnósticos que apresentam quadros clínicos semelhantes, bem como estabelecer a gravidade e atividade das lesões e caracterizar lesões cicatriciais irreversíveis (Furness, 2000). A biópsia é uma contribuição relativamente recente, mas, sem dúvida, de importância relevante na avaliação das doenças renais. Sendo assim, a análise histológica e imunohistoquímica em material de biópsia renal é o método de escolha para o diagnóstico de doenças independentemente do compartimento acometido (Mattinzoli *et al.*, 2007).

Em 1991 um grupo de patologistas renais, nefrologistas e cirurgiões de transplante renal, se reuniram em uma conferência em Banff, no Canadá, para desenvolver um esquema de padronização internacional da nomenclatura e critérios para o diagnóstico histológico das doenças do enxerto renal (Solez *et al.*, 1993). Essa conferência é realizada a cada dois anos e sua última atualização foi em 2007 (Solez *et al.*, 2008).

## REJEIÇÃO

### *AGUDA E SUBCLÍNICA*

A rejeição aguda caracteriza-se pela rápida diminuição da função do enxerto atacado pelo sistema imune do hospedeiro, sensibilizado contra antígenos do doador. O processo de rejeição inicia-se pelo reconhecimento dos antígenos de histocompatibilidade (aloantígenos) do doador pelos linfócitos T do receptor (Walsh *et al.*, 2004). O reconhecimento ocorre em algum órgão linfóide secundário, onde células apresentadoras de antígenos estimulam e ativam linfócitos T, que entram em expansão clonal e migram para o enxerto onde irão exercer sua função efetora. Após a estimulação dos linfócitos pela interação receptor da célula T/complexo de histocompatibilidade principal e moléculas de adesão/co-estimulação, os complexos receptor da célula T/CD3 e CD4 ou CD8 tornam-se fisicamente associados e ativam várias enzimas intracelulares denominadas tirosino-quinases, que elevam a concentração de cálcio intracelular e ativam várias proteínas citoplasmáticas regulatórias (os fatores de transcrição). Entre esses fatores de transcrição destacam-se NF- $\kappa$ B, Oct-1 e NFAT (*nuclear factor of activated T cells*), que se liga a regiões regulatórias dos genes de várias citocinas como a IL-2, IL-4, interferon- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . A ativação da imunidade celular, seguida de resposta do tipo hipersensibilidade tardia com a ativação de macrófagos/monócitos e linfócitos citotóxicos parece ser o mecanismo final de agressão celular ao enxerto. Os linfócitos T CD8<sup>+</sup> ou citotóxicos são responsáveis pelo reconhecimento e destruição das células alvo. Os mediadores citolíticos descritos são a perforina e as granzimas, que ficam estocadas no citoplasma desses linfócitos, em grânulos semelhantes a lisossomos e, quando as células são ativadas, migram para a membrana citoplasmática, fundem-se a ela e libera os grânulos na direção da célula alvo. Em decorrência do ataque citolítico, a célula alvo pode morrer por necrose ou apoptose. Outra via de ataque citotóxico utilizada pelas células T CD8<sup>+</sup> é a indução de morte celular via interação Fas/Fas ligante, que leva a apoptose das células alvo (Suthanthiran e Strom, 1994). A ativação de linfócitos B também está presente na rejeição aguda. Quando, predominantemente, ela está associada a acometimento vascular, como vasculite e a depósitos de imunoglobulinas ou ativação da cascata do complemento como o depósito de C4d, caracterizando a rejeição humoral que tem prognóstico mais reservado (Dias *et al.*, 2005).

Portanto, a rejeição aguda do enxerto envolve uma resposta imunológica celular ou humoral. Para determinar o diagnóstico, deve-se analisar a evolução histológica da biópsia do

---

enxerto, que na rejeição celular caracteriza-se morfológicamente pela presença de células mononucleares nos compartimentos intersticial, túbular e glomerular (Trpkov *et al.*, 1996; Colvin *et al.*, 1997; Mauiyyedi *et al.*, 2002) e na rejeição humoral pelo depósito de C4d em capilares peritubulares (Feucht *et al.*, 1991; Feucht *et al.*, 1993; Collins *et al.*, 1999).

A apresentação clínica da rejeição aguda depende substancialmente da imunossupressão a qual o paciente está submetido, ou seja, regimes imunossupressores mais potentes, em geral, não se acompanham dos sinais e sintomas característicos, tais como dor e aumento do volume do enxerto, febre e diminuição da diurese. Assim, o diagnóstico da rejeição aguda baseia-se no quadro clínico, em exames laboratoriais e de imagem, mas fundamentalmente na demonstração do processo inflamatório agressivo intra-enxerto feito através de análise histopatológica ou citopatológica em fragmentos de biópsia renal ou citologia aspirativa, respectivamente (Rush *et al.*, 1995a).

Sendo assim, a rejeição aguda é uma das principais ameaças para o rim transplantado nas fases mais iniciais pós-transplante, e grandes esforços têm sido empregados na busca de conhecimentos sobre os aspectos imunológicos envolvidos, no desenvolvimento de novos métodos diagnósticos e de estratégias terapêuticas para se evitar a perda precoce do enxerto. Um desses avanços foi a descoberta do C4d (Zwirner *et al.*, 1989).

Já rejeição subclínica é observada em biópsias de transplantados renais estáveis, sem evidências clínicas ou laboratoriais de agressão (Seron *et al.*, 1991; Rush *et al.*, 1995b; Veronese *et al.*, 1999). Um estudo mostrou que a rejeição subclínica tem maior incidência nos 3 primeiros meses pós-transplante e uma influência negativa na evolução para a nefropatia crônica do enxerto (Nankivell *et al.*, 2004).

## **CRÔNICA**

A inabilidade de distinguir através de características histológicas as diferentes causas que podem levar a rejeição crônica é refletido na literatura pelo termo não específico “nefropatia crônica do enxerto”, o qual era usado para englobar o resultado final da lesão crônica resultado de uma reação imunológica a aloantígenos do doador bem como de um mecanismo não imunológico (Azuma e Tilney, 1995; Racusen *et al.*, 1999).

A nefropatia crônica do enxerto é a principal causa de perda tardia de rins transplantados. Sua etiopatogênese envolve mecanismos imunológicos e não imunológicos (Tilney *et al.*, 1991; Tullius e Tilney, 1995). Os fatores de risco com bases imunológicas, associadas ao desenvolvimento da nefropatia crônica do enxerto são a rejeição aguda, a rejeição subclínica,



---

o mau pareamento com o doador nos antígenos do sistema MHC, a sensibilização prévia aos antígenos do doador e a imunossupressão insuficiente (Hunsicker e Held, 1992; Cosio *et al.*, 1997). Em especial a rejeição mediada por anticorpos, recebeu um novo suporte diagnóstico na classificação de Banff 07 que trás uma nova perspectiva ao utilizar o C4d como importante marcador (Solez *et al.*, 2007).

A rejeição crônica é clinicamente definida como uma perda progressiva da função renal com hipertensão e proteinúria por mais de 3 meses após o transplante. É a principal causa de disfunção tardia do enxerto, com incidência geral de 25% quando todos os enxertos renais, funcionante ou não funcionante, são considerados. A rejeição crônica representa na falência renal entre 50% a 80% dos casos que retornam para diálise após o transplante. O diagnóstico morfológico pode ser difícil (Hostetter, 1994).

Histopatologicamente, a rejeição crônica caracteriza-se por persistente processo inflamatório perivascular, com baixos níveis de ativação linfocitária, arteriosclerose (Hayry e Mennander, 1992), adelgaçamento da camada média vascular, espessamento concêntrico da íntima com infiltrados de células mononucleares e que pode levar a obliteração vascular, duplicação da membrana basal glomerular e glomerulosclerose (Foegh, 1988). A lesão arterial afeta preferencialmente os grandes vasos, como a artéria arciforme, que nem sempre é amostrada no fragmento biopsiado. A glomerulopatia pode ser discreta ou focal e por si só não ser patognomônica da rejeição crônica, por que também pode ser semelhante aquela vista na microangiopatia trombótica e em certas doenças de complexo imune crônicas. Fibrose intersticial e atrofia tubular são similarmente achados não específicos que são compatíveis com uma variedade de causas, incluindo lesão isquêmica anterior, hipertensão e toxicidade crônica pela ciclosporina (Azuma e Tilney, 1995; Racusen *et al.*, 1999). Essa fibrose intersticial é caracterizada por um acúmulo de tecido conjuntivo, que inclui colágenos tipo I e III, fibronectina e vários proteoglicanos, levando a uma desorganização na arquitetura do rim (Muller *et al.*, 1996). O aparecimento dessa fibrose é uma seqüela de inflamação ou lesão, onde fatores humorais são liberados por células infiltrantes ou residentes que estimulam o parênquima renal a aumentar a produção de componentes da matriz extracelular, como o colágeno (Okada *et al.*, 1996), sendo a intensidade de fibrose intersticial o processo mais fortemente relacionado com a deterioração da função do enxerto (Sund *et al.*, 1999).

Especificamente na rejeição crônica do enxerto mediada por células ocorre ativação de células T, arteriopatia crônica do enxerto, fibrose intersticial e atrofia tubular, sem evidência de alguma etiologia específica (Solez *et al.*, 2007).

Já os critérios morfológicos utilizados para identificação de rejeição mediada por anticorpo incluem glomerulopatias (duplicação ou duplo contorno em membranas basais glomerulares), lamelação de membrana basal de capilar peritubular, fibrose intersticial e atrofia tubular com ou sem perda de capilares peritubulares, espessamento fibroso da camada íntima das artérias, sem duplicação da camada elástica. Outras características são depósitos difusos de C4d em capilares peritubulares e a presença de anticorpos específicos anti-doador (Solez *et al.*, 2007).

### **COMPLEMENTO - C4d**

O C4d é um produto da degradação do componente C4 da via clássica do complemento e permanece no local da ativação ligado covalentemente ao tecido (Chakravarti *et al.*, 1987; Zwirner *et al.*, 1989; Feucht *et al.*, 1991) na interface entre endotélio e membrana basal (Mauyyedi *et al.*, 2001). A deposição de C4d em capilar peritubular tem sido descrita em enxerto renal e isso representa a resposta imune humoral contra o rim transplantado (Feucht *et al.*, 1993; Collins *et al.*, 1999; Herzenberg *et al.*, 2002), indicando o C4d como o principal mediador junto aos anticorpos (Frank, 1987; Frank e Fries, 1991).

A via clássica do sistema complemento é ativada por mudanças conformacionais nas moléculas de imunoglobulinas após a ligação específica com o antígeno (Campbell *et al.*, 1981; Ziccardi, 1981; Chakravarti *et al.*, 1987; Lim, 1990). O C1 se liga à região Fc da molécula do anticorpo originando um agregado antígeno-anticorpo que resulta na formação de uma proteinase ativa e do subcomponente C1s, o qual ativa tanto C4 quanto C2 (Porter e Reid, 1979; Campbell *et al.*, 1981; Reid e Porter, 1981). O C4 é uma glicoproteína de aproximadamente 200.000 mol wt., é composto de 3 cadeias polipeptídicas ligadas por pontes dissulfeto, uma cadeia  $\alpha$  de 93.000 mol wt., uma cadeia  $\beta$  de 75.000 mol wt. e uma cadeia  $\gamma$  de 33.000 mol wt. (Schreiber e Muller-Eberhard, 1974). A ligação do C4 à porção C1q resulta na sua ativação e clivagem em um peptídeo de 8.000 mol wt., o C4a, de cadeia  $\alpha$  N-terminal. O restante da cadeia  $\alpha$  forma um grupo reativo que leva a geração do C4b, o qual vai se ligar covalentemente com as moléculas próximas contendo grupos amino ou hidroxil, proteínas ou carboidratos como a região Fd da cadeia pesada de IgG (Campbell *et al.*, 1980; Campbell *et al.*, 1981; Harrison *et al.*, 1981) ou a estruturas da superfície da membrana de eritrócitos (Law *et al.*, 1980). O C4b, pode permanecer ligado ou na fase fluída, podendo ainda ser degradado por proteínas inativadoras de controle específico (C3bINA) e formar os fragmentos C4c, de 150.000 mol wt., e C4d, de 44.500 mol wt. (Press e Gagnon, 1981). O C4d contém sítios tio-

éster e se mantém covalentemente ligado ao mesmo sítio (Campbell *et al.*, 1981; Harrison *et al.*, 1981).

Assim, se o C4d é fixado a uma estrutura protéica e é potencialmente um marcador durável da resposta imune humoral desencadeado pela ativação do sistema complemento local através da via clássica. Dessa forma, o depósito de C4d nos capilares peritubulares em enxertos renais é útil como um marcador no diagnóstico de rejeição humoral (Feucht *et al.*, 1991; Feucht *et al.*, 1993; Collins *et al.*, 1999).

### **C4d e REJEIÇÃO**

A produção de anticorpos pós-transplante direcionados a antígenos HLA do doador é uma indicação de resposta imune ativa, que corresponde a risco de perda do enxerto. De fato, existem inúmeros estudos relacionando a presença de anticorpos pós-transplante com rejeição grave e perda do enxerto (Terasaki, 2003; Moll e Pascual, 2005). Já que anticorpos anti-HLA pós-transplante são mais freqüentes na rejeição aguda que em pacientes estáveis (Scornik *et al.*, 1989; Supon *et al.*, 2001) e eles estão associados com a deposição de C4d em biópsias (Crespo *et al.*, 2001; Koo *et al.*, 2004).

Foi identificada a associação de depósitos de C4d no endotélio-capilar de casos de rejeição crônica concomitantemente a circulação de anticorpos anti-doador, com a presença de C4d de 34% a 61% dos casos de rejeição crônica (Feucht *et al.*, 1993; Mauiyyedi *et al.*, 2001; Regele *et al.*, 2002), comparado a 2% no grupo controle (toxicidade crônica pela ciclosporina ou fibrose intersticial não específica). Entretanto, há um estudo que relata que não existe associação entre glomerulopatia crônica do enxerto e marcação positiva para C4d (Lederer *et al.*, 2001). Estudos preliminares identificaram que 40% dos pacientes C4d positivos (C4d+) tiveram perda do enxerto um ano após o transplante, comparado a 10% no controle C4d negativo (C4d-) (Feucht *et al.*, 1993).

As características histológicas entre os casos de rejeição crônica C4d+ é similar aos casos negativos, e a média de sobrevivência após 1 ano de transplante é de 62% os casos de C4d+ e de 25% nos casos negativos (Mauiyyedi *et al.*, 2001). A detecção da deposição de C4d em um enxerto é útil para diagnosticar lesão renal induzida pela resposta de anticorpos pré-formados ou *de novo*. Isso é associado a rejeição aguda e crônica (Feucht *et al.*, 1993; Collins *et al.*, 1999; Herzenberg *et al.*, 2002).

Em biópsias renais de transplantados, a marcação do C4d em capilares peritubulares é descrita como um marcador da rejeição aguda humoral (Collins *et al.*, 1999; Bohmig *et al.*,

2002; Regele *et al.*, 2002). Entretanto, o significado do C4d+ é controverso em pacientes com rejeição crônica, sendo relatada positividade em alguns casos relacionados com menor sobrevida do enxerto, porém, sem diferenças no aspecto morfológico entre grupos C4d+ e C4d- negativo com rejeição crônica (Regele *et al.*, 2002). Além disso, a marcação do C4d está presente em outras condições da disfunção crônica do enxerto, e sugere-se que essa marcação em um contexto de fibrose tubulo-intersticial crônica implicaria em um episódio de rejeição aguda/ativa ao invés de um marcador da rejeição crônica (Nickeleit *et al.*, 2002; Nickeleit e Mihatsch, 2003). Por outro lado, as lesões crônicas do enxerto podem ser mediadas por vários processos, tanto imunológicos quanto não-imunológicos, como a toxicidade por drogas, hipertensão e doenças recorrentes (Paul, 1999; Kreis e Ponticelli, 2001). Essa incerteza em relação aos mecanismos patológicos da disfunção crônica do enxerto é o maior obstáculo ao desenvolvimento de terapêuticas mais eficazes.

Todavia, a glomerulopatia crônica do transplante e alterações morfológicas distintas em artérias e capilares tem sido citadas como sinais de danos imunológicos crônicos (Paul, 1999; Racusen *et al.*, 1999; Mauiyyedi *et al.*, 2001). O C4d pode ser usado para separar os casos de rejeição crônica dos casos inespecíficos de nefropatia crônica do enxerto (Mauiyyedi *et al.*, 2001).

### **C4d, OUTRAS PARTICULAS DO COMPLEMENTO e IMUNOGLOBULINAS**

Além da presença de C4d nos enxertos, encontra-se também o C3 que é o componente mais abundante do sistema complemento (Erdei *et al.*, 1991; Walport, 2001). O C3 desempenha um papel patofisiológico importante, pois se situa em um ponto de convergência dos três tipos de ativação do sistema complemento e apresenta função regulatória nas respostas imunes mediadas por células T. Estudos que analisaram a resposta de células T anti-doador em ratos transplantados renais C3 negativo, mostram uma redução dessa resposta quando comparada com ratos C3 positivos.

O parênquima renal é capaz de inibir a ativação do sistema complemento através da secreção local de alguns componentes. Além disso, o parênquima renal também expressa proteínas regulatórias do complemento (CD46 e CD55) que promovem a proteólise do C3 ativado. Outra proteína controle é a CD59 que bloqueia a formação do complexo de ataque a membrana. Entretanto, a fraca expressão do CD55 nos túbulos é uma das razões do rim ser vulnerável ao ataque do complemento (Cosio *et al.*, 1989). Um trabalho usando anticorpo específico para C3 do doador identificou o túbulo proximal como principal local de depósito

de C3 em enxertos (Andrews *et al.*, 1995). Porém, a forma como a produção de C3 influencia na resposta das células T contra o enxerto ainda não está totalmente esclarecida (Pratt *et al.*, 2002).

Depósitos de IgA também são freqüentes em enxertos renais, uma vez que cerca de 13 a 60% dos pacientes com nefropatia por IgA que precisaram de transplante renal, apresentam uma nefropatia por IgA recorrente e cerca de 20 a 35% dos pacientes com IgA pós-transplante progridem para uma falência do enxerto (Bachman *et al.*, 1986; Wang *et al.*, 2001; Julian e Novak, 2004).

O evento inicial na nefropatia IgA é o depósito mesangial de IgA. Recentemente, tem sido demonstrado que quantidades variáveis de moléculas de IgA glicosiladas aberrantes estão presentes no depósito imune de pacientes com nefropatia IgA (Giannakakis *et al.*, 2007). Esses depósitos induzem a ativação de células mesangiais (Van Den Dobbelen *et al.*, 1994; Duque *et al.*, 1997; Lai *et al.*, 2003; Roos *et al.*, 2006) e ativação local do complemento (Bogers *et al.*, 1991; Roos *et al.*, 2006). A contribuição dessa síntese e ativação do complemento *in situ* para progressão da lesão glomerular é desconhecida (Miyazaki *et al.*, 1984; Wyatt *et al.*, 1987). O sistema complemento pode ser ativado por três vias: a via clássica, a via alternativa e a via das lecitinas (Espinosa *et al.*, 2009). Um estudo mostrou que pacientes com nefropatia IgA pode ser dividido em dois grupos com base no padrão de ativação do complemento. Em pacientes com marcação negativa para lecitina ligada a amannose, L-ficolina, e C4d ligado a proteína, a ativação do complemento ocorre pela via alternativa. Quando essa marcação é positiva, a ativação do complemento ocorre pela via das lecitinas. A deposição mesangial de C4d é um bom marcador para estudar qual foi a via de ativação do complemento nos pacientes com nefropatia IgA (Roos *et al.*, 2006; Espinosa *et al.*, 2009). A marcação negativa para C4d em glomérulos de pacientes com nefropatia IgA ajuda a identificar pacientes com um melhor prognóstico a longo prazo, para os quais um tratamento mais agressivo não se justifica (Espinosa *et al.*, 2009).

A deposição mesangial de C4d identifica pacientes com via de ativação de complemento diferente (Roos *et al.*, 2006). Em pacientes com marcação negativa para C4d, a ativação do complemento provavelmente ocorre pela via alternativa. Por outro lado, em pacientes com marcação para C4d positiva, a ativação do complemento ocorre pela via das lecitinas ou clássica. A ausência de C1q em pacientes com nefropatia IgA torna muito improvável que a via clássica do complemento tenha algum papel na patogênese da nefropatia IgA. Essa diferente via de ativação do complemento poderia estar associado com um diferente prognóstico a longo prazo (Espinosa *et al.*, 2009).

---

Um estudo mostrou que 73,3% dos pacientes com nefropatia IgA e positivos para C4d foram positivos para C3, 11,7% para IgG, e zero para IgM e C1q. Já nos casos C4d negativos foi 65,7% para C3, 23,7% para IgG, 2,6% para IgM e zero para C1q (Espinosa *et al.*, 2009).

É descrito que em casos de nefrite lúpica a intensidade dos depósitos de C4d nas alças capilares de glomérulos tem correlação com depósitos capilares de IgG, IgA, C4, C1q e fibrinogênio (Kim e Jeong, 2003).

A presença da imunoglobulina G também está relacionada com a positividade do C4d e essa co-expressão, juntamente com o C1q, sugere uma ativação da via clássica do complemento (Ziccardi, 1981).

### **C4d e IMUNOSSUPRESSORES**

Na tentativa de evitar o desenvolvimento de processos lesivos e melhorar a sobrevida do enxerto, são utilizados tratamentos com drogas imunossupressoras. Estudos realizados com a ciclosporina mostrou que essa droga é eficiente na sobrevivência de enxerto em curto prazo, mas ineficiente a longo prazo (Afzali *et al.*, 2005). Outro trabalho mostrou que a sobrevivência do enxerto tende a ser menor no grupo da ciclosporina (64% X 76.5% de azatioprina), com um risco relativamente maior de desenvolver uma nefropatia crônica do enxerto (Bakker *et al.*, 2003). Algumas pesquisas mostraram que se deve substituir a azatioprina por micofenolato mofetil, pois este tem um maior efeito protetor prevenindo a fibrose intersticial de forma direta ou por via imunológica (Morales, 2005). Além disso, relatos mostram que combinação de tacrolimus (FK506) e micofenolato mofetil é eficiente na reversão do quadro de C4d positivo na rejeição humoral aguda (Liu *et al.*, 2004).

Em enxertos renais com rejeição crônica C4d positivos 5 de 6 casos que foram tratados com micofenolato mofetil-tacrolimus tiveram 100% de sobrevivência após um ano de transplante. O C4d pode ser um potencial guia para o sucesso da intervenção terapêutica (Mauyyedi *et al.*, 2001).

### **C4d E DIAGNÓSTICO**

Portanto, a detecção de C4d oferece um novo instrumento na avaliação de biópsias renais de pacientes transplantados. Dessa forma, torna-se importante a avaliação do C4d em biópsias renais de pacientes transplantados, para podermos chegar a um diagnóstico mais específico, direcionando o tratamento para melhor prognóstico do paciente.

---

## **HIPÓTESE**

O C4d é marcador para a rejeição humoral, portanto, os casos suspeitos serão confirmados, podendo encontrar novos casos, sem suspeita morfológica.

## **OBJETIVO GERAL**

Caracterizar clínico e epidemiologicamente os pacientes transplantados renais do Serviço de Nefropatologia da Disciplina de Patologia Geral, Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), bem como, analisar suas biópsias morfológicamente e por imunohistoquímica e classificar o diagnóstico de acordo com Banff 07.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- I. Determinar as características clínicoepidemiológicas dos pacientes como: idade, gênero, cor, cidade de procedência, tempo desde o transplante até a biópsia, tipo de doador - vivo ou cadáver, relacionado ou não - medicação imunossupressora utilizada, doenças do rim nativo, níveis de uréia e creatinina;
- II. Detectar a deposição de C4d em capilar peritubular de biópsias renais;
- III. Determinar a quantidade de C4d depositado através de método semiquantitativo, de acordo com Banff 07: C4d0, C4d1, C4d2, C4d3;
- IV. Classificar o diagnóstico das biópsias renais de acordo com Banff 07;
- V. Relacionar a quantidade de C4d depositado nos capilares peritubulares com a medicação imunossupressora utilizada;
- VI. Relacionar a quantidade de C4d depositado nos capilares peritubulares com o tipo de doador;
- VII. Correlacionar os valores de uréia e creatinina com os níveis de deposição do C4d (C4d0, C4d1, C4d2, C4d3);
- VIII. Relacionar o C4d com a positividade e o local de deposição na imunofluorescência para IgA, IgG, IgM, C3 e C1q, kappa, lambda e fibrinogênio;

- IX. Quantificar a fibrose intersticial renal;
- X. Comparar a intensidade da fibrose entre os gêneros masculino e feminino e entre brancos e não brancos;
- XI. Correlacionar a intensidade da fibrose com a idade dos pacientes;
- XII. Comparar a intensidade da fibrose com os níveis de C4d (C4d0, C4d1, C4d2, C4d3);
- XIII. Correlacionar os valores de uréia e creatinina com a intensidade de fibrose;
- XIV. Comparar a intensidade da fibrose entre os diagnósticos, de acordo com Banff 07.



## *MATERIAIS E MÉTODOS*

### **1. MATERIAIS**

Foram utilizadas biópsias renais, de pacientes transplantados, realizadas pelo Serviço de Nefropatologia, da Disciplina de Patologia Geral, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Minas Gerais, no período 1996 à 2007. Foi confeccionada uma planilha eletrônica (anexo) com informações contidas nos laudos das biópsias relativas aos

---

dados clínicos (doenças diagnosticadas, medicação em uso no período em que foi realizada a biópsia), laboratoriais (uréia e creatinina), epidemiológicos (idade, gênero, cor e procedência).

## **2. MÉTODOS**

### **2.1. Exame anatomopatológico**

O exame anatomopatológico foi composto da avaliação macroscópica, microscopia de luz (histoquímica e imunohistoquímica) e eletrônica de transmissão. As análises das alterações foram feitas de acordo com o compartimento em que se encontrava a lesão: 1) glomérulos (membrana basal, células e matriz mesangial), 2) túbulos, 3) interstício e 4) vasos, levando-se em consideração as áreas atingidas pela biópsia (córtex e medular) e o número de glomérulos apropriados para estudo.

Foram anotadas informações relativas às características e ao número de fragmentos e tipos de fixadores usados (bouin, metarcarn ou formaldeído para a microscopia de luz, soro fisiológico ou líquido de transporte para a imunofluorescência e glutaraldeído para a microscopia eletrônica). O processamento do material foi realizado no laboratório de Histopatologia e Imunohistoquímica da Disciplina de Patologia Geral da UFTM.

#### **2.1.1 Confeção das lâminas para Microscopia de luz**

A amostra proveniente do frasco de Bouin foi deixado no mínimo por seis horas fixando na geladeira, contando a partir do horário da biópsia. As biópsias provenientes de outras cidades coletadas no dia anterior foram processadas imediatamente ao chegar ao laboratório. O fragmento foi desidratado em uma seqüência de alcóois (70%, 80%, 90%, 95%) e diafanizado em xilol (I, II e III).

Após esse processamento, o fragmento foi incluído em parafina e o bloco foi submetido a cortes seriados de 2µm de espessura. Após a confecção as lâminas foram colocadas na estufa por 30 minutos. A seguir foram realizadas as colorações de hematoxilina e eosina (HE), picro-sírius (PS), prata metenamina (PAMS) e tricrômico de masson azul (TMA).

#### **2.1.2 Colorações**

Para as colorações as lâminas foram desparafinizadas em xilol e hidratadas em álcoois decrescentes (absoluto, 90%, 80% e 70%) até água destilada.

Para a coloração com HE as lâminas foram colocadas em hematoxilina de Harris por 5 minutos e diferenciadas em água. As lâminas foram passadas rapidamente em álcool ácido, lavadas em água, passadas em água amoniacal por três vezes e novamente lavadas em água. Posteriormente, foram passadas uma vez em álcool 95%, colocadas em eosina por 1 minuto e novamente passadas em álcool 95%.

Para a coloração com PS as lâminas foram colocadas em solução de PS por 45 minutos, lavadas rapidamente em água destilada e contracoradas por 3 minutos na hematoxilina de Harris. A seguir as lâminas foram lavadas rapidamente em água e secadas ao ar livre.

Para a coloração com PAMS as lâminas foram oxidadas em solução de ácido periódico a 1% por 15 minutos, lavadas em água destilada por 5 minutos. Foram colocadas em solução de ácido crômico a 5% por 5 minutos e lavadas em água destilada. Após, foram colocadas em solução de metabissulfito de sódio a 1% por 5 minutos e lavadas em água destilada de 5 a 10 minutos. As lâminas foram colocadas em solução de prata metenamina por cerca de 40 minutos e lavadas rapidamente em água destilada. A seguir as lâminas foram colocadas no cloreto de ouro a 0,1% por 2 a 3 minutos, lavadas rapidamente em água destilada e colocadas em tiosulfato de Sódio por 3 minutos.

Para a coloração de TMA as lâminas foram colocadas em hematoxilina férrica por 5 minutos, lavadas em água corrente, colocadas em solução de fucsina ácida com escarlata de biebrich por 15 minutos e lavadas em água. Após, as lâminas foram colocadas em solução aquosa de ácido fosfotungstico e fosfonolibídico por 15 minutos, lavadas em água corrente, colocadas em solução aquosa de ácido fosfotungstico e fosfonolibídico por 15 minutos. A seguir foi colocado o azul de anilina acética por 10 minutos e as lâminas foram lavadas em água corrente.

Ao final de todas as colorações as lâminas foram desidratadas em álcool absoluto (I, II e III), diafanizadas em xilol (I, II e III) e montadas com uma gota de entelan e lamínula.

### **2.1.3 Preparação do material para microscopia eletrônica de transmissão**

Os fragmentos fixados em gluteraldeído e pós-fixados em tetróxido de ósmio foram processados para inclusão em resina e submetidos a cortes semifinos de 0,5 µm de espessura e corados pelo azul de toluidina. Após análise desses cortes em microscópio de luz foram feitos

cortes ultrafinos com espessura de 50 a 70 nm contrastados com uranila e citrato de chumbo e examinado em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM-900.

#### **2.1.4 Imunohistoquímica**

##### **2.1.4.1 Imunofluorescência para IgA, IgG, IgM, C3, C1q, kappa, Lambda e fibrinogênio**

Foram pesquisadas as cadeias pesadas de imunoglobulina IgA, IgG, IgM, cadeias leves, kappa e Lambda, partículas do complemento C3 e C1q, fibrinogênio através de técnica de imunofluorescência direta.

A amostra em líquido de transporte, referentes à biópsias provenientes de outras cidades, foram lavadas em PBS no agitador, por três vezes durante 5 minutos cada e congeladas em nitrogênio líquido. Os fragmentos em soro fisiológico, referentes à biópsias provenientes de Uberaba, foram apenas congelados. Posteriormente, os fragmentos foram cortados no crisostato na espessura de 3 µm. As lâminas foram colocadas em câmara úmida e os cortes foram hidratados com PBS. Uma lâmina foi utilizada para coloração de HE e a outra foi o controle negativo (incubado apenas com PBS). Nas outras lâminas foi colocado 25µl de anticorpo *FITC-conjugated* da DAKO: anti-IgA (*Rabbit anti-human IgA specific for alpha-chains*, Code F204, 1:5), anti-IgG (*Rabbit anti-human IgG specific for gamma-chains*, Code F202, 1:20), anti-IgM (*Rabbit anti-human IgM specific for Mu-chains*, Code F203, 1:5), anti-C3 (*Rabbit anti-human C3c complement*, Code F201, 1:10), anti-C1q (*Rabbit anti-human C1q complement*, Code F254, 1:5), anti-Kappa (*Rabbit anti-human Kappa light chains*, Code F198, 1:5), anti-Lambda (*Rabbit anti-human Lambda light chains*, Code F199, 1:5), anti-fibrinogênio (*Rabbit anti-human fibrinogen*, Code F111, 1:5). Após a adição do anticorpo as lâminas foram incubadas em câmara escura e úmida por 30 minutos à temperatura ambiente. Após este tempo, foi retirado o excesso de anticorpo e as lâminas foram lavadas com PBS. Posteriormente, as lâminas foram secadas e montadas com lamínula e uma gota de glicerina tamponada.

Essas lâminas foram visualizadas em microscópio de luz ultravioleta para fluorescência e analisadas segundo sua positividade, o local e o padrão do depósito.

##### **2.1.4.2 Imunoperoxidase para C4d**

Na imunohistoquímica para detecção de C4d foi utilizada uma lâmina reserva proveniente do material parafinado. As lâminas foram desparafinizadas em xilol por 20 minutos e hidratadas em alcóois decrescentes (absoluto, 90%, 80% e 70%) até água destilada. Após, foram incubadas em câmara úmida e escura com peróxido de hidrogênio 3% para bloqueio da peroxidase endógena por 20 minutos à temperatura ambiente. As lâminas foram lavadas com PBS e colocadas em uma cuba contendo solução de recuperação antigênica (*Target Retrieval Solution* DAKO). A cuba foi colocada em uma panela à vapor a 100°C por 40 minutos. Após, as lâminas foram retiradas da cuba, lavadas com PBS e incubadas em câmara úmida e escura com uma gota de bloqueador de proteínas (*Protein Block Serum-free* DAKO) por 30 minutos. Posteriormente, foi retirado o excesso de bloqueador e as lâminas foram incubadas em câmara úmida e escura com anticorpo primário anti-C4d (1:600, ALPCO) a 4°C *over night*. As lâminas foram lavadas em PBS e incubadas na mesma câmara com o link (*Kit Advance HPR Detection System* DAKO) por 30 minutos à temperatura ambiente, depois foram lavadas em PBS e incubadas com a enzima (*Kit Advance HPR Detection System* DAKO) por 30 minutos. Após, foram lavadas com PBS e incubadas com o cromógeno diamino benzidina por 5 minutos. Posteriormente, foram lavadas com PBS e colocadas em água destilada por 10 minutos. As lâminas foram contracoradas com hematoxilina de Harris por 30 segundos e lavadas em água corrente por 5 minutos. Após, as lâminas foram desidratadas em uma seqüência de alcóois (70%, 80%, 90%, 95%), diafanizadas em xilol (I, II e III) e montadas com uma gota de entelan e lamínula.

Essas lâminas foram visualizadas em microscópio de luz comum e analisadas segundo a classificação de Banff 07 (Solez *et al.*, 2008). De acordo com a porcentagem de área marcada nos capilares peritubulares, consideramos C4d0 negativo quando foi 0% (significado e interpretação: negativo), C4d1 mínimo de 1<10% (significado e interpretação: desconhecido), C4d2 focal de 10-50% (significado e interpretação: possível positivo), C4d3 difuso >50% (significado e interpretação: positivo).

Além disso, agrupamos os resultados em C4d positivo (C4d+) e C4d negativo (C4d-). O grupo C4d- foi considerado aqueles que apresentavam classificação C4d0 ou C4d1. O grupo C4d+ foi considerado aqueles que apresentavam classificação C4d2 com lesões características de RMA ou C4d3.

## 2.2 Morfometria

Foram selecionados para análise morfométrica as lâminas com fragmentos de rim que apresentavam córtex e que foram corados pelo PS. As imagens foram capturadas utilizando-se uma câmara de vídeo acoplada a um microscópio com luz polarizada e objetiva de 40x, que envia as imagens a um sistema analisador (KS 300 Carl Zeiss). As imagens capturadas foram visualizadas em um monitor e gravadas para análise morfométrica no programa ImageJ. Essas imagens mostravam áreas de colágeno no compartimento intersticial, birrefringente, com cor amarelo-avermelhado a qual foi marcada pelo observador obtendo-se o percentual de fibrose por área do campo analisado. Foram capturados e analisados todos os campos do córtex de cada lâmina, exceto as áreas com glomérulos, adventícia de vasos e região subcapsular.

### **2.3. Diagnóstico de acordo com a classificação de Banff**

Foi registrado, do laudo da biópsia, o diagnóstico que havia sido classificado de acordo com Banff 97 (Racusen *et al.*, 1999). De acordo com os resultados da imunohistoquímica para C4d e as características anatomopatológicas foram feitas atualizações da classificação segundo Banff 07 (Solez *et al.*, 2008). Sendo assim, C4d0 foi considerado negativo para rejeição humoral, C4d1 de significado desconhecido na técnica de imunohistoquímica em material parafinado, que foi o que utilizamos, e negativo na imunofluorescência, o C4d2 como um possível positivo e o C4d3 como positivo. Para determinar se os casos de C4d2 eram positivos, observamos se havia alguma lesão morfológica que Banff classifica como lesão mediada por anticorpo como necrose tubular aguda com inflamação mínima, capilarite peritubular (PTC>0) ou glomerulite (G>0). Dessa forma, formou-se um grupo que apresentava C4d2 com lesões inespecíficas como fibrose intersticial, atrofia tubular, espessamento fibroso da camada íntima de artérias, e que não foi classificado como rejeição mediada por anticorpo.

De acordo com a classificação de Banff 97 seguimos os escores que foram mantidos na classificação atual para lesões não específicas de rejeição.

O escore para tubulite (T) é dividido em ausência de células mononucleares entre a membrana basal e o epitélio dos túbulos (T0), foco com 1 a 4 células por corte transversal do túbulo ou por 10 células tubulares (T1), foco com 5 a 10 células (T2), foco com >10 células ou presença de no mínimo dois locais de destruição da membrana basal tubular acompanhado por inflamação moderada-grave (I2/I3) e tubulite moderada (T2) em outros locais da biópsia (T3).

Os critérios quantitativos para arterite intimal (V) foram divididos em sem arterite (V0), arterite intimal discreta a moderada com diminuição da luz vascular <25% (V1), arterite intimal acentuada com diminuição da luz vascular >25% (V2), arterite transmural e/ou lesão fibrinóide e necrose da camada média de músculo liso com infiltrado linfocítico no vaso (V3).

Para inflamação no compartimento intersticial (i) com células mononucleares na área cortical o escore é formado por ausência ou discreta inflamação intersticial <10% do parênquima não cicatrizado (I0), 10-25% do parênquima inflamado (I1), 26-50% do parênquima inflamado (I2), >50% do parênquima inflamado (I3).

O escore para glomerulite (G) é sem glomerulite (G0), glomerulite em <20% dos glomérulos (G1), glomerulite segmentar ou global em 25-75% dos glomérulos (G2), glomerulite (predominantemente global) em >75% dos glomérulos (G3).

Os critérios quantitativos para fibrose intersticial (CI) foram divididos em ausente para fibrose intersticial em até 5% da área de córtex (CI0), fibrose intersticial discreta de 6-25% da área de córtex (CI1), fibrose intersticial moderada de 26-50% da área de córtex (CI2), fibrose intersticial acentuada >50% da área de córtex (CI3).

Quanto ao critério quantitativo para atrofia tubular (CT) no córtex são divididos em sem atrofia tubular (CT0), atrofia tubular em até 25% da área cortical (CT1), atrofia tubular de 26-50% da área cortical (CT2), atrofia tubular em >50% da área cortical (CT3).

O escore para glomerulopatia do enxerto (CG) é sem glomerulopatia, com duplo contorno em <10% das alças capilares periféricas na maioria dos glomérulos afetados (CG0), duplo contorno afetando até 25% das alças capilares periféricas na maioria dos glomérulos não esclerosados afetados (CG1), duplo contorno afetando de 26-50% das alças capilares periféricas na maioria dos glomérulos não esclerosados afetados (CG2), duplo contorno afetando mais que 50% das alças capilares periféricas na maioria dos glomérulos não esclerosados afetados (CG2). Neste caso, foi anotado o número total de glomérulos e quantos estavam esclerosados.

O escore para aumento de matriz mesangial (MM) é sem aumento de matriz mesangial (MM0), até 25% de glomérulos não esclerosados afetados (aumento de matriz pelo menos moderado) (MM1), de 26-50% de glomérulos não esclerosados afetados (aumento de matriz pelo menos moderado) (MM2), >50% de glomérulos não esclerosados afetados (aumento de matriz pelo menos moderado) (MM3). Neste caso, o critério limítrofe para aumento de “MM” é a expansão mesangial entre capilares adjacentes. Se a largura do interstício exceder cerca de duas células mesangiais em no mínimo dois lóbulos glomerulares, a “MM” é considerada moderadamente aumentada.

O escore para espessamento vascular intimal fibroso (CV) é sem danos vasculares crônicos (CV0), estreitamento vascular de até 25% da área da luz por espessamento fibrointimal de artérias / herniação da lâmina elástica interna ou presença de células espumosas ou células mononucleares ocasionais (CV1), aumento acentuado das lesões descritas acima com 26-50% de estreitamento da área da luz (CV2), acentuada lesão vascular com >50% de estreitamento da área da luz (CV3).

O escore para espessamento hialino arteriolar (AH) é sem espessamento hialino (AH0), espessamento hialino discreto-moderado em pelo menos uma arteríola (AH1), espessamento hialino moderado-acentuado em mais de uma arteríola (AH2), espessamento hialino acentuado em várias arteríolas (AH3).

De acordo com Banff 07 foi considerado 1) normal (N), 2) rejeição mediada por anticorpos (RMA), 3) lesão borderline (BOR), 4) rejeição mediada por células T (RMC), 5) fibrose intersticial e atrofia tubular sem evidência de etiologia específica (FIAT), 6) outros (O), lesões não consideradas devido a rejeição, pode ser isoladamente ou coincidir com as categorias 2, 3, 4 e 5.

Foram critérios para o diagnóstico de RMA C4d positivo (C4d2 +lesão morfológica característica ou dado clínico compatível, C4d3) ou doença do enxerto. Dentro da lesão mediada por anticorpos temos rejeição aguda (RAMA) que apresenta C4d positivo, evidência morfológica de lesão tecidual aguda e tem três classes I) inflamação mínima *ATN-like*, II) inflamação capilar e/ou glomerular (PTC/G>0) e/ou trombose, III) arterite transmural e/ou lesão arterial fibrinóide e necrose da camada muscular média com infiltrado linfocítico no vaso (V3). Já a rejeição crônica ativa mediada por anticorpos (RCMA) apresenta C4d positivo, evidência morfológica de lesão tecidual crônica, como duplo contorno da membrana basal glomerular e/ou multilamelação da membrana basal do capilar peri-tubular e/ou fibrose intersticial/atrofia tubular e/ou espessamento intimal fibroso de artérias.

Foi diagnosticado como BOR os casos suspeitos de rejeição aguda mediada por células T, que não apresentaram arterite intimal, mas com focos de tubulite (T1, T2 Ou T3) com infiltrado inflamatório intersticial discreto (I0 ou I1) ou infiltrado intersticial moderado-acentuado (I2, I3) com tubulite leve (T1).

A RMC foi dividida em aguda e crônica ativa. A rejeição aguda mediada por células T (RAMC) foi subdividida em: IA) casos com infiltrado intersticial (>25% do parênquima afetado, I2 ou I3) e focos de tubulite moderada (T2), IB) casos com infiltrado intersticial (>25% do parênquima afetado (I2 ou I3) e focos de tubulite grave (T3), IIA) casos com arterite intimal discreta a moderada (V1), IIB) casos com grave arterite intimal atingindo



---

>25% da área da luz (V2), III) casos com arterite transmural e/ou lesão arterial fibrinóide e necrose da camada muscular média com infiltrado linfocítico no vaso (V3). A rejeição mediada por células T crônica ativa (RCMC) é caracterizada pela arteriopatia crônica do enxerto que apresenta fibrose na íntima arterial infiltrada com células mononucleares e formação de neointima.

A classificação como FIAT ocorreu nos casos sem evidência de etiologia específica e inclui esclerose vascular e glomerular inespecífica. É classificada em I) fibrose intersticial discreta e atrofia tubular (<25% da área do córtex), II) fibrose intersticial moderada e atrofia tubular (26-50% da área do córtex), III) fibrose intersticial grave e atrofia tubular/perda (>50% da área do córtex).

A classificação outros foi dividida em ah, CV, G, CG, nefrite túbulo intersticial inespecífica (NTII), necrose tubular aguda (NTA), nefrotoxicidade por drogas (NTCD), glomeruloesclerose segmentar e focal (GESF), pielonefrite (P), nefrite lúpica (NL), microangiopatia trombótica (MT) e glomerulonefrite proliferativa endocapilar (GPE).

## **2.4 Análise estatística**

Para a análise estatística foi elaborada uma planilha eletrônica (Microsoft Excel) e a análise dos dados foi feita no programa SigmaStat 3.5. As variáveis foram testadas para verificar se apresentavam distribuição normal, através do teste de Kolmogorov-Smirnov, e também foi feita a análise da homogeneidade. Foram utilizados os testes de ANOVA (para comparação entre três ou mais grupos com variáveis paramétricas), Kruskal-Wallis (para comparação entre três ou mais grupos com variáveis não-paramétricas), “t” de Student (para comparação entre dois grupos com variáveis paramétricas), Mann-Whitney (para comparação entre dois grupos com variáveis não-paramétricas), Qui-Quadrado e Exato de Fisher (para comparar proporções, ou seja, variáveis qualitativas), correlação de Spermán (para duas variáveis qualitativas). As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando p foi menor que 5% ( $p < 0,05$ ).

## **3. ASPECTOS ÉTICOS**

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM, Protocolo nº 999 (anexo).

#### **4. NORMAS PARA A CONFECÇÃO DA TESE**

Foram seguidas as normas do Curso de Pós-graduação em Patologia da UFTM (CPGP-UFTM).

*RESULTADOS*

**CARACTERIZAÇÃO GERAL DAS BIÓPSIAS RENAIIS E ANÁLISE CLÍNICO-  
EPIDEMIOLÓGICA DOS PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS**

Registramos 209 biópsias renais de pacientes transplantados no período de 1996 a 2006, desses 1 caso era de transplantado cardíaco e outro hepático e ambos foram excluídos desse estudo. Fizemos a caracterização clínico-epidemiológica nos 207 casos restantes. A média da idade foi de  $39,9 \pm 11,0$  anos, houve predominância do gênero masculino (63,7%) e da cor branca (63,4%).

Quanto ao tempo de transplante até a realização da biópsia 33,6% tinham até 30 dias, 23,8% de 1-6 meses, 8,2% de 6 meses a 1 ano, 24,6% de 1-5 anos, 3,3% de 5-10 anos e 6,5% de 10-15 anos (Figura 1). Em relação à procedência 34% eram de Uberaba, 20,8% da região próxima a Uberaba, 16% de Belo Horizonte, 27,4% de outras cidades de MG e 1,9% outros (Figura 2).

Figura 1 – Distribuição em porcentagem dos 207 pacientes transplantados renais de acordo com o tempo transcorrido desde o transplante de rim até a realização da biópsia.

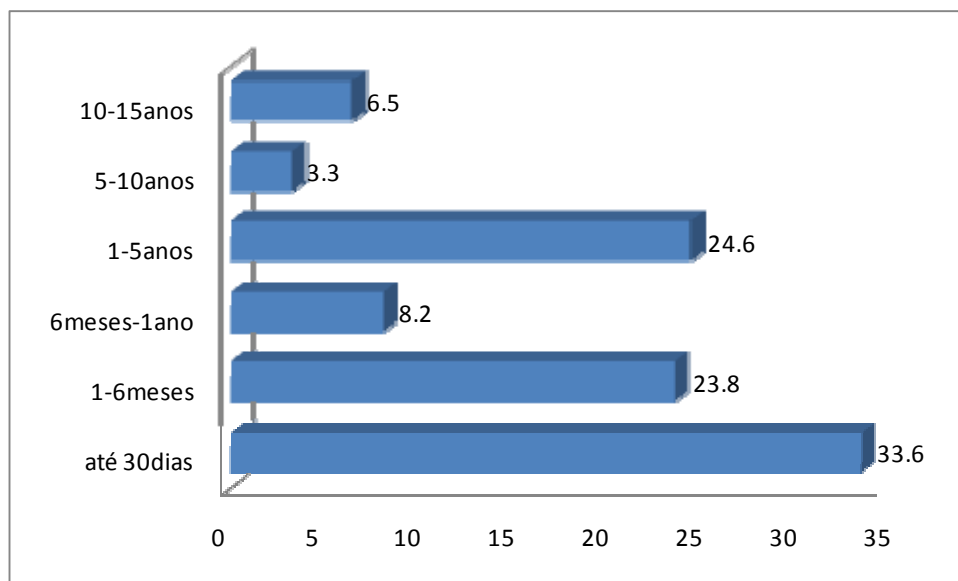
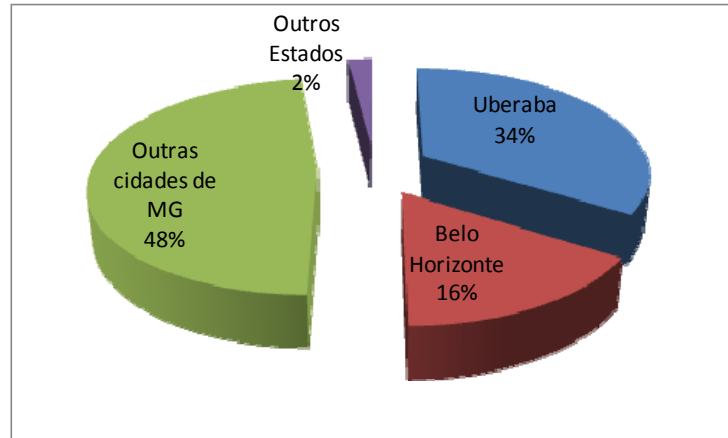


Figura 2 – Distribuição dos 207 pacientes transplantados renais de acordo com a procedência.



Na análise da origem do enxerto dos pacientes transplantados renais observamos que 42,2% foram provenientes de doadores vivos (Figura 3), destes 88,9% eram de doadores relacionados (Figura 4). Os outros 57,8% foram doadores cadáveres, sendo 1,5 % relacionados.

Quanto à medicação imunossupressora relatada na solicitação da biópsia a de maior uso foi Prednisona (70,7%), seguida de Ciclosporina A (46,4%), Micofenolato Mofetil (30%), Azatioprina (29,3%), Tacrolimus (17,9%), Rapamicina (15%), Solumedrol (3,6%) e Mifortic (1,4%). Sendo que, o somatório da porcentagem foi superior a 100%, pois, em geral, os pacientes faziam associação de mais de um medicamento (Figura 5).

Figura 3 – Distribuição dos 207 transplantados renais segundo a origem do enxerto (doador vivo ou cadáver).

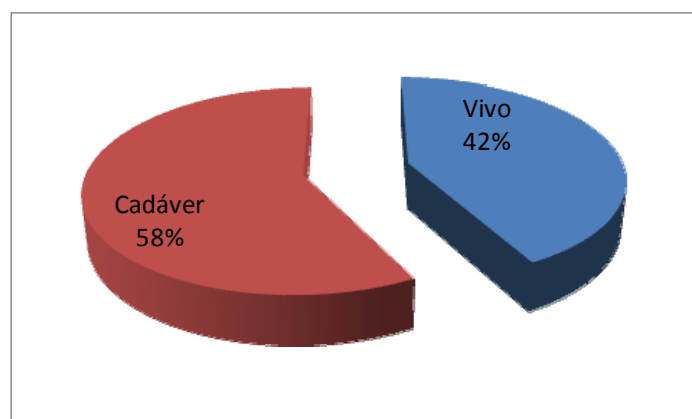
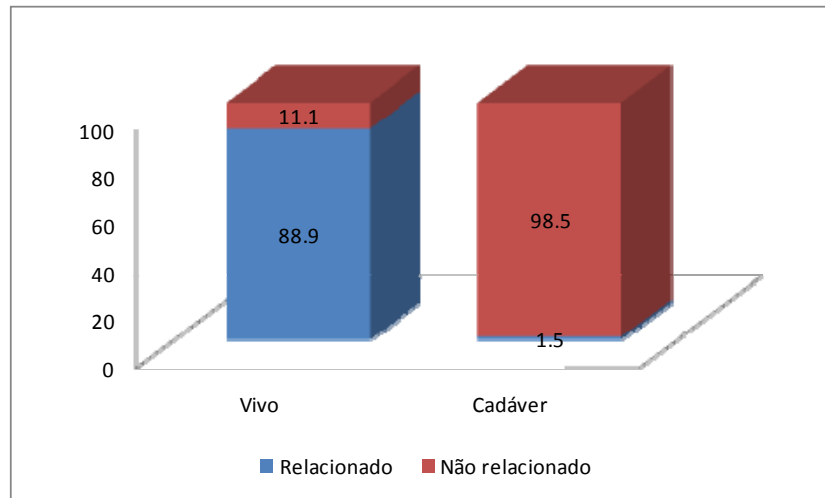
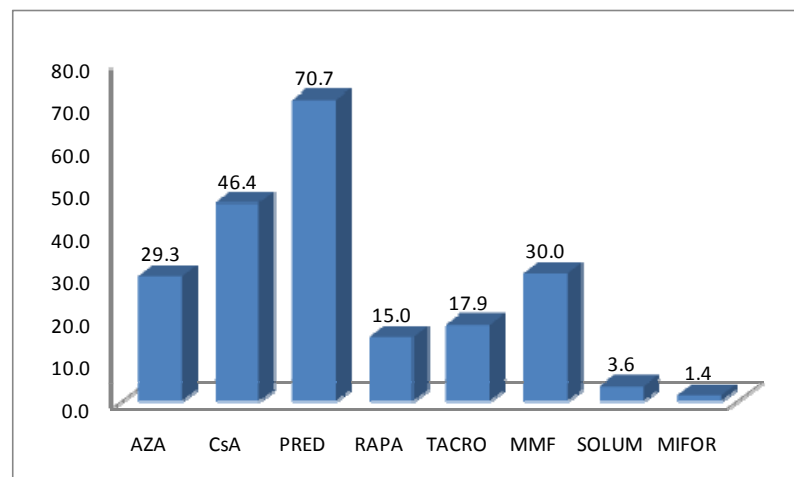


Figura 4 – Distribuição dos 207 transplantados renais em porcentagem segundo o grau de parentesco do doador com o receptor (relacionado ou não relacionado).



Teste exato de Fisher,  $p=1,00$

Figura 5 – Distribuição em porcentagem dos 140 transplantados renais segundo o tipo de medicação imunossupressora utilizada na época da realização da biópsia renal: Azatioprina (AZA), Ciclosporina A (CsA), Prednisona (PRED), Rapamicina (RAPA), Tacrolimus (TACRO), Micofenolato Mofetil (MMF), Solumedrol (SOLUM) e Mifortie (MIFORT).



Apresentavam valores de uréia e creatinina nas solicitações de biópsia 98 e 128 pacientes transplantados renais, respectivamente, sendo que a mediana de uréia foi de 114 mg/dl (17 – 395) e a de creatinina foi de 4,1 mg/dl (1 – 17,9) (Figura 6).

Na história clínica dos pacientes apresentavam relatos da doença do rim nativo 64 casos. Sendo que, as doenças mais comuns foram Glomerulopatias (10,1%), Nefrosclerose

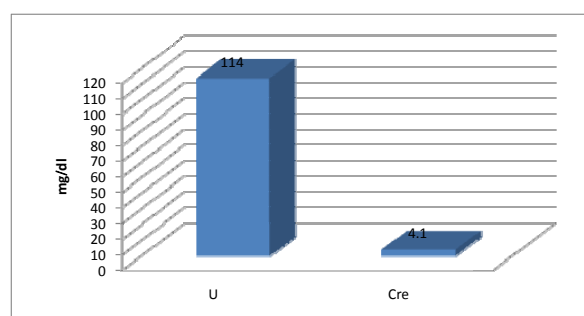
Hipertensiva (5,8%), Nefropatia Diabética (5,3%), Rim Policístico (4,8%), Bexiga de esforço e refluxo vesicouretral (2,9%), Pielonefrite (2,9%), Nefrite Lúpica (1,0%), Hidronefrose (1,0%) e outras (1,0%) (Figura 7). O somatório é maior que 100% porque alguns casos tiveram mais de uma doença contribuindo para a insuficiência renal e perda do rim nativo.

Quanto a positividade para vírus, encontramos 8 casos diagnosticados como Citomegalovírus (CMV), 1 de Polioma vírus BK (BKV) e 2 de Herpes Simplex vírus (HSV). Também tivemos 3 casos com suspeita de inclusão virótica intranuclear em célula tubular, sem definição de qual vírus.

Dos casos positivos para CMV 3 apresentaram características morfológicas como célula tubular com inclusão pelo vírus ou nefrite túbulo intersticial aguda associada com alterações nucleares em células tubulares, sendo que, 5 casos não apresentaram lesões características de vírus, mas tiveram sorologia positiva (Prancha 1).

O caso positivo para BKV não apresentou características morfológicas de inclusão virótica e foi diagnosticado clinicamente (Prancha 1). Nos casos HSV positivos não foram encontradas alterações típicas de inclusões viróticas, no entanto, em um dos casos as células tubulares estavam muito ativadas, aparentemente desproporcional ao infiltrado inflamatório, e havia diagnóstico clínico de HSV nos dois casos.

Figura 6 – Mediana dos valores de uréia (U) e creatinina (Cre) nos 98 e 128 pacientes transplantados renais, respectivamente.



## PRANCHA 01

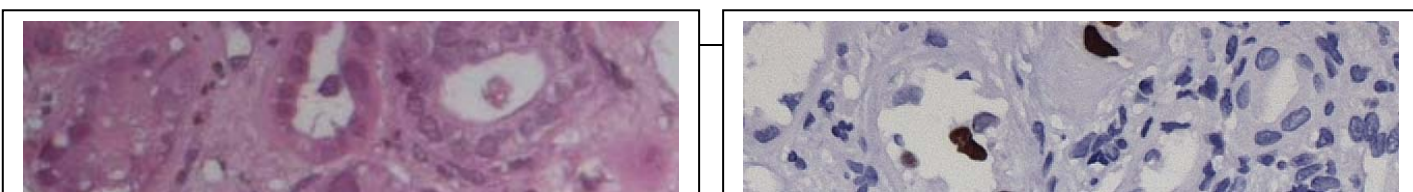
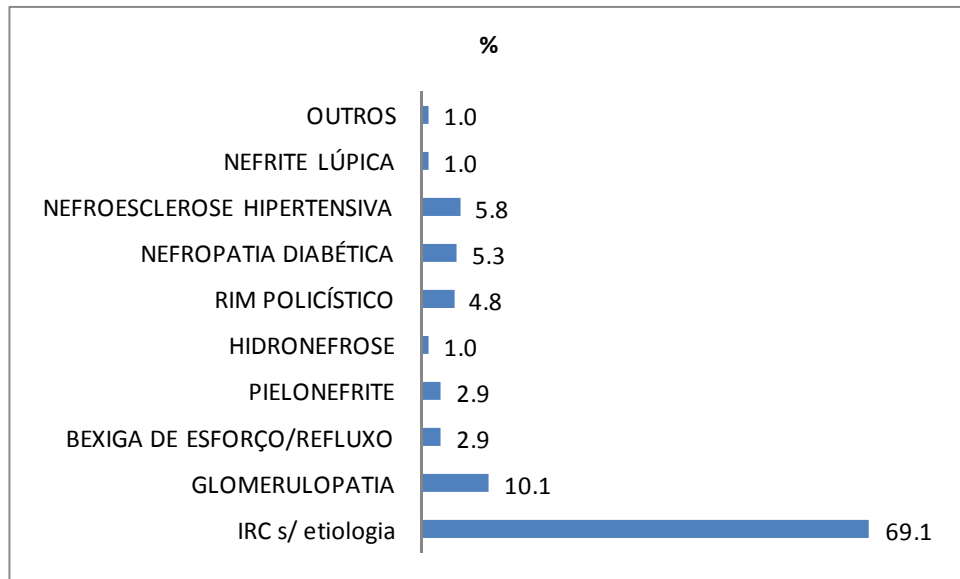


Figura 7 – Distribuição dos 207 transplantados renais segundo a ocorrência de doenças do rim nativo (IRC: insuficiência renal crônica sem evidência de etiologia específica).





### ANÁLISE DAS BIÓPSIAS RENAS DE PACIENTES TRANSPLANTADOS SEGUNDO IMUNOHISTOQUÍMICA PARA C4d

Foram submetidas a imunohistoquímica para C4d 96 biópsias, das quais 11 não foram possível obter resultado por problemas no procedimento (os cortes descolaram da lâmina durante a realização da técnica). Das 85 biópsias restantes 25,9% foram C4d0, 37,6% C4d1, 24,7% C4d2 e 11,8% C4d3 de acordo com Banff 07 (Figura 8, Prancha 2). Ao agruparmos esses resultados, observamos que 74,1% eram C4d- e 25,9% C4d+.

A correlação entre C4d (0, 1, 2, 3) e a idade foi negativa ( $r = -0,0309$ ;  $p = 0,787$ ) (Figura 9). O grupo C4d+ teve mediana de idade de 42,7 anos e o grupo C4d- de 39 anos ( $t = -1,130$ ;  $p = 0,262$ ). Com relação ao gênero e a cor, no grupo C4d- 75% era masculino e 55,3% branco. No grupo C4d+ 52,9% era masculino e 69,2% branco ( $\chi^2 = 0,310$ ;  $p = 0,578$  e  $\chi^2 = 1,849$ ;  $p = 0,174$ , respectivamente).

Obtivemos dados relativos ao tipo de doador do enxerto renal em 25 casos. No grupo C4d0 em 5 casos o enxerto era proveniente de doador cadáver e 2 de doador vivo relacionado, no grupo C4d1 4 de doador cadáver e 3 de doador vivo relacionado, no grupo C4d2 2 de doador cadáver e 4 de doador vivo (2 relacionados), no grupo C4d3 4 de doador cadáver e 1 de doador vivo relacionado (Figura 10).

Figura 8 – Distribuição de 85 biópsias segundo o resultado da imunohistoquímica para C4d.

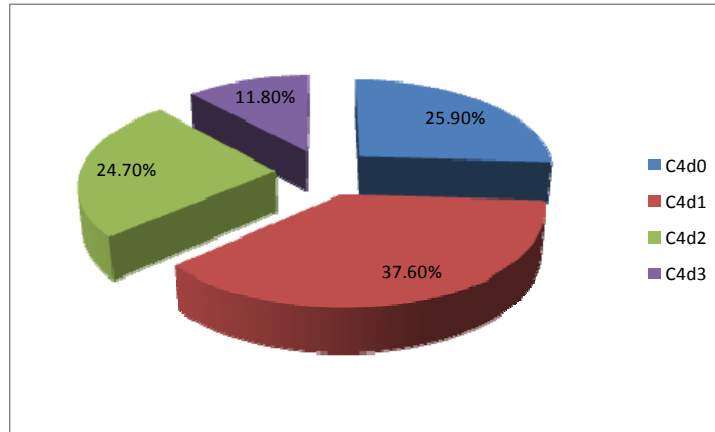
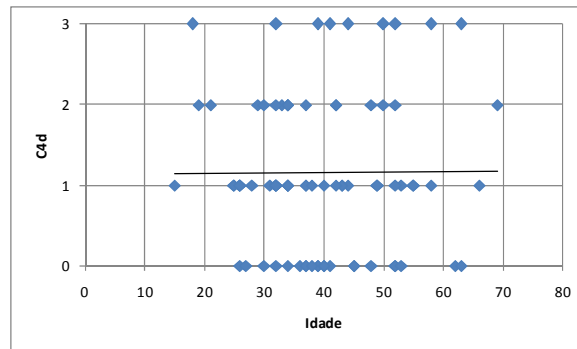
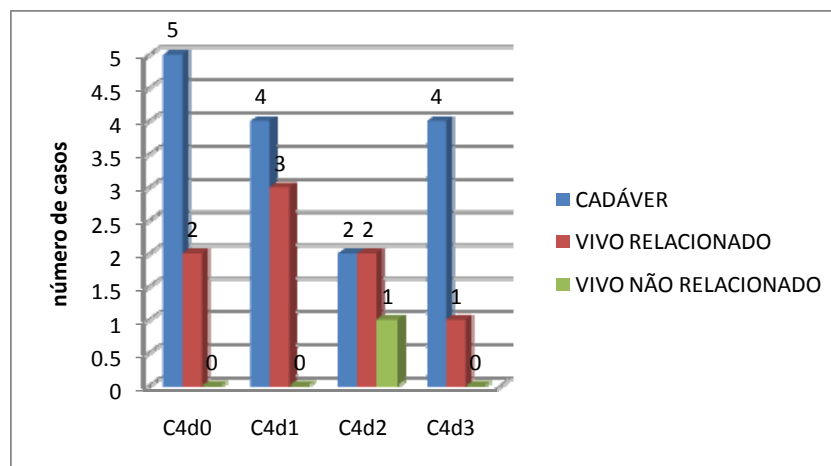


Figura 12 – Correlação entre C4d (classificado de acordo com a percentagem de marcação nos capilares peritubulares segundo Banff 07) e a idade (anos) de 79 pacientes transplantados renais.



( $r = -0,0309$ ;  $p = 0,787$ )

Figura 10 – Distribuição de 25 biópsias de acordo com a imunohistoquímica para C4d quanto a tipo de doador do enxerto renal (cadáver, vivo relacionado, vivo não relacionado).



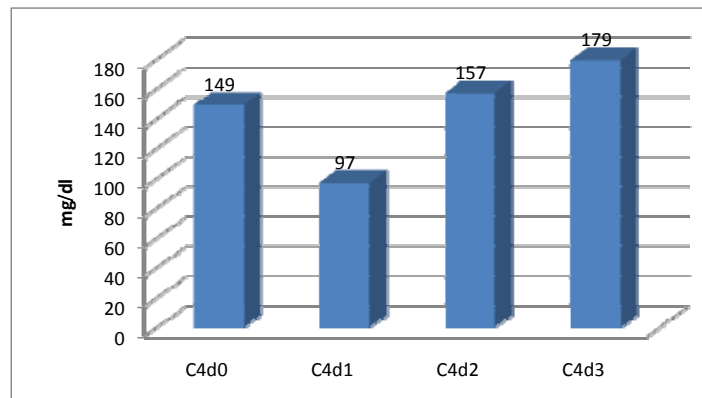
## PRANCHA 02





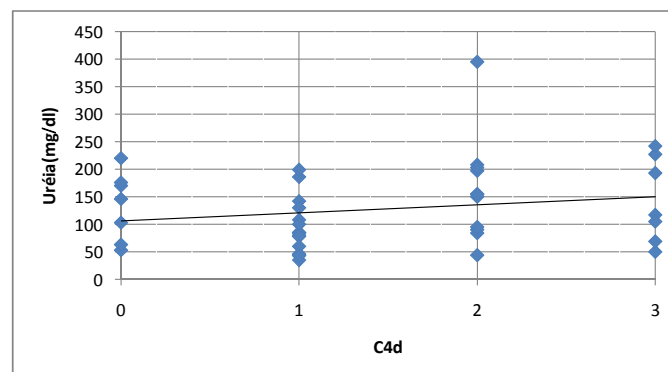
Dentre os casos que realizamos imunohistoquímica para C4d, 41 apresentavam valores de uréia, cuja média no grupo C4d0 foi de 149,66 mg/dl, no C4d1 de 97,00 mg/dl, no C4d2 de 157,44 mg/dl e no grupo C4d3 de 179,00 mg/dl, não houve diferença significativa entre os grupos (ANOVA=0,097,  $p=0,300$ ) (Figura 11). A correlação entre os valores de C4d (0, 1, 2, 3) e os níveis de uréia foi positiva e não significativa ( $r=0,204$ ;  $p=0,2$ ) (Figura 12). Na análise quanto à positividade ou negatividade de C4d, o grupo C4d- teve mediana de uréia de 97,5 mg/dl e o grupo C4d+ mediana de 155 mg/dl ( $T=244$ ;  $p=0,108$ ).

Figura 11 – Média dos níveis de uréia em 41 pacientes dos 4 grupos de acordo com a imunohistoquímica para C4d nas biópsias renais.



(ANOVA=0,097,  $p=0,300$ )

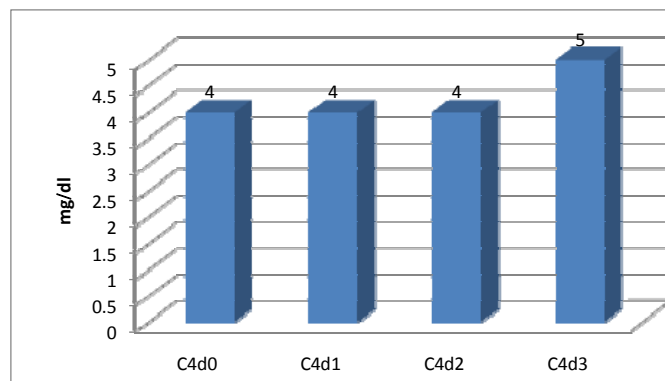
Figura 12 – Correlação entre C4d (classificado de acordo com a porcentagem de marcação nos capilares peritubulares segundo Banff 07) e os níveis de uréia em 41 pacientes transplantados renais.



( $r=0,204$ ;  $p=0,2$ )

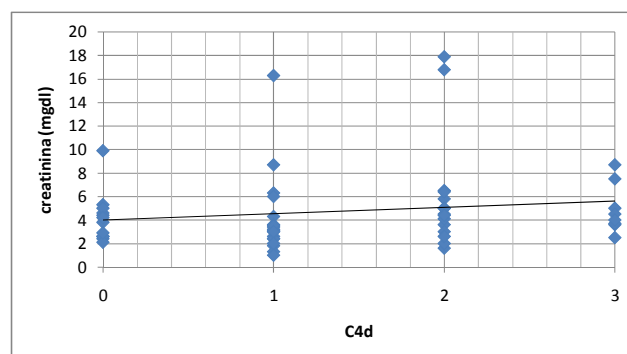
Dentre os casos que realizamos imunohistoquímica para C4d, 54 apresentavam valores de creatinina, cuja média no grupo C4d0 foi de 4,0 mg/dl, no C4d1 de 3,2 mg/dl, no C4d2 de 4,45 mg/dl e no grupo C4d3 de 6,25 mg/dl, não houve diferença significativa entre os grupos ( $H = 5,203$ ,  $p=0,157$ ) (Figura 13). A correlação entre os valores de C4d (0, 1, 2, 3) e os níveis de creatinina foi positiva e não significativa ( $r=0,211$ ;  $p=0,125$ ) (Figura 14). Na análise quanto a positividade ou negatividade de C4d, o grupo C4d- teve mediana de creatinina de 3,7 mg/dl e o grupo C4d+ mediana de 4 mg/dl ( $T=396,5$ ;  $p=0,210$ ).

Figura 13 – Média dos níveis de creatinina em 54 pacientes dos 4 grupos de acordo com a imunohistoquímica para C4d nas biópsias renais.



( $H = 5,203$ ,  $p=0,157$ )

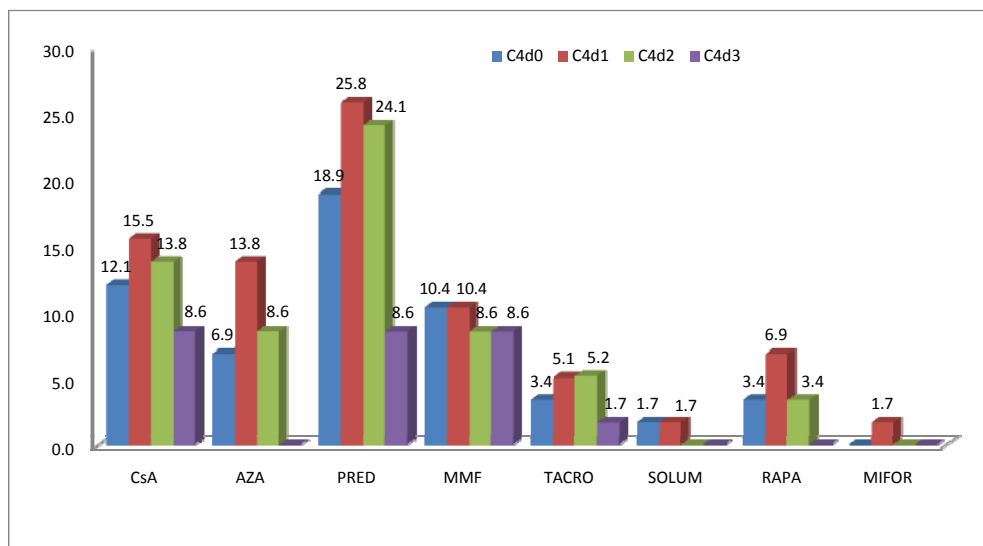
Figura 14 – Correlação entre C4d (classificado de acordo com a porcentagem de marcação nos capilares peritubulares segundo Banff 07) e os níveis de creatinina em 54 pacientes transplantados renais.



( $r=0,211$ ;  $p=0,125$ )

Com relação à medicação imunossupressora utilizada no período em que foi realizada a biópsia, encontramos informações de 58 casos dentre os que foi realizado a imunohistoquímica. Na análise de acordo com o grupo de C4d notamos que, houve uma preferência na escolha de Prednisona, Ciclosporina A, Azatioprina e Micofenolato Mofetil nos grupos C4d0 (18,9%; 12,1%; 6,9%; 10,4% respectivamente), C4d1 (25,8%; 15,5%; 13,8%; 10,4% respectivamente) e C4d2 (24,1%; 13,8%; 8,6%; 8,6% respectivamente). Mas, no grupo C4d3 a Prednisona, a Ciclosporina A, e o Micofenolato Mofetil foram as de maior escolha (8,6% cada um), seguida de Tacrolimus (1,7%) (Figura 15). Porém na análise estatística não houve diferença significativa entre os grupos ( $\chi^2= 1,332$ ;  $p=0,856$ ). Observamos que, o somatório das porcentagens é superior a 100, visto que, cada paciente, em geral, utiliza mais de um medicamento imunossupressor.

Figura 15 – Porcentagem de cada medicação imunossupressora (Ciclosporina A – CsA, Azatioprina – AZA, Prednisona – PRED, Micofenolato Mofetil – MMF, Tacrolimus - TACRO, Solumedrol - SOLUM, Rapamicina - RAPA, Mifortric - MIFOR) utilizadas em 58 pacientes transplantados nos 4 grupos de acordo com a imunohistoquímica para C4d nas biópsias renais.



( $\chi^2= 1,332$ ;  $p=0,856$ ).

## ANÁLISE DA IMUNOFLORESCÊNCIA DE ACORDO COM O C4d

Das 85 biópsias analisadas por imunohistoquímica para C4d, 30 tinham dados relativos a imunofluorescência no laudo da biópsia. Com relação a positividade e localização do depósito na imunofluorescência, o grupo C4d0 teve 1 caso positivo em cilindro tubular para IgA, 1 caso positivo em cilindro tubular para IgM, 1 caso positivo em parede vascular e outro peritubular para C3 e 1 caso positivo em cilindro tubular para Lambda.

No grupo C4d1 houve 4 casos positivos para IgA em cilindros tubulares, 2 casos positivos para IgM no glomérulo e 1 para cilindro tubular, 1 caso positivo para C3 peritubular, 2 em parede vascular e 1 em cilindro tubular, 3 casos positivos para C1q em parede vascular, 2 casos positivo para Lambda e Kappa em cilindro tubular.

O grupo C4d2 teve 5 casos positivos para IgA em cilindros, 3 casos positivos para IgM no glomérulo, 6 casos em cilindros tubulares, 4 casos na parede vascular, 2 casos positivos para IgG em cilindros tubulares, 6 casos positivos para C3 no glomérulo, 8 casos na parede vascular, 3 casos peritubular, 2 casos positivos para C1q na parede vascular, 1 caso positivo para Lambda no glomérulo e 4 em cilindros tubulares, 1 caso positivo para Kappa no glomérulo e 3 em cilindros tubulares, 1 caso positivo para fibrinogênio na parede vascular.

O grupo C4d3 teve 1 caso positivo em cilindros tubulares para IgA, 2 casos positivos em cilindros tubulares e 3 em glomérulos para IgM, 2 casos positivos em glomérulos para IgG, 2 casos positivos em glomérulos, 1 em parede vascular e 1 peritubular para C3, 1 caso positivo em glomérulos para C1q e 1 caso positivo em cilindro tubular (em área de necrose coagulativa) para fibrinogênio.

A seguir os gráficos de 16 a 23 mostram o padrão de C4d (0, 1, 2, 3) em cada imunoglobulina (IgA, IgG, IgM), C3, C1q, Kappa, Lambda e fibrinogênio.

Figura 16 – Distribuição dos casos positivos para IgA em cilindros tubulares (CT) de biópsias renais de pacientes transplantados de acordo com a imunohistoquímica para C4d.

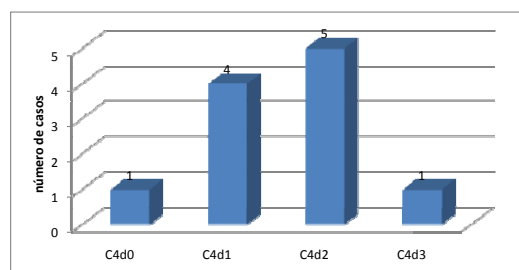


Figura 17 – Distribuição dos casos positivos para IgM em cilindros tubulares (CT), Glomérulos (G) e parede vascular (PV) de biópsias renais de pacientes transplantados de acordo com a imunohistoquímica para C4d.

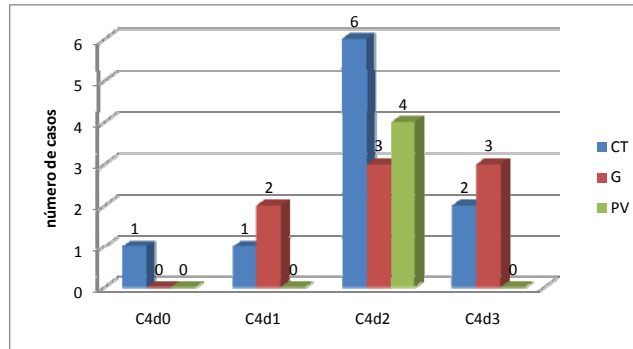


Figura 18 – Distribuição dos casos positivos para IgG em cilindros tubulares (CT) e glomérulos (G) de biópsias renais de pacientes transplantados de acordo com a imunohistoquímica para C4d.

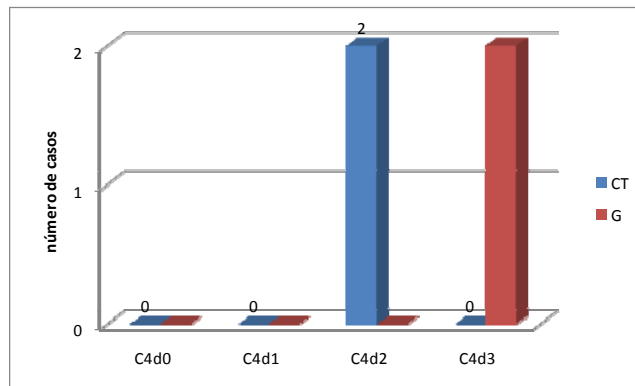


Figura 19 – Distribuição dos casos positivos para C3 em cilindros tubulares (CT), Glomérulos (G), parede vascular (PV) e peritubular (PT) de biópsias renais de pacientes transplantados de acordo com a imunohistoquímica para C4d.

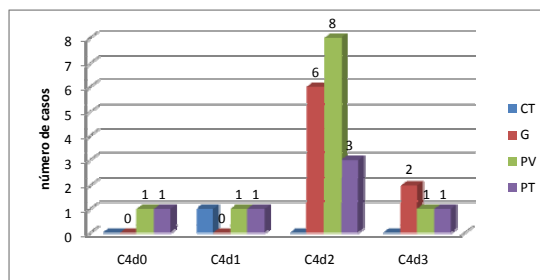




Figura 20 – Distribuição dos casos positivos para C1q em parede vascular (PV) e glomérulo (G) de biópsias renais de pacientes transplantados de acordo com a imunohistoquímica para C4d.

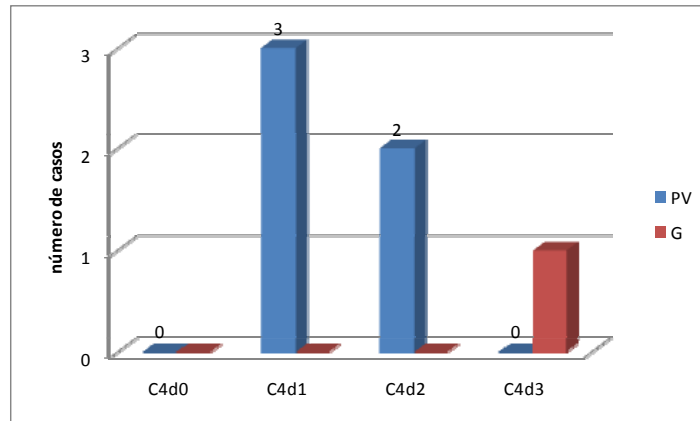


Figura 21 – Distribuição dos casos positivos para Lambda em cilindros tubulares (CT) e glomérulos (G) de biópsias renais de pacientes transplantados de acordo com a imunohistoquímica para C4d.

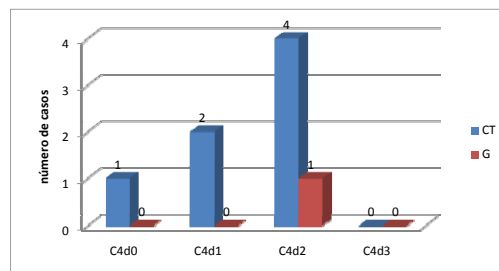


Figura 22 – Distribuição dos casos positivos para Kappa em cilindros tubulares (CT) e glomérulos (G) de biópsias renais de pacientes transplantados de acordo com a imunohistoquímica para C4d.

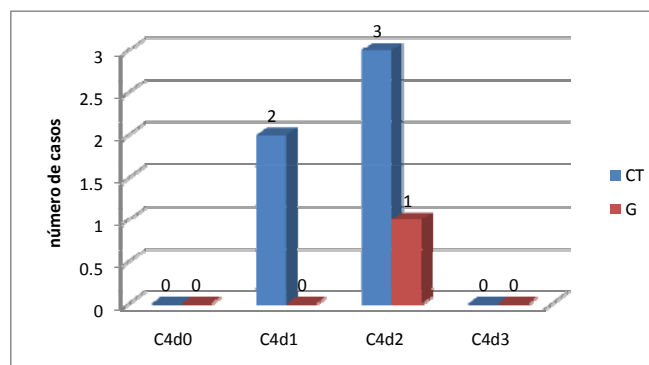
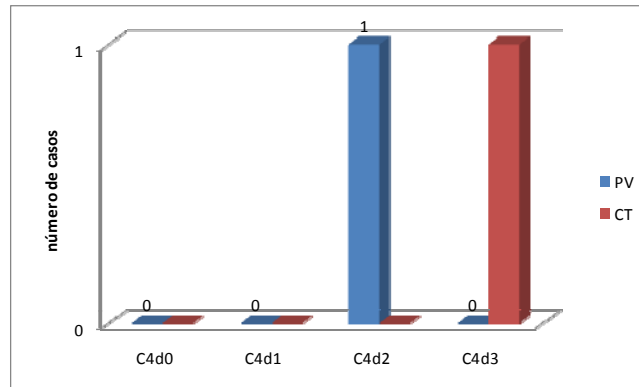


Figura 23 – Distribuição dos casos positivos para Fibrinogênio em parede vascular (PV) e cilindro tubular (CT) de biópsias renais de pacientes transplantados de acordo com a imunohistoquímica para C4d.



### CLASSIFICAÇÃO DOS DIAGNÓSTICOS SEGUNDO BANFF 07

Das 207 biópsias de enxerto renal 23 tinham diagnóstico inconclusivo por falta de representatividade da amostra. Das 184 biópsias restantes, nos analisamos 96 por imunohistoquímica para C4d, sendo que dessas em 11 não obtivemos resultado por problemas na imunohistoquímica.

Dentre as 85 biópsias em que foi possível realizar o diagnóstico 3,3% estavam dentro do padrão da normalidade, 36,7% tinham RMA (sendo 10% RAMA I, 15% RAMA II e 11,7% RCMA), 16,7% RMC (sendo 1,7% RAMC IA, 5% RAMC IB, 6,7% RAMC IIA E 3,3% RAMC III), 25% BOR, 18,3% FIAT (Figura 24, Pranchas 3, 4 e 5).

Além disso, encontramos 122 diagnósticos de outros (O), que segundo Banff 07 são lesões não devido à rejeição, sendo que, algumas foram encontradas isoladamente e outras coincidiam com os diagnósticos de RMA, BOR, RMC e FIAT. Sendo que, 25,4% foram de AH, 20,5% de CV, 11,5% de NTII, 12,3% de NTA, 11,5% de NTCD, 2,5% de GESF, 7,4% de g, 4,1% de P, 1,6% de NL, 2,5% de MT e 0,8% de GPE (Figura 25, Pranchas 3, 4 e 5). Nos casos de AH estão incluídos aqueles com suspeita de hipertensão arterial e casos que podem ser secundários a nefrotoxicidade por drogas, mas não foram confirmados. Os 11,5% descritos acima como NTCD são os casos com diagnóstico confirmado.

Figura 24 – Distribuição de 85 biópsias de enxerto renal, segundo a porcentagem de diagnóstico em normal (N), rejeição medida por anticorpo (RMA), rejeição mediada por célula (RMC), lesão Borderline (BOR) e fibrose intersticial e atrofia tubular (FIAT).

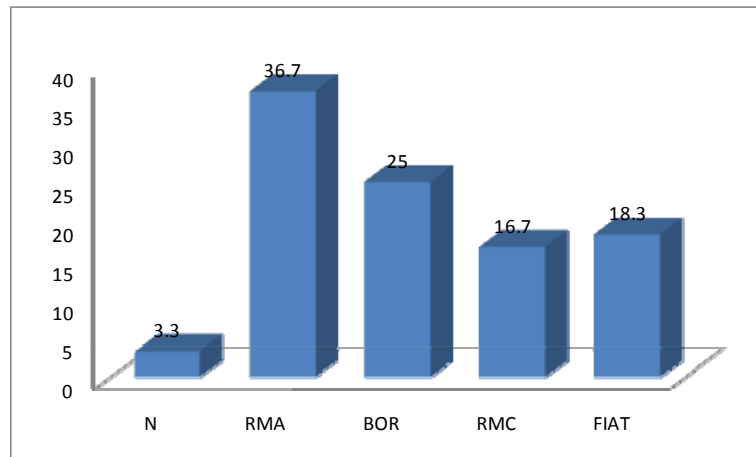
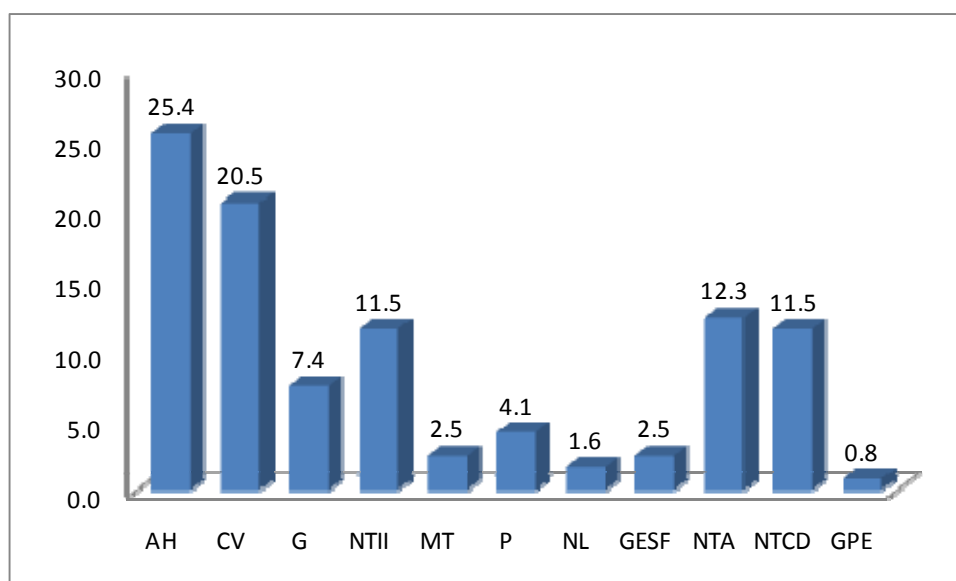


Figura 25 – Distribuição de 85 biópsias de enxerto renal, segundo a porcentagem de diagnóstico outros: hialinose arteriolar (AH), espessamento fibroso (CV), glomerulite (G), nefrite túbulo intersticial inespecífica (NTII), microangiopatia trombótica (MT), pielonefrite (P), nefrite lúpica (NL), glomeruloesclerose segmentar e focal (GESF), necrose tubular aguda (NTA), nefrotoxicidade por drogas (NTCA) e glomerulonefrite proliferativa endocapilar (GPE).



## PRANCHA 03

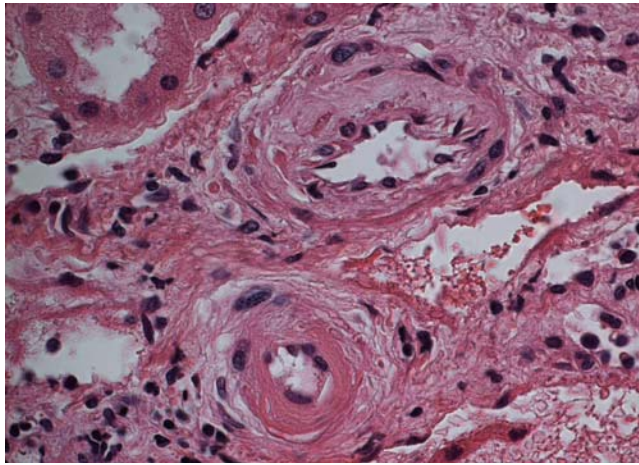


Figura 1: Hematoxilina e Eosina, objetiva 63X, optovar 1X.

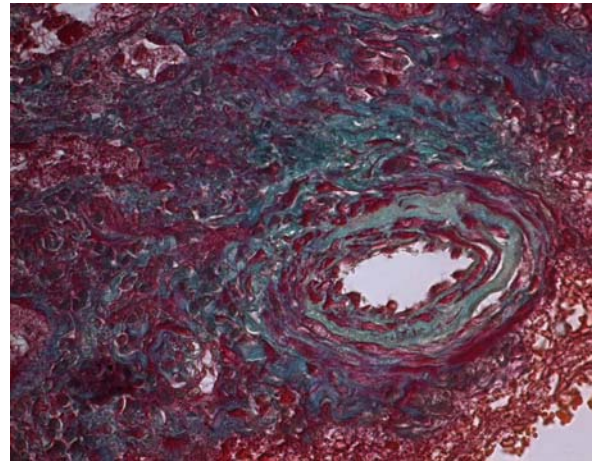


Figura 2: Tricômico de Masson, objetiva 63X, optovar 1X.

B03-0945: Descrição: C4d3 (prancha 2), lesão borderline (i1, t1), necrose tubular aguda moderada, hialinose arteriolar (ah2- fig 1) e espessamento fibroelástico intimal (cv2 – fig 2). Diagnóstico: Rejeição aguda mediada por anticorpos I, lesão borderline, nefrotoxicidade e outros (ah/cv2).

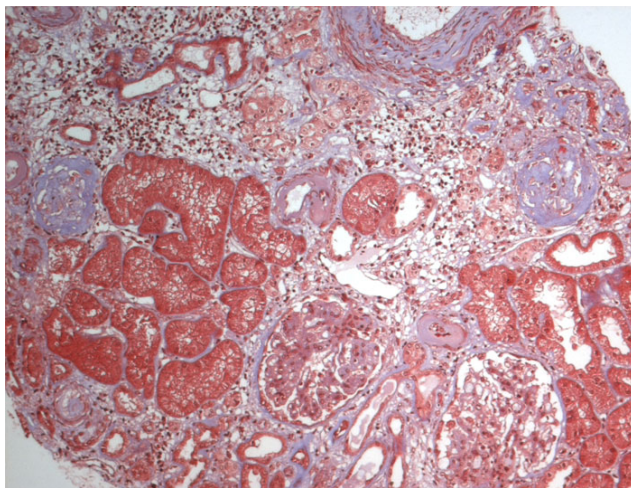


Figura 3: Tricômico de Masson, objetiva 10X, optovar 1,6X.

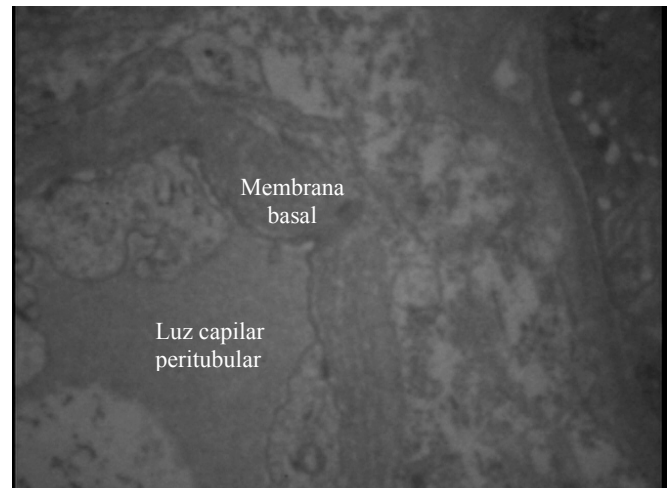


Figura 4: Microscopia Eletrônica - ME, 4.400X.

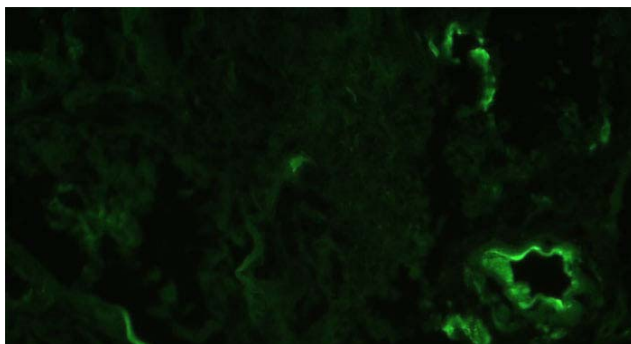


Figura 5: IF, soro anti-C3, objetiva 20X, optovar 2,0X.

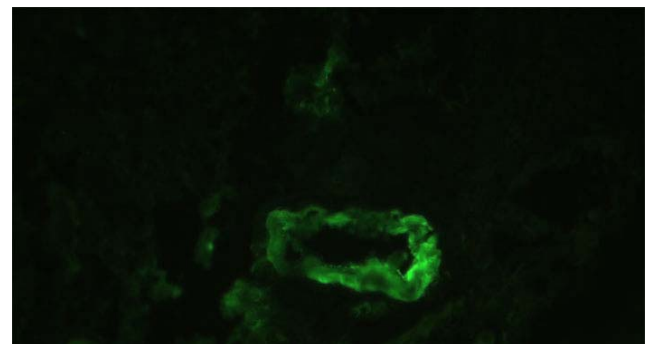


Figura 6: IF, soro anti-IgM, objetiva 20X, optovar 2,0X.

B07-0738: Descrição: 10/31 glomerulos esclerosados. Há aumento da matriz mesangial com discreta proliferação celular e duplicação da membrana basal. Fibrose intersticial difusa acentuada (ci3), acompanhada de atrofia tubular (ct3). Focos com infiltrado inflamatório mononuclear (i1). Arteriolesclerose hialina acentuada (ah3 – Nefrotoxicidade? Hipertensão arterial sistêmica?). Espessamento fibroelástico intimal acentuado em artérias interlobulares (cv3) (fig. 3). Espessamento da membrana basal do capilar peritubular (fig. 4). Imunofluorescência Direta (IF) positiva para C3 e IgM (figs. 5 e 6) na parede vascular. Conclusão: Rejeição crônica mediada por anticorpo (Glomerulopatia do Transplante e alterações ultraestruturais da membrana basal do capilar peritubular).



## PRANCHA 04

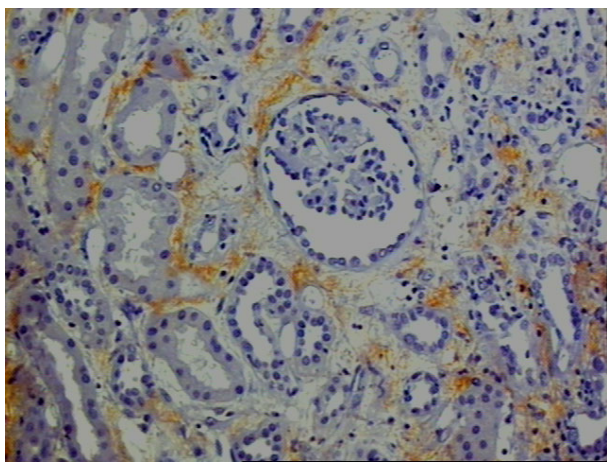


Figura 1: Imunohistoquímica para C4d, objetiva 10X.

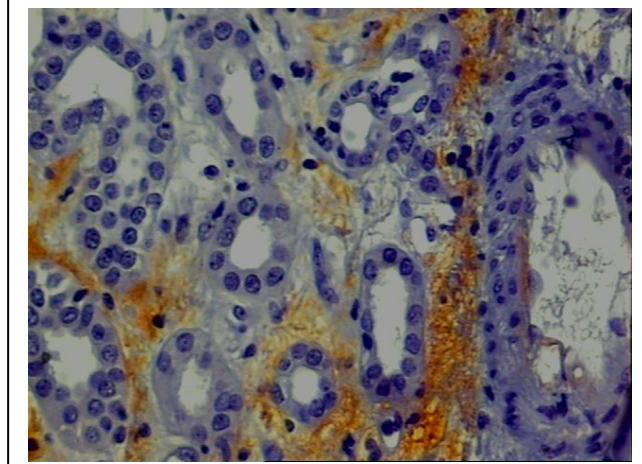


Figura 2: Imunohistoquímica para C4d, objetiva 20X.

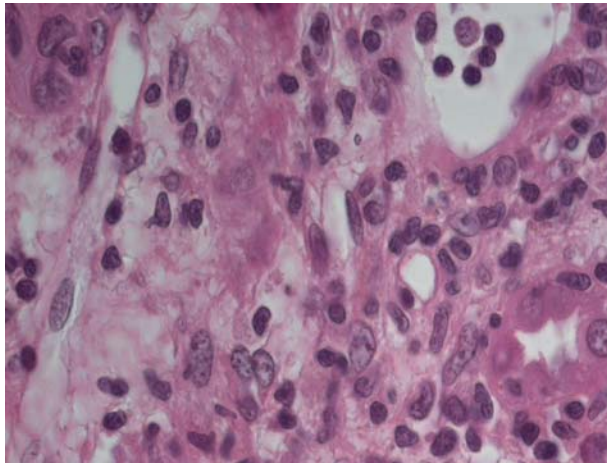


Figura 3: Hematoxilina Eosina, objetiva 40, optovar 1,6X.

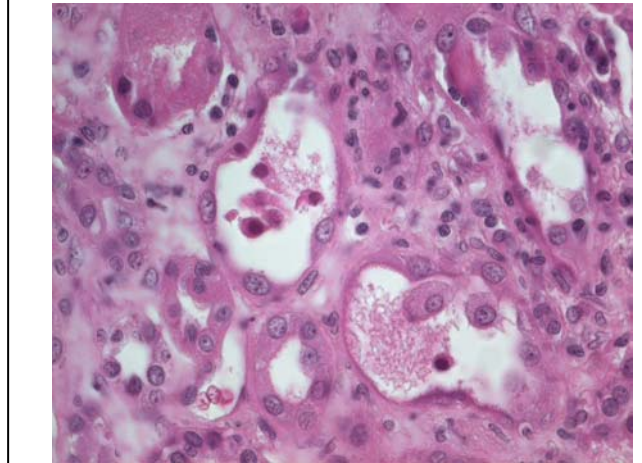


Figura 4: Hematoxilina Eosina, objetiva 40, optovar 1,6X.

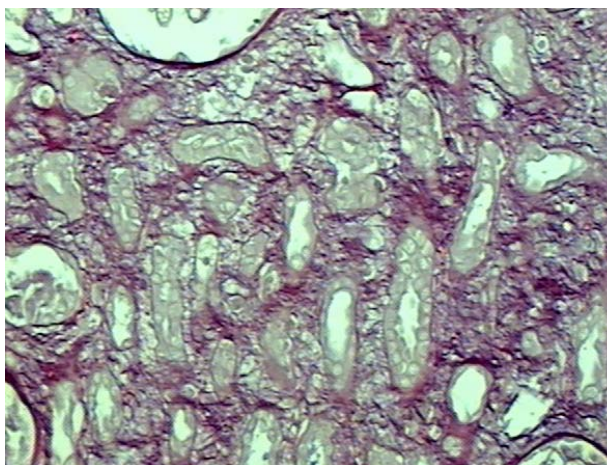


Figura 5: Picosírius, 320X.



Figura 6: Picosírius, luz Polarizada, 320X.

B03-3838: Descrição: C4d2 (figs. 1 e 2), infiltrado inflamatório mononuclear discreto (i1), tubulite discreta (t1 fig. 3), Alguns túbulos com a luz ampla e epitélio aplanado, com células necróticas descamadas (fig. 4). Fibrose moderada (ci2 - figs. 5 e 6). Arteriolesclerose hialina discreta (ah1). Diagnóstico: Rejeição aguda mediada por anticorpos II, lesão borderline, outros (ah1).



## PRANCHA 05

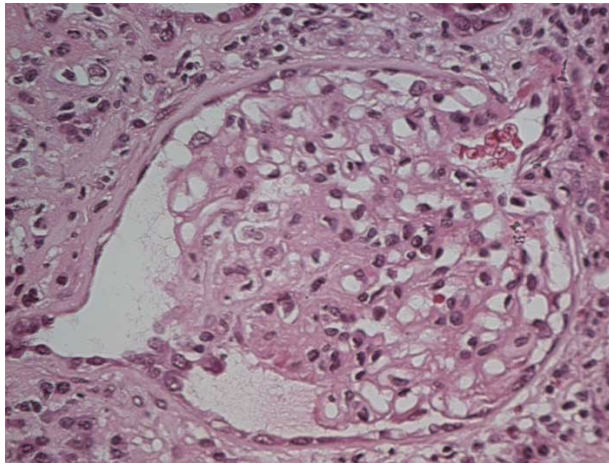


Figura 1: Hematoxilina Eosina, objetiva 40X, Optovar 1,25X.

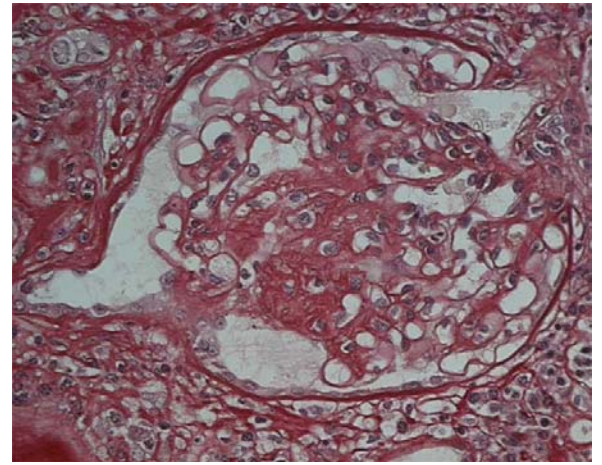


Figura 2: Picrosirius, objetiva 40X, Optovar 1,25X.

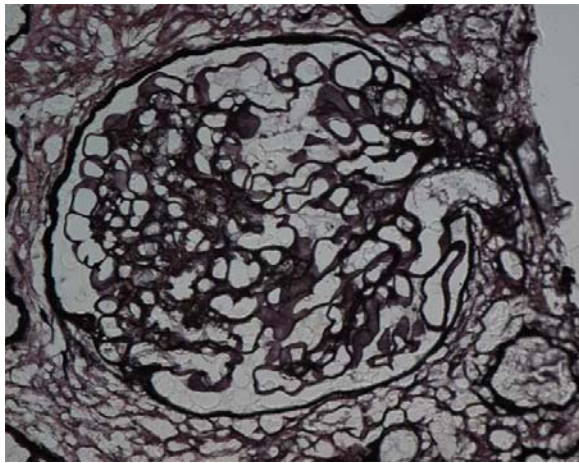


Figura 3: PAMS, objetiva 40X, Optovar 1,25X.

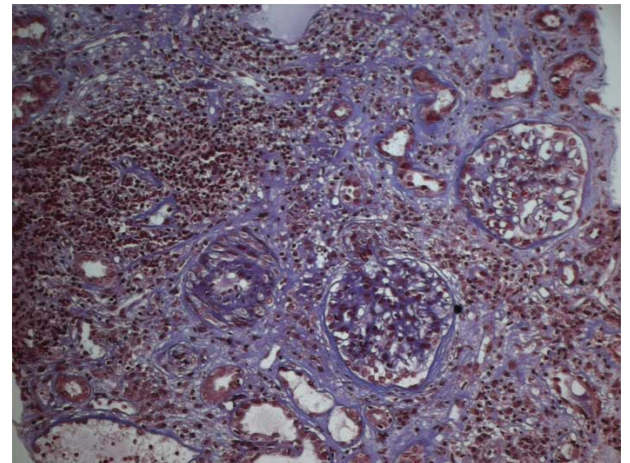


Figura 4: Tricrômico Masson, objetiva 20X, Optovar 1,0X.

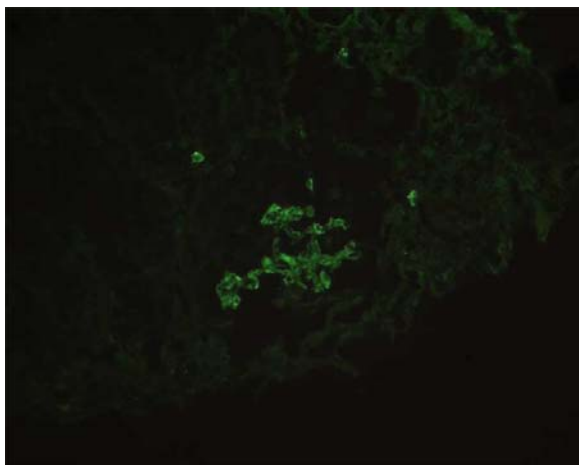


Figura 5: IF soro anti-IgM, objetiva 20X, Optovar 1,6X.

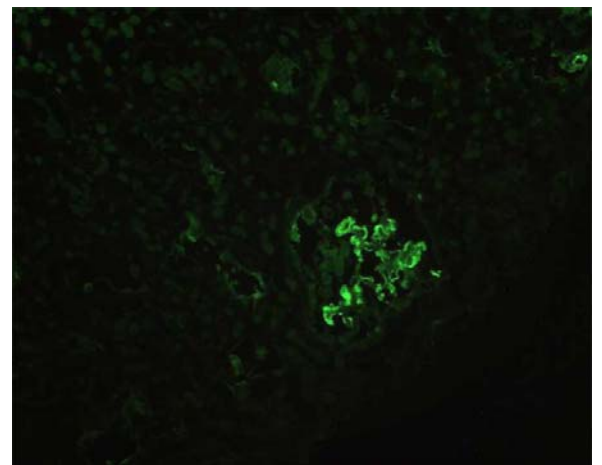
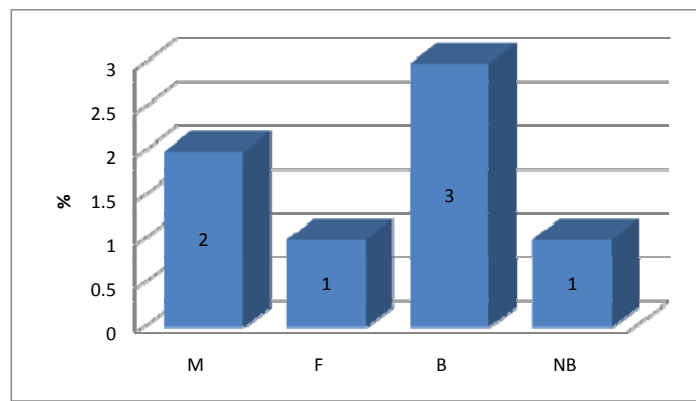


Figura 6: IF soro anti-C3, objetiva 20X, Optovar 1,6X.

B04-6198: Descrição: C4d2 (prancha 2), 4/10 glomérulos esclerosados, 2 com esclerose segmentar (figs. 1, 2 e 3). Infiltrado inflamatório moderado (i2), fibrose intersticial acentuada (ci3) e atrofia tubular acentuada (ct3) (fig. 4). Arteriolesclerose hialina (ah1) e espessamento fibroelástico intimal discreto (cv1). Imunofluorescência Direta (IF) positiva para IgM e C3, padrão segmentar em um glomérulo (figs. 5 e 6). Diagnóstico: Rejeição crônica mediada por anticorpos, glomeruloesclerose segmentar e focal, outros (ah1).

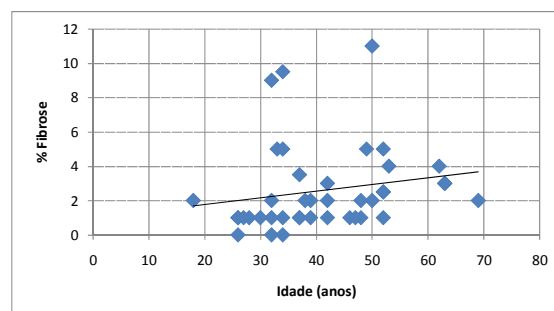
Foram analisados 47 biópsias renais e a mediana de fibrose nesses casos foi de 1% (0-11). O gênero masculino e a cor branca apresentaram maior mediana de fibrose (2% e 3% respectivamente), porém, não houve diferença significativa ( $T = 47,00$ ;  $p = 0,521$  e  $T = 110,50$ ;  $p = 0,092$ ; respectivamente) (Figura 26). A média de idade foi de 41,1 anos e teve correlação positiva e significativa com a %F ( $r=0,452$ ,  $p=0,005$ ) (Figura 27).

Figura 26 – Mediana da porcentagem de fibrose de 47 biópsias renais de pacientes transplantados no gênero masculino (M), feminino (F), na cor branca (B), não branca (NB).



( $T = 47,00$ ;  $p = 0,521$  e  $T = 110,50$ ;  $p = 0,092$ ; respectivamente)

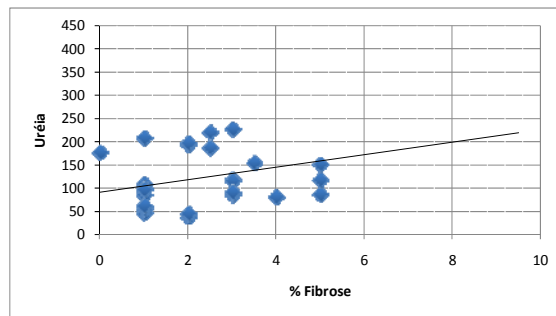
Figura 27 – Correlação entre porcentagem de fibrose e idade (anos) de 47 pacientes transplantados renais.



( $r=0,452$ ,  $p=0,005$ )

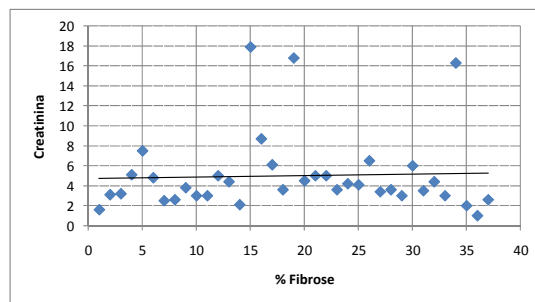
A correlação entre a %F e a uréia foi positiva e não significativa ( $r=0,246$ ;  $p=0,205$ ) (Figura 28). A correlação entre a %F e a creatinina foi positiva com tendência significativa ( $r=0,353$ ;  $p=0,0514$ ) (Figura 29).

Figura 28 – Correlação entre porcentagem de fibrose e os níveis de uréia de 28 pacientes transplantados renais.



( $r=0,246$ ;  $p=0,205$ )

Figura 29 – Correlação entre porcentagem de fibrose e os níveis de creatinina de 31 pacientes transplantados renais.

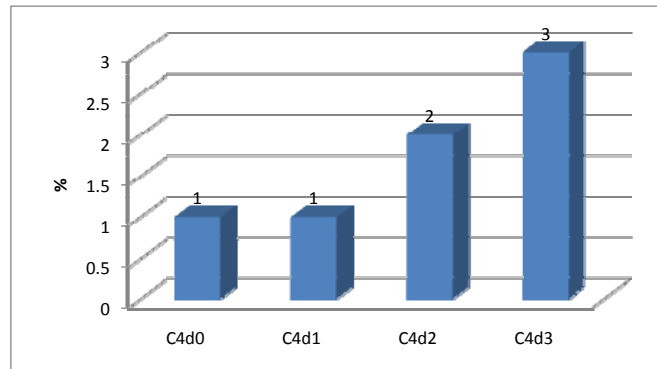


( $r=0,353$ ;  $p=0,0514$ )

A mediana da %F foi de 1% no grupo C4d0, 1% no C4d1, 2% no C4d2 e 3% no C4d3 ( $H=3,4$ ,  $p=0,32$ ) (Figura 30) e a correlação entre a intensidade de fibrose e a deposição de C4d foi positiva e não significativa ( $r=0,264$ ,  $p=0,113$ ) (Figura 31).

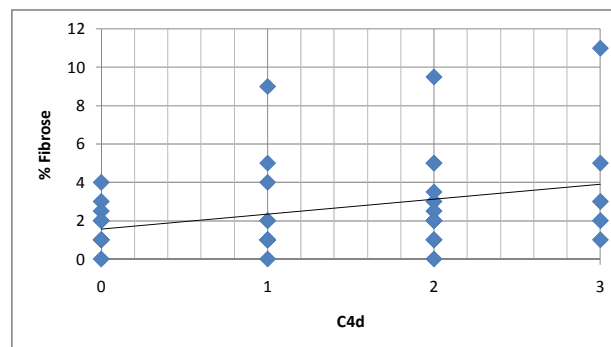


Figura 30 – Mediana da percentagem de fibrose em 47 biópsias de enxerto renal nos 4 grupos de acordo com a imunohistoquímica para C4d.



(H=3,4, p=0,32)

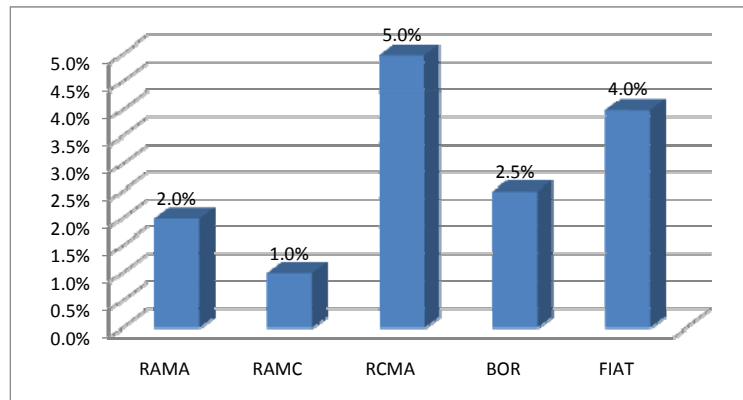
Figura 31 – Correlação entre percentagem de fibrose e C4d (classificado de acordo com a percentagem de marcação nos capilares peritubulares segundo Banff 07) em 47 biópsias de enxerto renal.



(r=0,264, p=0,113)

Na comparação da mediana da percentagem de fibrose de acordo com o diagnóstico a RAMA teve 2%, a RAMC 1%, a RCMA 5%, a BOR 2,5%, a FIAT 4%. (Figura 32).

Figura 32 – Mediana da percentagem de fibrose em 47 biópsias de enxerto renal, de acordo com o diagnóstico (Banff 07) rejeição aguda mediada por anticorpo (RAMA), rejeição aguda mediada por células (RAMC), Rejeição crônica mediada por anticorpos (RCMA), lesão borderline (BOR), fibrose intersticial e atrofia tubular (FIAT).



( $H=6,484$  ;  $p=0,166$ )

## DISCUSSÃO

Em nosso estudo nós analisamos as características epidemiológicas dos pacientes transplantados renais, houve predomínio do gênero masculino e da cor branca, estando de acordo com outros trabalhos, e a média de idade foi de  $39,9 \pm 11,0$  anos, inferior ao descrito por outros autores (Scornik *et al.*, 2007; Crispim *et al.*, 2008).

Com relação à cor são descritas disparidades no grupo de transplante renal. Sabe-se que os não-brancos tem alta média de falência renal comparado aos brancos (Press *et al.*, 2005). Além disso, é descrito que há um maior risco imunológico de rejeição e menor tempo de sobrevida do enxerto para o grupo de não-brancos (Langer *et al.*, 2005).

Em relação ao período desde o transplante até a realização da biópsia, é importante destacar que mais de 40% dos enxertos desenvolvem disfunção progressiva depois dos primeiros meses de transplante e perdem a função ao final de dez anos, apesar do uso de imunossupressores que previnem a rejeição (Paul, 1995). Porém, na última década, houve um aumento de opções de imunossupressores. Dessa forma, uma melhora na sobrevida do enxerto e do paciente em longo prazo está relacionado à introdução de novos e mais eficazes

medicamentos imunossupressores (Goldfarb-Rumyantzev *et al.*, 2006). Obtivemos a maior porcentagem de casos no período de até 30 dias transcorridos desde o transplante até a realização da biópsia, seguido do período de 1 a 5 anos. Um trabalho relata média de tempo de  $670 \pm 995$  dias (Demirci *et al.*, 2008), o que corresponderia ao nosso período de 1 a 5 anos.

Os doadores vivos representam menor porcentagem (42,2%), sendo que, em outros trabalhos existe uma variação de 33% (Scornik *et al.*, 2007) a 63% (Demirci *et al.*, 2008). Outro estudo mostra que 17,4% dos pacientes com rejeição e 14% dos pacientes sem rejeição receberam rim de doador vivo (Crispim *et al.*, 2008).

Nos pacientes analisados, os imunossupressores mais utilizados foram Prednisona, Ciclosporina A, Micofenolato Mofetil, Azatioprina e Tacrolimus. A prednisona é relatada como a medicação mais usada, seguida do esquema Ciclosporina/Tacrolimus, Micofenolato Mofetil e Tacrolimus (Crispim *et al.*, 2008). A Ciclosporina A é uma droga importante no esquema imunossupressor para a sobrevida do enxerto no primeiro ano, com taxas de sucesso de 90%, porém, uma desvantagem importante é a sua nefrotoxicidade. (Bennett *et al.*, 1996; Hariharan *et al.*, 2000).

Dentre os casos em que se conhece a doença do rim nativo através de dados da história dos pacientes descritos na solicitação da biópsias houve maior ocorrência de glomerulopatias (a maioria glomerulonefrite), nefrosclerose hipertensiva, nefropatia diabética e rim policístico. Sendo que, as três maiores causas de doença renal de estágio final descritas são glomerulonefrite (27,5%), nefrosclerose hipertensiva (16,8%) e nefropatia diabética (8%). Outras causas são nefrite intersticial (4%), doença renal policística (3%), nefrite lúpica (1,3%) e outras (3,4%) (Incidence and prevalence of ESRD. USRDS. United States Renal Data System, 1997).

Dentre os casos com infecção por vírus, o diagnóstico morfológico foi possível em 3 casos de CMV. Com relação aos casos de BKV e HSV o diagnóstico foi sorológico. Porém, é descrito que o aumento do diagnóstico, em especial de BKV, pode ser atribuído ao aumento do número de biópsias e ao uso adicional de técnicas como imunohistoquímica e microscopia eletrônica (Kazory e Ducloux, 2003). As avaliações histológicas das biópsias são necessárias para confirmar a presença da reativação do vírus no rim de transplantados renais (Khaled, 2004).

A identificação desses casos de infecção por vírus, provavelmente, se deve ao fato, de que os pacientes transplantados ao serem submetidos a fortes esquemas de imunossupressão, propiciam a manifestação de alguns vírus que poderiam já estar presente no organismo do paciente, mas de forma latente ou podem ter sido adquiridos através do enxerto do doador

soropositivo ou mesmo posteriormente ao transplante. A determinação da presença do CMV, HSV e BKV é importante, pois, podem provocar lesões que levaria a perda do enxerto renal.

Na análise do C4d encontramos maior porcentagem dos casos classificados como C4d0 e C4d1. Alguns trabalhos que classificam o C4d como positivo ou negativo mostram maior porcentagem de casos C4d- (Imai *et al.*, 2006; Demirci *et al.*, 2008; Espinosa *et al.*, 2009). Ao agruparmos nossos casos em C4d- e C4d+, também obtivemos maior porcentagem de C4d-.

Houve uma correlação negativa entre C4d e idade. Na comparação da mediana da idade o valor do grupo C4d- (39 anos) foi próximo ao do grupo C4d+ (42,7 anos). Alguns trabalhos mostram média de idade variando de 27,9 a 37,2 anos no grupo C4d- e de 33 a 41,2 anos no grupo C4d+ (Imai *et al.*, 2006; Demirci *et al.*, 2008; Espinosa *et al.*, 2009).

A maioria dos casos foi do gênero masculino, tanto em C4d- como em C4d+, sendo que a porcentagem do grupo C4d- (75%) foi superior ao do grupo C4d+ (52,9%), semelhante ao descrito na literatura (Espinosa *et al.*, 2009).

Houve maior número de casos com doador cadáver nos grupos C4d0, C4d1 e C4d3. Dentre os casos de doadores vivos nos 4 grupos prevaleceram os do tipo relacionado. Um trabalho mostra que nos casos C4d+ há uma relação de igualdade na proporção entre doadores cadáveres e vivos, da mesma forma que entre vivos relacionados e não relacionados. Nos casos C4d- há uma prevalência de doadores vivos, de 56,6% a 70%, sendo que a maioria, de 85,7% a 88,2%, são relacionados (Demirci *et al.*, 2008).

A média dos níveis de creatinina foi maior no grupo C4d3, sendo que alguns trabalhos mostram que casos C4d+ são os que têm valores mais altos de creatinina, variando entre 2,16 a 2,8 mg/dl (Imai *et al.*, 2006; Demirci *et al.*, 2008; Espinosa *et al.*, 2009). Quando subdividimos nossos casos em C4d- e C4d+, também observamos níveis mais altos de creatinina no grupo C4d+. Dessa forma, a positividade de C4d nos capilares peritubulares tem sido associada com altos níveis de creatinina e aumento do risco de falência renal (Sun *et al.*, 2005).

A Ciclosporina está como um dos imunossupressores mais utilizados no grupo C4d3. Sendo que, já foi demonstrado que a Ciclosporina não impede a deposição de C4d (Yang *et al.*, 2008). Além disso, é relatado que as lesões provocadas pela toxicidade da Ciclosporina ativa componentes do sistema complemento principalmente nos túbulos lesados e no interstício (Kim *et al.*, 2007).

Enquanto isso, o Micofenolato Mofetil, tem maior porcentagem de casos C4d0 e C4d1 comparado ao C4d2 e C4d3, e a Rapamicina não tem casos C4d3. Sendo que, é descrita a

---

associação dessas duas drogas à diminuição da deposição de C4d (Yang *et al.*, 2008). Micofenolato Mofetil é um forte inibidor não somente de células T mas também de células B. O Micofenolato Mofetil inibe a produção de células B *in vitro* e tem sido associado com redução da resposta humoral no enxerto de transplantados renais *in vivo* (Yang *et al.*, 2008). Um estudo mostra que, 5 dos 6 casos de rejeição crônica C4d positivos tratados com o esquema Micofenolato Mofetil / Tacrolimus teve 100% de sobrevivência no primeiro ano de transplante (Mauiyyedi *et al.*, 2001).

Com relação a Rapamicina, os relatos sobre seus efeitos na rejeição são contraditórios (Yang *et al.*, 2008). Alguns estudos têm sugerido que a Rapamicina sozinha não inibe a produção de anticorpos, apesar de ter um potente efeito inibidor sobre células T (Cai *et al.*, 2004). Outros relatos tem demonstrado que a Rapamicina é um potente inibidor de imunoglobulinas produzidas por linfócitos humanos *in vitro*, além de, inibir também a produção de anticorpos antígeno-específico durante o período de administração do medicamento (Chen *et al.*, 1993).

Portanto, a associação entre o tipo de medicação e a intensidade de deposição de C4d podem estar relacionadas, uma vez que imunossuppressores como o Micofenolato Mofetil e a Rapamicina podem inibir a imunidade humoral, conseqüentemente diminuindo a deposição de C4d e atenuando lesões como as produzidas na rejeição.

As estratégias de tratamento para os casos de rejeição humoral C4d positivos ainda são pouco claras. Algumas tentativas terapêuticas para casos de rejeição C4d+ têm sido relatadas com diferentes protocolos, quer isoladamente ou em combinação. Alguns incluem altas doses de Tacrolimus e Micofenolato Mofetil, imunoadsorção, plasmáferese, imunoglobulina intravenosa ou preparados anti-linfócitos (Bohmig *et al.*, 2000; Montgomery *et al.*, 2000; Crespo *et al.*, 2001; Theruvath *et al.*, 2001).

Ocorreu positividade para IgA, IgM e C3 nos grupos C4d0, 1, 2 e 3, IgG e fibrinogênio nos grupos C4d2 e 3, C1q nos grupos C4d1, 2 e 3. Porém, IgA foi positiva somente em cilindros tubulares, que constitui um achado freqüente na análise das biópsias renais. Já a co-expressão do C4d com IgG e componentes iniciais da cascata do complemento, como o C3, sugerem a ativação da via clássica do complemento (Ziccardi, 1981; Kim e Jeong, 2003). Porém, outros trabalhos, relatam que a deposição de C4d pode não ser acompanhada pela positividade para imunoglobulinas ou outros desencadeadores da via clássica do complemento (Nickeleit *et al.*, 2002). Na ativação da via das lecitinas, de fato, não ocorre depósito de imunoglobulinas ou C1q (Matsushita e Fujita, 1996).

Além disso, alguns casos com co-expressão de C4d e IgM ou C3 apresentaram na morfologia lesões como GESF ou alterações vasculares como AH e CV. Nesses casos essa co-expressão não estaria relacionada à ativação da via clássica do complemento, mas sim, a fatores envolvendo a patogênese dessas lesões.

Em nosso trabalho, nós encontramos 25% de RAMA e 11,7% de RAMC, outros estudos mostram que a ocorrência de rejeição aguda varia em torno de 28% a 51% (Regele *et al.*, 2001; Bohmig e Regele, 2003). Com relação a rejeição crônica, alguns trabalhos mostram ocorrência de 34% a 61% em casos C4d positivos (Mauiyyedi *et al.*, 2001; Vongwiwatana *et al.*, 2004). Obtivemos 25% de BOR, a literatura relata 23,7% em casos C4d positivos (Jianghua *et al.*, 2005). Quanto aos casos de FIAT encontramos 18,3%, outros autores relatam ocorrência de 26,9% (Moreso *et al.*, 2007). Além disso, em alguns pacientes houve rejeição mista, ou seja, concomitância de RMA e RMC demonstrando uma resposta imunológica com uma via humoral e outra celular, produzindo vários tipos de lesões morfológicas.

Quanto a deposição de C4d, somente os casos com diagnóstico de RMA tiveram classificação C4d3, porém, houve depósitos de C4d em menor intensidade (C4d1 e C4d2) em alguns casos de RMC, BOR e FIAT, conforme é descrito por outros autores (Jianghua *et al.*, 2005). É importante lembrar que o C4d é um marcador independente de resposta humoral. Conseqüentemente, depósitos de C4d podem ser detectados em associação com vários tipos de lesões morfológicas (Nickelait e Mihatsch, 2003).

Portanto, para determinar o diagnóstico de RMA, contamos com um importante instrumento, o C4d, porém, a classificação C4d2 não nos permitiu fechar o diagnóstico com base somente na imunohistoquímica, por isso, foi preciso fazer uma associação com os tipos de lesões morfológicas e quando possível com a clínica. Mas, nem todos os casos apresentavam lesões características de RMA ou RMC, algumas lesões eram inespecíficas, dificultando o diagnóstico. Portanto, o C4d é um bom marcador, mas ainda apresenta limitações, sendo importante a associação de várias técnicas (histoquímica e imunohistoquímica) para dar um diagnóstico mais preciso.

Dentre os outros diagnósticos não relacionados à rejeição, encontramos 25,4% de AH, 20,5% de CV, 11,5% de NTII, 11,5% de NTCD. Um estudo mostra valores de 91% de cv e 5% de NTCD em casos de rejeição crônica C4d positivos (Mauiyyedi *et al.*, 2001). Em especial ah e cv são lesões inespecíficas que podem ser encontradas em casos de hipertensão arterial ou nefrotoxicidade por drogas.

O aumento progressivo da idade também é fator de risco e encontramos uma correlação positiva e significativa entre a idade e a porcentagem de fibrose. O aparecimento

---

da fibrose é uma seqüela de inflamação ou lesão, onde fatores humorais são liberados por células do infiltrado inflamatório ou residentes que estimulam o parênquima renal a aumentar a produção de componentes da matriz extracelular, entre eles o colágeno (Okada *et al.*, 1996). Sendo que, essa fibrose pode ser o resultado de uma série de danos ao enxerto decorrentes do tempo, resultando em lesão permanente (Nankivell *et al.*, 2003). Portanto, as lesões em um rim transplantado, principalmente em pacientes de idade mais avançada, podem ser resultado de uma combinação de doenças pré-existentes do doador e de outros agravos subseqüentes ao transplante.

A intensidade de fibrose intersticial é o processo patológico que está mais fortemente relacionado com a deterioração da função do enxerto (Sund *et al.*, 1999). Assim, a quantificação da fibrose torna-se um importante marcador da condição do enxerto e do prognóstico do paciente (Seron e Moreso, 2002). Dessa forma, nos casos onde a porcentagem de fibrose é maior espera-se que a função renal esteja prejudicada, resultando em aumento dos níveis séricos de creatinina, o que explicaria a correlação positiva entre a fibrose e os níveis de creatinina.

Há relatos indicando que a maior porcentagem (34%) de pacientes com fibrose intersticial apresentam C4d- (Ranjan *et al.*, 2008). Por outro lado, alguns autores mostram que a maioria dos pacientes (52,6%) que apresentam fibrose moderada-intensa é C4d+ (Espinosa *et al.*, 2009).

Em nosso trabalho o grupo que apresentou maior porcentagem de fibrose foi o C4d3, que também teve níveis mais elevados de creatinina, e houve uma correlação positiva da fibrose com a intensidade de deposição de C4d. Dessa forma, a maior deposição de C4d pode estar relacionado ao pior prognóstico.

A porcentagem de fibrose foi maior nos diagnósticos FIAT e RCMA, visto que, neles as lesões estão relacionadas ao aumento de quantidade de colágeno intersticial. No caso da FIAT de forma inespecífica, pois, não se conhece a etiologia do processo e no caso da RCMA pela própria cronicidade levando ao remodelamento do compartimento intersticial do enxerto.

Portanto, o conhecimento dos fatores de risco em pacientes transplantados renais, através da caracterização epidemiológica e da quantificação de marcadores de prognóstico, como a fibrose intersticial, além de um diagnóstico mais preciso utilizando a marcação para C4d, podem ser um importante suporte na intervenção clínica, a fim de se evitar perda do enxerto, desconfortos ao paciente e outras complicações.



### **CONCLUSÕES**

- I. A média de idade foi de 39,9 anos e houve um predomínio do gênero masculino e da cor branca. A maioria dos pacientes era proveniente de Uberaba-MG e tinham até 30 dias transcorridos do transplante até a realização da biópsia. Na maioria das vezes o enxerto foi proveniente de doador cadáver, sendo que a maioria desses era não relacionado. O medicamento imunossupressor mais utilizado foi a Prednisona e a doença do rim nativo mais comum glomerulopatia, em especial a glomerulonefrite. A média dos níveis de uréia e creatinina estavam acima do normal;
- II. Foi feita a detecção de C4d no capilar peritubular de 85 biópsias renais de pacientes transplantados renais;
- III. A maioria dos casos foi classificado com C4d0 e C4d1, conseqüentemente a maioria foi C4d-;

- 
- IV. De acordo com os resultados do C4d pudemos determinar os casos com RMA que representou 36,7% dos nossos casos. O diagnóstico preciso é importante para direcionar a melhor escolha no tratamento;
  - V. Observamos uma relação entre o tipo de medicação e os níveis de deposição de C4d. Sendo que, a Ciclosporina A e a Prednisona estão mais associados ao C4d3 e a Rapamicina e o Micofenolato Mofetil mais relacionados ao C4d0 e C4d1.
  - VI. Não encontramos relação entre o tipo de doador do enxerto (vivo ou cadáver, relacionado ou não) com os níveis de deposição de C4d.
  - VII. Quanto maiores os valores de uréia e creatinina maior a deposição de C4d. Dessa forma, os casos C4d positivos estariam relacionados a diminuição da função renal.
  - VIII. A deposição de C4d estaria relacionada a positividade para IgG e C3 indicando ativação da via clássica do complemento. Por outro lado, em alguns casos pode fazer parte da patogênese da GESF e da AH e CV.
  - IX. A mediana de fibrose intersticial renal nas biópsias dos pacientes transplantados renais foi de 1% (1-11%);
  - X. Pacientes do gênero masculino e da cor branca apresentam mais fibrose intersticial;
  - XI. A medida que ocorre aumento da idade aumenta também a fibrose intersticial no enxerto renal;
  - XII. A maior deposição de C4d está associada a maior quantidade de fibrose indicando pior prognóstico;
  - XIII. A maior intensidade de fibrose intersticial no enxerto renal está relacionada a níveis mais elevados de creatinina, indicando diminuição da função renal;
  - XIV. Os diagnósticos FIAT e RCMA tiveram maior intensidade da fibrose, indicando lesões crônicas que levaram ao aumento da quantidade de colágeno no interstício do enxerto renal.

### **CONCLUSÃO GERAL**

O C4d é um importante marcador de resposta imune humoral e foi imprescindível para determinarmos os diagnósticos de rejeição humoral, porém, apresenta suas limitações. A co-expressão de C4d com IgG e C3 indica que a via clássica do complemento poderia

estar sendo ativada. Nesse estudo observamos que, a maior quantidade de C4d depositado em capilares peritubulares estaria relacionado com maior intensidade de fibrose intersticial e a níveis séricos de creatinina mais altos, indicando diminuição da função renal e pior prognóstico.

## REFERÊNCIAS

1. Afzali, B., Taylor, A. L. e Goldsmith, D. J. What we CAN do about chronic allograft nephropathy: role of immunosuppressive modulations. Kidney Int, v.68, n.6, Dec, p.2429-43. 2005.
2. Andrews, C. A., Shah, K. V., Daniel, R. W., Hirsch, M. S. e Rubin, R. H. A serological investigation of BK virus and JC virus infections in recipients of renal allografts. J Infect Dis, v.158, n.1, Jul, p.176-81. 1988.
3. Andrews, P. A., Finn, J. E., Lloyd, C. M., Zhou, W., Mathieson, P. W. e Sacks, S. H. Expression and tissue localization of donor-specific complement C3 synthesized in human renal allografts. Eur J Immunol, v.25, n.4, Apr, p.1087-93. 1995.
4. Anton, A., Cervera, C., Pumarola, T., Moreno, A., Benito, N., Linares, L., Esteva, C., Cofan, F., Jimenez De Anta, M. T. e Marcos, M. A. Human herpesvirus 7 primary infection in kidney transplant recipients. Transplantation, v.85, n.2, Jan 27, p.298-302. 2008.
5. Azuma, H. e Tilney, N. L. Immune and nonimmune mechanisms of chronic rejection of kidney allografts. J Heart Lung Transplant, v.14, n.6 Pt 2, Nov-Dec, p.S136-42. 1995.

6. Bachman, U., Biava, C., Amend, W., Feduska, N., Melzer, J., Salvatierra, O. e Vincenti, F. The clinical course of IgA-nephropathy and Henoch-Schonlein purpura following renal transplantation. Transplantation, v.42, n.5, Nov, p.511-5. 1986.
7. Bakker, R. C., Hollander, A. A., Mallat, M. J., Bruijn, J. A., Paul, L. C. e De Fijter, J. W. Conversion from cyclosporine to azathioprine at three months reduces the incidence of chronic allograft nephropathy. Kidney Int, v.64, n.3, Sep, p.1027-34. 2003.
8. Benito, N., Moreno, A., Pumarola, T. e Marcos, M. A. [Human herpesvirus type 6 and type 7 in transplant recipients]. Enferm Infecc Microbiol Clin, v.21, n.8, Oct, p.424-32. 2003.
9. Bennett, W. M., Demattos, A., Meyer, M. M., Andoh, T. e Barry, J. M. Chronic cyclosporine nephropathy in renal transplantation. Transplant Proc, v.28, n.4, Aug, p.2100-3. 1996.
10. Bogers, W. M., Stad, R. K., Van Es, L. A. e Daha, M. R. Immunoglobulin A: interaction with complement, phagocytic cells and endothelial cells. Complement Inflamm, v.8, n.5-6, p.347-58. 1991.
11. Bohmig, G. e Regele, H. Diagnosis and treatment of antibody-mediated kidney allograft rejection. Transpl Int, v.16, n.11, Nov, p.773-87. 2003.
12. Bohmig, G. A., Exner, M., Watschinger, B. e Regele, H. Acute humoral renal allograft rejection. Curr Opin Urol, v.12, n.2, Mar, p.95-9. 2002.
13. Bohmig, G. A., Regele, H., Saemann, M. D., Exner, M., Druml, W., Kovarik, J., Horl, W. H., Zlabinger, G. J. e Watschinger, B. Role of humoral immune reactions as target for antirejection therapy in recipients of a spousal-donor kidney graft. Am J Kidney Dis, v.35, n.4, Apr, p.667-73. 2000.
14. Cai, J., Terasaki, P. I., Bloom, D. D., Torrealba, J. R., Friedl, A., Sollinger, H. W. e Knechtle, S. J. Correlation between human leukocyte antigen antibody production and serum creatinine in patients receiving sirolimus monotherapy after Campath-1H induction. Transplantation, v.78, n.6, Sep 27, p.919-24. 2004.
15. Campbell, R. D., Dodds, A. W. e Porter, R. R. The binding of human complement component C4 to antibody-antigen aggregates. Biochem J, v.189, n.1, Jul 1, p.67-80. 1980.
16. Campbell, R. D., Gagnon, J. e Porter, R. R. Amino acid sequence around the thiol and reactive acyl groups of human complement component C4. Biochem J, v.199, n.2, Nov 1, p.359-70. 1981.
17. Cavdar, C., Celtik, A., Saglam, F., Sifil, A., Atila, K., Celik, A., Tosun, P., Olmuscelik, O., Bora, S., Gulay, H. e Camsari, T. Cytomegalovirus disease in renal transplant recipients: a single-center experience. Ren Fail, v.30, n.5, p.503-6. 2008.

18. Cendoroglo Neto, M., Draibe, S. A., Silva, A. E., Ferraz, M. L., Granato, C., Pereira, C. A., Sesso, R. C., Gaspar, A. M. e Ajzen, H. Incidence of and risk factors for hepatitis B virus and hepatitis C virus infection among haemodialysis and CAPD patients: evidence for environmental transmission. Nephrol Dial Transplant, v.10, n.2, p.240-6. 1995.
19. Chakravarti, D. N., Campbell, R. D. e Porter, R. R. The chemical structure of the C4d fragment of the human complement component C4. Mol Immunol, v.24, n.11, Nov, p.1187-97. 1987.
20. Chen, H., Luo, H., Daloz, P., Xu, D., Shan, X., St-Louis, G. e Wu, J. Long-term in vivo effects of rapamycin on humoral and cellular immune responses in the rat. Immunobiology, v.188, n.3, Jul, p.303-15. 1993.
21. Collins, A. B., Schneeberger, E. E., Pascual, M. A., Saidman, S. L., Williams, W. W., Tolkoff-Rubin, N., Cosimi, A. B. e Colvin, R. B. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. J Am Soc Nephrol, v.10, n.10, Oct, p.2208-14. 1999.
22. Colvin, R. B., Cohen, A. H., Saiontz, C., Bonsib, S., Buick, M., Burke, B., Carter, S., Cavallo, T., Haas, M., Lindblad, A., Manivel, J. C., Nast, C. C., Salomon, D., Weaver, C. e Weiss, M. Evaluation of pathologic criteria for acute renal allograft rejection: reproducibility, sensitivity, and clinical correlation. J Am Soc Nephrol, v.8, n.12, Dec, p.1930-41. 1997.
23. Cortesini, R. Transplantation in the new millenium. Transplant Proc, v.33, n.1-2, Feb-Mar, p.47-8. 2001.
24. Cosio, F. G., Pelletier, R. P., Falkenhain, M. E., Henry, M. L., Elkhammas, E. A., Davies, E. A., Bumgardner, G. L. e Ferguson, R. M. Impact of acute rejection and early allograft function on renal allograft survival. Transplantation, v.63, n.11, Jun 15, p.1611-5. 1997.
25. Cosio, F. G., Sedmak, D. D., Mahan, J. D. e Nahman, N. S., Jr. Localization of decay accelerating factor in normal and diseased kidneys. Kidney Int, v.36, n.1, Jul, p.100-7. 1989.
26. CPGP-UFTM. Roteiro para confecção de tese do Curso de Pós-graduação em Patologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Uberaba, Minas Gerais: <http://www.uftm.edu.br/patolo.html>, acesso em: 13 de março de 2009.
27. Crespo, M., Pascual, M., Tolkoff-Rubin, N., Mauiyyedi, S., Collins, A. B., Fitzpatrick, D., Farrell, M. L., Williams, W. W., Delmonico, F. L., Cosimi, A. B., Colvin, R. B. e Saidman, S. L. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. Transplantation, v.71, n.5, Mar 15, p.652-8. 2001.
28. Crispim, J. C., Duarte, R. A., Soares, C. P., Costa, R., Silva, J. S., Mendes-Junior, C. T., Wastowski, I. J., Faggioni, L. P., Saber, L. T. e Donadi, E. A. Human leukocyte

- antigen-G expression after kidney transplantation is associated with a reduced incidence of rejection. Transpl Immunol, v.18, n.4, Feb, p.361-7. 2008.
29. Demirci, C., Sen, S., Sezak, M., Sarsik, B., Hoscoskun, C. e Toz, H. Incidence and importance of c4d deposition in renal allograft dysfunction. Transplant Proc, v.40, n.1, Jan-Feb, p.174-7. 2008.
  30. Dias, E. C. A., Camara, N. O. S., Pacheco E Silva Filho, A. e Manfro, R. C. Monitorização Molecular da Rejeição de Transplantes Renais. J Bras Nefrol, v.27, n.2, p.76 - 83. 2005.
  31. Duque, N., Gomez-Guerrero, C. e Egido, J. Interaction of IgA with Fc alpha receptors of human mesangial cells activates transcription factor nuclear factor-kappa B and induces expression and synthesis of monocyte chemoattractant protein-1, IL-8, and IFN-inducible protein 10. J Immunol, v.159, n.7, Oct 1, p.3474-82. 1997.
  32. Egli, A., Binggeli, S., Bodaghi, S., Dumoulin, A., Funk, G. A., Khanna, N., Leuenberger, D., Gosert, R. e Hirsch, H. H. Cytomegalovirus and polyomavirus BK posttransplant. Nephrol Dial Transplant, v.22 Suppl 8, Sep, p.viii72-viii82. 2007.
  33. Erdei, A., Fust, G. e Gergely, J. The role of C3 in the immune response. Immunol Today, v.12, n.9, Sep, p.332-7. 1991.
  34. Espinosa, M., Ortega, R., Gomez-Carrasco, J. M., Lopez-Rubio, F., Lopez-Andreu, M., Lopez-Oliva, M. O. e Aljama, P. Mesangial C4d deposition: a new prognostic factor in IgA nephropathy. Nephrol Dial Transplant, v.24, n.3, Mar, p.886-91. 2009.
  35. Ferreira, U., Lima, M., Scafi, C., Fucs, M. e Murad, M. Transplante renal: aspectos atuais. Rev Bras Med. 50: 1499-507 p. 1993.
  36. Feucht, H. E., Felber, E., Gokel, M. J., Hillebrand, G., Nattermann, U., Brockmeyer, C., Held, E., Riethmuller, G., Land, W. e Albert, E. Vascular deposition of complement-split products in kidney allografts with cell-mediated rejection. Clin Exp Immunol, v.86, n.3, Dec, p.464-70. 1991.
  37. Feucht, H. E., Schneeberger, H., Hillebrand, G., Burkhardt, K., Weiss, M., Riethmuller, G., Land, W. e Albert, E. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. Kidney Int, v.43, n.6, Jun, p.1333-8. 1993.
  38. Foegh, M. L. Eicosanoids and platelet activating factor mechanisms in organ rejection. Transplant Proc, v.20, n.6, Dec, p.1260-3. 1988.
  39. Frank, M. M. Complement in the pathophysiology of human disease. N Engl J Med, v.316, n.24, Jun 11, p.1525-30. 1987.
  40. Frank, M. M. e Fries, L. F. The role of complement in inflammation and phagocytosis. Immunol Today, v.12, n.9, Sep, p.322-6. 1991.
  41. Furness, P. N. Acp. Best practice no 160. Renal biopsy specimens. J Clin Pathol, v.53, n.6, Jun, p.433-8. 2000.

- 
42. Giannakakis, K., Feriozzi, S., Perez, M., Faraggiana, T. e Muda, A. O. Aberrantly glycosylated IgA1 in glomerular immune deposits of IgA nephropathy. J Am Soc Nephrol, v.18, n.12, Dec, p.3139-46. 2007.
  43. Goldfarb-Rumyantzev, A. S., Smith, L., Shihab, F. S., Baird, B. C., Habib, A. N., Lin, S. J. e Barenbaum, L. L. Role of maintenance immunosuppressive regimen in kidney transplant outcome. Clin J Am Soc Nephrol, v.1, n.3, May, p.563-74. 2006.
  44. Hariharan, S., Johnson, C. P., Bresnahan, B. A., Taranto, S. E., Mcintosh, M. J. e Stablein, D. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. N Engl J Med, v.342, n.9, Mar 2, p.605-12. 2000.
  45. Harrison, R. A., Thomas, M. L. e Tack, B. F. Sequence determination of the thiolester site of the fourth component of human complement. Proc Natl Acad Sci U S A, v.78, n.12, Dec, p.7388-92. 1981.
  46. Hayry, P. e Mennander, A. Will chronic rejection ever respond to treatment? Transpl Int, v.5 Suppl 1, p.S578-9. 1992.
  47. Herzenberg, A. M., Gill, J. S., Djurdjev, O. e Magil, A. B. C4d deposition in acute rejection: an independent long-term prognostic factor. J Am Soc Nephrol, v.13, n.1, Jan, p.234-41. 2002.
  48. Hirsch, H. H., Knowles, W., Dickenmann, M., Passweg, J., Klimkait, T., Mihatsch, M. J. e Steiger, J. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. N Engl J Med, v.347, n.7, Aug 15, p.488-96. 2002.
  49. Hirsch, H. H. e Steiger, J. Polyomavirus BK. Lancet Infect Dis, v.3, n.10, Oct, p.611-23. 2003.
  50. Hostetter, T. H. Chronic transplant rejection. Kidney Int, v.46, n.1, Jul, p.266-79. 1994.
  51. Humar, A., Denny, R., Matas, A. J. e Najarian, J. S. Graft and quality of life outcomes in older recipients of a kidney transplant. Exp Clin Transplant, v.1, n.2, Dec, p.69-72. 2003.
  52. Hunsicker, L. G. e Held, P. J. The role of HLA matching for cadaveric renal transplants in the cyclosporine era. Semin Nephrol, v.12, n.4, Jul, p.293-303. 1992.
  53. Imai, N., Nishi, S., Alchi, B., Ueno, M., Fukase, S., Arakawa, M., Saito, K., Takahashi, K. e Gejyo, F. Immunohistochemical evidence of activated lectin pathway in kidney allografts with peritubular capillary C4d deposition. Nephrol Dial Transplant, v.21, n.9, Sep, p.2589-95. 2006.
  54. Incidence and prevalence of ESRD. USRDS. United States Renal Data System. Am J Kidney Dis, v.30, n.2 Suppl 1, Aug, p.S40-53. 1997.



- 
55. Jianghua, C., Wenqing, X., Huiping, W., Juan, J., Jianyong, W. e Qiang, H. C4d as a significant predictor for humoral rejection in renal allografts. Clin Transplant, v.19, n.6, Dec, p.785-91. 2005.
56. Johnson, C. P., Kuhn, E. M., Hariharan, S., Hartz, A. J., Roza, A. M. e Adams, M. B. Pre-transplant identification of risk factors that adversely affect length of stay and charges for renal transplantation. Clin Transplant, v.13, n.2, Apr, p.168-75. 1999.
57. Julian, B. A. e Novak, J. IgA nephropathy: an update. Curr Opin Nephrol Hypertens, v.13, n.2, Mar, p.171-9. 2004.
58. Kim, S. H. e Jeong, H. J. Glomerular C4d deposition indicates in situ classic complement pathway activation, but is not a marker for lupus nephritis activity. Yonsei Med J, v.44, n.1, Feb, p.75-80. 2003.
59. Kim, Y. O., Lim, S. W., Li, C., Kang, H. J., Ahn, K. O., Yang, H. J., Ghee, J. Y., Kim, S. H., Kim, J. Y., Choi, B. S., Kim, J. e Yang, C. W. Activation of intrarenal complement system in mouse model for chronic cyclosporine nephrotoxicity. Yonsei Med J, v.48, n.3, Jun 30, p.517-25. 2007.
60. Koo, D. D., Roberts, I. S., Quiroga, I., Procter, J., Barnardo, M. C., Sutton, M., Cerundolo, L., Davies, D. R., Friend, P. J., Morris, P. J. e Fuggle, S. V. C4d deposition in early renal allograft protocol biopsies. Transplantation, v.78, n.3, Aug 15, p.398-403. 2004.
61. Kreis, H. A. e Ponticelli, C. Causes of late renal allograft loss: chronic allograft dysfunction, death, and other factors. Transplantation, v.71, n.11 Suppl, Jun 15, p.SS5-9. 2001.
62. Lai, K. N., Tang, S. C., Guh, J. Y., Chuang, T. D., Lam, M. F., Chan, L. Y., Tsang, A. W. e Leung, J. C. Polymeric IgA1 from patients with IgA nephropathy upregulates transforming growth factor-beta synthesis and signal transduction in human mesangial cells via the renin-angiotensin system. J Am Soc Nephrol, v.14, n.12, Dec, p.3127-37. 2003.
63. Langer, R. M., Hidvegi, M. e Jaray, J. Significant differences in the efficacy of kidney transplantation between Hungarian Caucasians and Gypsies. Transplant Proc, v.37, n.2, Mar, p.729-30. 2005.
64. Law, S. K., Lichtenberg, N. A., Holcombe, F. H. e Levine, R. P. Interaction between the labile binding sites of the fourth (C4) and fifth (C5) human complement proteins and erythrocyte cell membranes. J Immunol, v.125, n.2, Aug, p.634-9. 1980.
65. Lederer, S. R., Kluth-Pepper, B., Schneeberger, H., Albert, E., Land, W. e Feucht, H. E. Impact of humoral alloreactivity early after transplantation on the long-term survival of renal allografts. Kidney Int, v.59, n.1, Jan, p.334-41. 2001.
66. Lim, H. W. The complement system. Activation, modulation, and clinical relevance. Dermatol Clin, v.8, n.4, Oct, p.609-18. 1990.

- 
67. Liu, M., Ji, S. M., Tang, Z., Ji, D. X., Chen, H. P., Liu, Z. H. e Li, L. S. C4d-positive acute humoral renal allograft rejection: rescue therapy by immunoabsorption in combination with tacrolimus and mycophenolate mofetil. Transplant Proc, v.36, n.7, Sep, p.2101-3. 2004.
68. Matsushita, M. e Fujita, T. The lectin pathway. Res Immunol, v.147, n.2, Feb, p.115-8. 1996.
69. Mattinzoli, D., Giardino, L. A., Corbelli, A., Armelloni, S., Li, M., Berra, S. e Rastaldi, M. P. [The renal biopsy in the post-genomic era.]. G Ital Nefrol, v.24, n.5, Sep-Oct, p.415-24. 2007.
70. Mauiyyedi, S., Crespo, M., Collins, A. B., Schneeberger, E. E., Pascual, M. A., Saidman, S. L., Tolkoff-Rubin, N. E., Williams, W. W., Delmonico, F. L., Cosimi, A. B. e Colvin, R. B. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. J Am Soc Nephrol, v.13, n.3, Mar, p.779-87. 2002.
71. Mauiyyedi, S., Pelle, P. D., Saidman, S., Collins, A. B., Pascual, M., Tolkoff-Rubin, N. E., Williams, W. W., Cosimi, A. A., Schneeberger, E. E. e Colvin, R. B. Chronic humoral rejection: identification of antibody-mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. J Am Soc Nephrol, v.12, n.3, Mar, p.574-82. 2001.
72. Mazzali, M., Ribeiro-Alves, M. A. e Alves Filho, G. Percutaneous renal graft biopsy: a clinical, laboratory and pathological analysis. Sao Paulo Med J, v.117, n.2, Mar 4, p.57-62. 1999.
73. Mazzarolo Cruz, H. M., Cruz, J., Silva, A. L., Jr., Saldanha, L. B. e De Oliveira Penna, D. Prevalence of adult primary glomerular diseases: retrospective analysis of 206 kidney biopsies (1990-1993). Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo, v.51, n.1, Jan-Feb, p.3-6. 1996.
74. Meier-Kriesche, H. U., Schold, J. D. e Kaplan, B. Long-term renal allograft survival: have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies? Am J Transplant, v.4, n.8, Aug, p.1289-95. 2004a.
75. Meier-Kriesche, H. U., Schold, J. D., Srinivas, T. R. e Kaplan, B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. Am J Transplant, v.4, n.3, Mar, p.378-83. 2004b.
76. Miyazaki, R., Kuroda, M., Akiyama, T., Otani, I., Tofuku, Y. e Takeda, R. Glomerular deposition and serum levels of complement control proteins in patients with IgA nephropathy. Clin Nephrol, v.21, n.6, Jun, p.335-40. 1984.
77. Moll, S. e Pascual, M. Humoral rejection of organ allografts. Am J Transplant, v.5, n.11, Nov, p.2611-8. 2005.
78. Montgomery, R. A., Zachary, A. A., Racusen, L. C., Leffell, M. S., King, K. E., Burdick, J., Maley, W. R. e Ratner, L. E. Plasmapheresis and intravenous immune

- globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients. Transplantation, v.70, n.6, Sep 27, p.887-95. 2000.
79. Morales, J. M. Immunosuppressive treatment and progression of histologic lesions in kidney allografts. Kidney Int Suppl, n.99, Dec, p.S124-30. 2005.
80. Moreso, F., Seron, D., O'valle, F., Ibernón, M., Goma, M., Hueso, M., Cruzado, J. M., Bestard, O., Duarte, V., Del Moral, R. G. e Grinyo, J. M. Immunephenotype of glomerular and interstitial infiltrating cells in protocol renal allograft biopsies and histological diagnosis. Am J Transplant, v.7, n.12, Dec, p.2739-47. 2007.
81. Muller, G. A., Schettler, V., Muller, C. A. e Strutz, F. Prevention of progression of renal fibrosis: how far are we? Kidney Int Suppl, v.54, May, p.S75-82. 1996.
82. Nankivell, B. J., Borrows, R. J., Fung, C. L., O'connell, P. J., Allen, R. D. e Chapman, J. R. The natural history of chronic allograft nephropathy. N Engl J Med, v.349, n.24, Dec 11, p.2326-33. 2003.
83. \_\_\_\_\_. Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. Transplantation, v.78, n.2, Jul 27, p.242-9. 2004.
84. Nickleit, V. e Mihatsch, M. J. Kidney transplants, antibodies and rejection: is C4d a magic marker? Nephrol Dial Transplant, v.18, n.11, Nov, p.2232-9. 2003.
85. Nickleit, V., Zeiler, M., Gudat, F., Thiel, G. e Mihatsch, M. J. Detection of the complement degradation product C4d in renal allografts: diagnostic and therapeutic implications. J Am Soc Nephrol, v.13, n.1, Jan, p.242-51. 2002.
86. Noronha, I. L., Schor, N., Coelho, S. N., Jorgetti, V., Romão Junior, J. E., Zatz, R. e Burdmann, E. A. Nephrology, dialysis and transplantation in Brazil. Nephrol Dial Transplant, v.12, n.11, Nov, p.2234-43. 1997.
87. Okada, H., Strutz, F., Danoff, T. M. e Neilson, E. G. Possible pathogenesis of renal fibrosis. Kidney Int Suppl, v.54, May, p.S37-8. 1996.
88. Paul, L. C. Chronic renal transplant loss. Kidney Int, v.47, n.6, Jun, p.1491-9. 1995.
89. \_\_\_\_\_. Pathophysiology of chronic renal allograft rejection. Transplant Proc, v.31, n.7, Nov, p.2715-6. 1999.
90. Pereira, L., Chang, J., Fadi-Romão, M., Abensur, H., Araújo, M., Noronha, I., Campagnari, J. e Romão-Júnior, J. Qualidade de vida relacionada à saúde em paciente transplantado renal. J Bras Nefrol, v.25, n.1, p.10-6. 2003.
91. Peres, L. A. B., Ann, H. K., Camargo, M. T. A., Rohde, N. R. S., Matsuo, T., Usocovich, V. F. M. e Delfino, V. D. A. Análise da sobrevida de enxertos e receptores renais realizados na cidade de Cascavel, PR. J Bras Nefrol, v.25, n.3, p.133-41. 2003.

- 
92. Porter, R. R. e Reid, K. B. Activation of the complement system by antibody-antigen complexes: the classical pathway. Adv Protein Chem, v.33, p.1-71. 1979.
93. Pratt, J. R., Basheer, S. A. e Sacks, S. H. Local synthesis of complement component C3 regulates acute renal transplant rejection. Nat Med, v.8, n.6, Jun, p.582-7. 2002.
94. Press, E. M. e Gagnon, J. Human complement component C4. Structural studies on the fragments derived from C4b by cleavage with C3b inactivator. Biochem J, v.199, n.2, Nov 1, p.351-7. 1981.
95. Press, R., Carrasquillo, O., Nickolas, T., Radhakrishnan, J., Shea, S. e Barr, R. G. Race/ethnicity, poverty status, and renal transplant outcomes. Transplantation, v.80, n.7, Oct 15, p.917-24. 2005.
96. Racusen, L. C., Solez, K., Colvin, R. B., Bonsib, S. M., Castro, M. C., Cavallo, T., Croker, B. P., Demetris, A. J., Drachenberg, C. B., Fogo, A. B., Furness, P., Gaber, L. W., Gibson, I. W., Glotz, D., Goldberg, J. C., Grande, J., Halloran, P. F., Hansen, H. E., Hartley, B., Hayry, P. J., Hill, C. M., Hoffman, E. O., Hunsicker, L. G., Lindblad, A. S., Yamaguchi, Y. e Et Al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. Kidney Int, v.55, n.2, Feb, p.713-23. 1999.
97. Randhawa, P. S. e Demetris, A. J. Nephropathy due to polyomavirus type BK. N Engl J Med, v.342, n.18, May 4, p.1361-3. 2000.
98. Ranjan, P., Nada, R., Jha, V., Sakhuja, V. e Joshi, K. The role of C4d immunostaining in the evaluation of the causes of renal allograft dysfunction. Nephrol Dial Transplant, v.23, n.5, May, p.1735-41. 2008.
99. Regele, H., Bohmig, G. A., Habicht, A., Gollowitzer, D., Schillinger, M., Rockenschaub, S., Watschinger, B., Kerjaschki, D. e Exner, M. 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, v.13, n.9, Sep, p.2371-80. 2002.
100. Regele, H., Exner, M., Watschinger, B., Wenter, C., Wahrman, M., Osterreicher, C., Saemann, M. D., Mersich, N., Horl, W. H., Zlabinger, G. J. e Bohmig, G. A. Endothelial C4d deposition is associated with inferior kidney allograft outcome independently of cellular rejection. Nephrol Dial Transplant, v.16, n.10, Oct, p.2058-66. 2001.
101. Reid, K. B. e Porter, R. R. The proteolytic activation systems of complement. Annu Rev Biochem, v.50, p.433-64. 1981.
102. Reis, M. Causas de morte em transplantados renais: revisão de 102 necrópsias realizadas no Hospital de Clínicas da FMRP-USP de 1968 a 1991. Curso de Pós-graduação em Patologia Humana da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Tese de Mestrado., Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1992. 118 p.

- 
103. Roos, A., Rastaldi, M. P., Calvaresi, N., Oortwijn, B. D., Schlagwein, N., Van Gijlswijk-Janssen, D. J., Stahl, G. L., Matsushita, M., Fujita, T., Van Kooten, C. e Daha, M. R. Glomerular activation of the lectin pathway of complement in IgA nephropathy is associated with more severe renal disease. J Am Soc Nephrol, v.17, n.6, Jun, p.1724-34. 2006.
104. Rush, D. N., Jeffery, J. R. e Gough, J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinico-pathological correlations using the Banff schema. Transplantation, v.59, n.4, Feb 27, p.511-4. 1995a.
105. \_\_\_\_\_. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients: repeated inflammation is associated with impaired graft function at 1 year. Transplant Proc, v.27, n.1, Feb, p.1017-8. 1995b.
106. Schreiber, R. D. e Muller-Eberhard, H. J. Fourth component of human complement: description of a three polypeptide chain structure. J Exp Med, v.140, n.5, Nov 1, p.1324-35. 1974.
107. Scornik, J. C., Guerra, G., Schold, J. D., Srinivas, T. R., Dragun, D. e Meier-Kriesche, H. U. Value of posttransplant antibody tests in the evaluation of patients with renal graft dysfunction. Am J Transplant, v.7, n.7, Jul, p.1808-14. 2007.
108. Scornik, J. C., Salomon, D. R., Lim, P. B., Howard, R. J. e Pfaff, W. W. Posttransplant antidonor antibodies and graft rejection. Evaluation by two-color flow cytometry. Transplantation, v.47, n.2, Feb, p.287-90. 1989.
109. Seron, D., Diaz-Gallo, C., Grino, J. M., Castelao, A. M., Carrera, M., Bover, J. e Alsina, J. Characterization of interstitial infiltrate in early renal allograft biopsies in patients with stable renal function. Transplant Proc, v.23, n.1 Pt 2, Feb, p.1267-9. 1991.
110. Seron, D. e Moreso, F. Protocol biopsies and risk factors associated with chronic allograft nephropathy. Transplant Proc, v.34, n.1, Feb, p.331-2. 2002.
111. Sesso, R. e Gordan, P. Dados Disponíveis Sobre a Doença Renal Crônica no Brasil. J Bras Nefrol v. Volume XXIX, n.nº 1. 2007.
112. Sesso, R., Lopes, A. A., Saldanha, T. F., Bevilacqua, J. L., Romão-Junior, J. E. e Lugon, J. Relatório do Censo Brasileiro de Diálise, 2008. J Bras Nefrol, v.30, n.4, p.233-8. 2008.
113. Solez, K., Axelsen, R. A., Benediktsson, H., Burdick, J. F., Cohen, A. H., Colvin, R. B., Croker, B. P., Droz, D., Dunnill, M. S., Halloran, P. F. e Et Al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. Kidney Int, v.44, n.2, Aug, p.411-22. 1993.
114. Solez, K., Colvin, R. B., Racusen, L. C., Haas, M., Sis, B., Mengel, M., Halloran, P. F., Baldwin, W., Banfi, G., Collins, A. B., Cosio, F., David, D. S., Drachenberg, C., Einecke, G., Fogo, A. B., Gibson, I. W., Glotz, D., Iskandar, S. S.,

- Kraus, E., Lerut, E., Mannon, R. B., Mihatsch, M., Nankivell, B. J., Nickleit, V., Papadimitriou, J. C., Randhawa, P., Regele, H., Renaudin, K., Roberts, I., Seron, D., Smith, R. N. e Valente, M. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. Am J Transplant, v.8, n.4, Apr, p.753-60. 2008.
115. Solez, K., Colvin, R. B., Racusen, L. C., Sis, B., Halloran, P. F., Birk, P. E., Campbell, P. M., Cascalho, M., Collins, A. B., Demetris, A. J., Drachenberg, C. B., Gibson, I. W., Grimm, P. C., Haas, M., Lerut, E., Liapis, H., Mannon, R. B., Marcus, P. B., Mengel, M., Mihatsch, M. J., Nankivell, B. J., Nickleit, V., Papadimitriou, J. C., Platt, J. L., Randhawa, P., Roberts, I., Salinas-Madriga, L., Salomon, D. R., Seron, D., Sheaff, M. e Weening, J. J. Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). Am J Transplant, v.7, n.3, Mar, p.518-26. 2007.
116. Sun, Q., Tang, Z., Chen, J., Chen, H., Liu, Z. e Li, L. Late developing C4d-positive humoral renal allograft rejection associated with withdrawal of mycophenolate mofetil. Transplant Proc, v.37, n.10, Dec, p.4244-5. 2005.
117. Sund, S., Reisaeter, A. V., Fauchald, P., Bentdal, O., Hall, K. S. e Hovig, T. Living donor kidney transplants: a biopsy study 1 year after transplantation, compared with baseline changes and correlation to kidney function at 1 and 3 years. Nephrol Dial Transplant, v.14, n.10, Oct, p.2445-54. 1999.
118. Supon, P., Constantino, D., Hao, P., Cagle, L., Hahn, A., Conti, D. J. e Freed, B. M. Prevalence of donor-specific anti-HLA antibodies during episodes of renal allograft rejection. Transplantation, v.71, n.4, Feb 27, p.577-80. 2001.
119. Suthanthiran, M. e Strom, T. B. Renal transplantation. N Engl J Med, v.331, n.6, Aug 11, p.365-76. 1994.
120. Terasaki, P. I. Humoral theory of transplantation. Am J Transplant, v.3, n.6, Jun, p.665-73. 2003.
121. Theruvath, T. P., Saidman, S. L., Mauiyyedi, S., Delmonico, F. L., Williams, W. W., Tolkoff-Rubin, N., Collins, A. B., Colvin, R. B., Cosimi, A. B. e Pascual, M. Control of antidonor antibody production with tacrolimus and mycophenolate mofetil in renal allograft recipients with chronic rejection. Transplantation, v.72, n.1, Jul 15, p.77-83. 2001.
122. Tilney, N. L., Whitley, W. D., Diamond, J. R., Kupiec-Weglinski, J. W. e Adams, D. H. Chronic rejection--an undefined conundrum. Transplantation, v.52, n.3, Sep, p.389-98. 1991.
123. Trpkov, K., Campbell, P., Pazderka, F., Cockfield, S., Solez, K. e Halloran, P. F. Pathologic features of acute renal allograft rejection associated with donor-specific antibody, Analysis using the Banff grading schema. Transplantation, v.61, n.11, Jun 15, p.1586-92. 1996.

- 
124. Tullius, S. G. e Tilney, N. L. Both alloantigen-dependent and -independent factors influence chronic allograft rejection. Transplantation, v.59, n.3, Feb 15, p.313-8. 1995.
125. Van Den Dobbelen, M. E., Van Der Woude, F. J., Schroeijers, W. E., Van Den Wall Bake, A. W., Van Es, L. A. e Daha, M. R. Binding of dimeric and polymeric IgA to rat renal mesangial cells enhances the release of interleukin 6. Kidney Int, v.46, n.2, Aug, p.512-9. 1994.
126. Vanderborght, B. O., Rouzere, C., Ginuino, C. F., Maertens, G., Van Heuverswyn, H. e Yoshida, C. F. High prevalence of hepatitis C infection among Brazilian hemodialysis patients in Rio de Janeiro: a one-year follow-up study. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, v.37, n.1, Jan-Feb, p.75-9. 1995.
127. Veronese, F. V., Goncalves, L. F., Edelweiss, M. I. e Manfro, R. C. Interpretation of surveillance kidney allograft biopsies according to the Banff criteria. Transplant Proc, v.31, n.7, Nov, p.3019-20. 1999.
128. Vongwiwatana, A., Gourishankar, S., Campbell, P. M., Solez, K. e Halloran, P. F. Peritubular capillary changes and C4d deposits are associated with transplant glomerulopathy but not IgA nephropathy. Am J Transplant, v.4, n.1, Jan, p.124-9. 2004.
129. Walport, M. J. Complement. First of two parts. N Engl J Med, v.344, n.14, Apr 5, p.1058-66. 2001.
130. Walsh, P. T., Strom, T. B. e Turka, L. A. Routes to transplant tolerance versus rejection; the role of cytokines. Immunity, v.20, n.2, Feb, p.121-31. 2004.
131. Wang, A. Y., Lai, F. M., Yu, A. W., Lam, P. K., Chow, K. M., Choi, P. C., Lui, S. F. e Li, P. K. Recurrent IgA nephropathy in renal transplant allografts. Am J Kidney Dis, v.38, n.3, Sep, p.588-96. 2001.
132. Wertheim, P., Slaterus, K. W., Geelen, J. L., Van Der Noordaa, J. e Wilmink, J. M. Cytomegalo and herpes simplex virus infections in renal transplant recipients. Scand J Urol Nephrol Suppl, v.92, p.5-8. 1985.
133. Wyatt, R. J., Kanayama, Y., Julian, B. A., Negoro, N., Sugimoto, S., Hudson, E. C. e Curd, J. G. Complement activation in IgA nephropathy. Kidney Int, v.31, n.4, Apr, p.1019-23. 1987.
134. Yang, L., Lu, Y. P., Luo, G. H., Song, J., Shi, Y. J. e Li, Y. P. C4d deposition is associated with chronic allograft nephropathy in rats and could be influenced by immunosuppressants. Transplant Proc, v.40, n.8, Oct, p.2782-5. 2008.
135. Ziccardi, R. J. Activation of the early components of the classical complement pathway under physiologic conditions. J Immunol, v.126, n.5, May, p.1769-73. 1981.

136. Zwirner, J., Felber, E., Herzog, V., Riethmuller, G. e Feucht, H. E. Classical pathway of complement activation in normal and diseased human glomeruli. Kidney Int, v.36, n.6, Dec, p.1069-77. 1989.



# 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](#)