

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA

Adriana Reginato Ribeiro

AVALIAÇÃO LABORATORIAL DE LESÃO HEPÁTICA
EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL
EM USO DE ESQUEMA IMUNOSSUPRESSOR
COM MICROFENOLATO MOFETIL OU COM AZATIOPRINA
E SUA ASSOCIAÇÃO COM SOROLOGIA PARA VÍRUS DA HEPATITE C

Porto Alegre
2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA

Adriana Reginato Ribeiro

AVALIAÇÃO LABORATORIAL DE LESÃO HEPÁTICA
EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL
EM USO DE ESQUEMA IMUNOSSUPRESSOR
COM MICOFENOLATO MOFETIL OU COM AZATIOPRINA
E SUA ASSOCIAÇÃO COM SOROLOGIA PARA VÍRUS DA HEPATITE C

Dissertação de Mestrado apresentada como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Ciências Médicas: Nefrologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Gonçalves

Porto Alegre
2003

R484a Ribeiro, Adriana Reginato

Avaliação laboratorial de lesão hepática em receptores de transplante renal em uso de esquema imunossupressor com micofenolato mofetil ou com azatioprina e sua associação com sorologia para vírus da hepatite C / Adriana Reginato Ribeiro ; orient. Luiz Felipe Santos Gonçalves. – 2003.

91 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia. Porto Alegre, BR-RS, 2003.

1. Transplante de rim 2. Hepatite C 3. Azatioprina 4. Imunossupressores 5. Ácido micofenólico I. Gonçalves, Luiz Felipe Santos II. Título.

NLM: WJ 368

Sumário

Lista de abreviaturas.....	
Lista de figuras.....	
1. Introdução.....	9
1.1 Resposta imunológica.....	9
1.2 Medicções imunossupressoras.....	11
1.2.1. Corticosteróides.....	11
1.2.2. Azatioprina.....	12
1.2.3. Micofenolato Mofetil.....	14
1.2.4. Ciclosporina.....	18
1.2.5. Tacrolimus.....	18
1.2.6. Sirolimus.....	20
1.2.7. Anticorpo anti-IL2R.....	22
1.2.8. Anticorpo anti-CD3.....	23
1.3 Hepatopatias pós transplante.....	25
1.3.1 Hepatite B.....	26
1.3.2 Hepatite C.....	28
1.4 Hepatotxicidade dos imunossupressores.....	30
1.5 Referências bibliográfica.....	33
2. Objetivos.....	40
3. Artigo em português.....	41
4. Artigo em inglês.....	61
5. Artigos publicados.....	80

5.1. Artigo publicado 1.....	81
5.2..Artigo publicado 2.....	82

Lista de Abreviaturas

ALT: alanino aminotransferase
AST: aspartato aminotransferase
DNA: acido desoxirribonucleico
FKBP: proteína ligadora do FK
GMP: guanosino monofosfato
GTP: guanosino trifosfato
HBV: vírus da hepatite B
HCV: vírus da hepatite C
HD: hemodiálise
HGPRTase: hipoxantino guanino fosforibosil transferase
HLA: antígenos leucocitários humanos
IFN: interferon
IL: interleucina
IL-2R: receptor da interleucina 2
IMP: inosino monofosfato
IMPDH: inosino monofosfato desidrogenase
IRC: insuficiência renal crônica
MMF: micofenolato mofetil
MPA: ácido micofenólico
PRPP: 5-fosforibosil-1-fosfato
TGF- β : fator transformador do crescimento β
TNF: fator de necrose tumoral
USRDS: Sistema de Dados Renais dos Estados Unidos

Lista de figuras:

Figura 1. Mecanismo de ação do MMF pela inibição da via de novo da síntese das purinas..... 6

Artigo em Português

Figura 1. Demonstração do fluxo dos pacientes arrolados no estudo de acordo com seus subgrupos..... 42

Figura 2. Seguimento das médias de ALT durante os 12 meses..... 44

Figura 3. Seguimento das médias de AST durante os 12 meses.....46

Figura 4. Seguimento das médias de bilirrubinas durante os 12 meses.....48

Artigo em Português

Figura 1. Patients enrolled in study according with the subgroups..... 61

Figura 2. Follow up of ALT means over 12 months.....63

Figura 3. Follow up of AST means over 12 months65

Figura 4. Follow up of billirubins means over 12 months67

Lista de Tabelas

Artigo em Português

Tabela 1. Características basais dos grupos.....	43
Tabela 2. Evolução da ALT ao longo de 12 meses.....	45
Tabela 3. Evolução da AST ao longo de 12 meses.....	47
Tabela 4. Evolução da bilirrubina ao longo de 12 meses.....	49

Artigo em Inglês

Table 1. Patients characteristics.....	62
Table 2. Follow up of ALT means over 12 months.....	64
Table 3. Follow up of AST means over 12 months.....	66
Table 2. Follow up of bilirubins means over 12 months.....	68

1. Introdução

Atualmente dispõe-se de 3 modalidades de tratamento para insuficiência renal crônica terminal (IRC): hemodiálise, diálise peritoneal e transplante renal. A maioria dos dados comparando a taxa de sobrevida entre as 3 modalidades de tratamento sugere que o estado clínico do paciente antes de iniciar a terapia, mais do que a opção terapêutica em si, é o fator mais importante para determinar a sobrevida do paciente. Entretanto, pacientes que não apresentam outras comorbidades em diálise, se submetidos a um transplante renal apresentam redução do risco relativo de morte em relação àqueles que permaneceram em diálise (1). Sendo assim o transplante renal é o tratamento de escolha para a insuficiência renal crônica.

Apesar do sucesso obtido atualmente com o transplante, a rejeição aguda ainda é um problema relevante, sendo uma das principais causas de disfunção crônica e perda tardia do enxerto. A rejeição do enxerto é consequência da resposta imunológica do receptor, que é modificada pela ação das drogas imunossupressoras empregadas e possivelmente por mecanismos supressores e de acomodação ao enxerto.

Atualmente, conta-se com um vasto arsenal de medicações imunossupressoras. Entre estas medicações, encontram-se em uso corrente no Brasil a prednisona, azatioprina, ciclosporina, tacrolimus (FK 506), micofenolato mofetil, micofenolato sódico, sirolimus (rapamicina), anticorpos monoclonais anti receptor da interleucina-2 (basiliximab e daclizumab), anticorpos policlonais anti-

linfocitários (ATG), anticorpos monoclonais anti-CD3 (OKT3), e os anticorpos policlonais anti-linfocitários e anti-timocitários.

1.1. MEDICAÇÕES IMUNOSSUPRESSORAS

As medicações imunossupressoras são utilizadas para bloquear a resposta imunológica em transplante de órgãos e doenças autoimunes. Os principais imunossupressores utilizados no transplante serão apresentados de acordo com o seu mecanismo de ação. Tal entendimento é importante para a prática clínica e a adequada combinação destas drogas, com o objetivo de obter esquemas mais potentes e sinérgicos. Entretanto a terapia com estas medicações, apesar do sucesso na prevenção de rejeições e tratamento de doenças autoimunes severas, requer uso contínuo e supressão não específica do sistema imunológico, expondo o paciente a riscos consideravelmente altos, principalmente de infecções e neoplasias, além dos efeitos colaterais próprios de cada agente.

1.1.1. Corticosteróides:

A prednisona e metil-prednisolona são as drogas geralmente usadas. São potentes drogas antiinflamatórias, cujos principais mecanismos de ação sobre o sistema imune envolvem o bloqueio da expressão dos genes de várias citocinas. Por serem moléculas hidrofóbicas, elas se difundem para o interior das células, principalmente as células apresentadoras de antígenos e os linfócitos T e ligam-se a receptores protéicos intracitoplasmáticos. O complexo esteróide-receptor transloca-se para o núcleo das células e liga-se aos elementos glicocorticóide-responsivos situados na região genética regulatória ou do promotor de várias

citocinas. Assim, a expressão de interleucinas IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, fator de necrose tumoral- α (TGF- α) e interferon- γ (IF- γ) fica inibida. O bloqueio da síntese de IL-1 e IL-6 pelas células apresentadoras de antígenos é de vital importância, pois essas citocinas fornecem co-estímulo crítico para a expressão de IL-2 pelas células T ativadas. Dessa forma, é inibida a imunidade dependente de linfócitos T. Adicionalmente, os corticosteróides podem agir em genes de outras citocinas, que não apresentem o elemento de resposta aos glicocorticóides, através da interação do complexo do receptor ativado com um heterodímero c-fos/c-Jun. Esses ligam-se aos sítios de ativação da proteína-1, localizados na região do promotor dos genes de várias citocinas e ao fator nuclear das células T ativadas, levando ao bloqueio de fatores de transcrição nuclear (2).

1.1.2. Azatioprina

É metabolizada em 6-mercaptopurina e, após, no componente ativo ácido tiioinosínico. A azatioprina é um análogo das purinas, funcionando, assim, como um antagonista das mesmas e produzindo inibição da proliferação celular, através da alquilação dos precursores do DNA. Dessa forma, além de inibir a proliferação linfocitária, essa droga inibe também a proliferação de células que compõem tecidos com rápido *turnover*, como as da medula óssea e as do fígado, sendo esses, portanto, os tecidos-alvo mais acometidos pelos efeitos colaterais dessa droga. É uma substância potencialmente mutagênica, produzindo “quebras” cromossômicas, possivelmente via inibição de sistemas de reparo do DNA (2).

A azatioprina foi introduzida como agente imunossupressor em 1961 sendo então usada rotineiramente junto com a prednisona, o que tornou possível a realização de transplante renal alogênico (3). Apesar de a dose necessária de azatioprina para prevenir processos de rejeição aguda e minimizar os efeitos colaterais variar muito de indivíduo para indivíduo, a dose geralmente utilizada é de 2 a 3 mg/kg/dia quando usada como imunossupressor primário. Quando usado em conjunto com um inibidor da calcineurina a dose necessária é de 1 a 2 mg/kg/dia (1). A enzima mais importante do catabolismo de metabólitos da azatioprina, a xantina oxidase é bloqueada pelo uso concomitante do alopurinol (4). É necessário reduzir a dose da azatioprina para 25 a 33% da dose usual, quando utilizada concomitantemente com alopurinol, para evitar o efeito mielo e hepatotóxico (5)

O principal efeito colateral da azatioprina é a supressão da medula óssea, que pode provocar leucopenia (comum), trombocitopenia (menos comum) e anemia (incomum). Pacientes recebendo esta droga pela primeira vez, principalmente em altas doses (maior que 2mg/kg) devem realizar hemograma completo pelo menos 1 vez por semana durante o primeiro mês de terapia e com menor freqüência após. Também pode ocorrer mielossupressão tardia, após vários meses de uso desta medicação. Se houver leucopenia ou trombocitopenia significativa, a droga pode ser descontinuada por um período prolongado, sem que haja risco aumentado de rejeição do enxerto, desde que o paciente esteja em uso de algum inibidor de calcineurina (ciclosporina ou tacrolimus). A azatioprina pode também, ocasionalmente, provocar hepatite e colestase, que se apresenta como

uma elevação reversível nos níveis de bilirrubinas e transaminases. Nestes casos pode-se reduzir a dose de azatioprina ou suspendê-la.

1.1.3. Micofenolato Mofetil (MMF)

O micofenolato mofetil (MMF) é uma pró-droga. Após a sua administração oral é rápida e completamente hidrolizada pelas esterases plasmáticas em ácido micofenólico, seu metabólito ativo (6). O ácido micofenólico inibe a rejeição de enxerto em roedores, diminui a proliferação de linfócitos T e B, diminui a geração de células T citotóxicas e suprime a formação de anticorpos (7). O ácido micofenólico é um inibidor efetivo e reversível da inosino monofosfato desidrogenase, que é a enzima responsável pela síntese de novo das purinas e cataliza a formação de guanosina trifosfato a partir da inosino monofosfato (fig. 1). Esta ação tem um efeito antiproliferativo nos linfócitos T e B, uma vez que estes necessitam das vias de novo e de salvação para a síntese de purinas, enquanto que outras células utilizam apenas a via de salvação para a síntese de purinas (6).

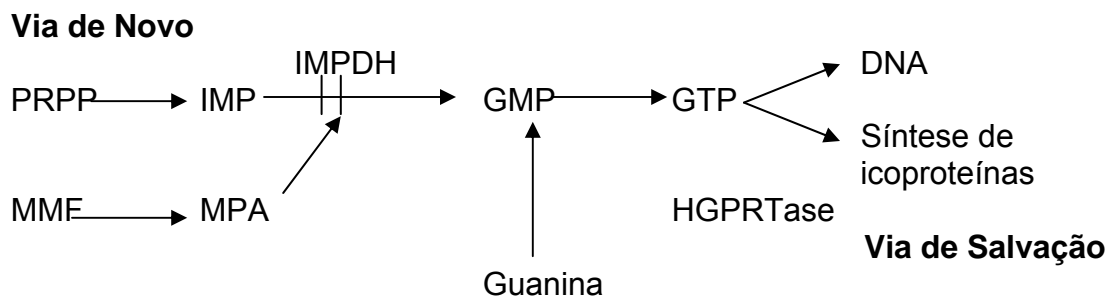


Figura 1.1. Mecanismo de ação do MMF pela inibição da via de novo da síntese das purinas. PRPP, 5-fosforibosil-1-fosfato; IMP, inosino monofosfato; MPA, ácido micofenólico; IMPDH, inosino monofosfato desidrogenase, GMP, guanosino monofosfato; HGPRTase, hipoxantino guanino fosforibosil transferase, GTP, guanosino trifosfato. (adaptado da referência 5).

Além de ser utilizado na prevenção de rejeição aguda o MMF também parece exercer um efeito preventivo no desenvolvimento e progressão de arteriopatias proliferativas que ocorrem na rejeição crônica (1).

A eficácia e a segurança do MMF para a prevenção de rejeição aguda durante os primeiros 6 meses pós transplante foi avaliada em três ensaios clínicos randomizados, duplo-cegos e multicêntricos (8, 9,10).

No estudo europeu, 491 pacientes foram randomizados para receber MMF (2 ou 3 g/dia) ou placebo associado a ciclosporina e corticóide. O MMF reduziu a incidência de rejeição confirmada por biópsia nos primeiros 6 meses pós transplante (46,4% no grupo placebo, 17,6% no grupo MMF 2g e 13,8% no grupo MMF 3g). A percentagem de pacientes que apresentaram rejeição comprovada por biópsia ou foram excluídas do estudo por qualquer motivo foi significativamente reduzida com MMF 2g (30,3%), e MMF 3g (38,8%) quando comparados com placebo (56%). Os grupos que utilizaram MMF apresentaram maior incidência de eventos gastrointestinais, leucopenia e infecções oportunistas (8).

Quatrocentos e noventa e nove receptores de transplante renal de doador cadavérico foram incluídos no estudo americano. Estes foram randomizados para utilizar MMF 2g ou MMF 3g ou azatioprina 1-2 mg/kg/dia associados a ciclosporina e corticóide. Rejeição comprovada por biópsia ou falha de tratamento ocorreu em 47,6% do grupo Azatioprina comparados com 31,1% dos pacientes do grupo MMF 2g e 31,3% no grupo MMF 3 g. O uso de cursos completos de corticosteróides e agentes antilinfocitários para tratamento de rejeição aguda foi maior no grupo

azatioprina do que nos demais. A sobrevida do enxerto e do paciente ao final de 6 meses foi semelhante em todos os grupos (9).

O estudo tricontinental (Austrália, Europa e Estados Unidos) incluiu 503 pacientes que receberam MMF 2 ou 3 g ou azatioprina associado a ciclosporina e corticóide. O desfecho primário foi falha do tratamento, definida como ocorrência de rejeição aguda comprovada por biópsia, perda do enxerto, morte do paciente ou descontinuação da droga do estudo nos primeiros 6 meses pós transplante. Falha do tratamento ocorreu em 50% dos pacientes do grupo azatioprina comparados com 34,8% no grupo MMF 3g e 38,2% no grupo MMF 2 g. Houve uma redução do número de rejeições comprovadas por biópsia no grupo MMF 2 e 3g (19,7% e 15,9% respectivamente) quando comparados com o grupo azatioprina (35,5%). A sobrevida do enxerto em um ano foi apenas marginalmente superior no grupo MMF, sem significância estatística. Toxicidade gastrointestinal e doença invasiva por citomegalovirus foi mais comum no grupo MMF 3 g (10).

O micofenolato mofetil tem se mostrado útil também no tratamento de episódios de rejeição refratários a terapêutica tradicional. Um ensaio clínico, randomizado, multicêntrico e aberto foi realizado para avaliar a eficácia e segurança do MMF com altas doses de corticosteróide intravenoso para o tratamento da rejeição aguda refratária em receptores de primeiro ou segundo transplante de doador vivo ou cadáver. Foram incluídos 150 pacientes que foram randomizados para receber MMF ou corticosteróide intravenoso associado a azatioprina, todos os pacientes receberam ciclosporina. Em 6 meses 26% dos pacientes do grupo corticosteróide e azatioprina apresentaram perda do enxerto ou morte contra 14% no grupo MMF. Em 12 meses a diferença foi de 32% no

grupo azatioprina versus 18% no grupo MMF. Houve também menor necessidade de terapia antilinfocitária de resgate no grupo MMF (11). Em outro estudo de casos realizado na Unidade de Transplante do Hospital Geral de Massachusetts, 5 pacientes que apresentaram rejeição humoral aguda foram submetidos a sessões de plasmaferese e convertidos para tacrolimus (5/5) e MMF (4/5). Com um tempo de seguimento de $19,6 \pm 5,6$ meses a sobrevida do enxerto e dos pacientes foi de 100% (12).

A nefropatia crônica do enxerto é a principal causa de perda de enxertos a longo prazo. Estudos experimentais e clínicos sugerem que MMF, além de ser efetivo na prevenção de rejeição aguda, também pode atenuar o desenvolvimento de nefropatia crônica do enxerto. O seguimento de 3 anos dos estudos americano, e tricontinental não mostrou diferença na sobrevida do enxerto entre os grupos. Os pacientes que receberam MMF apresentaram mais freqüentemente distúrbios gastrointestinais, leucopenia e infecções oportunistas (citomegalovirose), principalmente o grupo que recebeu 3 g/dia da droga (13, 14). No seguimento de 3 anos do estudo europeu o MMF foi associado com uma redução de 7,6% na incidência de perda do enxerto, indicando que tratamento com MMF não apenas resultou em uma redução da incidência de rejeição aguda, mas também leva a redução da perda tardia do enxerto (15). Os dados coletados a partir dos registros de 66.774 transplantes renais realizados nos Estados Unidos mostraram que o uso de MMF, quando comparado ao de azatioprina, diminui o risco relativo para desenvolvimento de falência crônica do enxerto em 27% (RR 0,73, $P < 0,001$). Este efeito foi independente dos resultados do uso de MMF na rejeição aguda (16).

Os eventos adversos mais comuns com o uso de MMF incluem uma alta incidência de diarreia, esofagite e gastrite. A incidência de leucopenia e de infecções oportunistas é similar a de receptores de transplante em uso de azatioprina. Os paraefeitos costumam ocorrer mais comumente em pacientes em uso de 3g e costumam responder bem ao fracionamento ou redução da dose (7).

1.1.4. Ciclosporina

A ciclosporina é um inibidor da calcineurina. Seu efeito imunossupressivo depende da formação de um complexo com seu receptor citoplasmático, a ciclofilina. Este complexo (ciclosporina-ciclofilina) liga-se com a calcineurina bloqueando a sua atividade de defosforilação da subunidade citoplasmática do fator nuclear da ativação das células T (NF-AT), impedindo a sua entrada no núcleo e, assim, inibindo a expressão de novo de proteínas regulatórias nucleares e de genes ativadores de determinadas citocinas envolvidas na ativação de células T (IL-2, IL-4, γ -INF) e de receptores de citocinas. A ciclosporina aumenta a expressão de TGF- β (fator de crescimento transformador das células β), que, por sua vez, inibe a IL-2 e a geração de linfócitos T citotóxicos e pode ser responsável pelo desenvolvimento de fibrose intersticial, uma característica importante da nefrotoxicidade dos inibidores de calcineurina (2).

1.1.5. Tacrolimus (FK 506)

A produção de IL-2 e outras citocinas pelas células T auxiliares é um fator importante na resposta imune e está implicado na rejeição de enxerto. O

tacrolimus inibe a ativação de linfócitos T e a transcrição de citocinas. O tacrolimus é um inibidor da calcineurina, assim como a ciclosporina. Seu efeito imunossupressor depende da ligação com seu receptor protéico citoplasmático, o FKBP1 (traduzido do inglês: proteína ligadora do FK). Este complexo liga-se à calcineurina e inibe sua atividade de desfosforilação, inibindo então, direta ou indiretamente a expressão de novo de proteínas nucleares regulatórias e genes ativadores de células T, como aqueles que codificam certas citocinas (IL-2, IL-4, γ -INF), proto-oncogenes (H-ras, c-myc) e receptores de citocinas (receptor de IL-2) (4). Tem sido demonstrado também que o tacrolimus induz a produção de TGF- β , molécula com potencial atividade fibrogênica e possível responsável pelas propriedades nefrotóxicas desta droga (17).

Os estudos multicêntricos que compararam a eficácia e segurança da terapia baseada em tacrolimus versus ciclosporina mostraram que houve uma redução significativa na taxa de rejeição aguda confirmada por biópsia no grupo tacrolimus comparado com o grupo ciclosporina (18, 19, 20, 21, 22). O Tacrolimus também foi usado com sucesso como terapia de resgate em pacientes com rejeição aguda resistente ao uso de altas doses de corticóides e antilinfocitários, que estavam usando imunossupressão baseada em ciclosporina (23).

Os dados de seguimento de 3 anos do estudo americano e 4 anos do estudo europeu mostraram uma taxa de sobrevida semelhante do enxerto e do hospedeiro entre os grupos (24, 25). No estudo americano o uso de tacrolimus foi associado com uma perda do enxerto significativamente menor do que o uso de ciclosporina (10,2% e 16,4% respectivamente, $p < 0,05$). No grupo tacrolimus

também houve necessidade significativamente menor de conversão para outra droga por qualquer razão (8,3% grupo tacrolimus e 24,2% no grupo ciclosporina, (24).

Os eventos adversos associados com uso de tacrolimus incluem nefrotoxicidade, neurotoxicidade, alterações do metabolismo da glicose, distúrbios gastrointestinais, hipertensão e aumento da suscetibilidade a infecções. Muitos destes eventos adversos são dose relacionados e podem ser facilmente manejados com a redução da droga.

A ocorrência de nefrotoxicidade com uso de tacrolimus é semelhante a de pacientes em uso de ciclosporina. Neurotoxicidade manifesta-se como tremor, cefaléia, insônia e parestesias e podem ser mais graves do que os mesmos efeitos relacionados ao uso de ciclosporina. Diabetes melito e/ou hiperglicemia também tende a ocorrer mais freqüentemente com tacrolimus do que com ciclosporina (26).

1.2.6. Sirolimus

O sirolimus é um macrolídeo produzido pelo fungo *Streptomyces hygroscopicus*, que inibe a atividade dos linfócitos T e B. Ele se liga ao mesmo receptor do tacrolimus, o FKBP e inibe a transmissão do sinal induzido pelas citocinas em vias mais tardias do ciclo celular levando a supressão da proliferação da célula T induzida por IL-2 e IL-4. Adicionalmente, o sirolimus bloqueia a via co-estimulatória B7-CD28 e também parece ser um inibidor da proliferação de outros tipos de células musculares lisas, com potencial de aplicação na prevenção ou progressão da rejeição crônica (6). Os ensaios clínicos de fase III têm mostrado a

eficácia do sirolimus na prevenção de rejeição aguda quando utilizado em combinação com inibidores da calcineurina, apresentando menor incidência de rejeição aguda confirmada por biópsia quando comparado com a azatioprina (27, 28). Quando comparado com inibidores da calcineurina, associado à azatioprina ou micofenolato mofetil houve uma discreta maior incidência de rejeição aguda no grupo que utilizou apenas sirolimus, sem que houvesse significância estatística (29).

Em estudos de fase II foram utilizadas doses de 2,0 ou 5,0 mg de sirolimus com bons resultados na prevenção de episódios de rejeição aguda. Estas doses estão sendo utilizadas em estudos de fase III. É possível que sejam necessários ajustes para a profilaxia de rejeição crônica e para evitar efeitos tóxicos. Estudos de fase I/II recomendam manter-se nível sérico de sirolimus entre 10-15 ng/mL durante os primeiros meses pós-transplante. Esse nível sérico em combinação com dose de ciclosporina reduzida, em torno de 45%, está associada com baixo grau de nefrotoxicidade. O nível pode ser aumentado para 15 a 20 ng/ml se for necessário reduzir ou retirar a ciclosporina (6).

Em estudos de fase I e II não houve evidências de nefrotoxicidade ou alteração na pressão arterial causada pelo sirolimus. Os principais eventos adversos atribuídos a ela foram plaquetopenia e dislipidemia, que normalmente responderam à redução da dose da medicação. Plaquetopenia ocorreu em 23% do pacientes com dose alta de sirolimus (5 mg), comparado com 3% no grupo placebo e 11% no grupo com 3 mg. Dislipidemia ocorreu na metade dos pacientes com dose alta de sirolimus, comparado com 25% dos pacientes do grupo placebo (Ciclosporina + esteróide) (6).

1.2.7. Anticorpos anti receptor de Interleucina 2:

O papel central que a citocina interleucina-2 (IL-2) e seu receptor (IL-2R) tem na resposta imune é reconhecido há algum tempo. O IL-2R consiste de 3 cadeias (alfa, beta e gama). A cadeia alfa (antígeno de ativação das células T, Tac ou CD25, é expressa apenas após ativação de linfócitos T. Os anticorpos anti-IL-2R basiliximab e daclizumab têm como alvo principal a cadeia alfa. O resultado de sua ação é o bloqueio das respostas mediadas por IL-2 e o bloqueio da proliferação clonal de linfócitos ativados. Têm um efeito complementar ao dos inibidores de calcineurina que reduzem a produção de IL-2.

Basiliximab e Daclizumab são compostos similares que originaram-se como anticorpo monoclonal murino e que, através de engenharia genética tiveram grande parte de suas moléculas substituídas pela imunoglobulina G humana. Como consequência eles têm baixa imunogenicidade porque não induzem produção de quantidades significativas de anticorpos antimurinos, proporcionando uma meia vida prolongada no sangue periférico e não induzem reações no primeiro uso.

Basiliximab é um composto quimérico sendo que 75% de sua molécula tem origem humana e 25 % tem origem murina. No caso do daclizumab apenas o sítio de ligação tem origem murina e o resultado é um composto considerado humanizado (90% humano e 10% murino). Esta pequena diferença parece ser a responsável pela maior afinidade do basiliximab pelo receptor de IL-2 em relação ao daclizumab, e tem pequena relevância clínica, mas explica o fato de que a dose de daclizumab é maior do que a dose de basiliximab (1).

Daclizumab e basiliximab foram utilizados com sucesso em estudos clínicos de fase III, no qual eles foram bem tolerados e mostraram redução significativa na incidência de rejeição aguda em receptores de transplante renal em mais de 40%, e redução do número de rejeições por paciente. São utilizados na prevenção, mas não no tratamento de episódios de rejeição aguda.

Foram realizados 2 ensaios clínicos de fase III para avaliar a eficácia e tolerabilidade de daclizumab em transplante renal. Estes estudos avaliaram daclizumab versus placebo associado a terapia tripla (ciclosporina, azatioprina e prednisona) (30) ou dupla (ciclosporina e corticosteróides) (31), mostrando redução significativa na incidência de rejeição aguda, sem que houvesse diferença entre os grupos na incidência de complicações infecciosas e neoplásicas.

A eficácia do basiliximab na prevenção de rejeição aguda foi estudado em 2 estudos clínicos de fase III, os estudos europeu e americano. Foram utilizadas 2 doses de basiliximab pós transplante associados a ciclosporina e prednisona versus placebo, ciclosporina e prednisona. Em ambos os estudos houve significativa redução na incidência de rejeição aguda comprovada por biópsia, sem que houvesse aumento na incidência de eventos adversos (32, 33).

Ambas as drogas têm uma meia vida maior do que 7 dias, o que permite um longo intervalo entre as doses.

1.2.8. Anticorpo monoclonal anti-CD3

O anticorpo monoclonal anti-CD3 é dirigido a um epítipo presente na cadeia ϵ das proteínas CD3, presentes na superfície dos linfócitos T. Os mecanismos de

ação variam com a fase de administração dos anticorpos. Inicialmente, ocorre depleção das células T, que retornam aos níveis circulantes normais em poucos dias. Após 3 a 5 dias, ocorre modulação, diminuição da expressão celular, do antígeno CD3. Nessa fase, o complexo OKT3-CD3 é removido da superfície celular por endocitose ou deslocamento. Sendo os antígenos CD3 fundamentais na citotoxicidade mediada por células T, as células “desnudas” tornam-se imunoincompetentes. Posteriormente, a medida que se desenvolve a resposta a esta xenoproteína, os antígenos CD3 são reexpressos e o OKT3 não é mais capaz de exercer efeito imunossupressor. Entre as vantagens dessas moléculas em relação aos anticorpos policlonais, está a não-variabilidade de lote para lote, em termos de quantidade de proteína de sua especificidade, e a sua especificidade para os linfócitos T. Essa propriedade torna tal modalidade terapêutica potencialmente mais segura, tendo-se em vista a menor repercussão de seus efeitos sobre o sistema imune como um todo. A exemplo dos anticorpos policlonais, o OKT3 é empregado na terapêutica de indução e/ou tratamento de rejeições agudas. (1,2).

As drogas imunossupressoras atualmente disponíveis para o uso em transplante renal são eficientes na prevenção e tratamento de rejeição aguda, e algumas também têm-se mostrado úteis no tratamento da rejeição crônica. Entretanto estas drogas proporcionam uma série de outras complicações infecciosas ou proporcionando efeito tóxico em alguns órgãos. A seguir serão abordados os potenciais efeitos hepatotóxicos dessas drogas e as principais infecções hepáticas após o transplante renal.

1.2. HEPATOPATIA PÓS-TRANSPLANTE

A doença hepática continua sendo um problema relevante após o transplante renal. Isto decorre principalmente de toxicidades por drogas ou de infecções por vírus hepatotrópicos, em especial os vírus das hepatites B (HBV) e C (HCV) e menos freqüentemente por outros vírus não hepatotrópicos como o citomegalovírus, o vírus do herpes simples, o vírus da varicela zoster e o Epstein-Barr vírus. Enquanto a prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B vem declinando continuamente em pacientes em tratamento dialítico e em decorrência nos pacientes transplantados renais, a prevalência de infecção pelo vírus da hepatite C tem permanecido estável. As razões para estes achados parecem ser diversas. O melhor conhecimento da transmissibilidade do HBV e a disponibilidade de vacinas efetivas parecem ter contribuído significativamente para o seu declínio. Já no que concerne a infecção pelo HCV o quadro é menos promissor. Não existe, no momento, disponibilidade de vacinas efetivas, a transmissibilidade no ambiente da hemodiálise é alta, a prevalência de infecção no nosso meio supera os 30% (34) e a incidência é da mesma forma elevada, mantendo uma correlação significativa com a prevalência (35). Acredita-se que as principais causas de infecção pelo HBV e pelo HCV nos pacientes hemodialisados, posteriormente submetidos a transplantes renais, sejam o uso freqüente de derivados de sangue pelo paciente renal crônico, a transmissibilidade no ambiente da diálise e a infecção de receptores por enxertos de doadores infectados. O uso imperativo de imunossupressão farmacológica nos pacientes transplantados renais pode potencialmente alterar a evolução da história natural destas infecções propiciando

um curso mais acelerado do dano hepático na medida em que possibilita maior replicação viral (36).

O citomegalovírus, que provoca a infecção viral mais comum em pacientes transplantados, pode produzir uma hepatite leve que se resolve sem nenhuma consequência com a resolução da infecção viral. O vírus Epstein-Barr pode causar hepatite, mas não com o mesmo contexto clínico do citomegalovírus. O vírus do herpes simples pode causar hepatite fulminante, usualmente em associação com infecção disseminada, coagulação intravascular disseminada e encefalite. O vírus da Varicella Zoster também tem sido associado ao desenvolvimento de hepatite leve. O diagnóstico de disfunção hepática associada com herpes simples ou varicella zoster é corroborada pela presença de lesões cutâneas vesiculosas (37).

1.2.1. Hepatite B

A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) é um problema de saúde pública mundial. Estima-se que há mais de 300 milhões de portadores do HBV, dos quais 1 milhão morrerá anualmente de doença hepática relacionada ao HBV. O curso clínico da infecção por HBV varia em doença aguda ou crônica. O curso clínico da infecção depende da idade e do estado imune do hospedeiro, do tempo de infecção e nível de replicação viral.

O transplante renal não é contraindicado em pacientes com insuficiência renal crônica e infecção por hepatite B assintomática. Entretanto, a evolução clínica da hepatopatia e a sobrevivência do enxerto nestes pacientes pode ser pior do que naqueles não infectados. Um estudo avaliou o curso clínico de 150 receptores

de transplante renal HbsAg positivos. A média do tempo de seguimento foi de 125 meses, e observou-se uma piora da histologia hepática em 85% dos pacientes, o que foi acompanhado de cirrose em 30% dos casos. A sobrevida do enxerto renal foi significativamente menor entre os pacientes com hepatite B quando comparados com 1200 pacientes não infectados. Não houve diferença na mortalidade entre os grupos, embora a doença hepática tenha sido a principal causa de morte no grupo HbsAG positivo (38). Breitefeldt et al também mostraram que a mortalidade de pacientes portadores do vírus da hepatite B é maior em relação aos pacientes HbsAg negativos, e o prognóstico foi pior naqueles pacientes que apresentavam replicação viral (HbeAG positivo) e co-infecção pelo vírus C (39).

O melhor tratamento para receptores de transplante renal com hepatite B crônica ainda não está bem definido. O tratamento com interferon alfa tem baixa eficácia em pacientes imunossuprimidos e pode precipitar a rejeição aguda do enxerto renal, portanto não deve ser utilizado. A efetividade de agentes antivirais como a lamivudina tem sido avaliada nestes pacientes. Em uma série de casos, lamivudina foi administrada em 6 receptores de transplante renal HBV DNA positivos com hepatite crônica ativa (4 pacientes) ou cirrose (2 pacientes). O uso de lamivudina na dose de 100 mg/dia por pelo menos 6 meses, resultou na eliminação do HBV DNA em todos os pacientes sem nenhum efeito adverso, incluindo piora da função renal. Após a parada da medicação houve evidências de recaída virológica e bioquímica (40). Outro estudo clínico não controlado avaliou os resultados em 19 receptores de transplante renal HBeAg positivos que foram tratados com lamivudina (100 mg/dia) por 1 ano. Em 3 meses, o DNA do vírus da

hepatite B foi indetectável em 80 % dos pacientes; e houve normalização de enzimas hepáticas em 4 meses (41).

1.2.2. Hepatite C

O vírus da hepatite C (HCV) é um pequeno vírus da família Flaviviridae que mede entre 40 a 60 nm e é recoberto por um envelope lipídico. Seu genoma viral é composto por uma única hélice de RNA com aproximadamente 9.400 nucleotídeos. Os testes diagnósticos para o HCV podem ser divididos em duas categorias, testes sorológicos que detectam anticorpos para HCV, e testes moleculares que detectam ou quantificam RNA viral (PCR). Outros testes diagnósticos como a genotipagem viral e a biópsia hepática podem ser utilizados como preditivos do prognóstico e resposta ao tratamento.

A infecção pelo HCV é comum na população de pacientes com insuficiência renal crônica. Estudos usando testes ELISA de primeira ou segunda geração detectaram anticorpos anti-HCV em 8% a 55% dos pacientes em diálise (35). Em nosso meio a prevalência é alta e supera os 30% (34).

O efeito da infecção pelo vírus C em receptores de transplante renal é controverso, sendo que, a maioria dos estudos não mostrou impacto significativo na sobrevida dos enxertos e dos pacientes (42, 43). Entretanto, pelo menos um estudo comparando pacientes anti-HCV positivos em lista de espera para transplante renal com pacientes anti-HCV positivos que foram submetidos a transplante mostrou uma sobrevida significativamente menor no grupo que permaneceu em diálise (44).

Em pacientes portadores do HCV em terapia de substituição renal a evolução da hepatopatia é freqüentemente lenta, sendo que poucos pacientes desenvolvem cirrose (45). Entretanto, a terapia imunossupressora pode alterar a historia natural da infecção por vírus C. Roth et al mostraram que a terapia imunossupressora aumenta significativamente os níveis de RNA viral (46). Pelo menos um estudo mostrou também que a sobrevida do enxerto de pacientes anti HCV positivos foi significativamente menor, provavelmente relacionado ao desenvolvimento de glomerulonefrite de novo relacionada ao HCV (47).

Nos pacientes com hepatopatia crônica ativa pelo HCV e com função renal normal a terapia de escolha é a combinação de α interferon associado a ribavirina. O objetivo da terapia do HCV é a erradicação a longo prazo do vírus. Resposta sustentada, como é chamada a terapia que obteve sucesso, é definida com a ausência no RNA do HCV no soro do paciente durante o tratamento e após 6 meses do término do mesmo (48). Atualmente a terapia que apresentou melhores resultados é a combinação de interferon peguilado com ribavirina que mostrou uma resposta sustentada de 54% dos pacientes (49). Análise de subgrupos mostrou uma resposta sustentada de 42% em pacientes com genótipo 1 e de 82% com genótipos 2 e 3 (50). No entanto, pacientes transplantados renais anti HCV positivos não toleram o uso de interferon e seu uso está associado com o desenvolvimento de insuficiência renal aguda que pode ou não cronificar, levando o paciente de volta para hemodiálise crônica. A perda de função renal pode estar relacionada ao desenvolvimento de rejeição vascular aguda ou nefropatia túbulo intersticial durante o curso do tratamento (51). Desta maneira, a melhor estratégia

ainda é tratar os pacientes candidatos a transplante renal anti HCV positivos enquanto estão em programa de diálise crônica.

1.3. Hepatotoxicidade dos imunossupressores

Algumas drogas imunossupressoras apresentam toxicidade hepática. Classicamente é conhecido que a azatioprina ocasionalmente pode provocar hepatite e colestase, que se apresenta como uma elevação reversível nos níveis de bilirrubinas e transaminases, mas também a ciclosporina e o OKT3 também podem provocar alterações de função hepática.

A azatioprina tem sido descrita como droga potencialmente hepatotóxica, principalmente no contexto de pacientes com hepatites virais. Os danos hepáticos da azatioprina parecem ser mais proeminentes em pacientes portadores de hepatite B ou C. A influência destas infecções foi avaliada em 21 receptores de transplante renal que desenvolveram hepatotoxicidade por azatioprina. O diagnóstico foi baseado na presença de icterícia, a qual desapareceu após a retirada da azatioprina em 18 pacientes e redução da droga em 3 pacientes. Dos 21 pacientes, 20 apresentavam marcadores virais para hepatite B ou C, sendo seis pacientes HBsAg positivos e 17 pacientes anti-HCV positivos (52).

Estudo recente sugere que a utilização de azatioprina em transplantados renais portadores de hepatopatia por vírus B e/ou C foi associada com pior evolução a longo prazo, principalmente decorrente de complicações infecciosas e hepáticas, em especial cirrose e hepatoma (53). Recentemente a azatioprina tem sido amplamente substituída pelo MMF que em combinação com ciclosporina e esteróides, é mais efetivo que a azatioprina na prevenção de rejeição aguda em

receptores de transplante renal de doador cadáver (8, 9, 10). Tais estudos também não mostraram diferenças significativas na incidência de complicações a curto prazo, particularmente aquelas de natureza infecciosa. Atualmente há na literatura apenas um estudo avaliando o efeito do MMF em receptores de transplante renal anti-HCV positivos. Em uma análise de 14 pacientes anti HCV positivos com disfunção crônica do enxerto que foram convertidos para terapia com MMF, verificou-se que estes pacientes apresentaram aumento significativo da viremia sem que, no entanto, houvesse um aumento das enzimas hepáticas (54).

A toxicidade hepática por ciclosporina ocorre raramente em pacientes utilizando baixas doses da medicação e com níveis séricos adequados. No entanto, pacientes portadores de hepatite C apresentam hepatotoxicidade por ciclosporina mais freqüentemente. É provável que o vírus da hepatite C interfira no metabolismo da ciclosporina e/ou na sua excreção biliar induzindo hepatotoxicidade mesmo em pacientes utilizando doses baixas da medicação (55).

Após a realização do transplante renal em pacientes anti HCV positivos, deve-se evitar a imunossupressão excessiva que pode induzir aumento da replicação viral, e por conseqüência levar a uma progressão mais rápida da doença hepática.

Pelo exposto acima, verificam-se muitas controvérsias sobre a melhor estratégia no manejo de pacientes anti-HCV positivos quando submetidos ao transplante renal. Em 1997, iniciou-se um estudo nacional, randomizado, multicêntrico, de fase III, com o objetivo de avaliar a eficácia e segurança do uso de MMF na prevenção da rejeição aguda de transplantes renais. Neste estudo, foram incluídos pacientes receptores de primeiro transplante com doador vivo ou

cadavérico, alocados para receber imunossupressão tríplice com prednisona, ciclosporina e azatioprina ou MMF. Os pacientes também foram randomizados em relação ao seu estado sorológico para hepatite C. No presente estudo realizou-se uma análise complementar de uma amostra do estudo multicêntrico original com o objetivo de comparar os efeitos do MMF e da Azatioprina na evolução das provas que refletem dano hepático após o transplante renal e a associação destes achados com a sorologia para o vírus da hepatite C.

1.4. Referências bibliográficas

1. Danovitch GM. Immunosuppressive Medications and Protocols for Kidney Transplantation. In Danovitch GM. **Handbook of Kidney Transplantation**. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
2. Manfro RC, Gonçalves LF, Saitovitch D. Imunologia e Farmacologia das Drogas Imunossupressoras. In: Barros E, Manfro RC, Thomé F, Gonçalves LF. **Nefrologia: Rotinas, Diagnósticos e Tratamento**. 2.º ed. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul LTDA, 1999. p423-40
3. Murray JE, Merrill JP, Harrison JH. Prolonged survival of human kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. **N Engl J Med**, 1963, 26: 1315.
4. Ventak Raman G, Sharman VL, Lee HÁ. Azathioprine and allopurinol: a potentially dangerous combination. **J Intern Med** 1990, 288: 69-71.
5. Krensky AM, Strom TB, Bluestone JÁ. Immunomodulators: Immunossuppressive agents, tolerogens, and immunostimulants. In: Hardman JG & Limbierd LE. **Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics** 10th ed. McGraw-Hill, 2001. p1463-84.
6. Gummert JF, Ikonen T, Morris RE: Newer Immunossuppressive Drugs: A Review. **J Am Soc Nephrol** 1999; 10:1366-80.
7. Suthanthiran M, Morris RE, Strom TB: Imunosuppressants: Cellular and Molecular Mecanismos of Action. **Am J Kidney Dis** 1996; 28(2): 159 -72.

8. Wiesel M, Carl S. A placebo controlled study of mycophenolate mofetil used in combination with cyclosporine and corticosteroids for the prevention of acute rejection in renal allograft recipients: 1 year results. The European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. **J Urol** 1998; 59 (1): 28-33.
9. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U. S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. **Transplantation** 1995; 60(3): 225-32.
10. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A Blinded, Randomized Clinical Trial of Mycophenolate Mofetil for the Prevention of acute Rejection in Cadaveric Renal Transplantation. **Transplantation** 1996; 61 (7): 1029-37.
11. The Mycophenolate Mofetil Renal Refractory Rejection Study Group. Mycophenolate mofetil for the treatment of refractory, acute, cellular renal transplant rejection. **Transplantation** 1996; 61(5): 722-29.
12. Pascual M, Saidman S, Tolkoff-Rubin N, et al. Plasma exchange and tacrolimus-mycophenolate rescue for acute humoral rejection in kidney transplantation. **Transplantation** 1998; 66: 1460-4.
13. US Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. Mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. **Am J Kidney Dis** 1999; 34 (2); 296-303.
14. Mathew TH. A blinded, long-term, randomized multicenter study of mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. **Transplantation** 1998; 65(11): 1450-4.

15. European Mycophenolate Mofetil, Cooperative Study Group. Micophenolate mofetil in renal transplantation: 3-year results from the placebo-controlled trial. **Transplantation** 1999; 68 (3): 391-6.
16. Akinlolu OO, Meier-Kriesche HU, Hanson JA, et al. Micophenolate mofetil reduces late renal allografts loss independent of acute rejection. **Trasplantation** 2000; 69 (11) : 2405-09.
17. Plosker GL, Foster RH. Tacrolimus; A further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. **Drugs** 2000; 59(2): 323-89.
18. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, et al. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. **Transplantation** 1997; 63(7): 977-83.
19. Solez K, Vincenti F, Filo RS. Histopathologic finding from 2-year protocol biopsies from an U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine. **Transplantation** 1998; 66 (12): 1736-40.
20. Mayer AD, Dmitrewski J, Squifflet JP, et al. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK 506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study group. **Transplantation** 1997; 6(3): 436-43.
21. Hauser IA, Neumayer HN. Tacrolimus and cyclosporine efficacy in high-risk kidney transplantation. **Transpl Int** 1998; 11, Suppl1: S73-7.
22. Johnson C, Ahsan N, Gonwa T, et al. Randomized trial of tacrolimus (Prograf) in combination with azathioprine or mycophenolate mofetil versus cyclosporine

- (Neoral) with mycophenolate mofetil after cadaveric kidney transplantation. **Transplantation** 2000; 69(5):834-841.
23. Jordan MI, Shaper NR, Smith D, et al. Tacrolimus for rescue of refractory renal allograft rejection. **Transplant Proc** 1998; 30 (4): 1257-60.
24. Jensik SC, FK 506 Kidney Transplant Study Group. Tacrolimus (FK 506) in kidney transplantation: three-year survival results of the US multicenter, randomized, comparative trial. **Transplant Proc** 1998; 30(4): 1216-8.
25. Mayer AD, for the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. Four-year follow-up of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study. **Transplant Proc** 1999; 31 Suppl. 7: S27-8.
26. Spencer CM, Goa KL, Gillis JC. Tacrolimus: An update of its pharmacology and clinical efficacy in the management of organ transplantation. **Drugs** 1997; 54(6): 925-75.
27. Kreis H, Cisterne JM, Land W, et al. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. **Transplantation** 2000; 69(7): 1252-60.
28. Kahan BD for The Rapamune US Study Group. Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. **Lancet** 2000; 356: 194-202.
29. Groth CG, Backman L, Morales JM, et al. Sirolimus (Rapamycin)-based therapy in human renal transplantation. Similar efficacy and different toxicity compared with cyclosporine. **Transplantation** 1999; 67 (7):1036-1042.

30. Vincenti F, Kirkman R, Light S, et al. Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. Daclizumab Triple Therapy Study Group. **N Eng J Med** 1998; 338 (3): 161-5.
31. Nashan B, Light S, Hardie IR, et al. Reduction of acute renal allograft rejection by daclizumab. Daclizumab Double Therapy Study Group. **Transplantation** 1999; 67(1): 110-5.
32. Kahan BD, Rajagopalan PR, Hall M. reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2-receptor monoclonal antibody. United States Simulect Renal Study Group. **Transplantation** 1999; 67(2): 276-84.
33. Nashan B, Moore R, Amlot P, et al. Randomised trial of basiliximab versus placebo for control of acute cellular rejection in renal allograft recipients. CHIB 201 International Study Group. **Lancet** 1997; 350 (9086): 1193-8.
34. Karhol C, Manfro RC, Senger MB, Thomé FS, Gonçalves LF, Rigatto M, et al. Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica em Porto Alegre. **Jornal Bras Nefrol** 1995; 17:40-6).
35. Druwe PM, Michielsen PP, Ramon AM, DeBroe ME: Hepatitis C and nephrology. **Nephrol Dial Transplant** 9;230-237, 1994.
36. Roth D: Hepatitis C virus: The nephrologist's view. **Am J Kidney Dis** 25:3-16. 1995.
37. Chan L, Kam I. Outcomes and Complications of Renal Transplantation. In: Schrier RW & Gottschalk CW. **Diseases of the Kidney** 6th ed. Little, Brown and Company, New York, 1997. p 2713-2770.

38. Fornarion S, Pol S, Legendre C, Carnot F, et al. The Long-term virologic and pathologic impact of renal transplantation on chronic hepatitis B virus infection. **Transplantation**, 62(2): 297-9, 1996.
39. Breitenfeldt MK, Rosenack J, Berthold H, et al. Impact of hepatitis B and C on graft loss and mortality of patient after kidney transplant. **Clin Transplant** 16(2): 130-6, 2002.
40. Rostaing L, Henry S, Cisterne Jm, Duffaut M, et al. Efficacy and safety of lamivudine on replication of recurrent hepatitis B after cadaveric renal transplantation. **Transplantation** 64: 1624-7, 1997
41. Kletz Mayr J, Watschinger B, Muller C, Demetriou D, et al. Twelve months of lamivudine treatment for chronic hepatitis B virus infection in renal transplant recipients. **Transplantation** 70 (9): 1404-7, 2000.
42. Roth D, Sucker K, Cirocco R, Burke G, et. al. A prospective study of hepatitis C virus infection in renal allograft recipients. **Transplantation** 61: 886-9, 1996.
43. Kliem V, van den Hoff V, Brunkhorst R, Tillmann HL, et al: The long course of hepatitis C after kidney transplant. **Transplantation** 62: 1417-21,1996.
44. Knoll G, Tankersley MR, Lee JY, Julian BA, Curtis JJ. The Impact of Renal Transplantation on Survival in Hepatitis C Positive End-Stage Renal Disease Patients.
45. McCruden EA, Welch S, Batchelor B, Allison Mc, et al. Hepatitis C virus infection detected by antibody tests and the polymerase chain reaction as a cause of liver dysfunction in renal transplant recipients. **J Med Virol** 42(2): 158-63, 1994.

46. Roth D., Fernandez JÁ, Bavirchkins S, et al. Transmission of hepatitis C virus with solid organ transplantation. **Transplant Proc** 25: 1476-7, 1993.
47. Morales JM, Andrés A, Campistol JM. Hepatitis C virus and organ transplantation. **N Eng J med** 328: 511-2, 1993..
48. Herrine SK. Approach to the patient with chronic hepatitis C virus infection. **Annals of Internal Medicine** 136: 747-57, 2002
49. Glue P, Rouzier-Panis R, Raffanel C, Sabo R, Gupta SK, Jacobs S, et al. A dose-ranging study of PEG-Intron and ribavirin in chronic hepatitis C-safety, efficacy, and virologic rationale. **Hepatology** 30: 303^A, 1999.
50. Manns MP, McHutchinson JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, et al. Reinterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. **Lancet** 358: 958-65, 2001
51. Rostaing L. Treatment of hepatitis C virus infection after renal transplantation: new insights. **Neph Dial Transp** 15: 74-6, 2000
52. Pol S, Cavalcanti T, Carnot F, Legendre C, et al. Azathioprine hepatitis in kidney transplant recipients. A predisposing role of chronic viral hepatitis. **Transplantation** 61(12): 1774-6, 1996
53. David-Neto E, Americo da Fonseca J, Jota de Paula F, Nahas WC, et al. The impact of azathioprine on chronic viral hepatitis in renal transplant: a long term, single center, prospective study on azathioprine withdrawal. **Transplantation** 68: 976-80, 1999.
54. Rostaing L, Isopet J, Sandres K, Cisterne JM, Puel J, Durant D. changes in hepatitis C virus RNA viremia concentrations in long-term renal transplant

patientes after introduction of mycophenolate mofetil. **Transplantation** 2000; 69(5): 991-4.

55. Horina JH, Wirnsberg GH, Kenner L, et al. Increased susceptibility for CsA-induced hepatotoxicity in kidney allograft recipient with chronic viral hepatitis C. **Transplantation** 56: 1091-4, 1993

2. Objetivos

2.1. Geral:

- comparar o efeito do micofenolato mofetil e azatioprina no desenvolvimento de hepatopatia pós transplante renal

2.2. Específicos:

- comparar a evolução das enzimas que refletem dano hepático (alanino aminotransferase, aspartato aminotransferase, e bilirrubinas)
- comparar a tolerabilidade das drogas em relação aos efeitos tóxicos hepáticos
- verificar a associação entre o desenvolvimento de hepatopatia e infecção pelo vírus C

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL DE LESÃO HEPÁTICA
EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL
EM USO DE ESQUEMA IMUNOSSUPRESSOR
COM MICOFENOLATO MOFETIL OU COM AZATIOPRINA
E SUA ASSOCIAÇÃO COM SOROLOGIA PARA VÍRUS DA HEPATITE C**

INTRODUÇÃO

A doença hepática continua sendo um problema relevante após o transplante renal. Isto decorre principalmente da toxicidade por drogas ou das infecções por vírus hepatotrópicos, em especial os vírus das hepatites B (HBV) e C (HCV). Menos freqüentemente, pode ser causada por outros vírus não hepatotrópicos, como citomegalovírus, herpes simples, herpes zoster e Epstein-Barr.

A infecção pelo HCV é comum na população de pacientes com insuficiência renal crônica. Estudos, utilizando teste ELISA de primeira ou segunda geração, detectaram anticorpos anti-HCV em 8% a 55% dos pacientes em diálise (1). Em nosso meio a, prevalência é alta, e supera os 30% (2). Em pacientes portadores do HCV em terapia de substituição renal, a evolução da hepatopatia é freqüentemente lenta, sendo que poucos pacientes desenvolvem cirrose. Entretanto, a terapia imunossupressora pode alterar a historia natural da infecção por vírus C (3).

Alguns estudos verificaram que a imunossupressão pode ter uma papel importante na aceleração da história natural da infecção pelo HCV, uma vez que pode permitir maior replicação viral e estar associada a uma evolução mais rápida para cirrose. Adicionalmente, certos fármacos imunossupressores apresentam toxicidade hepática. Classicamente é conhecido que a azatioprina ocasionalmente pode provocar hepatite e colestase, que se apresenta como uma elevação reversível nos níveis de bilirrubinas e transaminases .

Recentemente a azatioprina tem sido substituída pelo micofenolato mofetil (MMF) nos esquemas de imunossupressão. Ensaio clínicos randomizados mostraram que, em combinação com ciclosporina e esteróides, MMF é mais efetivo que a azatioprina na prevenção de rejeição aguda em receptores de transplante renal de doador cadáver (6-8). Tais estudos também não mostraram diferenças significativas na incidência de complicações a curto prazo, particularmente àquelas de natureza infecciosa. O componente ativo do MMF, o ácido micofenólico, parece ter propriedades anti-virais, o que seria adicionalmente benéfico no contexto dos pacientes anti-HCV positivos receptores de transplante renal .

O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos do MMF e da azatioprina na evolução das provas que refletem dano hepático após o transplante renal e a associação destes achados com a sorologia para vírus da hepatite C.

Material e Métodos

Este estudo é parte de um ensaio clínico multicêntrico, randomizado, aberto, controlado, comparando MMF e azatioprina, realizado em 14 centros

brasileiros entre 1997 e 1998. Os critérios de exclusão foram de co-infecção por vírus da hepatite B no momento da randomização.

Duzentos e cinquenta e dois pacientes foram randomizados para receber MMF ou azatioprina, ambos em conjunto com ciclosporina e prednisona. Destes foram selecionados para o presente estudo todos os transplantados renais portadores do vírus da hepatite C por teste ELISA de segunda geração (n=62). Controles anti-HCV negativos (n=62) foram retrospectivamente pareados de acordo com a droga que usaram (MMF ou azatioprina), sexo, idade (por década) e centro de inclusão no estudo, sendo que o pesquisador (A.R.R.) no pareamento era cego para a evolução clínica do paciente. Os testes de função hepática analisados foram alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e bilirrubinas, nos seguintes tempos: antes da randomização, 1º mês, 6º mês e 12º mês após transplante renal. Disfunção hepática foi definida como elevação dos testes de lesão hepática maior do que duas vezes o limite superior da normalidade.

Para a análise estatística foram utilizados o teste t pareado e não pareado, e Qui-quadrado ou teste exato de Fischer. Para avaliação ao longo do tempo foi feita análise de variância para medidas repetidas. Um valor de P menor do que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

Cento e vinte e quatro pacientes foram incluídos no estudo, sendo que 62 foram randomizados para o grupo MMF (32 anti-HCV positivos e 30 anti-HCV negativos) e 62 para o grupo Azatioprina (29 anti-HCV positivos e 33 anti-HCV

negativos). Um total de 34,4% dos pacientes (42 pacientes, 10 no grupo MMF/HCV+, 12 no grupo MMF/HCV-, 8 no grupo Azatioprina/HCV+ e 12 no grupo Azatioprina/HCV-, qui-quadrado=0,12 P=0,72) não completaram o tempo de seguimento do estudo por eventos adversos, perda do enxerto ou óbito (figura 1). Evento adverso relacionado a droga foi a causa mais comum de descontinuação do estudo, responsável por 51% das perdas de seguimento (Qui-Quadrado= 0,19, P= 0,82).

Aqui figura 1

Não houve diferença entre os dois grupos, em relação a sexo, cor, idade, tempo de isquemia fria, ALT e bilirrubinas pré-transplante. Porém houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos no tempo de diálise pré-transplante renal ($p < 0,001$), número de transfusões sangüíneas ($p=0,008$) e valor de AST pré-transplante ($p=0,001$). O grupo de pacientes anti-HCV + apresentou maior tempo de diálise pré-transplante, maior número de transfusões sangüíneas e valores de AST maiores (tabela 1).

Aqui tabela 1

A evolução das provas hepáticas pode ser acompanhadas nas figuras 2, 3 e 4. Na análise de variância para medidas repetidas houve variação estatisticamente significativa dos valores de ALT ($p = 0,004$) e bilirrubinas ($p=0,05$), porém não houve associação desta variação com a droga utilizada, com a presença do vírus da hepatite C ou quando ambos foram analisados em conjunto. Em relação à ALT, a diferença se deu às custas de um aumento de seus níveis no primeiro mês em relação aos níveis pré-transplante ($p=0,017$), havendo redução no 6.º mês ($p=0,005$) e no 12.º mês ($p=0,003$). Não houve diferença entre

os valores pré-transplante e do 12.º mês. Não houve diferença nos níveis de AST nos períodos avaliados após o transplante renal entre os grupos ou no período de seguimento de um grupo em particular. No caso da bilirrubina, observou-se diferença entre o primeiro e sexto mês ($p= 0,016$) e primeiro e 12.º mês ($p=0,014$).

Aqui figura 2

Aqui tabela 2

Aqui figura 3

Aqui tabela 3

Aqui figura 4

Aqui tabela 4

Trinta e dois (28,1%) pacientes apresentaram disfunção hepática. O grupo de pacientes anti-HCV positivos apresentou mais episódios de disfunção hepática (19 anti-HCV positivos *versus* 13 anti-HCV negativos), porém sem significância estatística ($P= 0,54$). Também não houve diferença nos episódios de disfunção hepática em relação a droga utilizada, micofenolato ou azatioprina ($P= 0,52$)

Discussão

A infecção crônica pelo vírus da hepatite C é comum na população em geral, sendo nestes indivíduos freqüentemente assintomática. Assume proporções muito maiores quando se trata da população de pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise e, conseqüentemente, em receptores de transplante renal. O curso clínico e os desfechos impostos pela infecção pelo HCV em pacientes transplantados renais vem sendo bastante estudados. Diversas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de determinar quais as conseqüências da presença

do vírus da hepatite C após o transplante renal. Entretanto, o efeito desta infecção em receptores de transplante renal é controverso, sendo que alguns estudos não mostraram impacto significativo na sobrevida do enxerto e do paciente.

Gentil e *cols* analisaram retrospectivamente 335 receptores de transplante renal e observaram que pacientes com anticorpos contra o vírus da hepatite C apresentaram menor sobrevida do paciente e do enxerto, em relação aos pacientes anti-HCV negativos. A função renal desses pacientes também foi pior em todos os períodos do seguimento (9). Legendre e *cols* realizaram um estudo com 112 receptores de transplante renal portadores do vírus da hepatite C, e seus resultados também demonstraram uma redução na sobrevida do paciente e do enxerto em relação ao grupo controle (10).

Por outro lado, uma série de estudos não têm demonstrado, de forma inequívoca, um efeito deletério desta infecção viral em pacientes transplantados renais. Roth e *cols* analisaram 180 pacientes portadores do vírus da hepatite C que realizaram transplante renal e não demonstraram diferença na sobrevida do paciente e do enxerto destes pacientes em relação ao grupo controle(11). Knoll e *cols* compararam pacientes anti-HCV positivos e que receberam transplante renal com aqueles em lista de espera para transplante e demonstraram que os pacientes que realizaram transplante apresentaram uma sobrevida maior em relação ao grupo que permaneceu em lista de espera (12). Dados analisados a partir de 73.707 pacientes que foram submetidos a transplante renal entre outubro de 1988 e junho de 1997, registrados no banco de dados do United States Renal Data System (USRDS), mostrou que pacientes com vírus da hepatite C apresentavam maior sobrevida em relação àqueles anti-HCV negativos, no

entanto pacientes anti-HCV positivos apresentaram maior número de rejeições em relação ao grupo controle (13).

Poucos estudos visam correlacionar a evolução do dano hepático e conseqüentemente a sobrevida do receptor com o esquema imunossupressor utilizado. A influência das hepatites virais foi avaliada em 21 receptores de transplante renal que desenvolveram hepatotoxicidade por azatioprina (4). O diagnóstico foi baseado na presença de icterícia, a qual desapareceu após a retirada da azatioprina em 18 pacientes e redução da droga em 3 pacientes. Dos 21 pacientes, 20 apresentavam marcadores virais para hepatite B ou C (6 pacientes HBsAg positivos e 17 pacientes anti-HCV positivos). Estudo de David-Neto e cols sugere que a utilização de azatioprina em transplantados renais portadores de hepatopatia por vírus B e/ou C foi associada com pior evolução a longo prazo, principalmente decorrente de complicações infecciosas e hepáticas (cirrose e hepatocarcinoma) (5).

Os estudos *in vitro* mostraram que o MMF possui propriedades anti-virais contra flavivírus, inibindo a replicação do vírus da hepatite B em culturas de hepatócitos humanos (14). O vírus da hepatite C é um membro da família flavivírus, sugerindo que ele também possa ser inibido pelo MMF. Seu efeito foi testado em pacientes com hepatite crônica por vírus C e que receberam MMF por 8 semanas. Não houve redução da carga viral ou negatificação do HCV, assim como não ocorreu normalização dos níveis de transaminases em nenhum paciente (15). Em receptores de transplante hepático anti-HCV positivos, o uso de MMF associado a tacrolimus e corticóide não alterou a sobrevida do enxerto, a sobrevida dos pacientes, o número de rejeições ou a taxa de recorrência de

hepatopatia por vírus C (16). Até o momento há na literatura apenas um estudo avaliando o efeito do MMF em receptores de transplante renal anti-HCV positivos. Rostaing et al analisaram 14 pacientes anti HCV positivos com disfunção crônica do enxerto que foram convertidos para terapia com MMF. Estes pacientes apresentaram aumento significativo da viremia sem que, no entanto, houvesse um aumento das enzimas hepáticas, o que está de acordo com nosso estudo. Além disto, após 12 meses de seguimento, não houve diferença na incidência de disfunção hepática entre os grupos (17). Estes dados sugerem que ou o MMF não tem efeito inibidor sobre o HCV ou seu efeito imunossupressor sobrepõe-se ao seu efeito anti-viral.

O tempo de acompanhamento insuficiente em relação aos novos imunossupressores é um fator limitante para detectarmos se há realmente mudança na evolução da doença hepática. Nossa análise mostrou que ao final de um ano não houve alteração da função hepática dos pacientes, independente da droga utilizada e da presença ou não do vírus da hepatite C. Porém, ao final do primeiro mês pós- transplante houve uma aumento significativo dos valores de ALT em todos os grupos, sem diferença entre eles, e que voltou aos padrões basais nas avaliações subsequentes. Não se pode determinar qual a causa desta alteração, mas é possível que o fígado apresente algum grau de sofrimento imposto pelas alterações sistêmicas provocadas pelo transplante renal.

Em conclusão, o presente estudo não revelou qualquer diferença na incidência de alterações hepáticas nos pacientes transplantados renais anti-HCV positivos ou anti-HCV negativos tratados com esquemas imunossupressores com MMF ou com azatioprina no período de acompanhamento de um ano. A razão

para estes resultados não está totalmente clara, mas é teoricamente possível que o tempo entre as coletas não tenha permitido a detecção de alterações agudas reversíveis. Por outro lado, para a detecção de alterações crônicas, possivelmente seja necessário um maior tempo de seguimento para que as diferenças, caso existentes, se tornem evidentes.

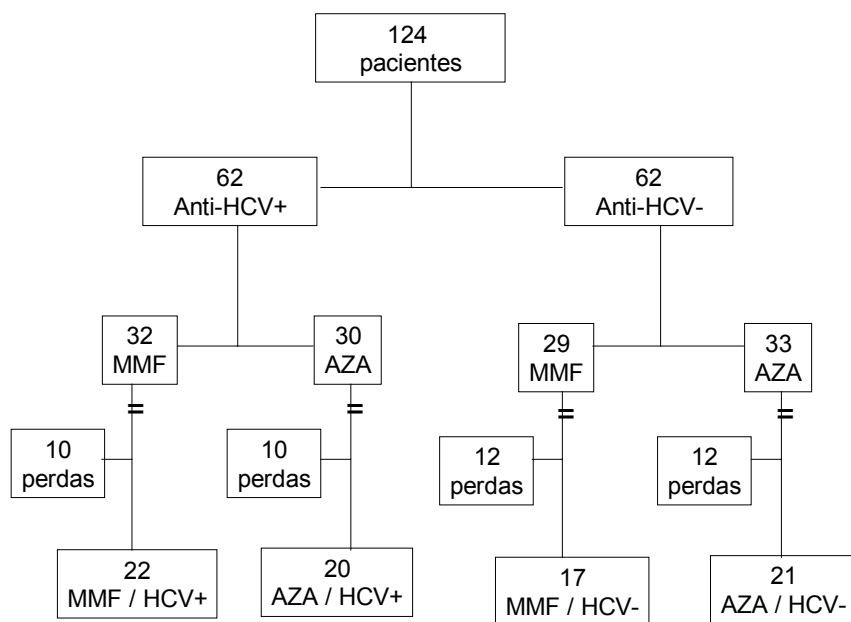


Figura 1. Demonstração do fluxo dos pacientes arrolados no estudo de acordo com seus subgrupos.

1. Características basais dos grupos

Características	MMF / HCV+	MMF / HCV-	AZA / HCV+	AZA / HCV-	p
Sexo					
Masculino	17	19	13	15	0,385 ^α
Feminino	15	10	15	18	
Cor					
Branco	20	20	15	22	0,639 ^α
Não Branco	12	9	13	11	
Idade (anos) média ± DP	41,03 ± 8,95	42,59 ± 8,16	37,71 ± 10,49	37,67±10,49	0,121 ^β
Tempo de diálise (meses) mediana (P25%;P75%)	52 (26; 83)	16 (6,5; 48,5)	49 (38; 77,2)	20 (9,2; 53)	<0,001 ^χ
Isquemia fria (horas) mediana (P25%;P75%)	21 (18,5; 25)	18 (13; 22)	17(13,7; 31,2)	16 (9,5; 21)	0,12 ^χ
Transfusões (N°) mediana	2 (1; 5)	0 (0; 2)	3 (0,25; 5)	1 (0; 3)	0,008 ^χ
ALT (U/L) média ± DP	21,83 ± 18,46	16,62 ± 11,72	25,6 ± 15,83	18,88 ± 15,7	0,163 ^β
AST (U/L) média ± DP	20,16 ± 11,13	13,72 ± 6,78	26,75 ± 16,26	18,09 ± 1305	0,001 ^β
Bilirrubina (mg/dL) média ± DP	0,77 ± 0,36	0,80 ± 0,36	0,80 ± 0,39	0,68 ± 0,38	0,572 ^β

α: Qui-quadrado

β: ANOVA

χ: Teste de Kruskal Wallis

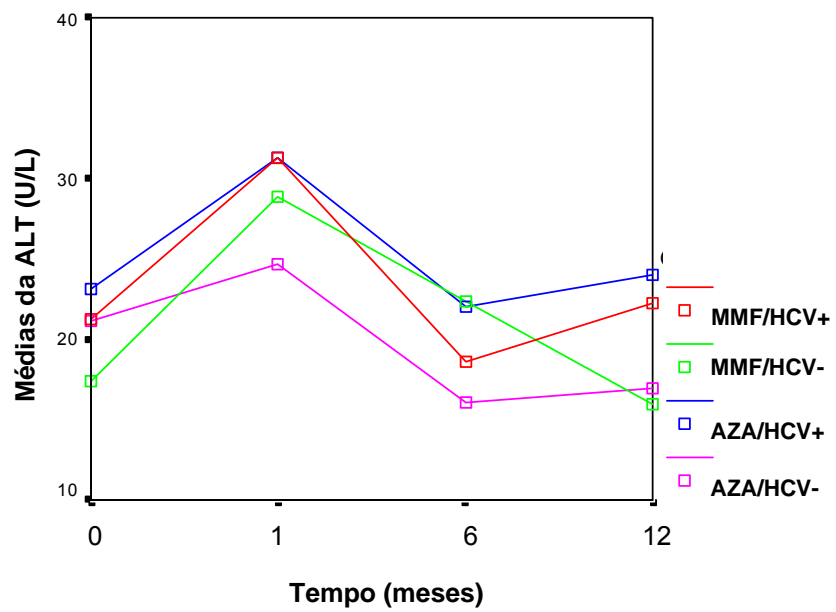


Figura 2. Seguimento das médias de ALT durante os 12 meses

Tabela 2. Evolução da ALT ao longo de 12 meses (em U/L)

Tempo	Basal	1º mês	6º mês	12º mês
Grupo	(média ± DP)	(média ± DP)	(média ± DP)	(média ± DP)
MMF / HCV+	21,25 ± 18,65	31,25 ± 30,45	18,65 ± 7,21	22,25 ± 8,16
MMF / HCV-	17,43 ± 12,33	28,91 ± 30,03	22,30 ± 27,5	15,96 ± 6,12
AZA / HCV+	23,12 ± 17,02	31,29 ± 26,46	22,06 ± 14,89	24,06 ± 10,72
AZA / HCV-	21,15 ± 17,72	24,65 ± 18,00	16,10 ± 5,78	16,9 ± 10,55

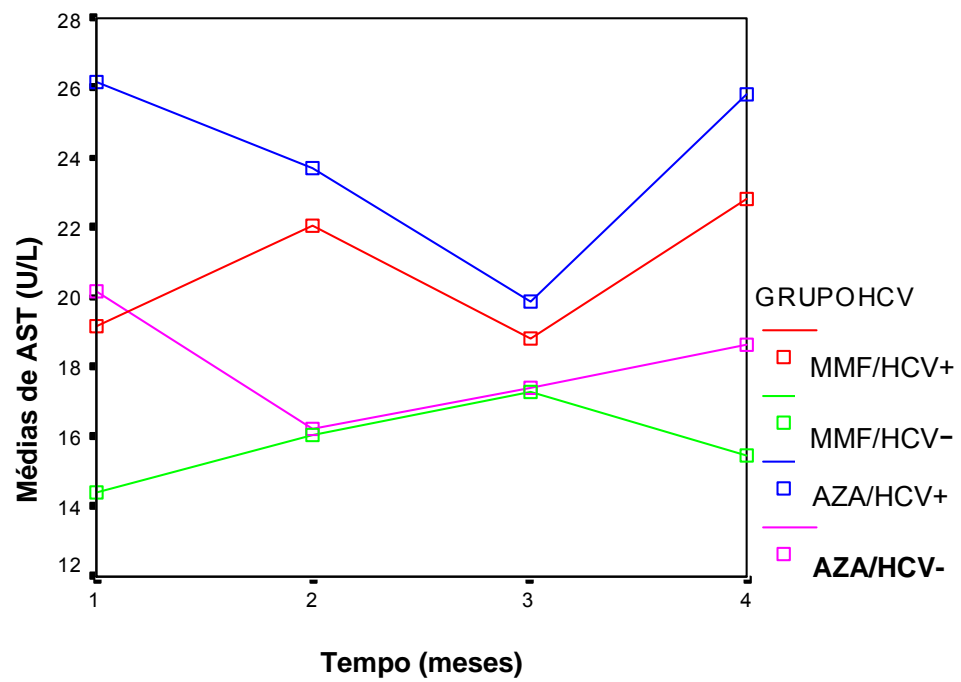


Figura 3. Seguimento das médias de AST durante os 12 meses

Tabela 3. Evolução da AST ao longo de 12 meses (em U/L)

Tempo	Basal	1º mês	6º mês	12º mês
Grupo	(média ± DP)	(média ± DP)	(média ± DP)	(média ± DP)
MMF / HCV+	19,20 ± 9,93	22,05 ± 10,93	18,85 ± 5,74	22,80 ± 11,10
MMF / HCV-	14,43 ± 6,93	16,09 ± 9,45	17,30 ± 13,63	15,48 ± 5,27
AZA / HCV+	26,18 ± 18,02	23,71 ± 15,56	19,88 ± 7,53	25,82 ± 10,53
AZA / HCV-	20,16 ± 14,64	16,26 ± 7,48	17,42 ± 7,68	18,63 ± 12,64

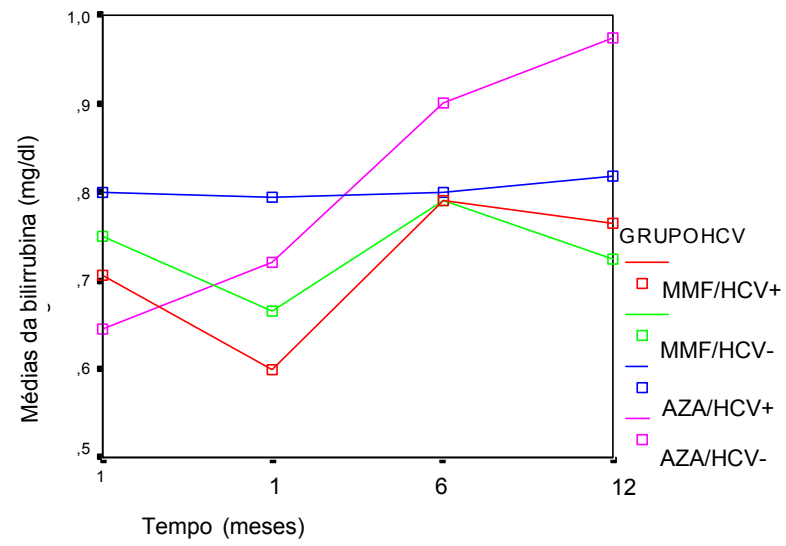


Figura 4. Seguimento das médias da bilirrubina em 12 meses

Tabela 4. Evolução da bilirrubina ao longo de 12 meses (em mg/dL)

Grupo \ Tempo	Basal (média ± DP)	1º mês (média ± DP)	6º mês (média ± DP)	12º mês (média ± DP)
MMF / HCV+	0,70 ± 0,32	0,60 ± 0,26	0,79 ± 0,37	0,76 ± 0,21
MMF / HCV-	0,75 ± 0,34	0,66 ± 0,27	0,79 ± 0,58	0,72 ± 0,27
AZA / HCV+	0,80 ± 0,43	0,79 ± 0,29	0,80 ± 0,23	0,81 ± 0,27
AZA / HCV-	0,64 ± 0,37	0,72 ± 0,43	0,90 ± 0,53	0,97 ± 0,65

Referências

1. Druwe PM, Michielsen PP, Ramon AM, DeBroe ME: Hepatitis C and nephrology. **Nephrol Dial Transplant** 9;230-237, 1994.
2. Karhol C, Manfro RC, Senger MB, Thomé FS, Gonçalves LF, Rigatto M, et al. Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica em Porto Alegre. **Jornal Bras Nefrol** 1995; 17:40-6).
3. Roth D: Hepatitis C virus: The nephrologist's view. **Am J Kidney Dis** 25:3-16. 1995.
4. Pol S, Cavalcanti T, Carnot F, Legendre C, et al. Azathioprine hepatitis in kidney transplant recipients. A predisposing role of chronic viral hepatitis. **Transplantation** 61(12): 1774-6, 1996
5. David-Neto E, Americo da Fonseca J, Jota de Paula F, Nahas WC, et al. The impact of azathioprine on chronic viral hepatitis in renal transplant: a long term, single center, prospective study on azathioprine withdrawal. **Transplantation** 68: 976-80, 1999.
6. Wiesel M, Carl S. A placebo controlled study of mycophenolate mofetil used in combination with cyclosporine and corticosteroids for the prevention of acute rejection in renal allograft recipients: 1 –year results. The European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. **J Urol** 1998; 59 (1): 28-33.
7. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U. S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. **Transplantation** 1995; 60(3): 225-32.

8. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A Blinded, randomized Clinical Trial of Mycophenolate Mofetil for the Prevention of acute Rejection in Cadaveric Renal Transplantation. **Transplantation** 1996; 61 (7): 1029-3
9. Gentil MA, Rocha JL, Rodriguez-Algarra G. Impaired kidney transplant survival in patients with antibodies to hepatitis C virus. *Nephrolo. Dial.* **Transplantation** 1999; 14: 2455
10. Legendre C, Garrigue V, Le Bihan C. Harmful long-term impact of hepatitis C virus infection with mortality and graft survival in kidney transplant recipients . **Transplantation** 1998; 65: 667
11. Roth D: Hepatitis C virus: The nephrologist's view. **Am J Kidney Dis** 1995; 25:3-16.
12. Knoll G, Tankersley MR, Lee JY, Julian BA, Curtis JJ. The Impact of Renal Transplantation on Survival in Hepatitis C Positive End-Stage Renal Disease Patients.
13. Meier-Kriesche HU, Ojo AO, Hanson JÁ, Kaplan B. Hepatitis C antibody status and outcomes in renal transplant recipients. **Transplantation** 2001; 72: 241-4.
14. Gong ZJ, De Meyer S, Clarysse C, Neyts J, De Clercq E, Yap SH. Mycophenolic acid, an immunosuppressive agent, inhibits HBV replication in cultures of primary and immortalized human hepatocytes
15. Firpi RJ, Nelson DR, Davis GL. Lack of antiviral effect of a short course of mycophenolate in patients with chronic hepatitis virus infection. **Liver Transpl** 2003 Jan; 9(1); 57-91

16. Jaim A, Kashyap R, Demetris AJ, Eghstesad B, Pokharna R, Rung JJ. A Prospective randomized trial of mucophenolate mofetil in liver transplant recipients with hepatitis C. **Liver Transplant**. 2002 Jan; 8(1); 47-9.
17. Rostaing L, Isopet J, Sandres K, Cisterne JM, Puel J, Durant D. changes in hepatitis C virus RNA viremia concentrations in long-term renal transplant patients after introduction of mycophenolate mofetil. **Transplantation** 2000; 69(5): 991-4.

Hepatic Damage Assessment in Renal Transplant Recipients on Mycophenolate Mofetil or Azathioprine Based Immunosuppressive Regimen and its Association with Hepatitis C Virus Infection

INTRODUCTION

Hepatic disease continues to be a relevant problem in renal transplant recipients. It's mainly due to drug toxicities and infection by hepatotropic viruses, especially Hepatitis B virus (HBV) and Hepatitis C virus (HCV). Less frequently, hepatic injury can be the consequence of non-hepatotropic viral infections, such as Cytomegalovirus, Herpes Simplex virus, Herpes Zoster virus, and Epstein-Barr virus.

Hepatitis C virus infection is common among patients with chronic renal failure. Studies, using both first and second generation ELISA tests, detected anti-HCV antibodies in 8% to 55% of dialysis patients (1). In Brazil HCV infection is highly prevalent, being present in over 30% of the patients (2). Among anti-HCV positive renal transplant recipients, the progression of hepatic injury is frequently slow and few patients actually develop cirrhosis. Nevertheless, immunosuppressive therapy can alter the natural history of HCV infection (3).

Different studies show that immunosuppression can play an important role in the acceleration of HCV infection natural history; since it allows increased viral replication, and therefore promotes faster progression to cirrhosis. Additionally, several immunosuppressive agents cause hepatic toxicity. Azathioprine is known

for occasionally causing hepatitis and cholestasis, which present with reversible elevations of bilirubin and aminotranferases.

Recently, azathioprine (AZA) has been replaced with mycophenolate mofetil (MMF) in immunosuppressive regimens. Randomized clinical trials show that, in combination with cyclosporine and steroids, MMF is more effective than azathioprine in preventing acute rejection in recipients of cadaveric renal transplants (6-8). Such studies did not detect significant differences in the incidence of short term complications, particularly infectious ones. The active component in mycophenolate mofetil, mycophenolic acid, seems to have anti-viral properties; which would supply provide benefits to anti-HCV positive renal transplantation patients.

The present study aimed at comparing the effects of MMF and azathioprine immunosuppressive therapy in the progression of liver function tests (LFTs), which reflect hepatic damage after renal transplantation, and their association with hepatitis C virus serology.

MATERIAL AND METHODS

This study is part of an open, multicentric, controlled, randomized clinical trial, comparing MMF and azathioprine, which took place in 14 Brazilian centers between 1997 and 1998. Exclusion criteria included hepatic dysfunction and co-infection by Hepatitis B virus at randomization.

Two hundred fifty two patients were randomized to receive either MMF or azathioprine, in association with cyclosporine and prednisone. Among this population, we selected all the renal transplant recipients with positive serology for

hepatitis C virus (n=62). HCV testing was performed using second generation ELISA. Anti-HCV negative controls (n=62) were retrospectively paired, according to drug received (MMF or azathioprine), sex, age (by decade), and treatment center of enrollment. During the pairing stage, researcher A.R.R. was blinded for patient clinical outcome. The LFTs analyzed were alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and bilirubins. Laboratory tests were performed at baseline (prior to randomization), 1 month, 6 months and 12 months after renal transplantation. Hepatic dysfunction was defined as LFTs higher than two times the upper threshold for normality.

Statistical analysis employed Chi-Square, paired and non-paired T test, and Fisher test. Assessment of evolution through time was performed using repeated measurement variance analysis (ANOVA). A P value less than 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

One hundred twenty four patients were included in the study, 62 of them were randomized into the MMF group (32 anti-HCV positive and 30 anti-HCV negative patients). Sixty-two patients were randomized into the azathioprine group (29 anti-HCV positive and 33 anti-HCV negative subjects). A total of 34.4 % of the patients (10 patients in the group MMF/HCV+, 12 patients in the MMF/HCV- , 8 patients in the AZA/HCV+, and 12 patients in the AZA/HCV- , n=42, X=0.12, P=0.72), did not complete the study due to adverse drug effects, graft rejection, or death (figure 1). Drug adverse effect was the most common reason for interruption

of investigation (51% of follow up losses). Patients were equally excluded in all four study subgroups ($P=0.82$).

Figure 1

No difference was observed between the 2 main patient groups for age, race, sex, cold ischemia time, and pre-transplantation ALT and bilirubins. However, there was a statistically significant difference between the 2 main groups regarding pre-transplantation dialysis time ($p<0.001$), number of blood transfusions ($p=0.008$) and pre-transplantation AST values ($p=0.001$). Anti-HCV positive patients showed longer pre-transplantation dialysis time, higher number of blood transfusions, and higher AST values as compared to the other groups (Table 1).

Table 1

Overtime LFTs can be followed in figures 2, 3, and 4. Using repeated measurement analysis of variance we found a statistically significant change in ALT ($p=0.004$) and bilirubin ($p=0.05$) values. However, there was no association between LFTs variation and immunosuppressive agents, or LFTs and negative/positive HCV serology. There was also no difference found when drug and HCV status were analyzed together.

ALT fluctuations were due to increased values at 1 month after transplantation as compared to pre-transplantation levels ($p=0.017$); followed by ALT reduction at 6 months ($p=0.005$), and 12 months ($p=0.003$) post transplantation. There were no differences between pre-transplantation and 12th month ALT levels. AST presented no statistically significant differences among patient groups or at the various assessment times for any group. In the analysis of

the bilirubin levels, we observed a significant difference between 1 month and 6 months ($p=0.016$), and between 1 month and 12 months ($p=0.014$).

Figure 2

Table 2

Figure 3

Table 3

Figure 4

Table 4

Thirty-two patients (28.1%) developed hepatic dysfunction. The anti-HCV positive group had more hepatic dysfunction events (19 anti-HCV positive patients versus 13 anti-HCV negative patients). However, this difference did not reach statistical significance ($P=0.54$). There was also no difference in number of hepatic dysfunction episodes when drug groups were compared ($P=0.52$).

DISCUSSION

Frequently asymptomatic, chronic infection by hepatitis C virus is common in the general population. Among patients with chronic renal failure on dialysis and renal transplant recipients, HCV infection can reach much a higher incidence and have much more impact. Clinical evolution and damages brought by hepatitis C viral infection to renal transplant recipients is being widely studied. Research has aimed at defining the consequences of HCV infection to renal transplant recipients. At present, such infection has revealed contradictory findings. Several studies do not show any significant impact on allograft function or patient survival others did find an effect of HCV infection (9, 10, 11, 12).

Gentil et al., analyzed 335 renal transplant recipients, retrospectively; observing shorter survival of both allograft and patient when anti-HCV antibodies were present when compared to anti-HCV negative subjects. In these patients, renal function was also worse in overtime assessments (9). Legendre et al., evaluating 112 renal transplantation recipients with hepatitis C virus infection, also showed reduction in allograft and patient survival when compared to control group (10).

Conversely, several other studies have unequivocally shown no significant deleterious effect to HCV positive renal transplantation patients. Roth et al., have evaluated 180 renal transplant recipients with positive serology for hepatitis C virus, showing no difference either in patient's or allograft's survival as compared to a control group (11). Knoll et al., compared anti HCV positive patients already transplanted and those still on the transplant waiting list, finding that renal transplant recipients obtained a longer survival (12).

Analysis of 73,707 renal transplant patients, between October 1988 and June 1997, registered on the United States Renal Database System (USRDS), revealed that hepatitis C virus carriers had longer survival when compared to anti-HCV negative patients. However Anti-HCV positive subjects had more allograft rejections, (13).

A few studies have assessed liver damage progression and its impact on patient's survival according to the immunosuppressive regimen utilized. The influence of viral hepatitis has been evaluated in 21 renal transplantation recipients who developed azathioprine hepatotoxicity (4). Diagnosis was based on presence of jaundice, which disappeared in 18 patients after drug withdrawal, and in 3 after

azathioprine dose reduction. Twenty of the 21 patients showed positivity for either HBV or HCV serological markers (6 patients were HBsAg positive and 17 were anti-HCV positive). David-Neto et al., suggested that in renal transplantation recipients, carriers of HBV and/or HCV hepatopathy, azathioprine is associated with worst long term evolution, mainly due to general infection complications or hepatic damage (cirrhosis and hepatocarcinoma) (5).

In vitro studies have shown MMF anti-viral properties against Flavivirus, inhibiting hepatitis B virus replication in human hepatocytes cultures (14). Hepatitis C virus is a member of the Flavivirus family, which raises the hypothesis that it can also be inhibited by MMF. Such property has been tested in patients with chronic hepatitis C receiving MMF for 8 weeks. Results showed no reduction in the viral load, or HCV negative seroconversion. Levels of AST and ALT did not revert to normal range, either (15).

Use of MMF in association with tacrolimus and corticosteroid therapy in HCV positive renal transplant recipients, did not alter allograft or patient survival, number of rejections, or virus C hepatopathy recurrence (16). There is only one study in the literature evaluating the effect of MMF in HCV positive renal transplant recipients. Rostaing et al., analyzed 14 HCV positive with chronic allograft dysfunction who were switched to MMF therapy. These patients showed significant increase of viral load without increase in hepatic aminotransferases, which is in agreement with our results. After 12 months, there was no difference in the incidence of hepatic dysfunction between groups (17). These data suggest that, either MMF has no inhibitory effect on HCV, or that its immunosuppressive activity surpasses the anti-viral effect.

Longer follow up for the newer immunosuppressive agents may be required in order to detect changes in hepatic damage. Our analysis demonstrated that after 1 year there were no changes in the patients' hepatic function, regardless of drug regimen and HCV status. However, at the end of the first post-transplantation month, a significant increase in ALT was noted for all groups. Later on, these values reverted to normalcy. The reason for such change is not clear. It might be a reflection of systemic injury during renal transplantation procedures.

In summary, our study did not reveal any differences on the incidence of hepatic damage in HCV positive or HCV negative renal transplant recipients on immunosuppressive therapy with azathioprine or mycophenolate mofetil, over a 12 month follow up. Reasons for such results are not entirely clear, but it is theoretically possible the intervals between assessments were inadequate to show reversible acute damage. As for chronic damage, it might be necessary to follow up renal transplant patients under MMF or azathioprine regimens for longer periods in order to demonstrate possible differences in hepatic injury.

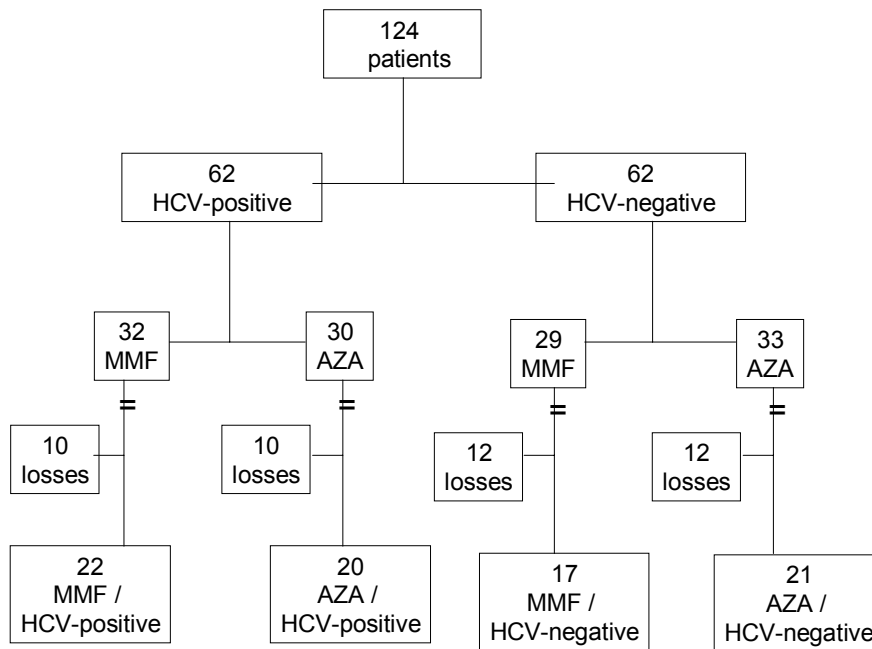


Figure 1. Patients enrolled in study distributed according the subgroups

Table 1. Patients characteristics

Characteristics	MMF / HCV+	MMF / HCV-	AZA / HCV+	AZA / HCV-	p
Sex					
Male	17	19	13	15	0,385 ^α
Female	15	10	15	18	
Race					
caucasian	20	20	15	22	0,639 ^α
no caucasian	12	9	13	11	
Age (years) mean ± DP	41,03 ± 8,95	42,59 ± 8,16	37,71 ± 10,49	37,67±10,49	0,121 ^β
Time of dialysis (months) median (P25%;P75%)	52 (26; 83)	16 (6,5; 48,5)	49 (38; 77,2)	20 (9,2; 53)	<0,001 ^χ
Cold ischemia (hours) median (P25%;P75%)	21 (18,5; 25)	18 (13; 22)	17(13,7; 31,2)	16 (9,5; 21)	0,12 ^χ
Transfusions (N°) median	2 (1; 5)	0 (0; 2)	3 (0,25; 5)	1 (0; 3)	0,008 ^χ
ALT (U/L) mean ± DP	21,83 ± 18,46	16,62 ± 11,72	25,6 ± 15,83	18,88 ± 15,7	0,163 ^β
AST (U/L) mean ± DP	20,16 ± 11,13	13,72 ± 6,78	26,75 ± 16,26	18,09 ± 1305	0,001 ^β
Total Bilirrubin (mg/dL) mean ± DP	0,77 ± 0,36	0,80 ± 0,36	0,80 ± 0,39	0,68 ± 0,38	0,572 ^β

α: Qui-square

β: ANOVA

χ: Kruskall Wallis test

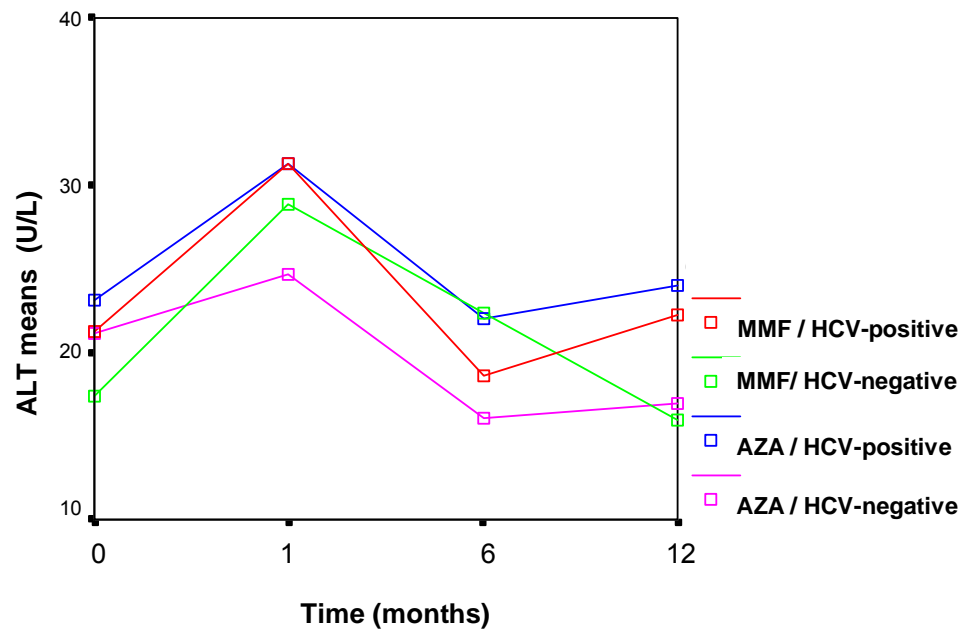


Figura 2. Follow up of ALT means during 12 months

Table 2. Follow up of ALT means during 12 months

Time	Baseline	1^o month	6^o month	12^o month
Group	(mean \pm DP)	(mean \pm DP)	(mean \pm DP)	(mean \pm DP)
MMF / HCV+	21,25 \pm 18,65	31,25 \pm 30,45	18,65 \pm 7,21	22,25 \pm 8,16
MMF / HCV-	17,43 \pm 12,33	28,91 \pm 30,03	22,30 \pm 27,5	15,96 \pm 6,12
AZA / HCV+	23,12 \pm 17,02	31,29 \pm 26,46	22,06 \pm 14,89	24,06 \pm 10,72
AZA / HCV-	21,15 \pm 17,72	24,65 \pm 18,00	16,10 \pm 5,78	16,9 \pm 10,55

* No statistically significant difference found

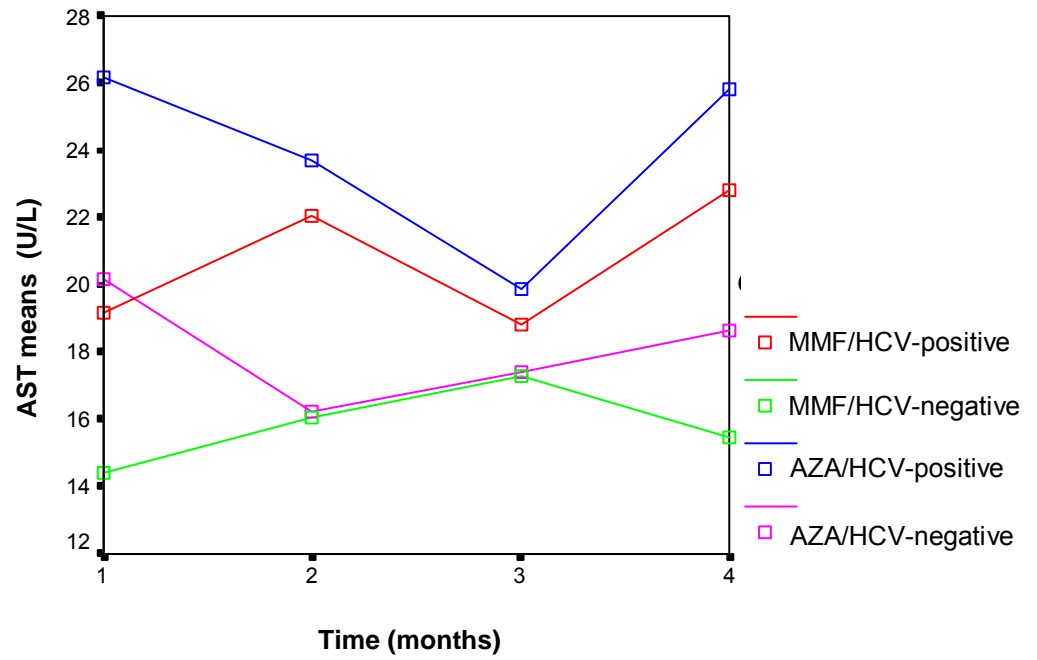


Figure 3. Follow up of AST means during 12 months

Table 3. Follow up of AST means during 12 months (U/L)

Time	Baseline	1^o month	6^o month	12^o month
Group	(mean ± DP)	(mean ± DP)	(mean ± DP)	(mean ± DP)
MMF / HCV+	19,20 ± 9,93	22,05 ± 10,93	18,85 ± 5,74	22,80 ± 11,10
MMF / HCV-	14,43 ± 6,93	16,09 ± 9,45	17,30 ± 13,63	15,48 ± 5,27
AZA / HCV+	26,18 ± 18,02	23,71 ± 15,56	19,88 ± 7,53	25,82 ± 10,53
AZA / HCV-	20,16 ± 14,64	16,26 ± 7,48	17,42 ± 7,68	18,63 ± 12,64

* No statistically significant difference found

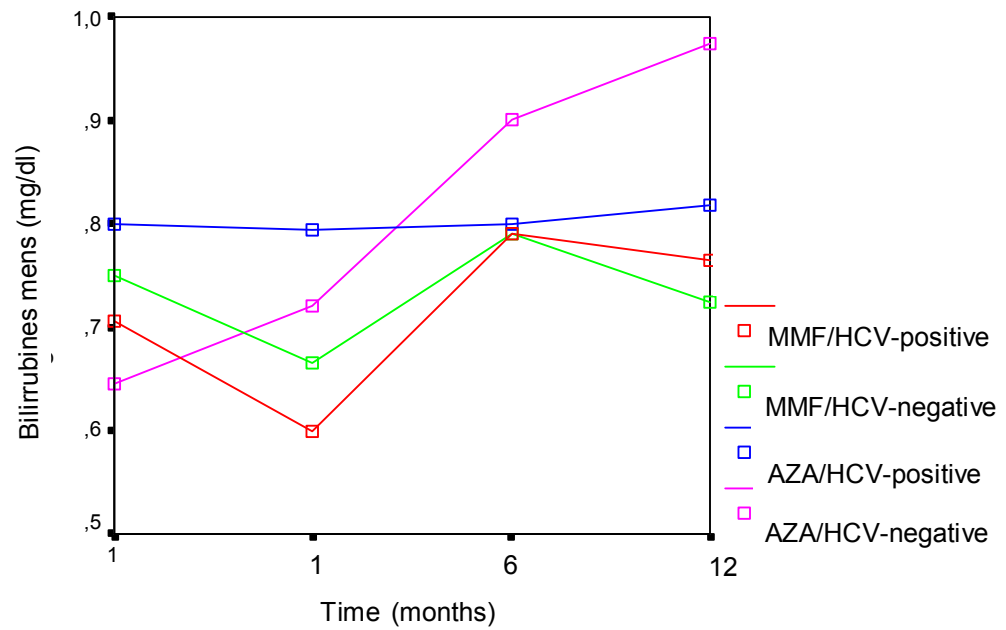


Figure 4. Follow up of bilirubins means during 12 months (U/L)

Table 4. Follow up of AST means during 12 months (U/L)

Time	Baseline	1^o month	6^o month	12^o month
Group	(mean \pm DP)	(mean \pm DP)	(mean \pm DP)	(mean \pm DP)
MMF / HCV+	0,70 \pm 0,32	0,60 \pm 0,26	0,79 \pm 0,37	0,76 \pm 0,21
MMF / HCV-	0,75 \pm 0,34	0,66 \pm 0,27	0,79 \pm 0,58	0,72 \pm 0,27
AZA / HCV+	0,80 \pm 0,43	0,79 \pm 0,29	0,80 \pm 0,23	0,81 \pm 0,27
AZA / HCV-	0,64 \pm 0,37	0,72 \pm 0,43	0,90 \pm 0,53	0,97 \pm 0,65

*No statistically significant difference found

References

1. Druwe PM, Michielsen PP, Ramon AM, DeBroe ME: Hepatitis C and nephrology. **Nephrol Dial Transplant** 9;230-237, 1994.
2. Karhol C, Manfro RC, Senger MB, Thomé FS, Gonçalves LF, Rigatto M, et al. Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica em Porto Alegre. **Jornal Bras Nefrol** 1995; 17:40-6).
3. Roth D: Hepatitis C virus: The nephrologist's view. **Am J Kidney Dis** 25:3-16. 1995.
4. Pol S, Cavalcanti T, Carnot F, Legendre C, et al. Azathioprine hepatitis in kidney transplant recipients. A predisposing role of chronic viral hepatitis. **Transplantation** 61(12): 1774-6, 1996
5. David-Neto E, Americo da Fonseca J, Jota de Paula F, Nahas WC, et al. The impact of azathioprine on chronic viral hepatitis in renal transplant: a long term, single center, prospective study on azathioprine withdrawal. **Transplantation** 68: 976-80, 1999.
6. Wiesel M, Carl S. A placebo controlled study of mycophenolate mofetil used in combination with cyclosporine and corticosteroids for the prevention of acute rejection in renal allograft recipients: 1 year results. The European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. **J Urol** 1998; 59 (1): 28-33.
7. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U. S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. **Transplantation** 1995; 60(3): 225-32.

8. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A Blinded, randomized Clinical Trial of Mycophenolate Mofetil for the Prevention of acute Rejection in Cadaveric Renal Transplantation. **Transplantation** 1996; 61 (7): 1029-3
9. Gentil MA, Rocha JL, Rodriguez-Algarra G. Impaired kidney transplant survival in patients with antibodies to hepatitis C virus. **Nephrol Dial Transplant** 1999; 14: 2455
10. Legendre C, Garrigue V, Le Bihan C. Harmful long-term impact of hepatitis C virus infection with mortality and graft survival in kidney transplant recipients . **Transplantation** 1998; 65: 667
11. Roth D: Hepatitis C virus: The nephrologist's view. **Am J Kidney Dis** 1995; 25:3-16.
12. Knoll G, Tankersley MR, Lee JY, Julian BA, Curtis JJ. The Impact of Renal Transplantation on Survival in Hepatitis C Positive End-Stage Renal Disease Patients.
13. Meier-Kriesche HU, Ojo AO, Hanson JÁ, Kaplan B. Hepatitis C antibody status and outcomes in renal transplant recipients. **Transplantation** 2001; 72: 241-4.
14. Gong ZJ, De Meyer S, Clarysse C, Neyts J, De Clereq E, Yap SH. Mycophenolic acid, an immunosuppressive agent, inhibits HBV replication in cultures of primary and immortalized human hepatocytes
15. Firpi RJ, Nelson DR, Davis GL. Lack of antiviral effect of a short course of mycophenolate in patients with chronic hepatitis virus infection. **Liver Transpl** 2003 jan; 9(1); 57-91

16. Jaim A, Kashyap R, Demetris AJ, Eghstesad B, Pokharna R, Rung JJ. A Prospective randomized trial of mucophenolate mofetil in liver transplant recipients with hepatitis C. **Liver Transplant**. 2002 Jan; 8(1); 47-9.
17. Rostaing L, Isopet J, Sandres K, Cisterne JM, Puel J, Durant D. changes in hepatitis C virus RNA viremia concentrations in long-term renal transplant patients after introduction of mycophenolate mofetil. **Transplantation** 2000; 69(5): 991-4.

5. Artigo Publicados

5.1 Artigo publicado 1: Liver Function Tests in Mycophenolate Mofetil-Treated Hepatitis C Virus-Positive Kidney Allograft Recipients



Liver Function Tests in Mycophenolate Mofetil-Treated Hepatitis C Virus-Positive Kidney Allograft Recipients

A.R. Ribeiro, F.V. Veronese, R.C. Manfro, and L.F. Gonçalves

THE PREVALENCE of hepatitis C virus (HCV) infection is high among patients with end-stage renal disease in Brazil.¹ HCV infection leads to chronic liver disease, representing one of the major late complications that affects morbidity and mortality rates.² Following kidney transplantation, patients with chronic hepatitis have an increased risk of developing progressive liver disease due to increased viral replication, which may be facilitated by immunosuppressive therapy.³

Mycophenolate mofetil (MMF) is a powerful immunosuppressive drug that has recently been introduced. Randomized clinical trials have showed that, in combination with cyclosporine and steroids, MMF is more effective than azathioprine in preventing acute rejection in recipients of cadaveric kidney transplants.^{4,5} Currently, there are few studies evaluating the hepatic effects of MMF in HCV-positive recipients of kidney allografts. The aim of this study was to compare the effects of MMF and azathioprine on liver function tests in HCV-positive kidney allograft recipients.

PATIENTS AND METHODS

The present study was part of a multicenter, randomized, open-label, controlled clinical trial comparing MMF and azathioprine that was performed in 14 Brazilian centers between 1997 and 1998. Two hundred fifty-two patients were randomized to receive either MMF or azathioprine, both in combination with cyclosporine and prednisone. The present study includes 62 allograft kidney recipients afflicted with hepatitis C, as diagnosed by a second-generation EISA test. The inclusion criteria were an absence of liver dysfunction or of hepatitis B coinfection at the time of randomization. Liver function tests were performed before and 1, 6, and 12 months after transplantation. The laboratory parameters included alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyltranspeptidase (γ GPT), and bilirubin. Hepatic enzyme levels greater than two times the upper normal limit defined the patient as experiencing liver dysfunction.

Paired and unpaired *t* tests and the chi-square test were used for statistical analyses. *P* < .05 was considered significant.

RESULTS

Among the 62 patients enrolled in the study, 32 were randomized to MMF and 30 to azathioprine. There were no differences in the patient demographic characteristics between the two groups. Thirty-five percent of all patients (22

patients, 10 in the MMF group and 12 in the azathioprine group) were discontinued due to adverse events, including allograft loss or death. The most common cause of discontinuation was the occurrence of drug-induced adverse events. There were no differences in the levels of ALT, AST, γ GPT, and bilirubin at any timepoint (1, 6, and 12 months) after renal transplantation—neither between the groups nor over the time of follow-up in a particular group. Before transplantation mean ALT in the MMF group was 20.7 ± 11.8 IU/L and at 12 months it was 22.8 ± 11.4 IU/L. In the azathioprine group, mean ALT was 28.9 ± 17.3 IU/L and at 12 months it was 23.9 ± 10.4 IU/L. Liver dysfunction occurred in 8 patients in the MMF group and 11 in the azathioprine group (*P* = .51).

DISCUSSION

Hepatic dysfunction and failure are not uncommon among renal transplant recipients infected with hepatitis B or C virus. Azathioprine and MMF are immunosuppressive drugs commonly used posttransplantation. Azathioprine is known to be toxic to hepatic parenchymal cells. Mycophenolate mofetil is a potent immunosuppressive drug that has been recently suggested to cause a significant increase in HCV viremia among infected renal allograft recipients. In spite of the increased viremia, Rostaing et al did not find a significant alteration in the liver function tests of HCV-positive patients treated with MMF, which is in accord with our study.⁶ Furthermore, after a 12-month follow-up, we did not observe a difference in the incidence of liver dysfunction between the MMF and azathioprine groups. The reasons for these results are not entirely clear. It is possible that the sensitivity of the liver function tests is not adequate to detect subtle alterations, or that more prolonged follow-up is required to observe differences.

The members of the Multicenter Brazilian MMF Study Group are: Abrahão Salomão (Hospital de Clínicas de UFMG, Belo Horizonte, MG), Álvaro Pacheco (Hospital

From the Renal Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre and Post-Graduation Nephrology Program, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

Address reprint requests to Dr Luiz Felipe Gonçalves, Renal Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, Porto Alegre, RS 90035-003, Brazil.

do Rim e Hipertensão, São Paulo, SP), Deise B. Carvalho (Hospital Geral de Bom Sucesso, Rio de Janeiro, RJ), Domingos D'Ávila (Hospital São Lucas da PUC, Porto Alegre, RS), Euler Pace Lasmaz (Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG), Gentil Alves Filho (Hospital das Clínicas da UNICAMP, Campinas, SP), Irene L. Noronha (Hospital Beneficência Portuguesa, São Paulo, SP), José Cavaliere (Hospital Pedro Ernesto, Rio de Janeiro, RJ), Luiz Estevan Lanhez (Hospital das Clínicas de São Paulo, SP), Luiz Felipe Gonçalves (Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS), Mário Abud Filho (Instituto de Urologia e Nefrologia, São José do Rio Preto, SP), Miguel C. Riella (Hospital Evangélico, Curitiba, Pr), Vilber Belo (Hospital

de Base, Brasília, DF), and Walter D. Garcia (Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre, RS).

REFERENCES

1. Manfro RC, Karohl C, Gonçalves LF, et al: *Transplant Proc* 27:1821, 1995
2. Rao KV, Anderso RW: *Transplantation* 45:45, 1988
3. Oka T, Yasumura T: *Transplant Proc* 28:1163, 1996
4. Sollinger HW: *Transplantation* 60:225, 1995
5. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group: *Renal Transplant* 61:1029, 1996
6. Rostaing L, Izopet J, Sandres K, et al: *Transplantation* 69:991, 2000

5.2. Artigo Publicado 2: Avaliação de Dano Hepático em Receptores de Transplante Renal Portadores do Vírus da Hepatite C e tratados com Micofenolato Mofetil

 Associação Brasileira de Transplante de Órgãos

JBT

[Voltar](#)

VOL.5 - Ed. 03

ARTIGOS ORIGINAIS

AVALIAÇÃO DE DANO HEPÁTICO EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL PORTADORES DO VIRUS DA HEPATITE C E TRATADOS COM MICOFENOLATO MOFETIL

AUTORES

Adriana Reginato Ribeiro, Francisco José Veríssimo Veronese, Roberto Ceratti Manfro, Luiz Felipe Gonçalves.

Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Palavras-chaves: transplante renal, Micofenolato Mofetil, Vírus da hepatite C, disfunção hepática.

Key words: kidney transplantation, Mycophenolate Mofetil, Hepatitis C virus, liver injury

Endereço para correspondência: Luiz Felipe Gonçalves. Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos, 2350 - Sala 2030 - CEP 90035-003 - Porto Alegre - RS

SUMMARY

We performed a randomized controlled clinical trial including 62 allograft kidney recipients with hepatitis C (second-generation ELISA test), without liver dysfunction to receive Micophenolate mofetil (MMF) or Azathioprine (AZA). These patients were selected from the multicenter clinical trial M5509. The aim of the study was to compare the presence of liver dysfunction in MMF or AZA treated renal transplant recipients. Liver function tests (ALT, AST, bilirubines and gGPT) were performed before randomization and 1, 6 and 12 months following transplantation. There were no differences in the levels of ALT, AST, gGPT and bilirubines at any time (1, 6 and 12 months) after renal transplantation neither between groups nor in the follow-up of a particular group, $P > 0.05$. Liver dysfunction occurred in 8 patients of MMF group and in

11 of Azathioprine group ($p = .51$).

In conclusion, we did not find any difference in liver function tests or in the incidence of liver dysfunction in comparing MMF with AZA in anti-HCV reagents renal transplant patients followed up for 12 months.

INTRODUÇÃO

A doença hepática continua sendo um problema relevante após o transplante renal. Isto decorre principalmente de toxicidades por drogas ou de infecções por vírus hepatotrópicos, em especial os vírus das hepatites B (HBV) e C (HCV). Enquanto a prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B vem declinando, continuamente, em pacientes em tratamento dialítico e, em decorrência, nos pacientes transplantados renais, a prevalência de infecção pelo vírus da hepatite C tem permanecido estável. As razões para estes achados parecem ser diversas. O melhor conhecimento da transmissibilidade do HBV e a disponibilidade de vacinas efetivas parecem ter contribuído significativamente para o seu declínio. Já no que concerne à infecção pelo HCV, o quadro é menos promissor. Não existe, no momento, disponibilidade de vacinas efetivas, a transmissibilidade no ambiente da hemodiálise é alta, a prevalência de infecção, no nosso meio, supera os 30% (1) e a incidência é da mesma forma elevada, mantendo uma correlação significativa com a prevalência (2). Acredita-se que as principais causas de infecção pelo HBV e pelo HCV nos pacientes hemodialisados, posteriormente submetidos a transplantes renais, sejam o uso freqüente de derivados de sangue pelo paciente renal crônico, a transmissibilidade no ambiente da diálise e a infecção de receptores por enxertos de doadores infectados. O uso imperativo de imunossupressão farmacológica nos pacientes transplantados renais pode potencialmente alterar a evolução da história natural destas infecções, propiciando um curso mais acelerado do dano hepático na medida em que possibilita maior replicação viral (3).

O Micofenolato Mofetil (MMF) é uma potente droga imunossupressora recentemente introduzida nos protocolos de imunossupressão. Ensaio clínico randomizados mostraram que, em combinação com Ciclosporina e esteróides, MMF é mais efetivo que a Azatioprina na prevenção de rejeição aguda em receptores de transplante renal de doador cadáver (5, 6). Tais estudos também não mostraram diferenças significativas na incidência de complicações a curto prazo, particularmente aquelas de natureza infecciosa.

A Azatioprina tem sido descrita como droga potencialmente hepatotóxica, especialmente no contexto de pacientes com hepatites virais (7). Estudo recente de David-Neto e col. sugere que a utilização de azatioprina em transplantados renais portadores de hepatopatia por vírus B e/ou C foi associada com pior evolução a longo prazo, principalmente decorrente de complicações infecciosas e hepáticas (cirrose e hepatoma) (8). Atualmente há, na literatura, apenas um estudo avaliando o efeito do MMF em receptores de

transplante renal anti-HCV positivos. Rostaing et al (9) analisaram 14 pacientes anti HCV positivos, com disfunção crônica do enxerto, que foram convertidos para terapia com micofenolato mofetil. Estes pacientes apresentaram aumento significativo da viremia sem que, no entanto, houvesse um aumento das enzimas hepáticas.

O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos do MMF e da Azatioprina na evolução das provas que refletem dano hepático após o transplante renal, em pacientes anti-HCV positivos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo é parte de um ensaio clínico multicêntrico, randomizado, aberto, controlado, comparando MMF e Azatioprina, realizado em 14 centros brasileiros, entre 1997 e 1998. Duzentos e cinquenta e dois pacientes foram randomizados para receber MMF ou Azatioprina, ambos em conjunto com ciclosporina e prednisona. Foram arrolados, no presente estudo, 62 receptores de transplante renal, portadores do vírus da hepatite C, por teste ELISA de segunda geração. Critérios de inclusão foram ausência de disfunção hepática e de coinfeção por vírus da hepatite B no momento da randomização. Testes de função hepática foram realizados antes da randomização e no 1º, 6º e 12º mês após transplante renal. Os parâmetros laboratoriais incluíram alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gamma-glutamil transpeptidase (GGT) e bilirrubinas. Disfunção hepática foi definida como elevação das enzimas hepáticas maior do que 2 vezes o limite superior da normalidade.

Teste t pareado e não pareado e Qui-quadrado ou teste exato de Fischer foram utilizados para a análise estatística. Um valor de P menor do que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Sessenta e dois pacientes foram incluídos no estudo, sendo que 32 foram randomizados para o grupo MMF e 30, para o grupo Azatioprina. Não houve diferença nas características demográficas entre os dois grupos, em relação a sexo, idade, número de incompatibilidades nos antígenos do sistema HLA, número de transfusões sanguíneas e tempo de isquemia fria.

Tabela 1 - Dados clínico-demográficos dos pacientes no momento da inclusão no estudo

Variável	Grupo MMF (n=22)	Grupo AZAp (n=30)	
Idade (anos)	41,03 ± 0,95	47,90 ± 1,28	NS
Sexo (M/F)	17 / 5	14 / 16	NS
Tempo HD (meses)	57,93 ± 30,33	62,90 ± 22,30	NS
nº transpl (CM/DM)	3,16 ± 3,03	4,08 ± 4,52	NS
Tempo isq fñio (h)	21,75 ± 6,70	22,85 ± 6,70	NS

Um total de 35% dos pacientes (22 pacientes, 10 no grupo MMF e 12 no grupo Azatioprina) não completaram o tempo de seguimento do estudo por eventos adversos, perda do enxerto ou óbito (tabela 2).

Tabela 2 - Perdas Durante o Seguimento

Variável	Grupo MMF	Grupo AZA	p
EF Adverso droga	5	7	NS
Perda do enxerto	4	3	NS
Óbito	1	1	NS
Abandonos	0	1	NS
Total	10	12	NS

Evento adverso relacionado a droga foi a causa mais comum de descontinuação do estudo, responsável por 54,5% das perdas de seguimento. Não houve diferença nos níveis das ALT, AST, GGT e bilirrubinas, nos períodos avaliados após o transplante renal, entre os grupos, ou no período de seguimento de um grupo em particular. No grupo MMF as médias de enzimas hepáticas, no período pré-transplante renal e após 12 meses, foram: alanina amino transferase 17,34±13,86 UI/L vs. 22,68±8,14 UI/L, aspartato aminotransferase 20,65±11,76 UI/L vs. 22,68±11,4 UI/L e gama-glutamil transpeptidase 60,48±82,4 UI/L vs. 50,76±28,55 UI/L. No grupo Azatioprina as médias, no mesmo período de seguimento, foram: alanina aminotransferase 28,93±17,3 UI/L vs. 23,9±10,4 UI/L, aspartato amino transferase 25,97±15,39 UI/L vs. 25,5±10,30UI/L e gama-glutamil transpeptidase 54,71±61,51 UI/L vs. 73,43±61,15 UI/L (tabela 3). A média das bilirrubinas totais, no grupo MMF, foi 0,74±0,28 mg/dl no pré-transplante e 0,76±0,21 mg/dl aos 12 meses e, no grupo Azatioprina, a média foi 0,83±0,34 mg/dl no pré-transplante e 0,82±0,24 mg/dl aos 12 meses. Dezenove pacientes apresentaram disfunção hepática no período de seguimento, sendo 8 pacientes do grupo MMF e 11 do grupo Azatioprina (P= 0, 51) (Figura 1).

DISCUSSÃO

O curso clínico e os desfechos impostos pela infecção pelo HCV, em pacientes transplantados renais, vêm sendo bastante estudados. Diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de determinar quais as conseqüências da presença do vírus C após o transplante renal. Gentil et al

(10) analisaram retrospectivamente 335 receptores de transplante renal e observaram que pacientes com anticorpos anti vírus da hepatite C apresentaram menor sobrevida do paciente e do enxerto. A função renal destes pacientes também foi pior em todos os períodos do segmento. Legendre et al (11) realizaram estudo com 112 receptores de transplante renal portadores do vírus da hepatite C, e seus resultados também demonstraram uma redução na sobrevida do paciente e do enxerto em relação ao grupo controle. Pereira et al (12) demonstraram um aumento na mortalidade dos pacientes portadores do vírus da hepatite C após transplante renal, principalmente secundária a doença hepática. Stehman-Breen (13) também notou diminuição da sobrevida do paciente portador do vírus C em relação ao grupo controle.

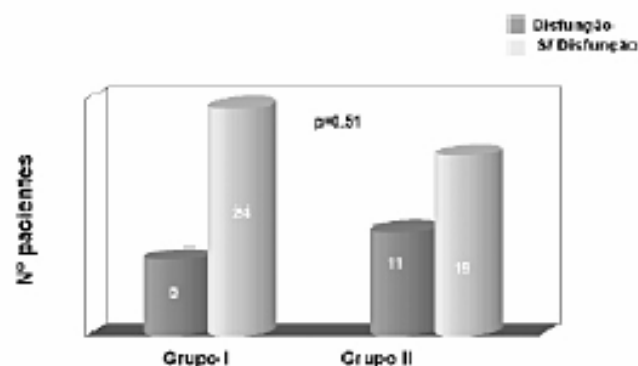


Figura 1 - Mostra o número de pacientes que apresentaram disfunção hepática no Grupo I (que receberam MMF) e no Grupo II (que receberam AZA).

Por outro lado uma série de estudos não têm demonstrado, de forma inequívoca, um efeito deletério desta infecção viral em pacientes transplantados renais. Roth et al (14) analisaram 180 pacientes portadores do vírus da hepatite C, que realizaram transplante renal, e não demonstraram diferença na sobrevida do paciente e do enxerto destes pacientes em relação ao grupo controle. Orloff et al (15) também não conseguiram demonstrar nenhum impacto do vírus da hepatite C na taxa de mortalidade dos pacientes. Knoll et al (16) compararam pacientes anti-HCV positivos e que receberam transplante renal com aqueles em lista de espera para transplante e demonstraram que os pacientes que realizaram transplante apresentaram uma sobrevida maior em relação ao grupo que permaneceu em lista de espera. Dados analisados a partir de 73.707 pacientes, que realizaram transplante renal entre outubro de 1988 e junho de 1997, registrados no banco de dados do USRDS, mostraram que pacientes com vírus da hepatite C apresentavam maior sobrevida em relação àqueles anti-HCV negativos; no entanto pacientes anti HCV positivos apresentaram maior número de rejeições em relação ao grupo controle (17).

A Azatioprina e o MMF são drogas imunossupressoras comumente usadas

após o transplante. A Azatioprina pode ocasionalmente causar hepatite e colestase, o que geralmente se apresenta como uma elevação reversível nos níveis de transaminases e bilirrubinas. Há relato também de 3 casos de desenvolvimento de hipertensão portal durante tratamento com azatioprina, após transplante renal (18). O Micofenolato Mofetil é uma potente droga imunossupressora e há sugestões de que, a exemplo de outros imunossupressores potentes, possibilite aumento da replicação do vírus C em transplantados renais, porém, neste mesmo estudo, os autores não encontraram alterações significativas nos testes de função hepática em pacientes anti-HCV positivos tratados com MMF (9), o que está de acordo com nosso estudo. Além disto, após 12 meses de seguimento, não houve diferença na incidência de disfunção hepática entre os grupo MMF e o grupo Azatioprina.

Tabela 3 - Teste de Função Hepática Durante o Seguimento

	Grupo MMF		Grupo AZA		p
	Basal	12 meses	Basal	12 meses	
ALT*	17,34 ± 13,86	22,69 ± 9,14	26,02 ± 17,30	23,94 ± 10,41	NS
AST*	21,95 ± 11,76	22,69 ± 11,40	25,97 ± 15,39	25,50 ± 10,30	NS
GGT*	69,48 ± 62,46	60,76 ± 28,56	57,41 ± 61,61	73,43 ± 61,16	NS
BT**	0,74 ± 0,28	0,76 ± 0,21	0,93 ± 0,34	0,82 ± 0,27	NS

*: U/L; **: mg/dl

CONCLUSÃO

Esta análise não revelou qualquer diferença na incidência de alterações hepáticas nos pacientes transplantados renais anti-HCV positivos tratados com AZA ou MMF, no período de acompanhamento de um ano. A razão para estes resultados não está totalmente clara, ma é teoricamente possível que o espaçamento das coletas não tenha permitido a detecção de alterações agudas irreversíveis. Por outro lado, para a detecção de alterações crônicas, possivelmente seja necessário um maior tempo de seguimento para que as diferenças, caso existentes, se tornem evidentes.

RESUMO

No contexto de um ensaio clínico randomizado, multicêntrico, nacional selecionaram-se 62 pacientes transplantados renais anti-HCV reagentes, (método ELISA) sem hepatopatia clinicamente significativa, para receber micofenolato mofetil ou azatioprina. O objetivo deste estudo foi comparar o efeito do micofenolato mofetil (MMF) ao da azatioprina no desenvolvimento de hepatotoxicidade e nas provas que refletem dano hepático após transplante renal nestes pacientes. Os exames hepáticos (alanina aminotransferase - ALT, aspartato aminotransferase - AST, bilirrubinas e gama glutamil transpeptidase- GGT) foram realizados antes da randomização e após 1, 6 e 12 meses.

Não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis de ALT, AST, GGT e bilirrubinas, em qualquer dos momentos, prévios ao transplante ou após a realização do transplante renal, entre os grupos que receberam micofenolato mofetil ou azatioprina. A análise intergrupos também não evidenciou diferenças significativas nas provas de dano hepático, ao longo do tempo, na comparação do uso de Aza com MMF. O número de pacientes com evidência de hepatotoxicidade foi oito no grupo MMF e 11 no grupo Azatioprina. Esta diferença não foi estatisticamente significativa. Em conclusão, no que diz respeito ao uso de MMF ou Azatioprina, na análise até 12 meses após o transplante, não se encontrou qualquer diferença na incidência de hepatotoxicidade ou alterações de provas de dano hepático, em pacientes anti-HCV positivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Karohl C, Manfro RC, Senger MB, Thomé FS, Gonçalves LF, Rigatto M. Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica em Porto Alegre. *Jornal Bras Nefrol* 1995; 17:40-6.
2. Nunes RS. Estudo da incidência de infecção pelo vírus da hepatite C em pacientes em tratamento hemodialítico crônico. (Dissertação). Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1997.
3. Morales JM, Campistol JM. Transplantation in the patient with hepatitis C. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:1343-53.
4. Manfro RC, Karohl C, Gonçalves LF, Senger MB, Thomé FS, Prompt CAI. Liver function tests in hepatitis C virus infected kidney transplant recipients, *Transplant Proc* 1995; 27: 1821-2.
5. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U. S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. *Transplantation*. 1995; 60 (3): 225-32.
6. No authors listed. A blinded, randomized clinical trial of Mycophenolate Mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. *Transplantation*. 1996; 61(7): 1029-37.
7. Pol S, Cavalcanti R, Carnot F, Legendre C, Driss F, Chaix ML, Thervet E, Chkoff N, Brechat C, Berthelot P, Kreis H. Azathioprine hepatitis in kidney transplant recipients. A predisposing role of chronic viral hepatitis. *Transplantation* 61:1774-76, 1996.
8. David-Neto E, Fonseca JÁ, Paula FJ, Nahas WC, Sabbaga E, Ianhes LE. The impact of azathioprine on chronic viral hepatitis in renal transplantation: a long-term, single-center, prospective study on azathioprine withdrawal. *Transplantation* 69:: 976-980, 1999.
9. Rostaing L, Izopet J, Sandres K, Cisterne JM, Puel J, Durand D. Changes in hepatitis C virus RNA viremia concentrations in long-term renal transplant patients after introduction of mycophenolate mofetil. *Transplantation*. 2000; 69(5): 991-4.
10. Gentil MA, Rocha JL, Rodriguez-Algarra G, Pereira P, Lopez R, Bernal G. Impaired kidney transplant survival in patients with antibodies to hepatitis C virus. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 10: 2455-60.
11. Legendre C, Garrigue V, Le Bihan C. Impaired Kidney transplant survival in patients with antibodies to hepatitis C virus. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14:2455.
12. Stehman-Breen CO, Psaty BM, Emerson S. Association of hepatitis C virus infection with mortality and graft survival in kidney-pancreas transplant recipients. *Transplantation* 1997; 64: 281.
13. Roth D, Fernandez JÁ, Burke GW, Esquenazi V, Miller J. Detection of antibody to hepatitis C virus in renal transplant recipients. *Transplantation* 1991; 51: 396.
14. Orloff SL, Stempel CA, Wright TL. Long-term outcome in kidney transplant patients with hepatitis C (HCV) infection. *Clin Transplant* 1995; 9: 119
15. Knoll GA, Tankersley MR, Lee JY, Julian BA, Curtis JJ. The impact of renal transplantation on survival in hepatitis C-positive end-stage renal disease patients. *Am J Kidney Dis* 1997, 29,

608.

16. Meier-Kriesche HU, Ojo AO, Hanson JÁ, Kaplan B. Hepatitis C antibody status and outcomes in renal transplant recipients. *Transplantation* 2001; 72: 241-4.
17. Gerlang PG, Lobatto S, Driessen WM, Deckers PF, Van Hooff JJP, Schroder E, Assmann Km, Van Haelst UJ Hepatic sinusoidal dilatation with portal hypertension during azathioprine treatment after kidney transplantation. *J Hepatol* 1985; 1(4): 339-48.

