

**Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Médicas : Nefrologia  
Faculdade de Medicina**

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**2007**

# **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Aluno :** Daniel Melchiades da Silva

**Orientador :** Prof. Dr. Roberto Ceratti Manfro

Porto Alegre, 2007

## **DEDICATÓRIAS**

À Fabíola, pela dedicação, carinho, amizade, respeito e o infinito amor que compartilhamos.

À Lucília e ao Luiz Alberto, pela lição de vida enquanto pais e exemplo de amor, união e companheirismo.

Ao Tiago, ao André e à Raquel, meus queridos irmãos, por tudo que vivemos e aprendemos juntos.

À Íris e ao Olávio, meus sogros, pelo respeito e amizade que nos une.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia, da Universidade Federal de Rio Grande do Sul.

Ao Professor Dr. Roberto Ceratti Manfro, Coordenador do Programa de Pós-Graduação, por sua disponibilidade, companheirismo, amizade, apoio, por seu exemplo pessoal e profissional, bem como por suas sugestões e orientações, fundamentais no desenvolvimento e elaboração da dissertação.

Ao Professor Dr. Luis Felipe Santos Gonçalves, pelo apoio, companheirismo e amizade.

Ao Professor Dr. José Vanildo Morales, pela amizade e incentivo.

À Dra. Adriana Reginatto Ribeiro, pelo companheirismo.

À Jussara da Silva Cruz, à Jaqueline Costa da Rosa e à Cristina Lúcia DallPra, pela amizade e apoio.

À Sra. Rute Santos por seu auxílio no Pós Graduação da Nefrologia

A todos os médicos e funcionários do Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por sua atenção e carinho.

**REJEIÇÃO AGUDA EM ENXERTOS RENAIIS COM DISFUNÇÃO INICIAL.  
A INFLUÊNCIA DO REGIME IMUNOSSUPRESSOR E DA  
COMPATIBILIDADE HLA.**

# 1 - SUMÁRIO

1 – Abreviaturas	07
2 – Lista de Tabelas	08
3 – Introdução Geral	10
3.1 – Referencial	23
4 – Objetivos	35
5 – Trabalho em Português	36
6 – Trabalho em Inglês	58

## **2 - ABREVIATURAS:**

$\alpha$ IL-2R = Anticorpo anti-receptor da interleucina 2

ATP = Trifosfato de adenosina

BK = Polioma Vírus

CMV = Citomegalovirus

DCE = Depuração Endógena da Creatinina

NCE = Nefropatia Crônica do Enxerto

ICAM = Moléculas de Adesão Intercelular

PDGF = Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

TGF- $\beta$  = Fator de Crescimento Tumoral Beta

VCAM = Moléculas Vasculares de Adesão

HLA = Antígenos Leucocitários Humanos

MHC = Complexo de Histocompatibilidade Principal

### **3 – LISTA DE TABELAS :**

**A) – REJEIÇÃO AGUDA EM ENXERTOS RENAIIS COM DISFUNÇÃO INICIAL. INFLUÊNCIA DO PROTOCOLO DE IMUNOSSUPRESSÃO E DA COMPATIBILIDADE HLA.**

#### **TABELA 1**

**Comparação das características demográficas entre os grupos 53**

#### **TABELA 2**

**Incidência de rejeição aguda, tempo para diagnóstico de rejeição e**

**PRA 54**

#### **TABELA 3**

**Características demográficas dos pacientes com e sem rejeição aguda 55**

#### **TABELA 4**

**Fatores de risco para rejeição aguda 56**

#### **TABELA 5**

**Risco relativo para rejeição aguda de acordo com o número de**

**incompatibilidades HLA 57**

**B) – ACUTE REJECTION IN TRANSPLANTED KIDNEYS WITH DELAYED GRAFT FUNCTION. THE INFLUENCE OF IMMUNOSUPPRESSIVE REGIMEN AND HLA MATCHING.**

<b>TABLE 1</b>	
<b>Comparison of the demographic features among groups</b>	<b>73</b>
<b>TABLE 2</b>	
<b>Incidence of acute rejection, time for acute rejection diagnosis and PRA</b>	<b>74</b>
<b>TABLE 3</b>	
<b>Demographic features of patients with and without acute rejection</b>	<b>75</b>
<b>TABLE 4</b>	
<b>Risk factors for acute rejection</b>	<b>76</b>
<b>TABLE 5</b>	
<b>Relative risk of acute rejection according to the number of HLA Mismatches</b>	<b>77</b>

## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a sobrevida do enxerto renal melhorou significativamente. Estima-se que a sobrevida de enxertos, no primeiro ano após o transplante, aumentou de 88,8% para 93,9% com rins de doadores vivos e de 75,7% para 87,7% com rins cadavéricos<sup>1</sup>. Além disso, relatos recentes projetam um incremento significativo na meia vida dos enxertos<sup>1</sup>. Apesar desta importante melhora em longo prazo, a maior causa de perda de enxertos continua sendo a nefropatia crônica terminal que ocorre a uma taxa de 2-4% ao ano após o primeiro ano do transplante<sup>1</sup>. Portanto, a sobrevida renal em longo prazo está na dependência direta do desenvolvimento da nefropatia crônica do enxerto (NCE)<sup>2,3</sup>.

A NCE é definida pelo declínio lento e progressivo na taxa de filtração glomerular após 3-6 meses do transplante, geralmente acompanhada de proteinúria e hipertensão arterial<sup>4</sup>. Histopatologicamente, alterações crônicas são vistas nos glomérulos, interstício, túbulos e vasos, não necessariamente no mesmo grau, tão pouco simultaneamente<sup>5</sup>. A classificação de Banff categoriza a nefropatia crônica em graus I(leve), II(moderada) e III(severa), na dependência de fibrose intersticial e atrofia tubular<sup>5</sup>. A presença de duplo contorno nas alças capilares glomerulares secundário à interposição de matriz extracelular é a alteração mais específica da glomerulopatia crônica do transplante<sup>5</sup>. Segundo a classificação de Banff, os achados mais característicos de rejeição crônica seriam

a presença do duplo contorno em alças capilares glomerulares e alterações vasculares crônicas associadas a ruptura da camada elástica e infiltrado inflamatório na camada íntima fibrótica. Se presentes, são classificados como NCE – b. Caso não sejam evidentes, classifica-se como NCE – a<sup>5</sup>.

O mecanismo fisiopatogênico é complexo e incerto. Postula-se que fatores imunológicos e não imunológicos desempenham papel importante neste processo. Dentre os fatores não imunológicos, sabe-se que aspectos relacionados com o doador, tais como, causa mortis, idade, peso são responsáveis por, aproximadamente, 30% da variabilidade na evolução do enxerto após o primeiro ano<sup>6</sup>. Rins de doadores jovens apresentam sobrevida em 5 anos 25% maior que a de rins de doadores com mais de 60 anos. Da mesma forma a hipertensão arterial associa-se claramente com NCE, sem embora ter uma relação causa-efeito bem definida<sup>7,8,9</sup>. Sabe-se que hipertensão arterial induz a alterações inflamatórias no parênquima renal associadas à expressão de moléculas de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e infiltração de leucócitos no interstício<sup>10</sup>. Ralf e colaboradores demonstraram experimentalmente que em modelos de injúria renal aloindependentes, associados à hipertensão arterial, ocorre aumento na expressão de fatores de crescimento, tais como Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e Fator de crescimento tumoral beta (TGF- $\beta$ ), bem como aumento na expressão de antígenos do Complexo de Histocompatibilidade Principal classe-II (MHC-II)<sup>7</sup>. Vários outros fatores não imunológicos também colaboram na gênese da NCE, tais como a presença de dislipidemias, hiperfiltração glomerular (desproporção entre as demandas do receptor e a massa

de néfrons), infecções (CMV, BK, etc), nefrotoxicidade por drogas, lesão de isquemia/reperfusão e receptores da raça negra<sup>11</sup>.

A baixa compatibilidade nos antígenos do sistema HLA, sensibilizações prévias do receptor, má aderência e/ou imunossupressão insuficiente, disfunção inicial do enxerto<sup>7</sup> e rejeição subclínica/aguda<sup>12,13</sup>, são citados como determinantes imunológicos importantes para o desenvolvimento de NCE.

A disfunção inicial do enxerto é um importante fator prognóstico para sobrevida do transplante renal<sup>14</sup>. O diagnóstico diferencial e das condições associadas é fundamental neste contexto, porém, muitas vezes difícil. Necrose tubular aguda, rejeição aguda, nefrotoxicidade por inibidores da calcineurina, complicações urológicas e vasculares devem sempre ser consideradas<sup>15</sup>.

Na literatura norte-americana e europeia a frequência de disfunção inicial do enxerto entre transplantes renais cadavéricos varia significativamente, de 2% a 50%, dependendo do relato<sup>16-21</sup>. Dados nacionais são ainda mais preocupantes, em recente estudo multicêntrico brasileiro a incidência relatada foi de 55,6%<sup>22</sup>. Esta grande variabilidade resulta não apenas das diferenças entre os sistemas de registros nacionais e internacionais ou pelas características do doador e receptor, mas também pela ambigüidade da própria definição deste evento. A função renal inicial após o transplante pode variar de total anúria, necrose tubular aguda não oligúrica, função renal retardada do enxerto a rápida e imediata função. Neste contexto, disfunção inicial do enxerto e necrose tubular aguda são utilizadas, muitas vezes, para definir a mesma desordem. Porém, a primeira é uma condição clínica e a segunda uma situação histopatológica. A maioria dos estudos multicêntricos define disfunção inicial do enxerto como a necessidade de diálise

durante a primeira semana após o transplante renal<sup>21</sup>. Neste contexto, condições de necrose tubular aguda não oligúrica nas quais não houve necessidade de diálise na primeira semana após o transplante seriam excluídas, bem como, pacientes com recuperação lenta da função do enxerto, sem necrose tubular aguda, mas que apresentam indicação de diálise na primeira semana seriam falsamente incluídos. Existem, portanto, diferentes critérios para a condição de disfunção inicial do enxerto renal, tais como débito urinário menor do que 1200ml/24h, redução da creatinina <10% dentro de 48h, o valor da creatinina sérica no 10º dia de pós-operatório, o tempo necessário para o enxerto adquirir uma DCE > 10ml/min, entre outros<sup>23-24</sup>. Porém, evidência clara de vantagem entre algum destes critérios ainda está por ser demonstrado na literatura.

Dados norte-americanos evidenciam que 50% dos pacientes com disfunção inicial do enxerto renal iniciam a recuperação da função em torno do 10º dia de pós operatório, 33% entre o 10º e 20º dia e 10-15% após a terceira semana<sup>17</sup>. A taxa de órgão primariamente não funcionante varia de 2-15%<sup>17</sup>. Em curto prazo, a presença de disfunção inicial do enxerto associa-se a um aumento na frequência de episódios de rejeição aguda, bem como de enxerto primariamente não funcionante<sup>25-27</sup>. Além disso, em longo prazo, relata-se significativa redução da sobrevida, podendo ser de até 20% em 5 anos, quando comparada com enxertos sem disfunção inicial<sup>28</sup>.

Dentre os principais fatores de risco para o desenvolvimento de disfunção inicial do enxerto renal, os aspectos relacionados ao doador são relevantes. Sabe-se que rins de doadores sem batimento cardíaco têm o dobro de chance de desenvolver disfunção inicial quando comparados com rins de doadores com

batimento cardíaco<sup>29</sup>. Enxertos de doadores hemodinamicamente estáveis, isto é, sem necessidade de suporte com drogas vasopressoras, tiveram taxas substancialmente maiores de função precoce (83%) e sobrevida em 1 ano (91%) em relação a rins de doadores instáveis hemodinamicamente (58% e 73% respectivamente)<sup>30</sup>. O tempo de isquemia fria prolongado é um fator de risco independente para disfunção inicial do enxerto<sup>31</sup>. Relatos recentes mostram um aumento em 23% no risco para cada 6 horas de isquemia fria<sup>16</sup>. A idade do doador é outro fator de risco importante e independente para o desenvolvimento de disfunção inicial do enxerto, podendo dobrar em receptores de rins provenientes de doadores com mais de 55 anos<sup>32</sup>. Além disso, a utilização de órgãos de doadores com diabetes e/ou hipertensão arterial sistêmica, condição aceitável desde que precedida de punção biópsia deste órgão, tem sido associada significativamente com disfunção inicial do enxerto renal<sup>33</sup>.

Determinantes relacionados ao receptor também influenciam a frequência de disfunção inicial do enxerto, tais como o número de transplantes prévios, pobre qualidade de reperfusão, instabilidade hemodinâmica no transoperatório, trombose vascular, a qual pode estar relacionada a trombofilias próprias do receptor<sup>34-40</sup>. Além disso, a magnitude da alo sensibilização prévia do receptor é um fator de risco independente que afeta a função precoce do enxerto<sup>41</sup>. Um estudo recente demonstrou que até 90% dos pacientes com reatividade contra painel maior que 50% pré-transplante, necessitam diálise na primeira semana após o transplante, comparado com 45% dos pacientes com painel entre 10-50% e 27% com menos de 10% de reatividade<sup>41</sup>.

Do ponto de vista fisiopatogênico, a injúria isquêmica representa papel chave no desenvolvimento de disfunção inicial do enxerto<sup>42</sup>. Sabe-se, através de trabalhos experimentais a nível celular, que as principais alterações bioquímicas relacionadas à privação de oxigênio são a inibição do metabolismo oxidativo, depleção de trifosfato de adenosina (ATP), aumento da glicólise anaeróbia e inibição da bomba de sódio-potássio ATPase. O ATP é rapidamente degradado em hipoxantina, a qual, na falta de oxigênio, não pode ser metabolizada, pois este processo necessita condições aeróbicas<sup>42</sup>. Glicólise anaeróbia rápida leva a acumulação de ácido láctico, reduzindo o pH intracelular, o que gera instabilidade lisossomal e, conseqüentemente, ativação de enzimas líticas. A ligação dos metais de transição, tais como ferro, a suas proteínas carreadoras (transferrina e ferritina) está inibida neste processo, aumentando a concentração intracelular de ferro livre. Este processo favorece grande geração de radicais de oxigênio, que, por sua vez, induz a produção de outros radicais, tais como óxido nítrico, o qual reage com radicais superóxido para produzir peroxinitrito, um potente oxidante que modifica proteínas<sup>42-43</sup>. A atividade da óxido nítrico sintetase está aumentada pela hipóxia, o que favorece as lesões das células tubulares. O óxido nítrico tem o potencial de romper o citoesqueleto, levando a um destacamento das células tubulares proximais e obstrução tubular<sup>44-47</sup>.

Por outro lado, em resposta à isquemia renal, mecanismos citoprotetores são também ativados, incluindo a rápida diminuição da atividade celular metabólica, transcrição de genes relacionados à regeneração celular, expressão de fator de crescimento endotelial vascular, Bcl2, heme oxigenase 1, entre outros<sup>48-50</sup>.

O restabelecimento do fluxo sanguíneo em rins isquemicamente lesados após preservação hipotérmica, ativa uma seqüência de eventos que mantêm a injúria renal e representam parte fundamental para o desenvolvimento da disfunção inicial do enxerto<sup>25</sup>. A reperfusão produz reoxigenação, levando ao retorno do metabolismo aeróbico e produção de ATP. Entretanto, espécies reativas de oxigênio são geradas em elevadas concentrações no tecido isquêmico após a reperfusão<sup>43</sup>. O anion superóxido e o peróxido de hidrogênio reagem para formar radicais altamente reativos e citotóxicos, levando a chamada peroxidação lipídica da membrana celular e posterior morte celular por apoptose<sup>43</sup>. A resposta do hospedeiro a reperfusão pode potencializar este processo patogênico através da liberação de radicais livres de oxigênio, citocinas inflamatórias e quimiocinas durante a geração dos radicais de oxigênio e peroxidação lipídica<sup>43</sup>. Além disso, aumento da expressão de moléculas de adesão na superfície celular atrai neutrófilos e monócitos, que, por sua vez, liberam espécies reativas de oxigênio adicionais, potencializando a lesão renal<sup>51</sup>. Um segundo estágio da expressão de quimiocinas, o qual envolve a proteína indutora de interferon gama e a proteína atratora de monócitos, serve para maior infiltração de neutrófilos e iniciam o recrutamento de monócitos, células “natural killer” e linfócitos<sup>51</sup>. A cascata do complemento, em especial a fração C5a, também contribui para infiltração neutrofílica na injúria tecidual de isquemia e reperfusão<sup>52,53</sup>. A localização de leucócitos nos sítios de injúria celular é mediada por moléculas de adesão intercelular (ICAM1) e moléculas vasculares de adesão (VCAM1), bem como seus ligantes beta integrinas 1 e 2<sup>54</sup>. Estudos experimentais em tecidos hepático, cerebral, miocárdico e renal evidenciam aumento da expressão de ICAM1 durante

injúria de isquemia e reperfusão<sup>55</sup>. Além disso, anticorpos anti-ICAM1 foram capazes de prevenir a lesão tecidual e preservar função orgânica<sup>55,56</sup>. Durante a fase de reperfusão, no rim, os leucócitos aderentes se ligam a capilares, geram enzimas proteolíticas e liberam citocinas adicionais. Os vasos se tornam congestionados, a perfusão dos capilares peritubulares é significativamente reduzida e a permeabilidade endotelial aumentada<sup>57</sup>. O processo de adesão também leva a geração de radicais livres de oxigênio e infiltração tecidual por leucócitos ativados<sup>57</sup>.

O resultado final da inter-relação entre os diversos mecanismos fisiopatogênicos: radicais livres de oxigênio, quimiocinas, citocinas, fatores do complemento, receptores de adesão e leucócitos é um processo inflamatório que lesa as células epiteliais renais, em especial as células tubulares proximais<sup>25</sup>.

Após a reperfusão, o rim isquêmico mostra diferentes graus de lesão celular e disfunção, o que contribui para a resistência renovascular aumentada, característica deste contexto. A resistência arteriolar aferente está elevada, ocorrendo profunda redução da taxa de filtração glomerular, atribuída predominantemente ao reduzido gradiente de pressão hidráulica transcápsular glomerular<sup>58</sup>. Além disso, o endotélio vascular lesado rompe o balanço do metabolismo eicosanoide, causando vasoconstrição secundária a redução das prostaciclina e excesso de tromboxane<sup>59</sup>. Sabe-se que a endotelina media injúria vasomotora por vasoconstrição durante a lesão de isquemia e reperfusão. Evidencia-se aumento da expressão da endotelina nos capilares peritubulares de rins expostos à isquemia<sup>60</sup>. Trabalhos experimentais em ratos, com isquemia renal durante 45 minutos, mostram que a endotelina permanece como um eficiente

vasoconstritor renal, enquanto que a angiotensina-II e a noradrenalina perdem este efeito na circulação renal<sup>61</sup>. Pacientes transplantados renais com disfunção inicial do enxerto apresentam elevadas concentrações séricas de endotelina-1<sup>62</sup>.

As bases moleculares dos mecanismos de lesão de isquemia e reperfusão são um aspecto importante e que ainda estão por serem definidos. Especula-se que determinantes gênicos podem estar ligados a um risco aumentado para injúria de isquemia e reperfusão e conseqüente disfunção inicial do enxerto. Além disso, a possibilidade de identificação de alelos gênicos com potencial de proteger contra este tipo de lesão, oferece a oportunidade para adequada definição de polimorfismos, no momento da tipagem tecidual, que oferecem maior ou menor risco biológico para disfunção inicial do enxerto<sup>63-66</sup>.

A injúria renal isquêmica pode aumentar o risco para rejeição aguda e, conseqüentemente, nefropatia crônica do enxerto. Neste contexto são determinantes os efeitos da imunidade inata em resposta à injúria no desenvolvimento e progressão da imunidade adaptativa ao enxerto<sup>67</sup>. Após a injúria isquêmica ocorre um aumento na expressão de moléculas do Complexo de Histocompatibilidade Principal (MHC) de classe I e II e de moléculas de adesão (ICAM-1) no enxerto renal, especialmente nas células tubulares para classe I e nas células intersticiais para classe II<sup>68</sup>. Os antígenos do MHC podem originar uma resposta imune via aloreconhecimento direto (antígenos do MHC nas células do enxerto) ou indireto (peptídeos processados apresentados por células apresentadoras de antígenos do sistema imune do receptor)<sup>69</sup>. Além disso, sabe-se que a injúria isquêmica aumenta a expressão, no enxerto, de moléculas co-

estimulatórias, elevando a imunogenicidade do órgão e, portanto, o risco de rejeição aguda e a decorrente nefropatia crônica <sup>70</sup>.

Na rejeição hiperaguda, que ocorre nas primeiras horas de pós-transplante, predomina a injúria mediada por anticorpos, caracterizando o mecanismo humoral que histopatologicamente associa-se a trombose capilar ou arterial, necrose e exudato neutrofílico<sup>5</sup>. Porém, este evento grave e com elevado risco de perda do enxerto é, geralmente, prevenido através de adequada realização da prova cruzada. Ainda nos primeiros dias após a cirurgia, pode ocorrer rejeição acelerada, geralmente com associação de mecanismos humorais e celulares.

As rejeições mais freqüentes são as agudas, que ocorrem especialmente após a primeira semana do transplante, através, fundamentalmente, de mecanismos celulares de injúria, que caracterizam-se por infiltrados celulares intersticiais focais ou difusos, em túbulos e vasos<sup>5</sup>. Classicamente os episódios de rejeição aguda eram diagnosticados com base no quadro clínico de febre, endurecimento e dor no enxerto, diminuição do volume urinário e elevação da creatinina sérica. Entretanto, freqüentemente, com a imunossupressão mais potente, os sinais clínicos não estão evidentes, especialmente no contexto da disfunção inicial do enxerto<sup>71</sup>.

Muitos estudos relatam maior freqüência de rejeição aguda em pacientes com disfunção inicial do enxerto renal <sup>26,27</sup>. Um estudo recente evidenciou 50% de rejeição aguda para pacientes com disfunção inicial do enxerto <sup>71</sup>, enquanto que outro relato, utilizando biópsias protocolares mostrou 4% de rejeição subclínica para transplantes com função imediata quando comparado com 18% para enxertos com disfunção inicial <sup>72</sup>.

A interação inicial do órgão transplantado com o sistema imune do receptor tem crítica importância para a evolução, especialmente no contexto da disfunção inicial do enxerto. Como o risco de rejeição aguda é mais elevado durante as primeiras semanas, justifica-se um maior nível de imunossupressão neste período<sup>73,74</sup>. Portanto, o esquema inicial de imunossupressão deve levar em conta estes aspectos e ser individualizado. Relatos recentes mostram que os inibidores da calcineurina (ciclosporina e tacrolimus) permanecem como os principais imunossupressores em transplantes renais<sup>75</sup>. Em 2004, 93% dos pacientes transplantados nos Estados Unidos receberam esquema imunossupressor com a presença de ciclosporina ou tacrolimus<sup>75</sup>. O uso de antiproliferativos como terapia imunossupressora adjuvante permanece prática freqüente, sendo que naquele mesmo ano, 81% dos transplantados renais receberam micofenolato mofetil como parte do esquema imunossupressor profilático<sup>75</sup>. Na última década, o uso de terapia de indução com anticorpos antilinfocitários (timoglobulina, OKT3,  $\alpha$ IL-2R) vem aumentando significativamente. Em 1995, 46% dos transplantes renais foram realizados com terapia de indução nos EUA. Mais recentemente, tem sido relatado o uso de antilinfocitários em até 72% dos casos<sup>75</sup>.

Estudos randomizados com protocolo de imunossupressão a base de ciclosporina e corticosteróide, comparando o uso de terapia de indução utilizando-se anticorpos anti-receptor da interleucina 2 ( $\alpha$ IL-2R) com placebo, evidenciaram uma redução de 32% para 28% nos episódios de rejeição aguda após transplante renal<sup>76,77</sup>. Porém, quando acrescida terapia adjuvante com antiproliferativos utilizando-se Azatioprina obteve-se taxa de rejeição de 20,8% e, micofenolato

mofetil, 15,3%<sup>78,79</sup>. Recentemente, um trabalho multicêntrico, randomizado, prospectivo, com 168 transplantes renais com semelhante risco imunológico, utilizando ciclosporina e corticosteróide, divididos para azatioprina ou micofenolato mofetil, evidenciou taxas semelhantes de rejeição aguda entre os grupos<sup>80</sup>. Um estudo tricontinental, prospectivo, duplo cego, com 503 transplantes renais cadavéricos randomizados para azatioprina ou micofenolato mofetil, não mostrou diferença na sobrevida dos enxertos em longo prazo<sup>81</sup>.

Terapia de indução imunossupressora com anticorpos tem sido sugerida e utilizada para a prevenção dos episódios de rejeição aguda em pacientes com disfunção inicial do enxerto<sup>82-85</sup>. No entanto, face a potência dos atuais regimes imunossupressores, a pertinência desta estratégia deve ser reavaliada. Uma comparação de terapia de indução utilizando-se timoglobulina ou  $\alpha$ IL-2R em pacientes que receberam regime triplo (ciclosporina, corticosteróide e micofenolato mofetil) mostrou taxas comparáveis de rejeição aguda<sup>82</sup>. Relatos recentes com protocolos de imunossupressão potentes, utilizando-se esquema quádruplo seqüencial com terapia de indução com timoglobulina ou  $\alpha$ IL-2R, seguido de corticosteróides, micofenolato mofetil e ciclosporina ou tacrolimus, reportam taxas de rejeição aguda inferiores á 15%<sup>83-85</sup>.

Por outro lado, sabe-se que o risco imunológico de cada receptor não pode ser generalizado e está na dependência de outros fatores, tais como transplantes prévios, sensibilização prévia, etnia, sexo, idade, bem como o grau de compatibilidade HLA com o órgão<sup>86</sup>. Um estudo recente reforça que maior incompatibilidade HLA, doador cadavérico, imunossupressão inadequada,

presença de necrose tubular aguda e/ou disfunção inicial do enxerto, são fatores de risco para o desenvolvimento de rejeição aguda<sup>86</sup>. Entretanto, a detecção de episódios de rejeição no contexto da disfunção inicial de enxerto é difícil, uma vez que os critérios clínicos como diminuição do volume de diurese e elevação da creatinina não podem ser utilizados. As biópsias de vigilância, realizadas a cada 7 a 10 dias, são atualmente a única ferramenta confiável para monitoração das disfunções iniciais após o transplante renal e adequado diagnóstico e seguimento da rejeição aguda do enxerto neste contexto<sup>87</sup>.

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a influência do uso de terapia de indução imunossupressora com anticorpos na redução da incidência de rejeição aguda em pacientes com órgãos em disfunção inicial após o transplante renal.

## REFERÊNCIAS

- 1- Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA et al. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med*; 342: 605, 2000.
- 2- Jindal RM, Hariharan S. Chronic rejection in Kidney Transplants: An in depth review. *Nephron*; 83: 13, 1999.
- 3- Sumrani N, Caciarelli TV, Georgi B et al. Contribution of acute rejection to renal allograft loss from chronic rejection. *Transplant Proc*; 25: 2259, 1993.
- 4- Paul LC, Hayry P, Foegh M et al. Diagnostic criteria for chronic rejection / accelerated graft atherosclerosis in heart and kidney transplants: Joint proposal from the Fourth Alexis Carrel Conference on Chronic Rejection and Accelerated Arteriosclerosis in Transplanted Organs. *Transplant Proc*; 25: 2022, 1993.
- 5- Racusen LC, Solez K, Colvin RB. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int*; 55: 713, 1999.
- 6- Gjertson DW. A multi-factor analysis of Kidney graft outcomes at one and five years posttransplantation: 1996 UNOS update, in *Clinical transplants 1996*, edited by Cecka JM, Terasaki PI, Los Angeles, UCLA Tissue typing Laboratory; p343, 1997.

- 7- Schindler R, Tullius SG, Tanriver Y, Noack K, Qun Y, Jurgensen J, Frei U. Hypertension increases expression of growth factors and MHC II in chronic allograft nephropathy. *Kidney Int*; 63: 2302, 2003.
- 8- Cheig JS, Haschemeyer RH, Wang JC et al. Hypertension in kidney transplant recipients: effect on long-term renal allograft survival. *Am J Hypertens*; 2: 341, 1989.
- 9- Opelz G, Wujciak T, Ritz E. Association of chronic kidney graft failure with recipient blood pressure. *Kidney Int*; 52: 217, 1998.
- 10-Luft FC, Haller H. Hypertension-induced renal injury: Is mechanically mediated interstitial inflammation involved ? *Nephrol Dial Transplant*; 10: 9, 1995.
- 11-Nankivell B, Chapman JR. Chronic Allograft Nephropathy: Current Concepts and Future Directions. *Transplantation*; 81(5): 643, 2006.
- 12-Almond PS, Matas A, Gillingham KJ et al. Risk factors for chronic rejection in renal allograft recipients. *Transplantation*; 55: 752, 1993.
- 13-Matas AJ, Gillingham KJ, Payne WD, Najarian JS. The impact of an acute rejection episode on long-term renal allograft survival (t1/2). *Transplantation*; 57: 857, 1994.
- 14-Troncoso P, Ortiz AM, Jara A. Induction Immunosuppressive Therapy Stratified According to Risk Categories in Renal Transplantation. *Transplant Proc*; 35: 2495, 2003.
- 15-Dominguez J, Kompatzki A, Norambuena R, Arenas J, Dell'Oro A, Bustamante A, Pinochet R, Cabello JM, Alvarez S, Pais E, Lianos R,

- Cortes-Monroy G. Benefits of Early Biopsy on the Outcome of Kidney Transplantation. *Transplant Proc*; 37: 3361, 2005.
- 16-Ojo AO, Wolfe RA, Held P, Port FK, Schmouder RL. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation*; 63: 968, 1997.
- 17-The Organ Procurement and Transplantation Network. <http://.OPTN.org>, 2004.
- 18-Jacobs SC, Cho E, Foster C, Liao P, Bartlett ST. Laparoscopic donor nephrectomy: The University of Maryland 6-year experience. *J Urol*; 171: 47, 2004.
- 19-The Canadian Multicentre Transplant Study Group. A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. Analysis at three years. *N Eng J Med*; 314: 1219, 1986.
- 20-Gjertson DW. Impact of delayed graft function and acute rejection on Kidney graft survival. In: Cecka JM, Terasaki PI, eds. *Clinical Transplants*. Los Angeles: The Regents of the University of California; 467, 2000.
- 21-Koning OHJ, Ploeg RJ, Van Bockel JH, et al. Risk factors for delayed graft function in cadaveric kidney transplantation. *Transplantation*; 63: 1620, 1997.
- 22-Azevedo LS, Castro MC, Monteiro de Carvalho DB, d'Avila DO, Contieri F, Goncalves RT, Manfro R, Ianhez LE. Incidence of delayed graft function in cadaveric kidney transplants in Brazil: a multicenter analysis. *Transplant Proc*; 37(6): 2746, 2005.

- 23-Cosio FG, Pelletier RP, Falkenhain ME, et al. Impact of acute rejection and early allograft function on renal allograft survival. *Transplantation*; 63: 1611, 1997.
- 24-Giral-Classe M, Hourmant M, Cantarovich D, et al. Delayed graft function of more than six days strongly decreases long-term survival of transplanted kidneys. *Kidney Int*; 54: 972, 1998.
- 25-Perico N, Cattaneo D, Sayegh M, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet*; 364: 1814, 2004.
- 26-Iglesias-Marquez RA, Santiago-Delpin EA, Zayas E. Delayed graft function in kidney transplant recipients: risk factors and short-term outcome. *Transplant Proc*; 34: 352, 2002.
- 27-Bryan CF, Luger AM, Martinez J. Cold ischemia time: an independent predictor of increased HLA class I antibody production after rejection of a primary cadaveric renal allograft. *Transplantation*; 15: 875, 2001.
- 28-Cecka JM, Terasaki PI, (eds). *Clinical Transplants*. Los Angeles, Calif: UCLA Immunogenetics Center, 2000.
- 29-Hernandez A, Light JA, Barhyte DY, Mabudian M, Gage F. Ablating the ischemia-reperfusion injury in non-heart-beating donor kidneys. *Transplantation* 1999; 67: 200, 1999.
- 30-Marshall R, Ahsan N, Dhillon S, Holman M, Yang H. Adverse effect of donor vasopressor support on immediate and one-year kidney allograft function. *Surgery* 1996; 120: 663, 1996.

- 31-Mercus JWS, Hoitsma AJ, Koene RAP. Detrimental effect of acute renal failure on the survival of renal allografts: influence of total ischaemia time and anastomosis time. *Nephrol Dial Transplant*; 6: 881, 1991.
- 32-Halloran PF, Hunsicker LG. Delayed graft function: state of the art, Nov 10–11, 2000. Summit Meeting, Scottsdale, Arizona, USA. *Am J Transplant*; 1: 115, 2001.
- 33-Perico N, Ruggenti P, Scalamogna M, Remuzzi G. Tackling the shortage of donor kidneys: how to use the best that we have. *Am J Nephrol*; 23: 245, 2003.
- 34-Dawidson IJA, Sandor ZF, Coopender L, et al. Intraoperative albumin administration affects the outcome of cadaver renal transplantation. *Transplantation*; 53: 774, 1992.
- 35-Snyder JJ, Kasiske BL, Gilbertson DT, Collins AJ. A comparison of transplant outcomes in peritoneal and hemodialysis patients. *Kidney Int*; 62: 1423, 2002.
- 36-McCormick BB, Pierratos A, Fenton S, Jain V, Zaltzman J, Chan CT. Review of clinical outcomes in nocturnal haemodialysis patients after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*; 19: 714, 2004.
- 37-Thomas MC, Mathew TH, Russ GR, Rao MM, Moran J. Perioperative blood pressure control, delayed graft function, and acute rejection after renal transplantation. *Transplantation*; 75: 1989, 2003.
- 38-Ratner LE, Cigarroa FG, Bender JS, Magnuson T, Kraus ES. Transplantation of single and paired pediatric kidneys into adult recipients. *J Am Coll Surg*; 185: 437, 1997.

- 39- Hocher B, Slowinski T, Hauser I, et al. Association of factor V Leiden mutation with delayed graft function, acute rejection episodes and long-term graft dysfunction in kidney transplant recipients. *Thromb Haemost*; 87: 194, 2002.
- 40-Heidenreich S, Junker R, Wolters H, et al. Outcome of kidney transplantation in patients with inherited thrombophilia: data of a prospective study. *J Am Soc Nephrol*; 14: 234, 2003.
- 41-Monteiro F, Buelow R, Mineiro C, Rodrigues H, Kalil J. Identification of patients at high risk of graft loss by pre- and posttransplant monitoring of anti-HLA class I IgG antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. *Transplantation*; 63: 542, 1997.
- 42-Edelstein CL, Ling H, Schrier RW. The nature of cell injury. *Kidney Int*; 51: 1341, 1997.
- 43-Haugen E, Nath KA. The involvement of oxidative stress in the progression of renal injury. *Blood Purif*; 17: 58, 1999.
- 44-Shoskes DA, Xie Y, Gonzales-Cadavid NF. Nitric oxide synthase activity in renal ischemia-reperfusion injury in the rat: implications for renal transplantation. *Transplantation* 1997; 63: 495, 1997.
- 45-Ling H, Edelstein C, Gengaro P, et al. Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury in inducible nitric oxide synthase knockout mice. *Am J Physiol*; 277: F383, 1999.
- 46-Noiri E, Peresieni T, Miller F, Goligorski MS. In vivo targeting of inducible NO synthase with oligodeoxynucleotides protects rat kidney against ischemia. *J Clin Invest*; 92: 2377, 1996.

- 47-Walker LM, Walker PD, Imam SZ, Ali SF, Mayeux PR. Evidence for peroxynitrite formation in renal ischemia-reperfusion injury: studies with the inducible nitric oxide synthase inhibitor L-N6-(1-iminoethyl)-lysine. *J Pharmacol Exp Ther*; 295: 417, 2000.
- 48-Emami A, Schwartz JH, Borkan SC. Transient ischemia or heat stress induces a cytoprotectant protein in the rat kidney. *Am J Physiol*; 260: F479, 1991.
- 49-Bonventre JV, Sukhatme VP, Bamberger M, Ouellette M. Localization of the protein product of the immediate early growth response gene, Egr-1, in the kidney after ischemia and reperfusion. *Cell Regulation*; 2: 251, 1991.
- 50-Lemos FBC, Ijzermans JNM, Zondervan PE, et al. Differential expression of heme oxygenase-1 and vascular endothelial growth factor in cadaveric and living donor kidneys after ischemiareperfusion. *J Am Soc Nephrol*; 14: 3278, 2003.
- 51-DeVries ME, Hosiawa KA, Cameron CM, et al. The role of chemokines and chemokine receptors in alloantigen-independent and alloantigen-dependent transplantation injury. *Sem Immunol*; 15: 33, 2003.
- 52-Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Reid RC, Fairlie DP, Taylor SM. Protective effect of a new C5a receptor antagonist against ischemia-reperfusion injury in the rat small intestine. *J Surg Res*; 103: 260, 2002.
- 53-Vakeva AP, Agah A, Rollins SA, Matis LA, Li L, Stahl GL. Myocardial infarction and apoptosis after myocardial ischemia and reperfusion: role of the terminal complement components and inhibition by anti-C5 therapy. *Circulation*; 97: 2259, 1998.

- 54-Osborn L. Leukocyte adhesion to endothelium in inflammation. *Cell*; 62: 3, 1990.
- 55-Farhood A, McGuire GM, Manning AM, Miyasaka M, Smith CW, Jaeschke H. Intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression and its role in neutrophil-induced ischemia-reperfusion injury in rat liver. *J Leuk Biol*; 57: 368, 1995.
- 56-Kelly KJ, Williams WJr, Colvin RB, Bonventre JV. Antibody to intracellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci USA*; 91: 812, 1994.
- 57-Bonventre JV, Colvin RB. Adhesion molecules in renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*; 5: 254, 1996.
- 58-Alejandro V, Scandling JD, Sibley RK, et al. Mechanisms of filtration failure during postischemic injury of the human kidney. A study of the reperfused renal allograft. *J Clin Invest* 1995; 95: 820, 1995.
- 59-Finn WF, Hak LJ, Grossman SH. Protective effect of prostacyclin on postischemic acute renal failure in the rat. *Kidney Int*; 32: 479, 1987.
- 60-Wilhelm SM, Simonson MS, Robinson AV, Stowe NT, Schulak JA. Endothelin up-regulation and localization following renal ischemia and reperfusion. *Kidney Int*; 55: 1011, 1999.
- 61-Clozel M, Loffler BM, Gloor H. Relative preservation of the responsiveness to endothelin-1 during reperfusion following renal ischemia in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 17: S313, 1991.

- 62-Schilling M, Holzinger F, Friess H, Seiler C, Bucher MW. Pathogenesis of delayed kidney graft function: role of endothelin-1, thromboxane B2, and leukotriene B4. *Transplant Proc*; 28: 304, 1996.
- 63-Lockhart DJ, Winzeler EA. Genomics, gene expression and DNA arrays. *Nature*; 405: 827, 2000.
- 64-Supavekin S, Zhang W, Kucherlapati R, Kaskel FJ, Moore L, Devarajan P. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. *Kidney Int*; 63: 1714, 2003.
- 65-St Peter SD, Imber CJ, Jones DC, et al. Genetic determinants of delayed graft function after kidney transplantation. *Transplantation*; 74: 809, 2002.
- 66-Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russell GI. Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Exp Nephrol*; 3: 348, 1995.
- 67-Lu CY, Penfield JG, Kielar ML, Vazquez MA, Jeyarajah DR. Hypothesis: is renal allograft rejection initiated by the response to injury sustained during the transplant process? *Kidney Int*; 55: 2157, 1999.
- 68-Manfro RC, Gonçalves LF, Rauber M, Moura LA. Analysis of ICAM-1 and HLA-DR expression on renal allograft aspirates. *Clin Transplant*; 10(4): 379, 1996.
- 69-Sayegh MH. Why do we reject a graft? Role of indirect allorecognition in graft rejection. *Kidney Int*; 65: 1967, 1999.
- 70-Takeda M, Nadeau KC, Shaw GD, Marquette KA, Tilney NL. The cytokine-adhesion molecule cascade in ischemia/reperfusion injury of the rat kidney. Inhibition by a soluble P-selectin ligand. *J Clin Invest*; 99: 2682, 1997.

- 71-Qureshi F, Rabb H, Kasiske BL. Silent acute rejection during prolonged delayed graft function reduces kidney allograft survival. *Transplantation*; 74:1400, 2002.
- 72-Jain S, Curwood V, White SA, Furness PN, Nicholson ML. Sub-clinical acute rejection detected using protocol biopsies in patients with delayed graft function. *Transplant Int*; 13: S52, 2000.
- 73-Troppman C, Gillingham KJ, Benedetti E. Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaver renal transplantation. The multivariate analysis. *Transplantation*; 7: 962, 1995.
- 74-Halloran PF, Batiuk TD, Goes NB. Strategies to improve the immunologic management of organ transplants. *Clin Transplant*; 9: 227, 1995.
- 75-Méier-Kriesche HU, Grussner RWG, Li S, Fung JJ, Bustami RT, Barr ML, Leichtman AB. Immunosuppression: Evolution in Practice and Trends, 1994-2004. *Am J Transplantation*; 6(2):1111, 2006
- 76-Nashan B, Moore R, Amlot P. Randomized trial of basiliximab versus placebo for control of acute cellular rejection in renal allograft recipients. CHIB 201 International Study Group. *Lancet*; 350: 1193, 1997.
- 77-Kahan BD, Rajagopalan PR, Hall M. Reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with basiliximab, a chimeric anti interleukin2 receptor monoclonal antibody. *Transplantation*; 67: 276, 1999.
- 78-Ponticelli C, Yussim A, Cambi V. A randomized double-blind trial of basiliximab immunoprophylaxis plus triple therapy in kidney transplant recipients. *Transplantation*; 72: 1261, 2001.

- 79-Lawen JG, Davies EA, Mourad D. Randomized double-blind study of immunoprophylaxis with basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2 receptor monoclonal antibody, in combination with mycophenolate mofetil-containing triple therapy in renal transplantation. *Transplantation*; 75: 37, 2003.
- 80-Remuzzi G, Lesti M, Gotti E, Ganeva M, Dimitrov BD, Ene-Iordache B, Gherardi G, Donati D. Mycophenolate mofetil versus azathioprine for prevention of acute rejection in renal transplantation (MYSS): a randomised trial. *Lancet*; 364: 503, 2004.
- 81-Mathew T. A blinded, long term randomized multicenter study of mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. *Transplantation*; 65: 1450, 1998.
- 82-Lebranchu Y, Bridoux F, Buchler M. Immunoprophylaxis with basiliximab compared with antithymocyte globulin in renal transplant patients receiving MMF-containing triple therapy. *Am J Transplant*; 2: 48, 2002
- 83-Vincenti F, Kirkman R, Light S. Interleukin 2 receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. *N Engl J Med*; 338: 161, 1998.
- 84-Mourad G, Rostaing L, Legendra C. Sequential protocols using basiliximab versus antithymocyte globulin in renal transplant patients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation*; 78: 584, 2004.
- 85-Pascual M, Theruvath T, Kawai T. Strategies to improve long term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med*; 346: 580, 2002.
- 86-Nair MP, Nampoory MRN, Said T, Halim MA, Mansour M, Johny KV, Samhan M, Al-Mousawi M. Early acute rejection episodes in renal

transplantation in relation to immunosuppression protocols: an audit of 100 cases. *Transplant proc*; 37:3029, 2005.

87-Gaber LW, Gaber AO, Hathaway DK, Vera SR, Shokouh-Amiri MH. Routine early biopsy of allografts with delayed graft function: correlation of histopathology and transplant outcome. *Clin Transplant*; 10: 629, 1996.

## OBJETIVOS

### **a) – Primário:**

Avaliar a influência dos diferentes protocolos de imunossupressão na ocorrência de episódios de rejeição aguda em pacientes transplantados com disfunção inicial do enxerto renal.

### **b) – Secundários:**

Determinar a incidência de rejeição aguda diagnóstica por punção biópsia renal de vigilância em pacientes transplantados renais com disfunção inicial do enxerto.

Analisar a influência de diferentes protocolos de imunossupressão ( sem terapia de indução, indução com anticorpos anti-receptor da interleucina 2 e indução com anticorpos antilinfocitários ou antitimócitos) no tempo para diagnóstico e na incidência de rejeição aguda em pacientes com disfunção inicial do enxerto renal.

Analisar a influência de fatores de risco (sexo, idade, raça e reatividade contra painel do receptor, transplantes renais prévios, tipo de doador e número de incompatibilidades HLA) para a ocorrência de episódios de rejeição aguda para pacientes transplantados renais em disfunção inicial do enxerto.

## **Rejeição aguda em enxertos renais com disfunção inicial. Influência do protocolo de imunossupressão e da compatibilidade HLA.**

Daniel M. Silva<sup>1,2</sup>

João Pedro Garcia<sup>1</sup>

Adriana R. Ribeiro<sup>1,2</sup>

Roberto C. Manfro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Serviço de Nefrologia, Unidade de Transplante Renal. Hospital de Clínicas de Porto Alegre e <sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Nefrologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. Brasil.

Palavras chave: transplante, rim, rejeição aguda, disfunção inicial do enxerto, terapia de indução, HLA

Contagem de palavras do Resumo: 329

Contagem de palavras do Texto: 2.117

Número de tabelas: 5

### **Endereço para correspondência:**

Dr. Roberto C. Manfro

Serviço de Nefrologia, Unidade de Transplante Renal.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350. 90035-903. Porto Alegre, RS. Brasil

Fax: (51) 21018121; Fone (51) 21018295

E-mail: [rmanfro@hcpa.ufrgs.br](mailto:rmanfro@hcpa.ufrgs.br)

## Notas para o Título

Não existe, por parte dos autores, conflito de interesse. Não foi recebido suporte financeiro de qualquer ordem para a realização deste trabalho.

## Notas para os nomes dos autores

1. Daniel M. Silva – Serviço de Nefrologia, Unidade de Transplante Renal. Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS. Brasil. Endereço atual: Serviço de Nefrologia, Unidade de Transplante Renal. Hospital Universitário de Santa Maria. Santa Maria, RS. Brasil.
2. João Pedro Garcia – Departamento de Medicina Interna. Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. Brasil.
3. Adriana R. Ribeiro – Serviço de Nefrologia, Unidade de Transplante Renal. Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS. Brasil.
4. Roberto C. Manfro – Médico chefe do Serviço de Nefrologia, Unidade de Transplante Renal. Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Programa de Pós-Graduação em Nefrologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. RS, Brasil.

Endereço para correspondência:

Rua Ramiro Barcelos 2350.

90035-903. Porto Alegre, RS. Brasil

Fax: (51) 21018121; Fone (51) 21018295

E-mail: [rmanfro@hcupa.ufrgs.br](mailto:rmanfro@hcupa.ufrgs.br)

## **Abreviaturas**

anti-IL2R ab = anticorpo anti-receptor da interleucina 2

NCE = Nefropatia Crônica do Enxerto

DIE = Disfunção Inicial do Enxerto

TFG = Taxa de Filtração Glomerular

HLA = Antigenos Leucocitários Humanos

MHC = Complexo de Histocompatibilidade Principal

PRA = Reatividade contra Painel

## Resumo

**Introdução:** A disfunção inicial do enxerto (DIE) é uma condição freqüente em receptores de rim de cadáver, associa-se a um elevado risco de rejeição aguda, complicação importante durante o período pós-transplante, sendo um significativo fator de risco para nefropatia crônica do enxerto (NCE). A NCE apresenta fatores imunológicos e não imunológicos como causas importantes do seu desenvolvimento e permanece a principal causa de perda renal. O objetivo do presente estudo foi analisar a influência da terapia de indução com anticorpos na incidência de rejeição aguda em pacientes com disfunção inicial de enxerto.

**Material e Métodos:** Análise retrospectiva de 218 pacientes transplantados renais com DIE incluídos no protocolo de biópsias renais de vigilância. Os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com o regime imunossupressor inicial: Grupo 1 (inibidor da calcineurina + antiproliferativo + corticosteróide); Grupo 2 (terapia de indução com anticorpo anti-receptor da interleucina 2 + inibidor da calcineurina + antiproliferativo + corticosteróide); Grupo 3 (terapia de indução com anticorpos antilinfócitos T + inibidor da calcineurina + antiproliferativo + corticosteróide).

**Resultados:** Oitenta e oito pacientes (40,4%) apresentaram episódios de rejeição aguda. As porcentagens de rejeição aguda nos grupos foram: 39,2%, 39,4% e 50,0% para os grupos 1, 2 e 3 respectivamente ( $p=0,62$ ). O tempo para o diagnóstico do primeiro episódio de rejeição aguda em cada grupo não diferiu significativamente, sendo:  $20,9\pm 21$ ;  $23,8\pm 28$ ;  $26,7\pm 21$  dias respectivamente ( $p=0,72$ ). O risco relativo para rejeição aguda aumentou significativamente com o aumento no número de incompatibilidades HLA. Comparado com pacientes com duas incompatibilidades HLA (risco relativo = 1), o risco relativo para rejeição aguda foi 6,88 (95%CI: 2,20-21,51) para pacientes com 3 incompatibilidades; 15,82 (95%CI: 5,18-48,29) para pacientes com 4 incompatibilidades e 18,78 (95%CI: 6,19-56,95) para aqueles com 5 incompatibilidades.

**Conclusão:** Evidenciou-se incidências elevadas de rejeição aguda em pacientes transplantados renais com disfunção inicial do enxerto, independente do regime de

imunossupressão, verificou-se também que a incompatibilidade HLA exerce um significativo papel na incidência de rejeição aguda durante a disfunção inicial do enxerto renal.

## Introdução

Os avanços da terapia imunossupressora nos últimos anos levaram a uma maior sobrevida a curto e longo prazo após o transplante renal<sup>1,2</sup>. Para enxertos de doadores cadáveres a sobrevida média em um ano, atualmente, está acima de 90%<sup>3,4,5</sup>. Após o primeiro ano do transplante, as principais causas de perda do enxerto são morte com rim funcionante, geralmente secundária a eventos cardiovasculares ou infecciosos e nefropatia crônica do enxerto (NCE). A NCE é caracterizada por um declínio progressivo na taxa de filtração glomerular (TFG), podendo iniciar três a seis meses após o transplante renal e, freqüentemente, sendo acompanhada por proteinúria e hipertensão<sup>6</sup>. Após o primeiro ano do transplante, a NCE ocorre a uma taxa de 2-4% por ano<sup>7</sup>. Patologicamente a nefropatia do transplante apresenta fibrose intersticial, atrofia tubular e arteriopatia característica. É classificada de acordo com os critérios de Banff em tipos I (leve), II (moderada) e III (severa)<sup>8</sup>. A fisiopatologia da NCE é complexa, multifatorial e não completamente entendida. Fatores imunológicos e não imunológicos exercem importante papel no desenvolvimento da NCE<sup>5</sup>. Um forte preditor para o surgimento da NCE é a ocorrência de episódios de rejeição aguda, relatados atualmente a uma taxa de 10 a 20% dos enxertos renais durante o primeiro ano do transplante e com efeitos deletérios na sobrevida renal<sup>2,9,10,11</sup>. A nefropatia associada aos inibidores da calcineurina é também uma situação importante neste contexto, com relação direta no desenvolvimento da NCE<sup>6</sup>. Por outro lado, a disfunção inicial do enxerto (DIE) é uma condição especialmente relevante no período precoce após o transplante. Definida, geralmente, como a necessidade de diálise durante a primeira semana do transplante, sendo relatada a uma freqüência variável de 2% a 50%<sup>12,13</sup>. A ocorrência de DIE está relacionada a muitos fatores, entretanto as injúrias de isquemia e reperfusão parecem ser dominantes. A isquemia leva a um elevado risco de rejeição aguda e NCE através de um aumento na expressão das moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) no enxerto, originando uma forte resposta imune associada às vias direta e indireta de reconhecimento aloantigênico relacionado a moléculas do

MHC na superfície das células renais<sup>14</sup>. Além disso, durante a reperfusão do tecido isquêmico, ocorre rápida geração de espécies reativas de oxigênio, as quais dão origem a peroxidação das membranas celulares e posteriormente apoptose<sup>15</sup>. Estudos prévios relatam aumento da incidência de rejeição aguda em pacientes com DIE, com impacto fortemente negativo para a sobrevivência do enxerto<sup>16,17</sup>. Para pacientes transplantados com DIE, terapia de indução com anticorpos tem sido sugerida e usada com dois objetivos, prevenção de rejeição aguda e proteção de toxicidade associada aos inibidores da calcineurina, permitindo doses reduzidas de ciclosporina ou tacrolimus no período precoce após o transplante<sup>17,18,19,20,21</sup>. O objetivo do presente estudo foi analisar a influência da terapia de indução com anticorpos na taxa de rejeição aguda em pacientes com disfunção inicial do enxerto.

### **Pacientes e Métodos**

O registro de transplantes renais da Unidade de Transplante Renal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre foi utilizado para uma análise retrospectiva. Foram incluídos 218 pacientes que realizaram transplante renal de 1997 a 2005 e apresentaram disfunção inicial do enxerto (DIE), definida pela necessidade de diálise na primeira semana após o transplante renal, tendo sido submetidos à pelo menos uma punção biópsia renal durante o período da DIE. Por protocolo, todos os pacientes com DIE realizam punção biópsia renal a cada 7-10 dias até o enxerto recuperar função, salvo contra-indicado. Os dados coletados foram idade, sexo e etnia do receptor, transplante renal prévio (sim ou não), tipo de doador (cadáver ou vivo), tempo da cirurgia até a biópsia, última reatividade contra painel (PRA) e número de incompatibilidades HLA (A+B+DR). A coorte foi dividida em três grupos de acordo com o regime imunossupressor inicial: Grupo 1 (inibidor da calcineurina + antiproliferativo + corticosteroide); Grupo 2 (terapia de indução com anticorpo anti-receptor da interleucina 2 + inibidor da calcineurina + antiproliferativo + corticosteroide); Grupo 3 (terapia de indução com anticorpos anti linfócitos T + inibidor da calcineurina + antiproliferativo + corticosteroide).

Os resultados anátomo-patológicos foram revisados por um patologista renal treinado, utilizando os critérios de Banff 1997<sup>8</sup>.

### **Análises Estatísticas**

As comparações foram feitas utilizando-se análise de variância (ANOVA) unidirecional para variáveis contínuas e teste de Chi-Quadrado para variáveis categóricas. O impacto da idade, sexo e raça do receptor, transplante renal prévio, tipo de doador, última reatividade contra painel, número de incompatibilidades HLA (A+B+DR) e tipo de imunossupressão na ocorrência de rejeição aguda foi analisado por regressão logística, determinando-se o risco relativo para cada variável. Um nível de P menor que 0,05 foi requerido para significância estatística. O risco relativo de rejeição aguda de acordo com o número de incompatibilidades HLA foi também calculado.

### **Resultados**

As características demográficas são mostradas na tabela 1. Os grupos tiveram distribuições similares de sexo e etnia e maior número de enxertos de doadores falecidos ( $p=0,001$ ). Os pacientes do grupo 1 ( $n=130$ ) eram mais jovens ( $p=0,002$ ). O grupo 2 ( $n=66$ ) teve número significativamente menor de incompatibilidades HLA em relação aos demais grupos ( $p=0,028$ ) e a proporção de re-transplantes foi significativamente maior no grupo 3 ( $n=22$ ) ( $p<0,0001$ ). A reatividade contra painel no grupo 3 foi significativamente maior que nos grupos 1 e 2 ( $p<0,0001$ ). Oitenta e oito receptores tiveram diagnóstico patológico de rejeição aguda (40,4%). As taxas de rejeição aguda foram 39,2%, 39,4% e 50,0% ( $p=0,62$ ) e o tempo para o diagnóstico do primeiro episódio de rejeição foi  $20,9\pm 21$ ;  $23,8\pm 28$  e  $26,7\pm 21$  dias, respectivamente para os grupos 1, 2 e 3 ( $p=0,72$ ). (Tabela 2).

Os pacientes do grupo 1 foram divididos em 2 subgrupos de acordo com o regime inicial de imunossupressão: ciclosporina + azatioprina + corticosteroide ( $n=88$ ) versus ciclosporina ou tacrolimus + ácido micofenólico + corticosteroide ( $n=42$ ). As taxas de rejeição aguda para os subgrupos foram 40,9% ( $n=36$ ) e

35,7% (n=15) respectivamente (p=0,7). Análise similar foi realizada para o grupo 2: anticorpo anti-receptor da interleucina 2 + ciclosporina + azatioprina + corticosteroide (n=14) versus anticorpo anti-receptor da interleucina 2 + ciclosporina ou tacrolimus + ácido micofenólico + corticosteroide (n=52). As taxas de rejeição aguda foram 35,7% (n=5) e 40,4% (n=21) para cada grupo respectivamente (p=0,5). Através de comparação por análise univariada dos pacientes com (n=88) e sem (n=130) rejeição aguda, evidenciou-se que o grupo de pacientes com rejeição era mais jovem ( $39,3 \pm 12,6$  vs.  $43,6 \pm 11,3$  anos de vida; p=0,01) e tiveram significativamente mais incompatibilidades HLA ( $3,84 \pm 0,86$  vs.  $2,65 \pm 0,68$  incompatibilidades; p<0,0001). (Tabela 3). Utilizando-se um modelo de regressão logística que incluiu idade, sexo e raça do receptor, transplante renal prévio, tipo de doador, incompatibilidades HLA, PRA e uso de terapia de indução, as duas variáveis que emergiram como tendo um impacto estatisticamente significativo na ocorrência de rejeição aguda foram transplante renal prévio (OR=5,08; 95%CI: 1,26-20,44; p=0,022) e número de incompatibilidades HLA (OR=8,08; 95%CI: 4,53-14,43; p<0,0001). (Tabela 4).

O risco relativo para rejeição aguda de acordo com o número de incompatibilidades HLA (A+B+DR) é mostrado na tabela 5. Nesta coorte o menor número de incompatibilidades HLA foi 2 e ocorreu em 61 pares. No grupo de pacientes com 2 incompatibilidades a incidência de rejeição aguda foi 4,9%, sendo estabelecido para este grupo risco relativo de rejeição igual a 1. Um aumento gradativo na incidência de episódios de rejeição aguda foi observado à medida que o número de incompatibilidades HLA aumentou. Pacientes com 3 incompatibilidades HLA mostraram um RR = 6,88 (95%CI: 2,20-21,51), 4 incompatibilidades um RR = 15,82 (95%CI: 5,18-48,29) e 5 incompatibilidades um RR = 18,78 (95%CI: 6,19-56,95).

## **Discussão**

Durante o período precoce após o transplante renal, o controle da resposta do receptor aos antígenos expressados no enxerto é crucial para o sucesso desta terapia. Como o risco imunológico não é semelhante entre os pacientes, o

protocolo imunossupressor deve ser individualizado. Muitos estudos têm repetidamente demonstrado que episódios de rejeição aguda associam-se negativamente com o prognóstico do enxerto <sup>2,9,10,11</sup>. Condições tradicionalmente associadas com elevado risco para episódios de rejeição aguda e falência imunológica são: sensibilização HLA, necrose tubular aguda, enxertos de doadores cadáveres, imunossupressão insuficiente, transplante renal prévio, receptores pediátricos ou de transplantes duplos <sup>16</sup>. A incidência de rejeição aguda tem diminuído nos últimos anos e, atualmente, utilizando-se terapia de indução com anticorpos (antagonista do receptor da interleucina 2, globulina anti-timótico ou alemtuzumab), associada a ácido micofenólico, corticosteroides e inibidores da calcineurina (ciclosporina ou tacrolimus), as taxas de rejeição aguda relatadas estão em torno de 15% <sup>16,22,23,24</sup>.

Uma condição que pode afetar a escolha inicial do regime imunossupressor é a lesão celular associada à isquemia e reperfusão do enxerto renal, produzindo disfunção inicial e conseqüente aumento no risco imunológico, bem como na incidência de enxertos primariamente não funcionantes <sup>14</sup>. Nós relatamos elevada taxa de rejeição aguda (40,4%) em uma coorte de pacientes transplantados renais com DIE. Nossos resultados estão em concordância com dados de Qureshi e colaboradores, que relataram uma incidência de 50% de rejeição aguda em pacientes transplantados renais com DIE <sup>25</sup>. Elevada incidência de rejeição aguda no contexto da DIE também foi demonstrada por Jain e colaboradores através de biópsias protocolares, tendo reportado uma taxa de 4% de rejeição subclínica em pacientes com função renal imediata, comparada com 18% de rejeição subclínica (classificação de Banff 1A ou maior) e 12% de rejeição “borderline” para pacientes com DIE <sup>26</sup>. Importante enfatizar que pacientes com DIE e rejeição “borderline” são geralmente tratados, como assim o foram por Jain e colaboradores. No presente estudo, os riscos imunológicos foram distintos entre os grupos. Observou-se maior reatividade contra painel e maior número de re-transplantes para os pacientes do grupo 3. Entretanto, neste grupo o regime imunossupressor foi consideravelmente mais potente e a incidência de rejeição aguda foi 10,7% maior. Apesar desta diferença não ser estatisticamente significativa, talvez devido a erro tipo II, nós

acreditamos que é clinicamente relevante. Estes achados reforçam a importância dos fatores de risco tradicionais para rejeição e sugerem que, para grupos de elevado risco tais como o grupo 3, o uso de terapia de indução potente pode ajudar a prevenir uma taxa excessivamente elevada de rejeição aguda.

A análise dos grupos 1 e 2 evidenciou informações interessantes. O grupo 1 incluiu receptores mais jovens e com maior número de incompatibilidades HLA e o grupo 2 teve maior proporção de doadores cadáveres. As taxas de rejeição aguda foram idênticas entre os dois grupos. Nossa análise para os dois subgrupos do grupo 1 (baixo risco imunológico sem terapia de indução) e grupo 2 (baixo risco imunológico com terapia de indução com antagonista do receptor da interleucina 2) mostrou que a taxa de rejeição aguda foi semelhante para receptores que receberam ciclosporina + azatioprina + corticosteroides e para aqueles com ciclosporina ou tacrolimus + ácido micofenólico + corticosteroides, independente do uso de antagonista do receptor da interleucina 2. Conseqüentemente, nossos dados reforçam que para receptores de baixo risco imunológico em DIE, o uso de imunossupressão mais potente não traz benefício em relação a medicações mais convencionais. Analisando o tempo para diagnóstico do primeiro episódio de rejeição, em concordância a relatos prévios <sup>27,28</sup>, nós observamos um período progressivamente maior, embora não significativo, para os grupos sem indução, indução com anti-IL2R ab e indução com anticorpos antilinfócito T (Timoglobulina e OKT3).

Talvez mais interessante é a informação obtida por análise multivariada, na qual transplantes repetidos e incompatibilidades HLA emergiram como os fatores de risco mais relevantes para rejeição aguda. Pacientes com transplantes renais prévios mostraram maior risco para rejeição aguda do que receptores de primeiro transplante. Thompson e colaboradores, estudando 2.574 re-transplantes renais, propôs que a sensibilização prévia do receptor tem uma importante associação com redução na sobrevida do novo enxerto <sup>29</sup>. Dados de Cardarelli e colaboradores reforçam que anticorpos anti-HLA são associados com pior função do enxerto, bem como evidência in situ de alorreatividade humoral <sup>30</sup>.

O impacto da incompatibilidade HLA na ocorrência de rejeição aguda foi evidente na nossa coorte, na qual um aumento progressivo no número de incompatibilidades HLA correlacionou-se positivamente com aumento na incidência de rejeição aguda de uma forma muito mais surpreendente do que observada em pacientes sem DIE <sup>12,16</sup>. Este achado sugere que a compatibilidade HLA é até mais importante no contexto da DIE e deve ser estudada em maiores séries.

Em resumo, confirmaram-se taxas elevadas de rejeição aguda em pacientes com disfunção inicial do enxerto renal, independente do protocolo de imunossupressão ou terapia de indução. Transplante renal prévio e maior número de incompatibilidades HLA levam a um aumento no risco para a ocorrência de episódios de rejeição aguda. Pode-se especular que a terapia de indução com anticorpos antilinfocitários ou antitimócitos oferece um benefício em potencial na prevenção de rejeição aguda em pacientes de elevado risco imunológico com DIE. Por fim, não demonstrou-se benefício do uso de antagonistas do receptor da interleucina 2 na prevenção de rejeição aguda em pacientes de baixo risco imunológico com DIE.

## Referências

- 1- Bohmig GA, Regele H, Horl H. Protocol biopsies after kidney transplantation. *Transplant Int* 2005; 18: 131.
- 2- Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolkoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002; 346: 580.
- 3- The Canadian Multicentre Transplant Study Group. A randomized trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. *N Engl J Med* 1983; 309: 809.
- 4- Cardarelli F, Saidman S, Theruvath T, et al. The problem of late allograft loss in kidney transplantation. *Minerva Urol Nefrol* 2003; 55: 1.
- 5- Afzali B, Taylor A, Goldsmith DJA. What we CAN do about chronic allograft nephropathy: Role of immunosuppressive modulations. *Kidney Int* 2005; 68: 2429.
- 6- Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, et al. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349: 2326.
- 7- Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, et al. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 2000; 342: 605.
- 8- Racusen LC, Solez K, Colvin RB. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55: 713.

- 9- Kahan BD, Rajagopalan PR, Hall M, et al. Reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with basiliximab, a chimeric anti interleukin 2 receptor monoclonal antibody. *Transplantation* 1999; 67: 276.
- 10-Vincent F, Kirkman R, Light S, et al. Interleukin 2 receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. *N Engl J Med* 1998; 338: 161.
- 11-Mourad G, Rostaing L, Legendra C, et al. Sequential protocols using basiliximab versus antithymocyte globulin in renal transplant patients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation* 2004; 78: 584.
- 12-Ojo AO, Wolfe RA, Held P, Port FK, Schmouder RL. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation* 1997; 63: 968.
- 13-Gjertson DW. Impact of delayed graft function and acute rejection on kidney graft survival. In: Cecka JM, Terasaki PI, eds. *Clinical Transplants*. Los Angeles: The Regents of the University of California 2000: 467.
- 14-Perico N, Cattaneo D, Sayegh M, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet* 2004; 364: 1814.
- 15-Castaneda PM, Swiatecka-Urban A, Mitsnefers MM. Activation of mitochondrial apoptotic pathways in human, renal allografts after ischemia-reperfusion injury. *Transplantation* 2003; 76: 50.
- 16-Nair MP, Nampoory MRN, Said T, Halim MA, Mansour M, Johny KV, et al. Early acute rejection episodes in renal transplantation in relation to

- immunosuppression protocols: an audit of 100 cases. *Transplant Proc* 2005; 37: 3029.
- 17-Troncoso P, Ortiz AM, Jara A. Induction immunosuppressive therapy stratified according to risk categories in renal transplantation. *Transplant Proc* 2003; 35: 2495.
- 18-Lebranchu Y, Bridoux F, Buchler M. Immunoprophylaxis with basiliximab compared with antithymocyte globulin in renal transplant patients receiving MMF-containing triple therapy. *Am J Transplant* 2002; 2: 48.
- 19-Martins L, Fonseca I, Almeida M, Henriques AC, Dias L, Sarmento AM, Cabrita A. Immunosuppression with antithymocyte globulin in renal transplantation: better long-term graft survival. *Transplant Proc* 2005; 37 (6): 2755.
- 20-Haririan A, Morawski K, Sillix DH, El-Amm JM, Garnick J, West MS, Granger DK, Migdal SD, Gruber SA. Induction therapy with basiliximab versus Thymoglobulin in African-American kidney transplant recipients. *Transplantation* 2005; 79 (6): 716.
- 21-Shaffer D, Langone A, Nylander WA, Goral S, Kizilisik AT, Helderan JH. A pilot protocol of a calcineurin-inhibitor free regimen for kidney transplant recipients of marginal donor kidneys or with delayed graft function. *Clin Transplant* 2003; 17 (9): 31.
- 22-Bloom DD, Hu H, Fechner JH, Knechtle SJ. T-lymphocyte alloresponses of Campath-1H-treated kidney transplant patients. *Transplantation* 2006; 81 (1): 81.

- 23-Ciancio G, Burke GW, Gaynor JJ, Mattiazzi A, Roohipour R, Carreno MR, Roth D, Ruiz P, Kupin W, Rosen A, Esquenazi V, Tzakis AG, Miller J. The use of Campath-1H as induction therapy in renal transplantation: preliminary results. *Transplantation* 2004; 78 (3): 426.
- 24-Hardinger, Karen L; Schnitzler, Mark A; Koch, Matthew J.; Labile, Emily; Stirnemann, Paula M.; Miller, Brent; Enkvetchakul, Decha; Brennan, Daniel C. Thymoglobulin Induction Is Safe and Effective in Live-Donor Renal Transplantation: A Single Center Experience. *Transplantation* 2006; 81(9):1285.
- 25-Qureshi F, Rabb H, Kasiske BL. Silent acute rejection during prolonged delayed graft function reduces kidney allograft survival. *Transplantation* 2002; 74: 1400.
- 26-Jain S, Curwood V, White SA, Furness PN, Nicholson ML. Sub-clinical acute rejection detected using protocol biopsies in patients with delayed graft function. *Transplant Int* 2000; 13: S52.
- 27-Miura M, Harada H, Fukuzawa N, Iwami D, Taniguchi A, Seki T, Togashi M, Ogawa Y, Satoh H, Hirano T. Quadruple immunosuppression with basiliximab, tacrolimus, mycophenolate mofetil and prednisone is safe and effective for renal transplantation. *Clin Transplant* 2005; 19 (14): 54.
- 28-Ciancio G, Burke G, Gaynor J, Carreno M, Cirocco R, Mathew J, Mattiazzi A, Cordovilla T, Roth D, Kupin W, Rosen A. A randomized trial of three renal transplant induction antibodies: Early comparison of Tacrolimus, Mycophenolate Mofetil, and Steroid dosing, and Newer Immune-Monitoring. *Transplantation* 2005; 80 (4): 457.

29-Thompson J, Thacker L, Krishnan G. Human leukocyte antigens DR and AB and kidney retransplantation. *Transplantation* 2003; 75 (5): 718.

30-Cardarelli F, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Delmonico FL, Wong W, Schoenfeld DA, Zhang H, Cosimi AB, Saidman SL. Prevalence and significance of anti-HLA and donor-specific antibodies long-term after renal transplantation. *Transplant Int* 2005; 18 (5): 532.

Tabela 1. Comparação das características demográficas entre os grupos.

	Grupo 1 (N = 130)	Grupo 2 (N = 66)	Grupo 3 (N = 22)	P
Sexo ( M / F )	74 / 56	36 / 30	14 / 08	0,7
Idade (anos)	39,5±12,2 *	45,7±11,7	44,4±8,9	0,002*
Raça (C/NC)	104 / 26	52 / 14	17 / 5	0,9
Doador cadáver (%)	107 (82,3%) **	65 (98,4%) **	22 (100%)**	0,001**
Re-transplantes (%)	13 (10%)	3 (4,5%)	12 (54,5%) ***	0,0001***
Incompatibilidades HLA	3,25±0,97	2,88±0,87 ****	3,23±1,02	0,028****

M = masculino; F = feminino; C = caucasiano; NC = não caucasiano; HLA= Complexo Principal de Histocompatibilidade;

\* grupo 1 X 2 e grupo 1 x 3 ; \*\* doador cadáver X vivo;

\*\*\* grupo 3 X 1 e grupo 3 X 2 ; \*\*\*\* grupo 2 X 1 e grupo 2 X 3.

Tabela 2. Incidência de rejeição aguda, tempo para diagnóstico de rejeição e PRA.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	P
Incidência de RA	51 (39,2%)	26 (39,4%)	11 (50,0%)	0,624
Tempo para RA <sup>‡</sup>	20,9±21	23,8±28	26,7±21	0,721
PRA <30% (n)	122	64	0*	<0,0001*
PRA 30-60% (n)	8	2	4	0,5
PRA >60% (n)	0	0	18**	<0,0001**
N	130	66	22	

DP = desvio padrão

RA = rejeição aguda;

PRA = reatividade contra painel;

<sup>‡</sup> = tempo em dias

\* grupo 3 X 1 e grupo 3 X 2 ; \*\* grupo 3 X 1 e grupo 3 X 2.

Tabela 3. Características demográficas dos pacientes com e sem rejeição aguda

	<i>Rejeição Aguda</i>	<i>Sem Rejeição</i>	<i>P</i>
Sexo (M/F)	50 / 38	74 / 56	0,99
Idade	39,3±12,6	43,6±11,3	0,01
Etnia (C/NC)	69 / 19	104 / 26	0,77
Re-transplante	9	19	0,34
Doador cadáver	77	117	0,56
Terapia de indução	37	51	0,68
Incompatibilidades HLA	3,84±0,86	2,65±0,68	<0,0001

M = masculino; F = feminino; C = caucasiano; NC = não caucasiano; HLA= Complexo Principal de Histocompatibilidade; PRA = reatividade contra painel

Tabela 4. Fatores de risco para rejeição aguda.

	Risco Relativo	95%CI	P
Idade	0,99	0,96-1,02	0,532
Sexo	0,78	0,38-1,62	0,509
Etnia	1,23	0,63-2,42	0,538
Re-transplante	5,08	1,26-20,44	0,022
Doador falecido	1,11	0,31-3,92	0,870
Incompatibilidades HLA	8,08	4,53-14,43	<0,0001
Terapia de indução	2,21	0,97-5,06	0,060
PRA	1,38	0,66-2,91	0,394

HLA = Complexo de Histocompatibilidade Principal ;

PRA = reatividade contra painel;

95%CI = intervalo de confiança de 95%.

Tabela 5. Risco relativo para rejeição aguda de acordo com o número de incompatibilidades HLA.

Incompatibilidades HLA	Número de pacientes	Taxa de RA	RR	95%CI
2	61	4,9%	1	-
3	92	33,7%	6,88	2,20-21,51
4	40	77,5%	15,82	5,18-48,29
5	25	82,0%	18,78	6,19-56,95

RR = Risco Relativo; RA = rejeição aguda;

95%CI = intervalo de confiança de 95%

**Acute rejection in transplanted kidneys with delayed graft function. The influence of immunosuppressive regimen and HLA matching.**

Daniel M. Silva<sup>1,2</sup>

João Pedro Garcia<sup>1</sup>

Adriana R. Ribeiro<sup>1,2</sup>

Roberto C. Manfro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Division of Nephrology, Renal Transplant Unit. Hospital de Clínicas de Porto Alegre and <sup>2</sup> Post Graduate Nephrology Program, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. Brazil

Keywords: transplantation, kidney, acute rejection, delayed allograft function, induction therapy, HLA

Word count of abstract: 308

Word count of text: 1.967

Number of tables: 5

**Address for correspondence**

Roberto C. Manfro, M.D., Ph.D

Division of Nephrology, Renal Transplant Unit.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350. 90035-903. Porto Alegre, RS. Brazil

Fax: (51) 21018121; Phone (51) 21018295

E-mail: [rmanfro@hcpu.ufrgs.br](mailto:rmanfro@hcpu.ufrgs.br)

#### Footnotes to the Title

There are no conflicts of interest by the authors and no support received for this study.

#### Footnotes to Authors' names

- 1- Daniel M. Silva – Division of Nephrology, Renal Transplant Unit. Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS. Brazil. Current address: Division of Nephrology, Renal Transplant Unit. Hospital Universitário de Santa Maria. Santa Maria, RS. Brazil.
- 2- João Pedro Garcia – Department of Internal Medicine. School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. Brazil.
- 3- Adriana R. Ribeiro - Division of Nephrology, Renal Transplant Unit. Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS. Brazil.
- 4- Roberto C. Manfro – Chief, Division of Nephrology, Renal Transplant Unit. Hospital de Clínicas de Porto Alegre and Post Graduate Nephrology Program, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. RS, Brazil. Correspondence:  
Rua Ramiro Barcelos 2350.  
90035-903. Porto Alegre, RS. Brazil  
Fax: (51) 21018121; Phone (51) 21018295  
E-mail: [rmanfro@hcpa.ufrgs.br](mailto:rmanfro@hcpa.ufrgs.br)

## **Abbreviations**

anti-IL2R ab = anti interleukin-2 receptor antibodies

CAN = Chronic Allograft Nephropathy

DGF = Delayed Graft Function

GFR = Glomerular Filtration Rate

HLA = Human Leukocytes Antigens

MHC = Major Histocompatibility Complex

PRA = Panel Reactive Antibodies

## **Abstract**

**Background:** Delayed graft function (DGF) is a frequent condition in deceased donor graft recipients and leads to a higher risk of acute rejection that continues to be a significant complication and an important risk factor for chronic allograft nephropathy (CAN). CAN has non-immunological and immunological causes that play important role on its development and remains a major cause of renal graft loss. The aim of the present study was to analyze the influence of induction therapy with antibodies on the rate of acute rejection in patients with delayed graft function.

**Methods:** Retrospective analysis of 218 kidney transplanted patients with DGF included in a surveillance biopsy protocol. Patients were divided in three groups according to the immunosuppressive regimen: Group 1 (calcineurin inhibitor + antiproliferative + corticosteroid); Group 2 (induction therapy with interleukin 2 receptor antibody + calcineurin inhibitor + antiproliferative + corticosteroid); Group 3 (induction therapy with anti T cell antibodies + calcineurin inhibitor + antiproliferative + corticosteroid).

**Results:** Eighty-eight patients (40.4%) presented acute rejection episodes. The percentages of acute rejection in the groups were: 39.2%, 39.4% and 50.0% for groups 1, 2 and 3 respectively ( $p=0.62$ ). The time for the diagnosis of the first acute rejection episode on each groups did not differ significantly being  $20.9\pm 21$ ;  $23.8\pm 28$ ;  $26.7\pm 21$  days respectively ( $p=0.72$ ). We also found that the relative risk of acute rejection increased significantly with increasing numbers of HLA mismatches. As compared to patients with 2 HLA mismatches (relative risk = 1) the relative risk for acute rejection was 6.88 (95%CI: 2.20-21.51) for patients with 3 mismatches; 15.82 (95%CI: 5.18-48.29) for patients with 4 mismatches and 18.78 (95%CI: 6.19-56.95) for those with 5 mismatches.

**Conclusions:** We found that elevated rates of acute rejection occur in patients with DGF, regardless of the immunosuppressive regimen and that HLA matching exerts a significant role in the incidence of acute rejection during DGF.

## Introduction

Improvements in immunosuppressive therapy led to better short and long-term allograft survival after kidney transplantation over the last years<sup>1,2</sup>. In recipients of deceased donor grafts the mean 1-year graft survival is now over 90%<sup>3,4,5</sup>. After the first post-transplant year the most important causes of graft loss are death with a functional kidney, usually from cardiovascular or infectious events and chronic allograft nephropathy (CAN). CAN is usually defined as a progressive decline in glomerular filtration rate (GFR) starting three to six months after kidney transplantation. It is frequently accompanied by proteinuria and hypertension<sup>6</sup>. After the first year post-transplantation, CAN occurs in a rate of 2-4% per year<sup>7</sup>. Pathologically this transplant nephropathy presents interstitial fibrosis, tubular atrophy and a characteristic arteriopathy and is classified according to the Banff working group in types I (mild), II (moderate) and III (severe)<sup>8</sup>. The pathophysiology of CAN is complex, multifactorial and not completely understood. Both immunological and non-immunological factors play a role in the development of CAN<sup>5</sup>. A strong predictor of CAN development is the occurrence of acute rejection episodes, currently reported to occur in between 10 and 20% of the transplant recipients during the first post-transplant year with deleterious effects on graft survival<sup>2,9,10,11</sup>. Calcineurin inhibitors associated nephropathy is also an important, perhaps the most important, cause of CAN<sup>6</sup>. By the other side delayed graft function (DGF) is an important condition in the early post-transplant period. It is usually defined as the need for dialysis during the first week after transplantation and is reported in a variable frequency ranging from 2% to 50%<sup>12,13</sup>. DGF occurrence is related to many factors although ischemic and reperfusion injury seems to be dominant. Ischemia leads to an increased risk of acute rejection and CAN by an up regulation of the major histocompatibility complex (MHC) molecules in the kidney, eliciting a strong immune response either via direct and indirect pathways of recognition of MHC alloantigen molecules on the surface of the graft cells<sup>14</sup>. Besides, during the reperfusion of ischemic tissue a rapid generation of reactive oxygen species occurs, which initiates the peroxidation of cell membranes resulting in apoptosis<sup>15</sup>. Previous studies reported an increased incidence of acute

rejection in patients with DGF, with a strong negative impact on allograft survival<sup>16,17</sup>. In patients with DGF, antibody induction therapy has been suggested and used with a dual objective, prevention of acute rejection and protection of calcineurin inhibitor toxicity by allowing lower doses of cyclosporine or tacrolimus<sup>17,18,19,20,21</sup>. The aim of the present study was to analyze the influence of induction therapy with antibodies on the rate of acute rejection in patients with delayed renal allograft function.

### **Patients and Methods**

Our renal transplant registry was used for a retrospective analysis. We included 218 patients who underwent renal transplantation between 1997 to 2005 and presented delayed graft function (DGF) defined by the need for dialysis in the first week after the transplant surgery and had at least one renal biopsy during the DFG period. By protocol, patients with DGF receive a graft biopsy every 7-10 days until the graft recovers function, unless contra-indicated. Collected data were recipients age, gender and race, previous renal transplant, donor type, time from the surgery to the biopsy, last panel reactive antibodies (PRA) and number of HLA mismatches (A+B+DR). The cohort was divided in three groups according to the initial immunosuppressive regimen: Group 1 (calcineurin inhibitor + antiproliferative + corticosteroid); Group 2 (induction therapy with anti-IL2R ab + calcineurin inhibitor + antiproliferative + corticosteroid); Group 3 (induction therapy with anti T cell antibodies + calcineurin inhibitor + antiproliferative + corticosteroid). Pathology results were reviewed by a trained renal pathologist adopting the Banff 1997 criteria<sup>8</sup>.

### **Statistical Analyses**

The comparisons were made by using one-way analysis of variance (ANOVA) for continuous variables and Chi-Square tests for categoric variables. The impact of recipient's age, gender and race, previous renal transplant, donor type, last panel reactive antibodies (PRA), number of HLA mismatches (A+B+DR) and type of immunosuppression on the occurrence of acute rejection was analyzed

by logistic regression in order to determine the odds ratio for each variable. A P level lower than .05 was required for statistical significance. The relative risk of acute rejection according to the number of HLA mismatches was also calculated.

## Results

The demographic features are shown in table 1. The groups had similar gender and race distributions and more allografts from deceased donors ( $p=0.001$ ). Group 1 ( $n=130$ ) patients were younger ( $p=0.002$ ), group 2 ( $n=66$ ) patients had a significant lower number of HLA mismatches ( $p=0.028$ ) and the proportion of re-grafts was higher in group 3 ( $n=22$ ) ( $p<0.0001$ ). Group 3 panel reactive antibodies (PRA) were significantly higher than groups 1 and 2 ( $p<0.0001$ ). Eighty-eight recipients had a pathological diagnosis of acute rejection (40.4%). The rates of acute rejection were 39.2%, 39.4% and 50.0% ( $p=0.62$ ) and the time for the diagnosis of the first acute rejection episode were  $20.9\pm 21$ ;  $23.8\pm 28$  and  $26.7\pm 21$  days respectively for groups 1, 2 and 3 ( $p=0.72$ ). (Table 2).

Group 1 patients were divided in 2 subgroups according to the initial immunosuppressive regimen: cyclosporine + azathioprine + corticosteroids ( $n=88$ ) versus cyclosporine or tacrolimus + mycophenolic acid + corticosteroids ( $n=42$ ). The acute rejection rates for the subgroups were 40.9% ( $n=36$ ) and 35.7% ( $n=15$ ) respectively ( $p=0.7$ ). Similar analysis was performed for group 2 patients: anti-IL2R ab + cyclosporine + azathioprine + corticosteroids ( $n=14$ ) versus anti-IL2R ab + cyclosporine or tacrolimus + mycophenolic acid + corticosteroids ( $n=52$ ). The acute rejection rates were 35.7% ( $n=5$ ) and 40.4% ( $n=21$ ) for each group respectively ( $p=0.5$ ). By univariate analysis comparison of patients with ( $n=88$ ) and without ( $n=130$ ) acute rejection we found that the group of patients with rejection was younger ( $39.3\pm 12.6$  vs.  $43.6\pm 11.3$  years-old;  $p=0,01$ ) and had significantly more HLA mismatches ( $3.84\pm 0.86$  vs.  $2.65\pm 0.68$  mismatches;  $p<0.0001$ ). (Table 3). Using a logistic regression analysis model that included age, gender, race, previous kidney transplants, donor type, HLA mismatches, PRA and induction therapy, the two variables that emerged as having a statistically significant impact on the occurrence of acute rejection were previous kidney transplants (OR=5.08;

95%CI: 1.26-20.44; p=0.022) and number of HLA mismatches (OR=8.08; 95%CI: 4.53-14.43; p<0.0001). (Table 4).

The relative risk of acute rejection according to the number of HLA mismatches (A+B+DR) is displayed on table 5. In this cohort the lowest number of HLA mismatches was two and occurred in 61 pairs. In the group with 2 mismatches the incidence of acute rejection was 4.9% and to this group we assigned the relative risk for rejection of one. A stepwise increment in the incidence of acute rejection episodes was observed as the number of HLA mismatches increased. Patients with 3 HLA mismatches showed a RR = 6.88 (95%CI: 2.20-21.51), 4 HLA mismatches a RR = 15.82 (95%CI: 5.18-48.29) and 5 HLA mismatches a RR = 18.78 (95%CI: 6.19-56.95).

## **Discussion**

During the early period after kidney transplantation, the control of the recipient response to antigens expressed in the allograft is key for allowing successful engraftment. It has been repeatedly demonstrated that acute rejection episodes have a detrimental impact on graft's prognosis<sup>2,9,10,11</sup>, and since not all patients have the same immunological risk, the immunosuppressive protocol must be individualized. Traditionally conditions associated with increased risk for acute rejection episodes and immunological failures are: HLA sensitization, acute tubular necrosis, allografts from deceased donors, insufficient immunosuppression, previous kidney transplants, pediatric recipients or double organ recipients<sup>16</sup>. The incidence of acute rejection has been declining over the years and currently the overall rate under antibody induction therapy (anti-interleukin 2 receptor antibody, antithymocyte globulin and alemtuzumab), plus mycophenolic acid, steroids and calcineurin inhibitor (cyclosporine or tacrolimus) reported to be under 15%<sup>16,22,23,24</sup>.

A condition that may affect the initial choice of the immunosuppressive regimen is the anticipated ischemia-reperfusion associated graft damage producing DGF and thus leading to an increased immunological risk and higher incidence of primary nonfunctioning grafts<sup>14</sup>. Here we report an elevated rate of acute rejection (40.4%) in a cohort of transplanted kidney patients with DGF. Our

results are in accordance with data from Qureshi and collaborators who reported an 50% incidence of acute rejection in renal transplanted patients with DGF<sup>25</sup>. A higher incidence of acute rejection in patients with DGF has also been demonstrated in protocol biopsies by Jain and collaborators who reported a 4% rate of subclinical rejection in patients with immediate renal function as compared to 18% of subclinical rejection, Banff classification 1A or higher and a 12% incidence of borderline rejection for patients with DGF<sup>26</sup>. Important to emphasize that in patients with DGF borderline rejections are usually treated, as they were by Jain and collaborators. In the present study, the immunological risks were distinct among the groups, since there were significantly more patients with previous kidney transplants and with a higher PRA in group 3. However, in this group the immunosuppressive regimen was considerably more potent and the incidence of acute rejection was 10.7% higher. Even though this difference is not statistically significant, perhaps due to a type II error, we believe that it is clinically relevant. Taken together, these findings reinforce the importance of the traditional risk factors for rejection and suggest that in higher risk groups, such as group 3 in the present study, the use of potent induction therapy may help to prevent an excessively high rate of acute rejection.

Analysis of groups 1 and 2 brought out interesting information. Group 1 included younger recipients and had a higher number of HLA mismatches, and group 2 had a higher proportion of deceased donor graft recipients. The rates of acute rejection were identical between these two groups. Our analysis for the two subgroups of group 1 (low immunological risk and no induction therapy) and group 2 (low immunological risk and induction therapy with anti-IL2R ab) showed that the rate of acute rejection was the same for recipients receiving cyclosporine + azathioprine + steroids and for those receiving cyclosporine or tacrolimus + mycophenolic acid + steroids, independent of using anti-IL2R ab. According to this, our data reinforce that for low immunological risk DGF recipients, the use of powerful immunosuppressive drugs adds no additional benefit in relation to more conventional medications. Analyzing the time for diagnosis to the first acute rejection episode, in accordance to previous reports<sup>27,28</sup> we observed a non

significant although progressively longer period for groups without induction, induction with anti-IL2R ab and induction with anti T-cell antibodies (Thymoglobulin and OKT3).

Perhaps most interesting is the data obtained by multivariate analysis by which repeated transplants and HLA mismatches emerged as the most relevant risk factors for acute rejection. Patients with a previous kidney transplant displayed a higher risk of acute rejection than first transplant recipients. Thompson and collaborators, studying 2.574 kidney retransplants, proposed that the recipient's pre sensitization has an important association with decreased regraft survival<sup>29</sup>. Also, data from Cardarelli and collaborators reinforce that anti-HLA antibodies are associated with a worse allograft function and in situ evidence of humoral alloreactivity<sup>30</sup>.

The impact of HLA mismatching on the occurrence of acute rejection was evident in our cohort, in which a progressive increase in the number of HLA mismatches positively correlated with an increase in the incidence of acute rejection in a much more striking manner than is observed in patients without DGF<sup>12,16</sup>. This finding suggests that HLA matching is even more important in patients with DGF and should be addressed in larger series.

In summary we confirmed elevated rates of acute rejection in patients with DGF, independent of the immunosuppressive protocol or induction therapy. Young age, previous kidney transplant and number of HLA mismatches lead to an increased risk for the occurrence of acute rejection episodes. We also speculate that induction therapy with antithymocyte or antilymphocyte antibodies do offer a potential benefit for preventing acute rejection in high immunological risk DGF patients. We have not found benefit of using interleukin 2 receptor antibody for preventing acute rejection in low immunological risk DGF patients.

## References

- 1- Bohmig GA, Regele H, Horl H. Protocol biopsies after kidney transplantation. *Transplant Int* 2005; 18: 131.
- 2- Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolckoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002; 346: 580.
- 3- The Canadian Multicentre Transplant Study Group. A randomized trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. *N Engl J Med* 1983; 309: 809.
- 4- Cardarelli F, Saidman S, Theruvath T, et al. The problem of late allograft loss in kidney transplantation. *Minerva Urol Nefrol* 2003; 55: 1.
- 5- Afzali B, Taylor A, Goldsmith DJA. What we CAN do about chronic allograft nephropathy: Role of immunosuppressive modulations. *Kidney Int* 2005; 68: 2429.
- 6- Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, et al. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349: 2326.
- 7- Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, et al. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 2000; 342: 605.
- 8- Racusen LC, Solez K, Colvin RB. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55: 713.

- 9- Kahan BD, Rajagopalan PR, Hall M, et al. Reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with basiliximab, a chimeric anti interleukin 2 receptor monoclonal antibody. *Transplantation* 1999; 67: 276.
- 10-Vincent F, Kirkman R, Light S, et al. Interleukin 2 receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. *N Engl J Med* 1998; 338: 161.
- 11-Mourad G, Rostaing L, Legendra C, et al. Sequential protocols using basiliximab versus antithymocyte globulin in renal transplant patients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation* 2004; 78: 584.
- 12-Ojo AO, Wolfe RA, Held P, Port FK, Schmouder RL. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation* 1997; 63: 968.
- 13-Gjertson DW. Impact of delayed graft function and acute rejection on kidney graft survival. In: Cecka JM, Terasaki PI, eds. *Clinical Transplants*. Los Angeles: The Regents of the University of California 2000: 467.
- 14-Perico N, Cattaneo D, Sayegh M, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet* 2004; 364: 1814.
- 15-Castaneda PM, Swiatecka-Urban A, Mitsnefers MM. Activation of mitochondrial apoptotic pathways in human, renal allografts after ischemia-reperfusion injury. *Transplantation* 2003; 76: 50.
- 16-Nair MP, Nampoory MRN, Said T, Halim MA, Mansour M, Johny KV, et al. Early acute rejection episodes in renal transplantation in relation to

- immunosuppression protocols: an audit of 100 cases. *Transplant Proc* 2005; 37: 3029.
- 17-Troncoso P, Ortiz AM, Jara A. Induction immunosuppressive therapy stratified according to risk categories in renal transplantation. *Transplant Proc* 2003; 35: 2495.
- 18-Lebranchu Y, Bridoux F, Buchler M. Immunoprophylaxis with basiliximab compared with antithymocyte globulin in renal transplant patients receiving MMF-containing triple therapy. *Am J Transplant* 2002; 2: 48.
- 19-Martins L, Fonseca I, Almeida M, Henriques AC, Dias L, Sarmento AM, Cabrita A. Immunosuppression with antithymocyte globulin in renal transplantation: better long-term graft survival. *Transplant Proc* 2005; 37 (6): 2755.
- 20-Haririan A, Morawski K, Sillix DH, El-Amm JM, Garnick J, West MS, Granger DK, Migdal SD, Gruber SA. Induction therapy with basiliximab versus Thymoglobulin in African-American kidney transplant recipients. *Transplantation* 2005; 79 (6): 716.
- 21-Shaffer D, Langone A, Nylander WA, Goral S, Kizilisik AT, Helderan JH. A pilot protocol of a calcineurin-inhibitor free regimen for kidney transplant recipients of marginal donor kidneys or with delayed graft function. *Clin Transplant* 2003; 17 (9): 31.
- 22-Bloom DD, Hu H, Fechner JH, Knechtle SJ. T-lymphocyte alloresponses of Campath-1H-treated kidney transplant patients. *Transplantation* 2006; 81 (1): 81.

- 23-Ciancio G, Burke GW, Gaynor JJ, Mattiazzi A, Roohipour R, Carreno MR, Roth D, Ruiz P, Kupin W, Rosen A, Esquenazi V, Tzakis AG, Miller J. The use of Campath-1H as induction therapy in renal transplantation: preliminary results. *Transplantation* 2004; 78 (3): 426.
- 24-Hardinger, Karen L; Schnitzler, Mark A; Koch, Matthew J.; Labile, Emily; Stirnemann, Paula M.; Miller, Brent; Enkvetchakul, Decha; Brennan, Daniel C. Thymoglobulin Induction Is Safe and Effective in Live-Donor Renal Transplantation: A Single Center Experience. *Transplantation* 2006; 81(9):1285.
- 25-Qureshi F, Rabb H, Kasiske BL. Silent acute rejection during prolonged delayed graft function reduces kidney allograft survival. *Transplantation* 2002; 74: 1400.
- 26-Jain S, Curwood V, White SA, Furness PN, Nicholson ML. Sub-clinical acute rejection detected using protocol biopsies in patients with delayed graft function. *Transplant Int* 2000; 13: S52.
- 27-Miura M, Harada H, Fukuzawa N, Iwami D, Taniguchi A, Seki T, Togashi M, Ogawa Y, Satoh H, Hirano T. Quadruple immunosuppression with basiliximab, tacrolimus, mycophenolate mofetil and prednisone is safe and effective for renal transplantation. *Clin Transplant* 2005; 19 (14): 54.
- 28-Ciancio G, Burke G, Gaynor J, Carreno M, Cirocco R, Mathew J, Mattiazzi A, Cordovilla T, Roth D, Kupin W, Rosen A. A randomized trial of three renal transplant induction antibodies: Early comparison of Tacrolimus, Mycophenolate Mofetil, and Steroid dosing, and Newer Immune-Monitoring. *Transplantation* 2005; 80 (4): 457.

29-Thompson J, Thacker L, Krishnan G. Human leukocyte antigens DR and AB and kidney retransplantation. *Transplantation* 2003; 75 (5): 718.

30-Cardarelli F, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Delmonico FL, Wong W, Schoenfeld DA, Zhang H, Cosimi AB, Saidman SL. Prevalence and significance of anti-HLA and donor-specific antibodies long-term after renal transplantation. *Transplant Int* 2005; 18 (5): 532.

Table 1. Comparison of the demographic features among groups.

	Group 1 (N = 130)	Group 2 (N = 66)	Group 3 (N = 22)	P
Gender ( M / F )	74 / 56	36 / 30	14 / 08	0.7
Age (years)	39.5±12.2 *	45.7±11.7	44.4±8.9	0.002*
Race ratio (C/NC)	104 / 26	52 / 14	17 / 5	0.9
Deceased donor (%)	107 (82.3%) **	65 (98.4%) **	22 (100%)**	0.001**
Re-transplants (%)	13 (10%)	3 (4.5%)	12 (54.5%) ***	0.0001***
HLA mismatches	3.25±0.97	2.88±0.87 ****	3.23±1.02	0.028****

M=male; F=female; C = caucasian; NC = not caucasian; HLA= Major Histocompatibility Complex; \* group 1 X 2 and group 1 x 3;

\*\* deceased X live donor ; \*\*\* group 3 X 1 and group 3 X 2;

\*\*\*\* = group 2 X 1 and group 2 X 3.

Table 2. Incidence of acute rejection, time for acute rejection diagnosis and PRA.

	Group 1	Group 2	Group 3	P
AR rate	51 (39.2%)	26 (39.4%)	11 (50.0%)	0.624
Time to AR (days)	20.9±21	23.8±28	26.7±21	0.721
PRA <30%	122	64	0*	<0.0001*
PRA 30-60%	8	2	4	0.5
PRA >60%	0	0	18**	<0.0001**
N	130	66	22	

AR = acute rejection;

PRA= panel reactive antibodies;

\* group 3 X 1 and group 3 X 2;

\*\* group 3 X 1 and group 3 X 2.

Table 3. Demographic features of patients with and without acute rejection

	<i>Acute Rejection</i>	<i>No Acute Rejection</i>	<i>P</i>
Gender ratio (M/F)	50 / 38	74 / 56	0.99
Age	39.3±12.6	43.6±11.3	0.01
Race ratio (C/NC)	69 / 19	104 / 26	0.77
Re-transplant	9	19	0.34
Deceased donor	77	117	0.56
Induction therapy	37	51	0.68
HLA mismatches	3.84±0.86	2.65±0.68	<0.0001

M=male; F=female; C = caucasian; NC = not Caucasian;

HLA= Major Histocompatibility Complex;

PRA= panel reactive antibodies.

Table 4. Risk factors for acute rejection

	Odds Ratio	95%CI	P
Age	0.99	0.96-1.02	0.532
Sex	0.78	0.38-1.62	0.509
Race	1.23	0.63-2.42	0.538
Re-transplant	5.08	1.26-20.44	0.022
Deceased donor	1.11	0.31-3.92	0.870
HLA mismatches	8.08	4.53-14.43	<0.0001
Induction therapy	2.21	0.97-5.06	0.060
PRA	1.38	0.66-2.91	0.394

HLA= Major Histocompatibility Complex ; PRA= panel reactive antibodies;

95%CI = 95% confidence interval

Table 5. Relative risk of acute rejection according to the number of HLA mismatches.

HLA mismatches	N	AR	RR	95%CI
2	61	4.9%	1	-
3	92	33.7%	6.88	2.20-21.51
4	40	77.5%	15.82	5.18-48.29
5	25	82.0%	18.78	6.19-56.95

RR = Relative Risk; N = number of patients; AR = Acute Rejection;

95%CI = 95% confidence interval