

# **Transplante Renal – Os Novos Imunossupressores**

## **Artigo de Revisão**

Sara Beatriz Vasconcelos Teixeira

6.º Ano do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Trabalho Realizado Sob A Orientação De:

Professor Doutor Rui Manuel Baptista Alves

[saratxr@hotmail.com](mailto:saratxr@hotmail.com)

Nota: O presente trabalho final do 6.º ano médico não foi escrito de acordo com o Novo Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa.

## Índice

Resumo .....	2
<i>Abstract</i> .....	4
1. Introdução .....	6
1.1. Mecanismos da Resposta Imunológica .....	7
1.2. Rejeição do Enxerto .....	13
2. Imunossupressão .....	16
2.1. Imunossupressores de Indução .....	17
2.2. Imunossupressores de Manutenção .....	22
2.3. Esquemas de Imunossupressão do Serviço de Transplante Renal dos HUC .....	33
3. Novos Imunossupressores .....	35
3.1. Agentes Biológicos .....	37
3.2. Agentes Orgânicos .....	41
3.3. Outros Agentes .....	45
4. Conclusão .....	48
5. Referências .....	51

## Resumo

O transplante renal é o tratamento de eleição para a doença renal crónica, cujas causas mais comuns são a diabetes mellitus tipo 2, a nefrosclerose hipertensiva e a glomerulonefrite. As primeiras experiências de transplantação de órgãos sólidos no ser humano foram realizadas durante a primeira década do século XX. Contudo, o avanço capital, que viabilizou o transplante renal entre indivíduos não aparentados, foi o desenvolvimento de imunossuppressores para controlar e/ ou prevenir a rejeição do enxerto.

O presente trabalho final do 6.º ano médico visa uma revisão dos imunossuppressores disponíveis, concentrando-se no seu mecanismo de acção e nas suas reacções adversas e, numa segunda perspectiva, os novos imunossuppressores em desenvolvimento e em investigação.

Os primeiros imunossuppressores foram desenvolvidos a partir dos anos 50, com o uso dos corticosteróides, a pedra angular da imunossupressão, associados a azatioprina e/ ou globulina anti-linfocítica. Os avanços na investigação nesta área, nomeadamente na compreensão dos mecanismos de activação das células T, permitiram o desenvolvimento de imunossuppressores mais potentes e mais selectivos que actuam na cascata de activação das células T, responsáveis pela rejeição do enxerto. A descoberta da ciclosporina nos anos 80 constituiu um marco fundamental ao permitir o aumento significativo da sobrevivência do enxerto. A partir da década de 90, outros agentes biológicos (ex. anticorpos monoclonais) e químicos (ex. micofenolato de mofetil e tacrolimus) foram comercializados. Esta variedade de imunossuppressores aumentou o arsenal terapêutico para profilaxia e tratamento da rejeição aguda e mesmo da crónica.

A grande questão em debate consiste em descobrir a imunossupressão ideal, que consiste na prevenção eficaz da rejeição aguda e crónica, com maximização da sobrevida do

doente e do enxerto, a par da redução da nefrotoxicidade, da toxicidade específica e da incidência de infecções e de neoplasias. Assim, novas moléculas estão em desenvolvimento e em investigação. De entre os novos imunossupressores, destacam-se os agentes biológicos: *belatacept* e *alefacept*, os agentes orgânicos: *ISA247*, *AEB071* e *CP-690,550*, e outros agentes como o *bortezomib* e o *eculizumab*.

O futuro da terapêutica imunossupressora consiste no desenvolvimento de uma abordagem antígeno-específico, cuja meta-final é a tolerância imunológica do hospedeiro, ou seja, a prevenção específica e segura da rejeição do enxerto, a par da preservação da imunocompetência e da integridade do sistema imunológico.

**Palavras chave:**

- transplante renal
- imunossupressão
- resposta imunológica
- reação de rejeição
- enxerto

## ***Abstract***

Renal transplantation is the treatment of choice for end-stage renal disease, whose most common causes are insulin-dependent diabetes, hypertensive nephrosclerosis and glomerulonephritis. The earliest attempts at organ transplantation in humans were made during the first decade of the 20th century. However, the crucial advance that made clinical organ transplantation feasible between unrelated individuals was the development of immunosuppressive drugs to prevent or control rejection.

This work seeks a review of the available immunosuppressive drugs, focusing on their mechanism of action and adverse reactions and, on a second perspective, the new immunosuppressive drugs under development and investigation.

The initial immunosuppressive drugs were developed from the 50's, with the use of corticosteroid, the cornerstone of immunosuppression, associated with azathioprine and/ or anti-lymphocyte globulin. Advances in this area, particularly in understanding the mechanisms of T cell activation, enabled the development of more potent and more selective immunosuppressive drugs acting in the cascade of T cells activation, responsible for rejection. The discovery of cyclosporine in 80's was a milestone permitting the significant increase of the allograft's survival. From the 90's, other biological (eg, monoclonal antibodies) and chemical agents (eg, mycophenolate mofetil and tacrolimus) were traded. This variety of immunosuppressants increased the therapeutic armamentarium for prophylaxis and treatment of acute and even chronic rejection.

The great question is finding the ideal immunosuppression, which is effective in the prevention of acute and chronic rejection, maximizing patient and graft survival, coupled with the reduction of nephrotoxicity, specific toxicity and incidence of infections and malignancies. Thus, new agents are under development and investigation. Among the new

immunosuppressants, we highlight the biological agents: *belatacept* and *alefacept*, the organic agents: *ISA247*, *AEB071* and *CP-690,550*, and other agents such as *bortezomib* and *eculizumab*.

Future progress in immunosuppressive therapy concerns the successful implementation of an antigen-specific approach in which the goal is to induce immunologic tolerance in the host, ie, safe and specific prevention of allograft rejection, while preserving immune competence of the host and integrity of the immune system.

**Keywords:**

- renal transplantation
- immunosuppression
- immune response
- rejection reaction
- allograft

## **1. Introdução**

O transplante renal é o tratamento de escolha para a doença renal crónica terminal, cujas três causas mais comuns são a diabetes mellitus tipo 2, a nefrosclerose hipertensiva e a glomerulonefrite.

As primeiras experiências de transplantação de órgãos sólidos no ser humano foram realizadas durante o início do século XX. Alexis Carrel descreveu uma técnica para as anastomoses vasculares, que solucionou os problemas cirúrgicos do transplante renal. Contudo, o avanço capital, que viabilizou o transplante renal entre indivíduos não aparentados, foi o desenvolvimento de imunossuppressores para controlar e/ ou prevenir a rejeição do enxerto. A associação entre a Azatioprina e a Prednisona, introduzida em 1962, foi o primeiro esquema de imunossupressão eficaz e seguro. É, ainda hoje, usado em alguns doentes. A introdução da Ciclosporina em 1978, um imunossupressor específico e não miotóxico, aumentou dramaticamente as taxas de sucesso do transplante renal.

Os avanços contínuos no controlo e na prevenção da rejeição do enxerto tanto a nível celular como a nível molecular são devidos à maior e à melhor compreensão da complexidade do sistema imunológico e dos eventos que constituem o processo de rejeição. Os resultados do transplante renal variam com a história clínica do doente (receptor) e com o tipo de enxerto (dador cadáver ou vivo), por isso, a escolha do esquema de imunossupressão depende da compreensão da inter-relação entre o hospedeiro e o enxerto, dispondo-se de um arsenal de imunossuppressores capaz de intervir em vários mecanismos da resposta imunológica.

### **1.1. Mecanismos da Resposta Imunológica**

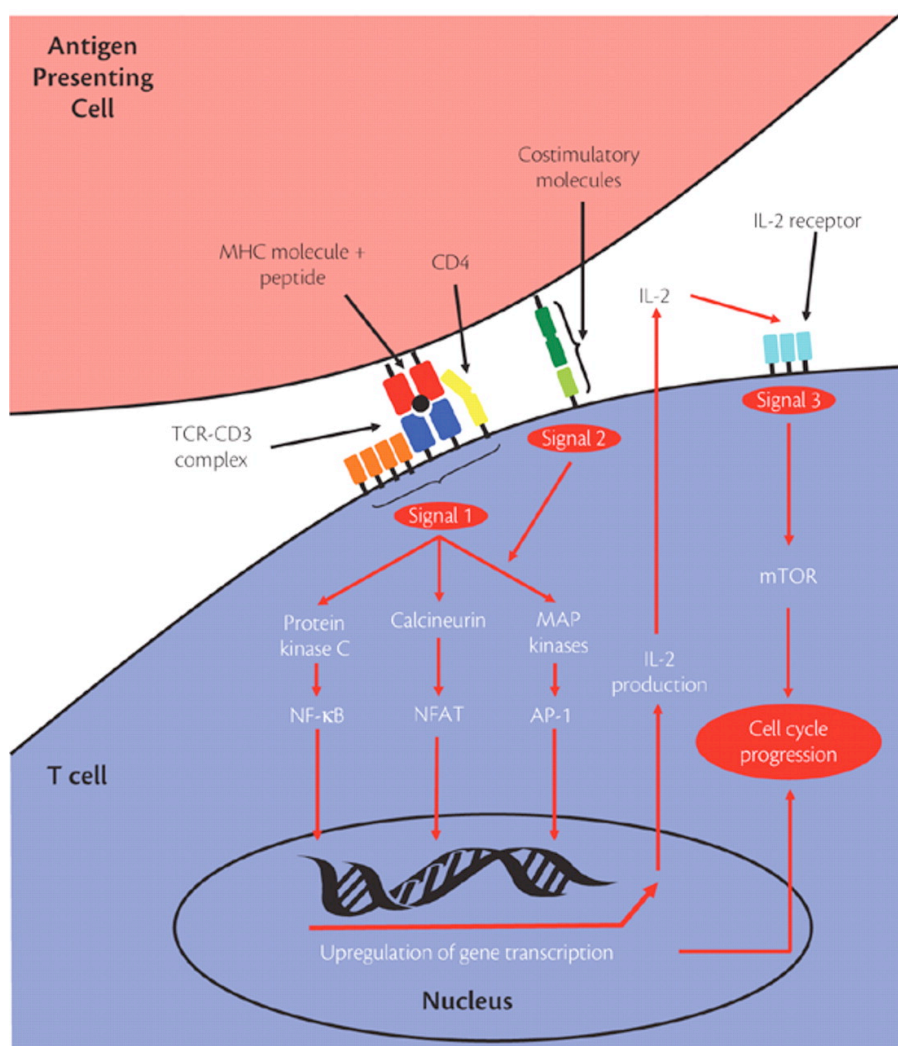
Os linfócitos apresentam um papel central na resposta imunológica e medeiam a sua especificidade. A reacção de rejeição começa quando os linfócitos do hospedeiro reconhecem os antígenos estranhos nas células do enxerto, apresentados directamente aos linfócitos do hospedeiro pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), nomeadamente as células dendríticas e os macrófagos, que fagocitam e, depois, apresentam o epítipo na sua superfície. Independentemente da APC, a capacidade para diferenciar o *self* do *nonself* é dos linfócitos, que podem reconhecer apenas um ou alguns antígenos semelhantes. A variação de possíveis combinações antigénicas é acompanhada por uma variedade de clones ou grupos de linfócitos agrupados contra elas.

Pensa-se que os clones ou os grupos competentes de linfócitos pequenos em repouso aguardam a estimulação imunológica pelos antígenos estranhos nas células do enxerto. Entre a ampla variedade de antígenos que podem ser reconhecidos, estão os antígenos codificados pelo complexo major de histocompatibilidade (MHC). A estimulação de um linfócito pequeno em repouso pelo antígeno, para o qual é específico, causa a sua transformação numa célula activa e grande que segrega mediadores químicos chamados citocinas. Estas são glicoproteínas ou proteínas solúveis, que são eficazes a curtas distâncias e que, por sua vez, activam outras células e amplificam a resposta imunológica.

### **Activação dos Linfócitos T**

A activação dos linfócitos T consiste numa complexa série de eventos celulares e subcelulares (Figura 1) e são necessários dois sinais: um sinal antígeno-específico (Sinal 1) e um sinal co-estimulador (Sinal 2).





**Figura 1.** Ativação das linfócitos T (Adaptado a partir de Warrel DA, et al: Oxford Textbook of Medicine Online)

O reconhecimento dos antígenos pelas células T é o estímulo inicial para a sua ativação, proliferação, produção de citocinas e desempenho de funções efetoras citolíticas e reguladoras. O receptor das células T (TCR) é um heterodímero composto por duas cadeias polipeptídicas transmembranares designadas  $\alpha$  e  $\beta$ , associadas covalentemente e expressas apenas nos linfócitos T. Todos os TCRs têm uma região variável que confere especificidade antígenoica. O  $\alpha\beta$ -TCR está associado não-covalentemente com a molécula CD3, constituindo o complexo TCR. Este complexo de proteínas altamente conservado é responsável pelos componentes de sinalização da ligação do antígeno ao heterodímero TCR. Este não

reconhece antígenos solúveis; pelo contrário, reconhece os antígenos no contexto dos complexos MHC/ peptídeo na superfície celular das APCs. A ligação de um antígeno estranho resulta na alteração da conformação do complexo e as moléculas CD3 associadas não-covalentemente transferem os sinais intracelulares.

Ambas as moléculas MHC (classe I e classe II) e  $\alpha\beta$ -TCR são expressos nas células T em repouso; contudo, o receptor da interleucina 2 (IL-2R) é expresso em níveis muito baixos. Aquando da activação das células T, há uma diminuição do número dos TCRs expressos nas células T, acompanhado por um aumento do número dos IL-2R. As células T activadas produzem e segregam IL-2, exercendo uma resposta autócrina e parácrina. Apenas as células T activadas pelo antígeno específico e que expressam IL-2R de alta afinidade respondem a IL-2. Após a ligação da IL-2 ao IL-2R, inicia-se a proliferação das células T e após a remoção do estímulo antigénico, o número de IL-2R na superfície celular começa a diminuir e o complexo TCR é re-expresso na superfície celular. Esta relação inversa entre o TCR e o IL-2R sugere um mecanismo de *feedback* negativo.

A sinalização molecular através do complexo TCR/CD3 e a sua relação com a expressão de IL-2R e a produção de IL-2 foram caracterizadas. A ligação do antígeno ao complexo inicia a activação de duas vias de transdução do sinal através de uma alteração da conformação do complexo TCR (Sinal 1). A cadeia  $\beta$  do complexo é fosforilada através da via tirosina cinase associada a CD4 ou CD8. O complexo TCR activado é acoplado, através de uma proteína G de ligação, à fosfolipase C. A activação da fosfolipase C resulta na hidrólise do fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PIP<sub>2</sub>) para produzir diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>). Estes são os segundos mensageiros responsáveis pela mobilização de Ca<sup>2+</sup> extracelular e intracelular que activa a proteína cinase C. O resultado destas alterações é a transcrição dos genes de activação precoce (*NFAT* e *c-fos*) e a produção de ARN mensageiro (ARNm) para a IL-2 e os seus receptores.

As vias de co-estimulação presentes nas moléculas de superfície das APCs fornecem o segundo sinal para a activação das células T (Sinal 2). Na presença do Sinal 1, sem o Sinal 2, por bloqueio ou inibição das vias de co-estimulação, a célula T fica anérgica ou funcionalmente inactiva. As moléculas de co-estimulação na superfície das células T interagem especialmente com moléculas na superfície das APCs. A mais bem caracterizada e importante via de co-estimulação envolve a molécula de superfície CD28 das células T. Esta molécula liga-se ao CD80 (B7-1) e ao CD86 (B7-2) nas APCs, nomeadamente nas células dendríticas, nos monócitos e nas células B, e a sinalização através do CD28 aumenta a resposta das células T aos antígenos. Para equilibrar o aumento da resposta há outra molécula de superfície das células T – CD152 (CTLA-4) – que inibe a activação das células T. O CD28 é constitutivamente expresso em todas as células T CD4<sup>+</sup> e em cerca de 50% das células T CD8<sup>+</sup> e é estimulado após a recepção do Sinal 1. Em contraste, o CD152 não é expresso nas células T em repouso, mas é estimulado após a activação das células T, alcançando as concentrações mais altas 48 horas após a estimulação. O mecanismo postulado para a função inibitória do CD152 é através da anulação da actividade tirosina cinase necessária para a sinalização dos TCRs.

O mecanismo proposto para a função do CD28 na activação das células T consiste na expressão da IL-2 das células T mediada por CD28. Esta expressão é aumentada ao nível da produção do ARNm, resultando no aumento da produção da IL-2. Outro mecanismo é a protecção das células T da apoptose ou morte celular programada, uma vez que o CD28 está associado com o aumento da expressão da Bcl-x<sub>L</sub>, uma proteína de sobrevivência, cuja expressão resulta na resistência das células T à morte celular por apoptose.

Intimamente relacionada com a via CD28/CD152/CD80/CD86 é a via CD40/CD154 (também conhecida como ligando CD40). O CD40 é uma molécula de superfície constitutivamente expressa nas células B. Após o reconhecimento do antígeno pelas células

B, há a estimulação de CD80 (B7-1) e de CD86 (B7-2), que interagem com o CD28 das células T, causando um aumento da expressão do CD154 pelas células T activadas, o qual se liga ao receptor CD40 nas células B. Esta interacção de CD40/CD154 oferece o estímulo para as células B continuarem a activação e a proliferação das células T.

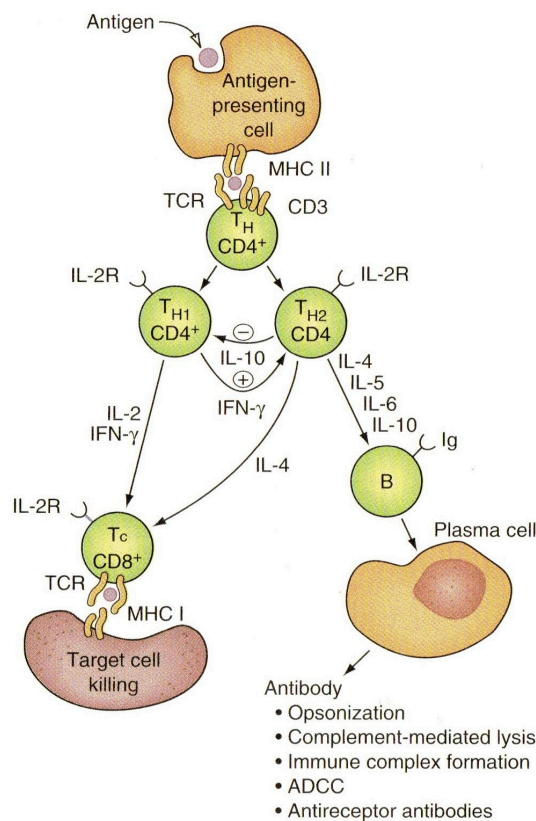
### **Funções Efectoras das Células T**

Durante a maturação no timo, as células T adquirem, além do complexo TCR, receptores de diferenciação chamados *cluster* de antígenios de diferenciação (CD), de entre os quais, os marcadores CD4 e CD8 são os mais bem caracterizados.

As subpopulações de células T apresentam actividades funcionais diferentes. As células T CD8<sup>+</sup> reconhecem o antígeno no contexto dos complexos MHC classe I/ peptídeo e, após a activação, lisam directamente as células estranhas ou tumorais. Estas células T CD8<sup>+</sup> activadas são linfócitos T citotóxicos (CTLs). Em contraste, as células T CD4<sup>+</sup> reconhecem o antígeno no contexto das moléculas MHC classe II. As células T CD4<sup>+</sup> activadas são linfócitos T helper (T<sub>H</sub>) e actuam principalmente através da secreção de citocinas para induzir ou uma resposta celular (T<sub>H</sub>1) ou uma resposta humoral (T<sub>H</sub>2).

O reconhecimento de células estranhas é um processo complexo. As células iniciais não danificam o enxerto, mas activam outro grupo de células T, as células T citotóxicas, que, por sua vez, destroem o enxerto. O primeiro grupo de células T são as células T<sub>H</sub> CD4<sup>+</sup>.

As células T<sub>H</sub> CD4<sup>+</sup> desempenham um papel central na resposta aos antígenos estranhos (Figura 2).



**Figura 2.** As células T helper ( $CD4^+$ ) podem ser divididas em duas populações funcionalmente distintas ( $T_{H1}$  e  $T_{H2}$ ) baseado no seu padrão de secreção de citocinas. ADCC, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. (Adaptado a partir de Townsend CM, et al: Sabiston Textbook of Surgery, 17th edition. Philadelphia, WB Saunders, 2004.)

Após a apresentação do antígeno pelas moléculas MHC classe II na superfície celular de uma APC, observa-se a proliferação das células  $T_H CD4^+$ . As duas populações funcionalmente distintas de  $T_H$  ( $T_{H1}$  e  $T_{H2}$ ) foram caracterizadas com base no seu padrão de secreção de citocinas. Nas respostas  $T_{H1}$ , as principais citocinas são IL-2 e interferão gama ( $INF-\gamma$ ). A IL-2 é um potente factor de crescimento das células T e aumenta a diferenciação das células B e das células *natural killer* (NK). O  $INF-\gamma$  activa os macrófagos e está envolvido na alteração do isotipo das células B. Estas respostas são importantes para a imunidade mediada por células e a resposta  $T_{H1}$  é equilibrada pela resposta  $T_{H2}$ , que resulta na produção de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. A IL-4 é uma citocina de polarização  $T_{H2}$  e é necessária para a

produção de imunoglobulina E. Além disso, a IL-4 é um factor de crescimento das células T, e estimula a expressão das moléculas de adesão e de MHC classe II.

Uma característica importante das células  $T_H CD4^+$  é a regulação cruzada da função entre as células  $T_H1$  e  $T_H2$ . Assim,  $INF-\gamma$  estimula directamente a proliferação das células  $T_H2$ , enquanto que IL-10 (e IL-4) inibe a produção de citocinas pelas células  $T_H1$ . Postula-se que a diferenciação das células T  $CD4^+$  imaturas está directamente relacionada com as células vizinhas e as suas citocinas.

As células T reguladoras ( $T_{REG}$ ) têm recebido uma grande atenção recente e podem ser a promessa para estratégias para tolerância imunológica. As células  $T_{REG}$  são definidas pela sua função: supressão da aloreactividade *in vitro* (um estado revertido pela IL-2 exógena) e regulação da proliferação de outras populações de células T através da IL-10. Inicialmente, são dependentes do contacto celular, mas na maturação tornam-se independentes do contacto celular para amplificar a resposta. O subconjunto mais importante de células  $T_{REG}$  é  $CD4^+/CD25^+$ .

## 1.2. Rejeição do Enxerto

A rejeição do enxerto requer a participação de várias combinações de células imunologicamente específicas e inespecíficas. De acordo com as características clínicas, há três tipos de rejeição do enxerto:

- Rejeição Hiperaguda – ocorre dentro de minutos a dias após o transplante e é mediada principalmente por anticorpos pré-formados. Este tipo de rejeição é prevenido pelo *screening* para detecção de anticorpos pré-formados no receptor, mas não pelos imunossuppressores.

- Rejeição Aguda – é mediada principalmente pelos linfócitos T e pode ocorrer entre uma e três semanas após o transplante sem terapêutica imunossupressora. Os episódios de rejeição aguda são mais comuns entre três e seis meses após o transplante, mas podem ocorrer a qualquer momento. A rejeição aguda pode destruir rapidamente o enxerto, na ausência de tratamento, e o uso dos imunossupressores diminuiu a sua incidência.
- Rejeição Crónica – ocorre após meses ou anos e é a causa mais comum de perda do enxerto a partir de um ano. Do ponto de vista imunológico, é mediada por ambos os linfócitos T e B.

Do ponto de vista fisiopatológico, considera-se que a rejeição aguda pode ter dois componentes: vascular e celular. A rejeição aguda vascular, que pode ter um mecanismo humoral ou celular, é a forma mais grave, com maior risco de complicações a curto e a longo prazo para o enxerto.

No estabelecimento da rejeição aguda vascular, a resposta é mediada por anticorpos IgG contra os antígenos endoteliais do enxerto e envolve a activação do complemento. As células T podem contribuir para o episódio da rejeição aguda vascular em consequência da resposta daquelas células aos antígenos estranhos. Esta resposta conduz à lise directa das células endoteliais ou à produção de citocinas que amplificam a resposta através da activação e quimiotaxia de mais células inflamatórias. O resultado final é a necrose endotelial e este processo ocorre durante a primeira semana após o transplante do enxerto na ausência de imunossupressão.

No estabelecimento da rejeição aguda celular, há necrose das células parenquimatosas causada pela infiltração de células T e macrófagos. O mecanismo não é completamente conhecido, mas pensa-se que os linfócitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> reconhecem e lisam as células

estranhas. Para apoiar este mecanismo, o infiltrado celular presente na rejeição aguda é rico em linfócitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup>.

O mecanismo da rejeição crónica é menos conhecido, mas pensa-se que a inflamação e a isquémia, entre outros processos, desempenham um papel. A rejeição crónica do enxerto renal apresenta-se como glomerulopatia e fibrose e os factores de risco incluem: episódios de rejeição aguda prévios, com aumento da gravidade e do número dos episódios; imunossupressão inadequada, incluindo ausência de *compliance*; função inicial do enxerto retardada; factores relacionados com o dador, como a idade e a hipertensão; factores relacionados com o receptor, como a diabetes, a hipertensão e as infecções pós-transplante; e factores relacionados com a recuperação do enxerto, incluindo as lesões de preservação e de isquémia. Os episódios de rejeição aguda são um factor de risco importante e significativo para o desenvolvimento de rejeição crónica e são passíveis de controlo e prevenção com os imunossupressores e, assim, diminuição da incidência de rejeição crónica.

A descrição abreviada do desenvolvimento da imunidade do enxerto abre portas para alvos da resposta imunológica que podem ser manipulados pelos imunossupressores.



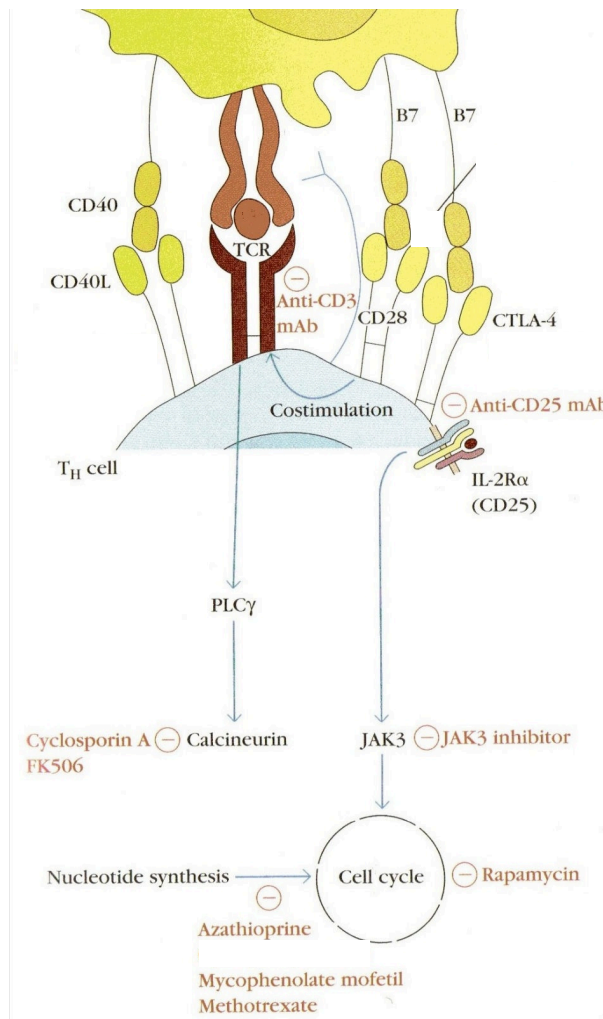
## 2. Imunossupressão

O objectivo principal do tratamento na transplantação é desenvolver uma estratégia que permita ao receptor manter o órgão transplantado num estado de tolerância imunológica. Até esse dia chegar, a prática clínica está dependente da nossa capacidade de inibir ou interromper a resposta imunológica do hospedeiro através de fármacos que, contudo, não são específicos na sua actuação. É, portanto, um desafio constante a administração de imunossupressores em doses adequadas, que ao prevenirem a rejeição do enxerto, não aumentem o risco de infecções e de neoplasias. Além disso, os imunossupressores têm um mecanismo de acção único e toxicidade específica.

Os imunossupressores podem ser usados em uma de três maneiras:

- Dose alta ou terapêutica de indução para prevenir a resposta imunológica primária imediatamente após o transplante;
- Dose baixa ou terapêutica de manutenção após a estabilização da função do enxerto;
- Dose alta adicional para tratar a rejeição aguda.

Assim, os imunossupressores estão divididos naturalmente em dois grupos: os usados na terapêutica de indução e os usados na terapêutica de manutenção.



**Figura 3.** Locais onde actuam os vários imunossuppressores usados na prática clínica. (Adaptado a partir de Kindt TJ, et al: Kuby IMMUNOLOGY, 6th edition. New York, W. H. Freeman and Company, 2007.)

## 2.1. Imunossuppressores de Indução

Em contraste com a última década, o grupo dos imunossuppressores usados na terapêutica de indução inclui principalmente várias preparações de anticorpos: anticorpos policlonais – globulina anti-linfocítica (ALG) e timoglobulina (ATG), anticorpos monoclonais – OKT3, anti-CD25, anti-CD20 e anti-CD52, e imunoglobulina intravenosa – IVIG. Estes imunossuppressores, especialmente a ALG e o OKT3, actuam através da depleção ou inactivação não selectiva dos linfócitos, causando uma imunossupressão

profunda e, conseqüentemente, um aumento do risco de infecções oportunistas ou de doenças malignas. Devido a estes riscos, o uso de ALG e de OKT3 está limitado a três semanas.

### **2.1.1. Globulina Anti-Linfocítica e Timoglobulina**

As globulinas anti-linfocíticas são soros policlonais produzidos aquando da injeção de linfócitos humanos em animais de diferentes espécies. O mecanismo de acção da ALG consiste na diminuição das células T circulantes e, conseqüentemente, a administração de ALG interfere com as reacções mediadas por células: reacção do enxerto contra o hospedeiro, rejeição do enxerto e prova tuberculínica. Os linfócitos revestidos por ALG são destruídos ou eliminados do sangue periférico pelas células do retículo-endotelial do baço e do fígado. Devido aos seus efeitos imunossupressores potentes e profundos, o uso dos anticorpos policlonais está limitado a esquemas curtos de 3 a 10 dias, mas a sua depleção pode persistir durante 6 a 12 meses.

A ALG pode ser administrada para prevenção da rejeição do enxerto no período pós-transplante precoce ou para reversão da reacção de rejeição em curso, mesmo as resistentes a altas doses de corticosteróides.

A toxicidade de qualquer preparado sérico heterogéneo contra os tecidos humanos depende de dois factores: da reactividade cruzada com outros antigénios e da capacidade do doente produzir anticorpos contra as proteínas estranhas. A ALG apresenta uma janela terapêutica estreita e doses elevadas ou prolongadas causam, muitas vezes, anemia, leucopenia e trombocitopenia, devido a reacções cruzadas entre a ALG e os elementos figurados do hospedeiro, e infecções, especialmente de origem viral. As reacções alérgicas são o problema clínico mais comum associado com o uso da ALG, nomeadamente urticária, reacções anafilactóides e doença do soro (incluindo artralgia, febre e mal-estar), devido ao

desenvolvimento de imunidade contra a globulina heterogénea. Estas reacções podem ser minimizadas pelo pré-tratamento com corticosteróides e anti-histamínicos.

Actualmente, há duas globulinas anti-linfocíticas disponíveis: a de cavalo e a de coelho, que apresenta maior eficácia na prevenção e na reversão dos episódios de rejeição aguda pós-transplante. A timoglobulina – ATG – uma globulina anti-timócitos humanos derivada do coelho, disponível na Europa desde 1985, é o anticorpo policlonal mais comumente usado e é eficaz na prevenção e na reversão da rejeição aguda.

### **2.1.2. Anticorpos Monoclonais**

#### **a) OKT3**

O OKT3 é um anticorpo monoclonal anti-CD3 das células T, usado na reversão dos episódios de rejeição aguda.

O OKT3 liga-se ao complexo TCR e modula o receptor e inactiva as funções das células T, bloqueando não só a função das células T imaturas, mas também as funções das células T citotóxicas e reguladoras envolvidas na reacção de rejeição do enxerto. Após a administração, o OKT3 liga-se às células T e, por conseguinte, o complexo TCR é internalizado e não expresso na superfície celular. Estas células chave são removidas pelas células do retículo-endotelial do baço e do fígado. Assim, o OKT3 causa uma depleção dos linfócitos T no sangue periférico, com depleção mínima das outras populações celulares, como os eritrócitos, as plaquetas e os granulócitos. Depois da interrupção da administração do OKT3, as células CD3<sup>+</sup> rapidamente regressam aos seus níveis normais, devido à re-expressão do complexo TCR na superfície celular.

Os efeitos secundários associados com o OKT3 (especialmente com as doses iniciais) incluem uma síndrome gripal grave que consiste em febre, calafrios, cefaleias, mialgias, náuseas, vômitos, diarreia e, em casos graves, meningite asséptica e edema pulmonar. Estes fenómenos são provavelmente devido à libertação de citocinas, em especial o factor de necrose tumoral, e são designados de síndrome de libertação aguda de citocinas. Felizmente, pode, muitas vezes, ser melhorada pelo pré-tratamento com metilprednisona, acetaminofeno e anti-histamínicos ou, mais recentemente, com o anticorpo contra o factor de necrose tumoral ou o seu receptor. Outra limitação do uso de OKT3 é a imunogenicidade associada com a sua administração prolongada, devido à produção de anticorpos humanos anti-OKT3 circulante, com neutralização do OKT3 e reaparecimento da células CD3<sup>+</sup>. A administração concomitante de azatioprina e de corticosteróides pode atrasar a produção de anticorpos anti-OKT3 e prolongar a sua acção imunossupressora. O uso prolongado do OKT3 aumenta o risco de doença linfoproliferativa pós-transplante (PTLD). Pelos seus inconvenientes, foi substituído pela introdução de anticorpos monoclonais humanizados e/ ou quiméricos, que são melhor tolerados.

#### **b) Inibidor do Receptor da Interleucina-2 (Basiliximab e Daclizumab)**

O IL-2R é um complexo de várias cadeias polipeptídeas transmembranares, das quais três foram caracterizadas:  $-\alpha$  (CD25),  $-\beta$  e  $-\gamma$ . A associação não-covalente dessas cadeias forma um sítio de ligação de alta afinidade para a IL-2. A cadeia  $\alpha$  (IL-2R $\alpha$ ) está presente apenas nas células T activadas e num subconjunto de células B activadas e de APCs. Assim, o tratamento com o anticorpo monoclonal anti-CD25 atinge uma pequena população de células rica em células T activadas pelo antígeno específico. Há dois agentes disponíveis: basiliximab (anticorpo anti-CD25 quimérico) e daclizumab (anticorpo anti-CD25

humanizado), que diminuem a reacção de rejeição através da ligação aos IL-2R, deixando as células sem receptores livres para a IL-2. Ambos são bem tolerados e os estudos demonstraram uma diminuição dos episódios de rejeição aguda, sem aumento concomitante de infecções e de doenças malignas pós-transplante. Nenhum causou a síndrome de libertação aguda de citocinas observada com a administração de OKT3, nem a doença do soro com a de ALG. Nenhum, contudo, oferece imunossupressão adequada por si só para prevenir a reacção de rejeição, porque a proliferação das células T pode ocorrer através dos receptores IL-2  $\beta$  e  $\gamma$  ou de outras vias. Por conseguinte, ambos devem ser usados em conjunto com outros imunossupressores.

#### **c) Anticorpo Monoclonal Anti-CD20 (Rituximab)**

O rituximab é um anticorpo monoclonal anti-CD20 quimérico que elimina a maioria das células B e foi inicialmente aprovado para o tratamento de linfomas de células B não Hodgkin refractários. Curiosamente, foi introduzido na transplantação renal para tratar um tumor similar, PTLN, devido à sua acção deplectora das células B. Também é usado, em alguns centros, para diminuir a produção de anticorpos nos doentes com um painel de anticorpos reactivos alto ou nos protocolos em que exista cross-match positivo.

#### **d) Anticorpo Monoclonal Anti-CD52 (Alemtuzumab ou Campath 1H)**

O alemtuzumab é um anticorpo monoclonal humanizado (IgG1) que interage especialmente com a glicoproteína de superfície celular CD52, que é expressa nas células B, nas células T, nos macrófagos e nos monócitos. Uma vez ligado ao CD52, produz uma depleção profunda e prolongada dos linfócitos (T, B e NK) que pode persistir ao longo de

um ano. O alemtuzumab tem sido usado no tratamento de neoplasias linfóides, esclerose múltipla e artrite reumatoide. Em associação com dose baixa de ciclosporina ou sirolimus, previne a reacção de rejeição do enxerto renal.

Os efeitos secundários do alemtuzumab incluem reacções após a primeira dose, supressão da medula óssea e autoimunidade. As previsões iniciais de que o alemtuzumab induzia uma boa ou quase tolerância imunológica não foram confirmadas, como alguns relatórios sugeriram uma maior incidência do que a esperada de episódios de rejeição aguda, incluindo rejeição mediada por anticorpos, e cardiotoxicidade.

### **2.1.3. Imunoglobulina Intravenosa (IVIG)**

A imunoglobulina intravenosa (IVIG) é constituída por um *pool* de plasma de milhares de doadores seleccionados e deve conter todos os anticorpos encontrados normalmente nos humanos. A IVIG actua através de vários mecanismos para modular o sistema imunológico, incluindo a neutralização dos anticorpos circulantes, regular a produção de citocinas das células T, inibir a proliferação dos linfócitos e regular a apoptose.

A IVIG é usada principalmente nos protocolos em que existe cross-match positivo e incompatibilidade AB0, em associação com a plasmaferese. Adicionalmente, a IVIG tratou com sucesso a rejeição humoral de todos os tipos de órgãos transplantados, incluindo alguns episódios agudos refractários aos corticosteróides e globulinas anti-linfocíticas.

## **2.2. Imunossuppressores de Manutenção**

Uma regra geral na imunossupressão é a de que maior potencial de imunossupressão é sobretudo necessário na fase inicial do transplante. Normalmente, as doses dos

imunossupressores podem ser depois lentamente diminuídas após um intervalo de tempo, contudo, a suspensão total da imunossupressão não é aconselhável a longo prazo, embora possa ser possível em casos particulares e seleccionados. O sustentáculo da transplantação renal é a imunossupressão diária com fármacos orais como a prednisona e a ciclosporina ou o tacrolimus que têm vindo a ser usados desde há muito tempo. Actualmente, vários fármacos estão disponíveis, embora com perfis de segurança diferentes. A associação de imunossupressores com mecanismos de acção complementares é usada na maioria dos doentes para diminuir os efeitos secundários relacionados.

### **2.2.1. Corticosteróides**

Os corticosteróides são a pedra angular da terapêutica imunossupressora, representando os fármacos imunossupressores mais comumente usados na prática clínica. Apresentam numerosos efeitos no sistema imunológico, que incluem a sequestração de linfócitos da medula óssea e dos gânglios linfáticos, resultando em linfopenia. O principal efeito dos corticosteróides é a inibição da transcrição do gene e da secreção das citocinas (IL-1, IL-6 e TNF) pelos macrófagos e monócitos, com subsequente inibição da IL-2 e do INF- $\gamma$ , interferindo assim com a activação e a proliferação dos linfócitos.

Alguns dos mecanismos moleculares através dos quais os corticosteróides actuam foram descritos. A maior parte da sua actividade é iniciada ao nível subcelular através de receptores hormonais. Ao contrário dos mediadores polipeptídeos com receptores na superfície celular, os corticosteróides movem-se livremente através da membrana celular para se ligarem aos receptores intracitoplasmáticos, produzindo um complexo receptor-esteróide. Este complexo move-se, depois, para o núcleo, onde se liga ao ADN, actuando nos genes



promotores para ou activar ou deprimir parte do genoma e causar a transcrição de ARNm específico. Assim, a síntese de algumas proteínas é estimulada e a de outras é inibida.

Os receptores intracitoplasmáticos específicos para os corticosteróides foram identificados nos linfócitos, monócitos, neutrófilos e eosinófilos humanos normais. Além disso, diferentes graus de densidade dos receptores foram demonstrados em diferentes subpopulações de células linfóides. Presumivelmente, a sensibilidade de uma determinada subpopulação de linfócitos está relacionada com a densidade relativa de receptores intracitoplasmáticos para os corticosteróides. Estes mensageiros podem inibir a síntese de ADN, ARN e de proteínas e o transporte de aminoácidos e de glucose. Um efeito adicional é a supressão da síntese das prostaglandinas.

Na prevenção da rejeição do enxerto renal, os corticosteróides não são eficazes por si só, mas são valiosos em associação com outros fármacos, inicialmente com a azatioprina e presentemente com o micofenolato de mofetil e os inibidores da calcineurina, devido às suas acções sinérgicas. Os corticosteróides, em doses elevadas, são especialmente eficazes na interrupção das reacções de rejeição em curso, mas o uso prolongado conduz a efeitos secundários inaceitáveis, como hipertensão, hiperlipidémia, ganho ponderal, má cicatrização das feridas, úlceras pépticas e hemorragias digestivas altas, alterações de personalidade, formação de cataratas, hiperglicémia que pode evoluir para diabetes esteróide, pancreatite, perda da massa muscular, e osteoporose com necrose avascular da cabeça do fémur e de outros ossos. A susceptibilidade a infecções piogénicas e oportunistas é um resultado directo da supressão da fagocitose pelos macrófagos e neutrófilos. As características cushingóides são os sinais extremos dos seus efeitos secundários. Devido ao impacto da corticoterapia crónica, alguns centros de transplantação estão a desenvolver protocolos para redução ou suspensão das doses correntes de corticosteróides. Embora pareça possível em alguns doentes,

outros sofrem ou rejeição aguda ou rejeição crónica com a suspensão dos corticosteróides nos esquemas de imunossupressão.

### **2.2.2. Agentes Anti-Proliferativos**

Os agentes anti-proliferativos impedem a expressão completa da resposta imunológica por inibir a diferenciação e a divisão dos linfócitos imunocompetentes após a apresentação dos antígenos estranhos. Eles assemelham-se estruturalmente a metabolitos essenciais ou combinam-se com certos componentes celulares, como o ADN, e, assim, interferem com as funções moleculares.

Os antimetabolitos ou inibem as enzimas que regulam um via metabólica ou são incorporados durante a síntese para produzir moléculas defeituosas. Incluem análogos da purina, da pirimidina e do ácido fólico que são os mais eficazes contra as células em diferenciação e proliferação. Estes agentes são administrados aquando do transplante, quando as células imunocompetentes são estimuladas, e para a sobrevivência do enxerto, por inibir a resposta imunológica.

#### **a) Azatioprina**

A azatioprina foi o imunossupressor mais amplamente usado até meados da década de 1990 na transplantação. Gertrude Elion e George Hitchings foram premiados com o Prémio Nobel pelo desenvolvimento da azatioprina por uma simples modificação que fez o imunossupressor eficaz e seguro para uso na transplantação. A azatioprina é um derivado da 6-mercaptopurina com uma cadeia lateral para proteger o grupo sulfidril lábil. O mecanismo

de acção dos dois agentes (azatioprina e 6-mercaptopurina) é semelhante, apesar da azatioprina apresentar a vantagem de toxicidade ligeiramente menor.

A actividade metabólica completa ocorre na célula com a adição do fosfato-S6-ribose do pirofosfato de fosforibosil para formar o ribonucleótido 6-mercaptopurina, que inibe as enzimas responsáveis pela conversão do nucleótido de inosina em monofosfato de adenosina e guanosina. Além disso, a presença de ribonucleótidos 6-mercaptopurina abranda a via biosintética de purinas pela inibição do *feedback* numa etapa precoce. A semelhança com os nucleótidos de adenosina e guanina é insuficiente para a incorporação significativa no ADN e no ARN e para a síntese de moléculas defeituosas. O resultado da inibição das enzimas é o bloqueio da biossíntese de purinas e da divisão celular.

A actividade biológica da azatioprina e da 6-mercaptopurina é máxima quando a síntese de ácidos nucleicos é mais intensa. Estes agentes inibem, assim, fortemente o desenvolvimento quer da imunidade humoral, quer da celular, por interferência com a diferenciação e a proliferação dos linfócitos activados. Um benefício adicional da azatioprina é a diminuição da activação dos macrófagos e da produção dos neutrófilos, que suprimem os componentes inflamatórios inespecíficos da resposta imunológica. A azatioprina é eficaz na prevenção da rejeição do enxerto, mas ineficaz na reversão da reacção de rejeição em curso.

A toxicidade da azatioprina deriva da sua acção antimetabólica, nomeadamente depressão da medula óssea, conduzindo a leucopenia, alopecia, hepatotoxicidade e aumento do risco de infecções e de neoplasias. Quando comparada directamente com outros agentes anti-proliferativos, micofenolato de mofetil, a azatioprina não é tão potente, nem eficaz na profilaxia da rejeição do enxerto. Por conseguinte, o seu uso diminuiu rapidamente nos últimos anos, sendo substituída pelo micofenolato de mofetil.

## **b) Micofenolato de Mofetil**

O micofenolato de mofetil, um éster morfolinoetil do ácido micofenólico, é um inibidor específico e potente da síntese de novo das purinas, através da inibição da enzima inosina-monofosfato desidrogenase, bloqueando a proliferação das células T e B activadas e, assim, as respostas imunológicas celular e humoral. O uso do micofenolato de mofetil em associação com a ciclosporina diminuiu drasticamente quer a incidência quer a gravidade da rejeição aguda. Como resultado, o micofenolato de mofetil substituiu a azatioprina como parte da terapêutica tripla convencional, pela sua eficácia e pela sua segurança. Infelizmente, apesar de diminuir a incidência dos episódios de rejeição aguda, não alterou a taxa de rejeição crónica.

Os principais efeitos secundários são alterações gastrointestinais (náuseas, vómitos, cólicas e, particularmente, diarreia) e depressão da medula óssea (anemia e leucopenia). Está, ainda, associado a um aumento ligeiro do risco de infecções virais, embora estas possam ser controladas por profilaxia.

### **c) Leflunomide**

O leflunomide é um agente anti-proliferativo que bloqueia a enzima diidroorotato desidrogenase, essencial para a síntese de *novo* da pirimidina nos linfócitos. Apresenta actividade anti-proliferativa e anti-inflamatória e foi inicialmente aprovado para o tratamento da artrite reumatóide. O seu uso na transplantação de órgãos como agente adjuvante é limitado. Interessantemente, apresenta uma actividade antiviral contra o *Citomegalovírus* resistente ao ganciclovir e o polioma vírus.

Os principais efeitos secundários são alterações gastrointestinais (náuseas, dispepsia e diarreia), alterações das provas hepáticas, depressão da medula óssea (anemia) e *rash*.

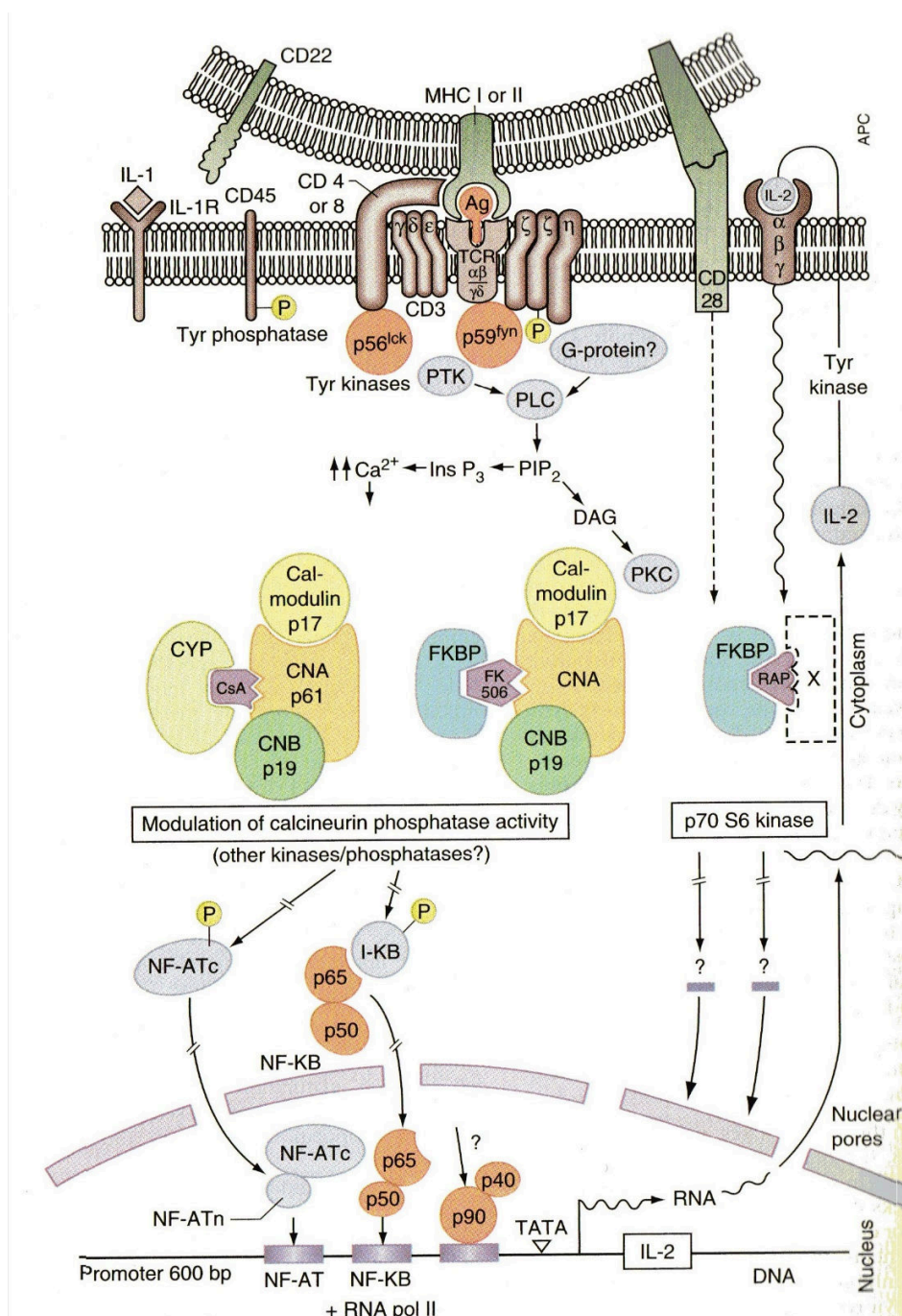
### 2.2.3. Imunossuppressores Anti-Linfocíticos

#### a) Inibidores da Calcineurina

##### **Ciclosporina**

A ciclosporina, protótipo dos inibidores da calcineurina, é um peptídeo cíclico derivado do fungo *Tolypocladium inflantum*, que contribuiu enormemente para a área da transplantação e que representava uma classe completamente nova de imunossuppressores. A ausência de mielotoxicidade foi a maior vantagem sobre os outros imunossuppressores e indicou que o mecanismo de acção é relativamente específico para os linfócitos. Muitos dos seus efeitos selectivos e supressivos nas células T estão relacionados com a inibição dos eventos da activação das células T mediada pelos TCRs (Figura 4) através da ligação a uma imunofilina intracelular específica (ciclofilina), causando alterações da conformação e subsequente envolvimento da enzima calcineurina.

Os efeitos nas células T consistem na inibição: dos linfócitos T citotóxicos e produtores da IL-2, da expressão do gene da IL-2 pelos linfócitos T activados, da activação dos linfócitos T em repouso por antígenos estranhos do enxerto e por linfocinas exógenas, da produção de IL-1 e da activação do mitógeno (concanavalina A) dos linfócitos T produtores da IL-2 e na não inibição dos linfócitos T activados por IL-2 exógena. Estas respostas envolvem as células CD4<sup>+</sup> (T<sub>H</sub>) e/ ou CD8<sup>+</sup> (linfócitos T citotóxicos/ supressores) e a inibição ocorre ao nível da activação, e talvez da maturação, das células T em repouso, aumentando a população de células T imaturas e inactivas. Outras células inflamatórias são muito menos sensíveis aos seus efeitos inibidores.



**Figura 4.** Transdução do sinal nas células T activadas e os locais (centro da figura) onde a ciclosporina (CsA), o tacrolimus (FK506) e o sirolimus (rapamicina [RAP]) actuam. (Townsend CM, et al: Sabiston Textbook of Surgery, 17th edition. Philadelphia, WB Saunders, 2004.)

A ciclosporina apresenta uma acção potente e profilática da rejeição do enxerto e da doença do enxerto contra o hospedeiro, contribuindo para a melhoria substancial da sobrevivência do doente e do enxerto renal, provavelmente devido à diminuição da incidência e da gravidade das infecções. Infelizmente, o impacto da ciclosporina nos resultados a longo prazo não tem sido favorável como nos a curto prazo, uma vez que não evita a rejeição crónica.

O principal efeito secundário da ciclosporina é a nefrotoxicidade, manifestada por insuficiência renal (oligo-anúria e azotémia, associada com hipercalemiemia, hiperuricémia, hipertensão, hipomagnesémia e acidose tubular) e minorada com a associação entre a ciclosporina e os corticosteróides, que permite a redução das doses de ciclosporina e, portanto, da nefrotoxicidade. A ciclosporina apresenta uma janela terapêutica estreita e é metabolizada pelo sistema hepático citocromo p450, daí a necessidade de cuidados na prescrição de fármacos e de medicamentos, nomeadamente antibióticos, anticonvulsivos, bloqueadores dos canais de cálcio e fármacos que aumentam ou inibem as enzimas do citocromo p405, pois podem aumentar ou diminuir os níveis sanguíneos da ciclosporina. Outros efeitos secundários incluem hipertensão, hiperlipidémia, hiperplasia gengival, hirsutismo, hepatotoxicidade, neurotoxicidade (convulsões e tremores) e síndrome urémica hemolítica.

A absorção e a biodisponibilidade da ciclosporina oral é variável, dificultando a regulação dos níveis sanguíneos. Assim, uma formulação de microemulsão da ciclosporina (Neoral) que apresenta uma absorção e um metabolismo mais reproduzíveis substituiu a formulação oral inicial.

## **Tacrolimus**

O tacrolimus, formalmente conhecido como FK-506, é uma lactona macrocíclica produzida pelo fungo *Streptomyces tsukubaensis*. Apesar de estruturalmente diferente da ciclosporina, apresenta uma acção molecular semelhante. A sua acção anti-linfocítica resulta da formação de complexos activos entre o imunossupressor e a respectiva proteína de ligação intracelular ou imunofilina (proteína de ligação FK-506 – FKBP) (Figura 4). O complexo FK-506 – imunofilina bloqueia a actividade fosfatase da calcineurina, que é importante na regulação da transcrição do gene da interleucina-2 (IL-2). A sua actividade consiste na inibição: da expressão do gene e da produção da IL-2; da proliferação celular de uma cultura mista de linfócitos, que é mediada pelas células T<sub>H</sub>; da produção de células T citotóxicas; e do aparecimento de receptores IL-2 nos linfócitos humanos. A actividade do tacrolimus é aproximadamente 100 vezes maior como um agente anti-células T do que a da ciclosporina. Estudos prospectivos randomizados na Europa e nos Estados Unidos mostraram inicialmente que a sobrevida do doente e do enxerto era comparável entre a ciclosporina e o tacrolimus, mas a incidência da rejeição quer aguda quer refractária aos corticosteróides foi significativamente menor com o tacrolimus. Este apresenta eficácia na terapêutica de resgate na rejeição aguda recorrente e aumenta a sobrevida do enxerto renal. O uso do tacrolimus tem vindo a aumentar e é actualmente o inibidor da calcineurina dominante, mas muitos esquemas usam selectivamente os dois (ciclosporina ou tacrolimus), dependendo dos riscos individuais do doente.

Os efeitos secundários da ciclosporina e do tacrolimus são semelhantes (nefrotoxicidade, neurotoxicidade e diabetes), mas o tacrolimus parece menos provável de causar hipertensão, hiperlipidémia e problemas estéticos. Não obstante, causa aumento da incidência da diabetes pós-transplante e de problemas neurológicos (tremores, parestesias e cefaleias), particularmente com doses elevadas, por isso, os seus níveis sanguíneos devem ser monitorizados, à semelhança da ciclosporina.



## **b) Inibidores TOR (target-of-rapamycin)**

### **Sirolimus e Everolimus**

O sirolimus, também conhecido como rapamicina, é um antibiótico macrólido produzido pelo fungo *Streptomyces hygroscopicus*. É um análogo estrutural do tacrolimus e liga-se ao mesmo receptor citoplasmático (FKBP). Contrariamente à actividade baseada na calcineurina da ciclosporina e do tacrolimus, o sirolimus associado à FKBP inibe a actividade da proteína cinase p70S6 chamada mTOR (*molecular target-of-rapamycin*) e, conseqüentemente, a transdução de sinais a partir do receptor de interleucina-2 para o núcleo, que é essencial para a fosforilação ribossómica e para a progressão do ciclo celular da fase G para a fase S nas células T activadas (Figura 4). O sirolimus previne a rejeição do enxerto. Outras propriedades importantes são a acção sinérgica com a ciclosporina e a ausência de nefrotoxicidade. O sirolimus tem sido associado com a ciclosporina, o tacrolimus ou o micofenolato de mofetil para diminuir ou evitar a nefrotoxicidade dos inibidores da calcineurina. Os ensaios clínicos demonstraram que o sirolimus não é nefrotóxico; contudo, aumenta os triglicéridos e diminui a hemoglobina e as plaquetas em alguns doentes e, ainda, aumenta a incidência de linfocelos e o tempo de cicatrização de feridas.

O everolimus é um análogo estrutural do sirolimus e, como o sirolimus, bloqueia a actividade mTOR, resultando na inibição da proliferação celular por interrupção da progressão do ciclo celular da fase G para a fase S nas células T activadas.

O everolimus foi aprovado para uso em transplantes renais *de novo* na Europa, mas ainda não foi aprovado nos Estados Unidos pelo FDA (Vella J, et al 2010), devido ao

aumento da nefrotoxicidade quando combinado com os inibidores da calcineurina. Os seus efeitos secundários são semelhantes aos do sirolimus.

O uso dos inibidores da mTOR tem vindo a diminuir desde o pico registado em 2001, devido, em grande parte, aumento das taxas de rejeição aguda, melhoria questionável da função do enxerto, nefrotoxicidade sinérgica com os inibidores da calcineurina, baixa tolerabilidade e a associação com proteinúria.

### **2.3. Esquemas de Imunossupressão do Serviço de Transplante Renal dos HUC**

À semelhança de outros centros de transplantação renal, no Serviço de Transplante Renal dos Hospitais da Universidade de Coimbra considera-se também a utilização baseada na terapêutica de indução e de manutenção. A terapêutica de indução consiste na utilização alternativa do anticorpo policlonal – Timoglobulina e do anticorpo monoclonal anti-CD25 quimérico – Basiliximab e Metilprednisona, e está indicada nos indivíduos de raça negra, nos indivíduos hiperimunizados ( $PRA \geq 50\%$ ) ou nos indivíduos com incompatibilidade AB0. A terapêutica de manutenção é, geralmente, tripla e é constituída por Prednisona, Ciclosporina ou Tacrolimus, dependendo dos riscos individuais do doente, e Micofenolato de Mofetil. O quadro 1. apresenta, sumariamente, os principais mecanismos de acção e efeitos secundários dos imunossupressores usados no âmbito da transplantação renal nos HUC.

<b>Imunossuppressores</b>		Principais Mecanismos de Acção	Principais Efeitos Secundários
<b>Terapêutica de Indução</b>	<b>Timoglobulina</b>	Depleção linfocitária global (actividade e quantidade)	Susceptibilidade a infecções, designadamente por vírus
	<b>Basiliximab</b>	Bloqueador dos receptores da IL-2	Bem tolerado
<b>Terapêutica de Manutenção</b>	<b>Corticosteróides</b>	Diminuição da população linfocitária global circulante; inibição da produção de citocinas	Susceptibilidade a infecções; retenção hidrosalina – aumento do peso, hipertensão, diabetes; osteoporose a longo prazo (necroses assépticas)
	<b>Ciclosporina (Neoral)</b>	Inibição da libertação de IL – inibição da proliferação clonal de CD4 e da secreção de IL-2 (bloqueio do gene da IL-2), depressão da citotoxicidade humoral (anticorpo e complemento), da produção de interferão e da actividade citolítica; pouca acção sobre os CD8	Nefro e neurotoxicidade; alterações do comportamento; hipertensão; diabetes
	<b>Tacrolimus (FK506)</b>	Semelhante aos da Ciclosporina (100 vezes mais potente que esta)	Mesmos que a Ciclosporina; tendência mais acentuada para diabetes
	<b>Micofenolato de Mofetil (Cellcept)</b>	Anti-proliferação linfocitária (T e B) por bloqueio da síntese purínica	Diarreias; baixa toxicidade (neurológica, hepática, renal e medular)

**Quadro 1.** Imunossuppressores usados no âmbito da transplantação renal nos HUC.

### 3. Novos Imunossupressores

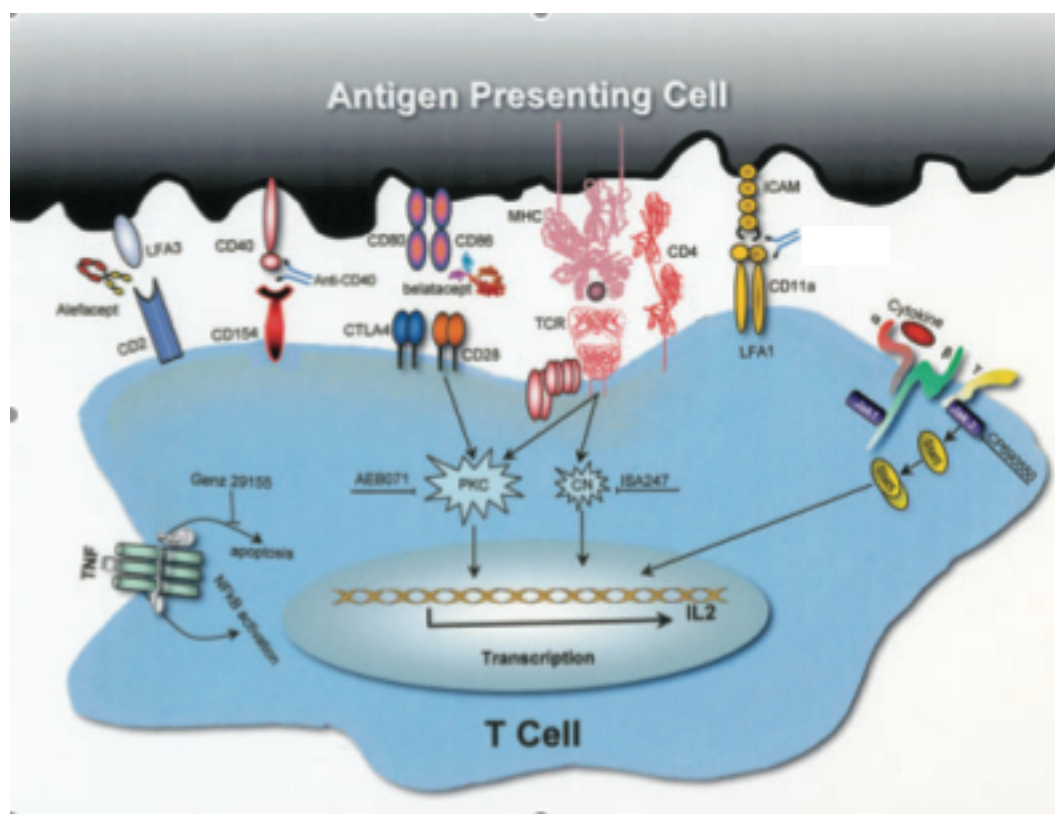
O desenvolvimento de imunossupressores com efeitos nefrotóxicos e secundários mínimos é importante para melhorar os resultados do transplante renal (Durrbach et al, 2010). Vários agentes actualmente em desenvolvimento ou em investigação, quer sejam desenvolvidos directamente na área da transplantação, quer em outra área como a imunologia clínica, podem ser usados na transplantação renal para prevenção da rejeição aguda e crónica do enxerto. O desenvolvimento de novos agentes visa maior eficácia, segurança, com redução dos efeitos secundários e da nefrotoxicidade, e *compliance*, sempre com o objectivo último de melhorarem os resultados a curto e a longo prazo.

De entre os novos imunossupressores em investigação, destacam-se os agentes biológicos: *belatacept* e *alefacept*, os agentes orgânicos: *ISA247*, *AEB071* e *CP-690,550*, e outros agentes como o *bortezomib* e o *eculizumab* (Vella et al, 2010). Os diferentes agentes estão resumidos no quadro 2 e as vias dos agentes biológicos e orgânicos estão descritas na figura 5.

Molécula Inibitória	Tipo de Molécula	Alvo	Principal Função
<i>Belatacept</i>	Proteína de fusão	CD80 e CD86	Inibição do <i>Sinal 2</i>
<i>Alefacept</i>	Proteína de fusão	CD2	Depleção das células T activadas
<i>ISA247</i>			
<i>AEB071</i>	Pequena molécula	Proteína Cinase C (PKC)	Inibição da PKC
<i>CP-690,550</i>	Pequena molécula	Janus Cinase 3 (JAK-3)	Inibição da JAK-3
<i>Bortezomib</i>	Pequena molécula	NFκB	Depleção dos plasmócitos e inibição do NFκB

<i>Eculizumab</i>	Anticorpo	C5	Inibição da activação do complemento
-------------------	-----------	----	--------------------------------------

**Quadro 2.** Efeitos dos novos imunossuppressores. (Adaptado a partir de Durrbach A, et al (2010) Advances in immunosuppression for renal transplantation. Nature Reviews Nephrology Volume 6: 160-167.)



**Figura 5.** Os novos imunossuppressores: agentes biológicos e agentes orgânicos, e os respectivos receptores de superfície celular e vias intracelulares da célula T. (Adaptada a partir de Vincenti F, et al (2008) What's next in the pipeline. American Journal of Transplantation 8: 1972-1981.)

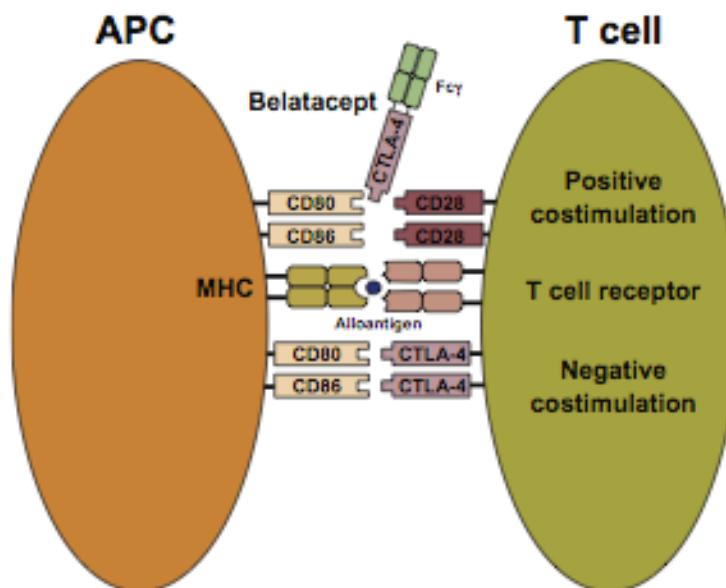
De salientar que os ensaios clínicos ou estudos de alguns dos novos imunossuppressores com perspectivas na transplantação renal, nomeadamente: OKT3 humanizado, anticorpo monoclonal T10B9.1A, anticorpos anti-ICAM1 e anti-LFA1, FTY702 (fingolimod) e FK778 (metabolito do leflunomide), foram descontinuados ou suspensos quer pela capacidade de controlar ou prevenir a rejeição do enxerto não superior aos

imunossupressores convencionais, quer pela eficácia e pela segurança inferiores (Vella et al, 2010).

### 3.1. Agentes Biológicos

#### Belatacept

O *belatacept* ou *LEA29Y* é uma proteína de fusão CTLA4-Ig humanizada que consiste na fusão do domínio extracelular de CTLA4 com dois domínios constantes da IgG1 humana, permitindo a dissociação de CD28 das moléculas CD80<sup>+</sup> e CD86<sup>+</sup> e, assim, prejudicando a activação das células T (Durrbach et al, 2010).



**Figura 6:** Co-estimulação das células T e mecanismo de acção do *belatacept*. Gupta G, Womer KL (2010) Profile of belatacept and its potencial role in prevention of graft rejection following renal transplantation. Drug, Design, Development and Therapy. *In press*.

O bloqueio da co-estimulação em modelos primatas não humanos estabeleceu a ponte entre os modelos animais de pequeno porte e os protocolos clínicos (Durrbach et al, 2010). Os

macacos *rhesus* adolescentes apresentaram maior sobrevida do enxerto renal (superior a seis meses) com anticorpos humanizados CD80 e CD86 do que os macacos não tratados (Durrbach et al, 2010). Todos os macacos que receberam o tratamento desenvolveram anticorpos doador-específicos e infiltrados renais, o que indicou que o bloqueio do CD28 deve ser usado em associação.

O *belatacept* foi aperfeiçoado com a introdução de duas modificações moleculares pontuais para aumentar a sua avidéz pelo CD80 e pelo C86. Este agente tem sido avaliado em ensaios clínicos com doentes de transplante renal.

Um ensaio clínico multicêntrico em fase II (Vincenti et al, 2005) incluiu 218 adultos que foram aleatoriamente distribuídos por um esquema intensivo de *belatacept* (sem ciclosporina), um menos intensivo com *belatacept* (sem ciclosporina) ou um controlo (apenas ciclosporina). Todos os doentes receberam terapêutica de indução com basiliximab, micofenolato de mofetil e corticosteróides. A incidência de rejeição aguda aos 6 meses foi semelhante entre os três grupos: 7% para o esquema intensivo, 6% para o menos intensivo e 8% para o controlo. A rejeição subclínica (avaliada por biópsia de rotina) aos 12 meses foi mais comum com o esquema menos intensivo com *belatacept* (20%) do que com o intensivo com *belatacept* (9%) ou o controlo (11%) e a taxa de filtração glomerular foi marcadamente mais elevada nos doentes tratados com *belatacept* do que nos com ciclosporina (66.3 e 62.1 ml/min/1,73m<sup>2</sup> nos doentes com esquema intensivo e menos intensivo de *belatacept*, respectivamente *versus* 53.5 ml/min/1,73m<sup>2</sup> nos doentes com esquema controlo). Ao 12.º mês a incidência de nefropatia crónica do enxerto era menor em ambos os grupos com *belatacept* (20% para o esquema intensivo e 29% para o menos intensivo) do que no grupo controlo (44%). Não houve diferenças na incidência de infecções e de doenças malignas entre os grupos durante o ensaio clínico. Os cinco anos de resultados confirmaram a segurança e a eficácia da imunossupressão com *belatacept*.

O ensaio clínico anterior foi seguido por outros dois estudos em fase III: um com dadores com critérios standard (BENEFIT study) ou com dadores com critérios alargados, isto é, idade superior a 65 anos, dador com factores de risco para doenças cardiovasculares e enxerto renal com taxa de filtração glomerular reduzida (BENEFIT extended study) (Durrbach et al, *in press* e Vincenti et al, *in press*). Estes estudos revelaram que o *belatacept*, comparado com a ciclosporina, está associado a uma melhor função renal e um menor risco cardiovascular nos receptores. No entanto, foi observada uma maior tendência para a rejeição aguda nos doentes que receberam *belatacept* do que nos que receberam ciclosporina. Além disso, mais casos de linfomas pós-transplante foram observados nos doentes tratados com *belatacept* do que nos com ciclosporina, apesar da maioria dos casos ocorrer em doentes com factores de risco para linfoma, como *status* negativo para o vírus *Epstein-Barr* antes do transplante e uso de agentes depletores das células T.

Em conclusão, o *belatacept* é um novo e promissor imunossupressor na terapêutica de manutenção. Inicialmente foi previsto que o bloqueio da co-estimulação seria a ponte para a tolerância imunológica do enxerto, mas com base nos dados actuais não parece ser o caso. Assim, o paradigma do uso do *belatacept* para evitar a nefrotoxicidade associada aos inibidores da calcineurina e minimizar os efeitos secundários cardiovasculares e metabólicos. Um das principais limitações é a necessidade de administração por infusão intravenosa. Além disso, devido a preocupações com o aumento do risco de doença linfoproliferativa pós-transplante em doentes seronegativos para EBV, os protocolos do *belatacept* foram modificados para incluir apenas seropositivos para EBV. Infelizmente, esta exclusão complica a introdução do *belatacept* em doentes jovens, que poderiam ter o máximo benefício a longo prazo com esquemas não nefrotóxicos. Uma nota positiva sobre o *belatacept* é a melhor função renal, a par de uma menor incidência de diabetes mellitus e de doenças cardiovasculares.



## *Alefacept*

O *alefacept* é uma proteína de fusão LFA-3-Ig humanizada que consiste na fusão do primeiro domínio extracelular do LFA-3 com dois domínios constantes da IgG1 humana, prevenindo a interacção entre o LFA-3 e o CD2 e, assim, a activação das células T (Durrbach et al, 2010). Além disso, o domínio IgG1 pode activar a cascata do complemento e interagir com o CD16 nas células *natural killer* para induzir a apoptose mediada por granzima das células T memória e/ ou, preferencialmente, células T citotóxicas (Durrbach et al, 2010).

O *alefacept* foi inicialmente desenvolvido para tratar a psoríase, uma doença depende dos linfócitos.

Os esquemas, actualmente disponíveis, de imunossupressão baseada no bloqueio da co-estimulação não previnem a rejeição do enxerto mediada pela células T memória. Por conseguinte, o *alefacept* foi avaliado em associação com moléculas recombinantes CTLA4-Ig e sirolimus para prevenir a rejeição do enxerto num modelo primata não humano (Weaver et al, 2009). Este esquema foi associado a aumento da razão  $CD4^+ : CD8^+$ , com diminuição das células  $CD8^+$  e sobrevivência prolongada do enxerto em 50% dos casos, quando comparado com outras associações e esquemas. A modesta diminuição da contagem dos linfócitos é atribuída à deplecção selectiva das células T memória, sem alterar o número das células T imaturas.

O *alefacept* tem sido usado no tratamento da doença do enxerto contra o hospedeiro em humanos (Shapira et al, 2009). Entre os doze doentes com doença do enxerto contra o hospedeiro resistente a corticosteróides, oito (75%) responderam ao tratamento com *alefacept*. Estes resultados indicam que o *alefacept* pode ser usado na terapêutica de indução ou no tratamento da rejeição celular.

### 3.2. Agentes Orgânicos

#### Voclosporina

A *voclosporina* ou *ISA247* é um análogo estrutural semi-sintético da ciclosporina, cujo mecanismo de acção consiste na inibição da via de transdução do sinal da calcineurina. Este novo inibidor da calcineurina está em investigação para o tratamento da psoríase, assim como para o tratamento imunossupressor no transplante renal. Se a *voclosporina* apresentar eficácia imunossupressora com menores dose e exposição, poderá ser mais previsível com menor variabilidade individual do que a ciclosporina e o tacrolimus e, assim, diminuir a nefrotoxicidade.

Vários estudos apoiam estas previsões, uma vez que alguns demonstraram um efeito inibitório da actividade calcineurina 2,5 vezes superior do que o da ciclosporina e outros menor nefrotoxicidade determinada pela creatinina séria e pelas alterações histológicas (Aspeslet et al, 2001). Outros estudos em primatas não humanos demonstraram um maior grau de imunossupressão com a *voclosporina* do que com a ciclosporina e, assim, uma maior sobrevida do enxerto renal (Gregory et al, 2004).

Um ensaio clínico de fase III para avaliar a eficácia da *voclosporina* no tratamento da psoríase e com um controlo com placebo ilustrou a nefrotoxicidade relativamente ligeira da *voclosporina*. Dos 336 doentes aleatoriamente distribuídos por três doses de *voclosporina*: 0.2, 0.3 ou 0.4 mg/Kg duas vezes por dia, apenas 2% dos doentes apresentaram diminuição da taxa de filtração glomerular aos 3 meses (Papp et al, 2008). Na transplantação renal, um ensaio clínico multicêntrico com 334 receptores de transplante renal, os quais receberam aleatoriamente 0.2, 0.4 ou 0.8 mg/Kg duas vezes por dia de *voclosporina* ou tacrolimus em

associação com o micofenolato de mofetil e corticosteróides, demonstrou uma incidência de rejeição aguda comprovada por biópsia baixa nos três grupos de tratamento com *voclosporina*: 11%, 8% e 3% nas doses de 0.2, 0.4 e 0.8 mg/Kg, respectivamente, enquanto que a rejeição aguda comprovada por biópsia foi observada em 9% no grupo com tacrolimus (Gaber et al, 2008). Contudo, não se observaram diferenças na taxa de filtração glomerular, reduzindo o entusiasmo por este agente como um potencial avanço sobre os inibidores da calcineurina correntes. Assim, os ensaios clínicos da *voclosporina* devem demonstrar uma melhoria significativa da taxa de filtração glomerular ou uma redução das alterações histológicas da nefrotoxicidade dos inibidores da calcineurina correntes e/ ou fibrose do enxerto para justificar o seu uso na prática clínica.

### **Sotrastaurin**

A *sotrastaurin* ou *AEB071* é um novo imunossupressor que bloqueia a activação precoce das células T através da inibição da proteína cinase C, que tem um papel pivô na transmissão do *Sinal 1* e *Sinal 2* (Evenou et al, 2009). Este agente é um inibidor altamente potente e selectivo das subfamílias clássicas (isoformas  $\alpha$  e  $\beta$ ) e novas ( $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$  e  $\theta$ ) da proteína cinase C. A *sotrastaurin* inibe, a nível celular, a activação precoce das células T, mas não a proliferação das células T, o que se reflete num aumento da secreção da IL-2 (Evenou et al, 2009).

Um estudo de fase II da *sotrastaurin* foi iniciado com receptores de transplante renal. Os doentes receberam 200 mg ou 300 mg de *sotrastaurin* duas vezes por dia em associação com o tacrolimus (0,1 mg/ Kg id) ou o ácido micofenólico revestido (1,440 mg/ Kg id) (Vincenti et al, 2008). A *sotrastaurin* em associação com o tacrolimus demonstrou uma excelente eficácia, enquanto que, em associação com o ácido micofenólico, a eficácia parece

menor do que no grupo controlo (ácido micofenólico e tacrolimus). No geral, a tolerabilidade clínica da *sotrastaurin* parece aceitável para cada uma das combinações avaliadas (Budde et al, 2009 e Friman et al, 2009).

Vários ensaios clínicos de fase III foram iniciados nos últimos dois anos para avaliar a suspensão dos inibidores da calcineurina nos doentes com associações entre tacrolimus e *sotrastaurin* três meses após o transplante. (Budde et al, 2009 e Friman et al, 2009). Nestes ensaios clínicos, o tacrolimus foi substituído pelo ácido micofenólico três meses após o transplante. Contudo, os estudos foram suspensos devido ao aumento significativo dos episódios de rejeição aguda. Um outro ensaio clínico de fase III foi conduzido como um estudo aberto e multicêntrico para avaliar o uso de esquemas sem inibidores da calcineurina com 300 mg de *sotrastaurin* e 720 mg de ácido micofenólico duas vezes por dia ( $n=44$ ) em comparação com um esquema controlo com tacrolimus e ácido micofenólico ( $n=81$ ) (Budde et al, 2009 e Friman et al, 2009). Todos os doentes receberam terapêutica de indução com basiliximab e corticosteróides. Os principais resultados foram a rejeição aguda (avaliada por biópsia), a perda do enxerto, a morte ou a perda do follow-up aos três meses. Ao primeiro mês, o esquema com *sotrastaurin* foi tão eficaz com o esquema controlo. Ao terceiro mês, a eficácia diminuiu 26% (devido a rejeição aguda comprovada por biópsia, perda do enxerto ou morte aos três meses) no grupo da *sotrastaurin* em comparação com uma diminuição de apenas 5% no grupo controlo. Embora a *sotrastaurin* estivesse associada com uma boa função renal e tolerabilidade, estes resultados interromperam o estudo. O tratamento foi descontinuado em 12 dos 44 doentes que receberam *sotrastaurin* em comparação com os 2 dos 81 doentes que receberam tacrolimus. A principal razão para a descontinuação do tratamento foi a rejeição enxerto renal.

### CP-690,550

O desenvolvimento do sirolimus centrou-se na inibição das cinases serina-treonina expressas para prevenir as respostas imunológicas conduzidas pela IL-2, uma vez que as citocinas desempenham um papel importante na rejeição aguda e crónica, favorecendo a expansão e sobrevivência das células T. O bloqueio isolado da IL-2 é insuficiente para comprometer a resposta, porque as citocinas partilham algumas cadeias polipeptídicas comuns na estrutura dos seus receptores. Na maioria dos casos, a transdução intracelular é conseguida através da activação da cinase Janus 3 (JAK-3). Esta proteína tirosina cinase é um dos quatro membros da família das cinases Janus (JAK-1, JAK-2, JAK-3 e TYK2) e tem um papel chave na mediação dos sinais dos receptores  $\gamma_c$ , incluindo IL-2R. A JAK-3 é activada através de várias citocinas (IL-2, IL-4, IL-7, IL-15 e IL-21).

Vários inibidores da JAK-3 têm sido desenvolvidos, de entre os quais a *CP-690,550*. Este novo agente apresenta uma potência nanomolar contra a JAK-3, causando uma redução acentuada da produção de IL-2 e outras interleucinas pelas células T e uma redução da proliferação das células T (Paniagua et al, 2005).

Em modelos primatas não humanos de transplantação, a *CP-690,550*, isolada ou combinada com ácido micofenólico, diminuiu a rejeição do enxerto renal (Borie et al, 2005). Além disso, os investigadores desses estudos observaram uma redução considerável na produção de IgG doador-específica. Um ensaio clínico de fase II incluiu 61 receptores de transplante renal que foram distribuídos aleatoriamente para receber a *CP-690,550* em doses de 15 mg ou de 30 mg duas vezes por dia *versus* a associação de tacrolimus com antagonista do IL-2R, ácido micofenólico e corticosteróides (Borie et al, 2005). Neste ensaio clínico, a função renal e a incidência de rejeição aguda comprovada por biópsia aos 6 meses foi similar nos três grupos, e não foram registadas perdas do enxerto, doenças malignas ou morte.

Contudo, os doentes que receberam doses 30 mg duas vezes por dia de *CP-690,550* apresentaram maior riscos para infecções, incluindo infecção por CMV, e nefropatia associada ao vírus BK, do que os doentes dos outros grupos.

### 3.3. Agentes Anti-Células B

#### *Bortezomib*

A via Rel/NFκB é crítica para a sobrevivência das células B memória e plasmócitos de longa duração (Perry et al, 2009). Além disso, NFκB tem um papel importante no controlo da progressão do ciclo celular, da acção das moléculas de adesão celular, e da secreção de citocinas (Perry et al, 2009). A activação do NFκB é controlada pela degradação do seu inibidor, IκB, através do complexo proteosoma. Assim, os inibidores do proteosoma estão associados com a inibição do NFκB, mantendo um nível elevado de IκB, e com a inibição directa do crescimento e com a apoptose dos plasmócitos.

O *bortezomib*, derivado dipeptídeo do ácido borónico, é um inibidor do proteosoma que exerce numerosos efeitos biológicos, incluindo bloqueio do ciclo das células T, inibição da regulação de CD25 e das moléculas de adesão, diminuindo as respostas das células T<sub>H1</sub> e subsequente apoptose das células T activadas. A inibição do proteosoma também afecta as funções das células dendríticas pela redução da expressão da molécula co-estimuladora e da produção de citocinas e pela apoptose; e a sobrevivência das células B pela redução da produção de IL-6 pelas células de estroma da medula óssea.

O *bortezomib* é usado no tratamento do mieloma múltiplo. Devido ao seu efeito nos plasmócitos malignos, o *bortezomib* tem sido testado *in vitro* nas células CD138<sup>+</sup> de doentes sensíveis ao HLA (Perry et al, 2009). Em contraste com as globulinas anti-linfocíticas e o

rituximab, o *bortezomib* induz a apoptose das células CD138<sup>+</sup> e *in vitro* reduz substancialmente a produção de anticorpos classe I e II. O *bortezomib* também foi usado com sucesso no tratamento de seis doentes de transplante renal com rejeição mediada por anticorpos refractária aos esquemas *standard* (Everly et al, 2008), uma vez que o tratamento com *bortezomib* está associado com a diminuição de anticorpos contra o enxerto (Trivedi et al, 2009). Deste modo, investigação sobre o seu uso para controlar a produção de anticorpos doador-específicos pode ser, portanto, de interesse, especialmente em doentes que são hiperimunizados.

### **Eculizumab**

Durante a rejeição mediada por anticorpos, a activação do complemento é observada através da via clássica, que conduz à deposição capilar de C4d-A. A presença desta proteína do complemento tem sido usada como um marcador para a rejeição mediada por anticorpos. Além disso, é um marcador da produção de C3a e b e C5a e b e, conseqüentemente, o complexo de ataque à membrana associado com a lesão de células endoteliais, que conduz à libertação de quimioattractivos, de factores pró-coagulantes e/ ou à morte celular (Colvin et al, 2007). A activação da convertase C3 está associada com a produção da anafilotoxina C5a, que favorece o recrutamento macrófagos e polimorfonucleares, e do complemento C5b, que conduz à síntese do complexo de ataque à membrana. Diferentes graus de activação do complemento estão presentes nos vários estadios da rejeição mediada por anticorpos. Além disso, as biópsias protocolares dos enxertos AB0 incompatíveis têm mostrado que, apesar do reaparecimento dos anticorpos AB0, a acomodação ocorre, principalmente, activada por mecanismos celulares que controlam a activação da via do complemento (Colvin et al, 2007). A modulação da cascata do complemento está, por conseguinte, a ganhar interesse como alvo

do tratamento em associação com as terapias actualmente disponíveis, como a plasmaferese, a imunoglobulina intravenosa e a depleção das células T e B com globulinas anti-linfocíticas ou rituximab.

O *eculizumab* é um anticorpo humanizado, no qual os domínios constantes da IgG1 parental foram substituídos pelo domínio constante de IgG4 e de IgG2 humanas para evitar a ligação do complemento e do receptor Fc $\gamma$ , respectivamente. O *eculizumab* actua contra o complemento C5 e foi desenvolvido para tratar hemoglobinúria paroxismal nocturna, que está relacionada com a deficiência das proteínas de superfície ligadas aos glicosilfosfatidilinositol, incluindo o inibidor do complemento terminal CD59. O *eculizumab* bloqueia os efeitos pró-inflamatórios e citolíticos da activação do complemento terminal. Este efeito reduz a hemólise intravascular crónica mediada pelo complemento sem inibir a formação do complemento C3b que participa no processo de opsonização.

O papel do *eculizumab* na rejeição aguda e crónica mediada por anticorpos ainda não foi definido. A prevenção da rejeição mediada por anticorpos foi descrita nos casos em que existe cross-match positivo, não se observando nenhum caso, e resistência aos corticosteróides e à timoglobulina (Locke et al, 2009). O uso deste anticorpo pode, por conseguinte, modular a rejeição mediada por anticorpos e ter um papel preventivo e terapêutico desta complicação.



#### 4. Conclusão

As primeiras experiências de transplantação de órgãos sólidos no ser humano foram realizadas durante a primeira metade do século XX. Desde logo os investigadores deparam-se com um grande obstáculo relacionado com o fenómeno de rejeição. Desde então foram inúmeros os esforços no sentido de desenvolver fármacos ou medidas capazes de controlar a resposta imunológica.

Os primeiros imunossuppressores foram desenvolvidos a partir dos anos 50, com o uso dos corticosteróides, a pedra angular da imunossupressão, associados a azatioprina e/ ou globulina anti-linfocítica. Os avanços na investigação nesta área, nomeadamente na compreensão dos mecanismos de activação das células T, permitiram o desenvolvimento de medicamentos imunossuppressores mais potentes e mais selectivos que actuam na cascata de activação das células T, responsáveis pelo fenómeno de rejeição. A descoberta da ciclosporina nos anos 80 constituiu um marco fundamental ao permitir aumentar significativamente a sobrevivência do enxerto. Contudo, aumenta o risco de disfunção crónica do enxerto por componentes imunológicos (rejeição crónica do enxerto) e não imunológicos (nefrotoxicidade dos inibidores da calcineurina), que pode levar a insuficiência do enxerto renal irreversível e, conseqüentemente, diálise. A partir da década de 90, outros agentes biológicos (por exemplo, os anticorpos monoclonais) e químicos (por exemplo, o micofenolato de mofetil e o tacrolimus) foram comercializados. Esta variedade de imunossuppressores aumentou o arsenal terapêutico para profilaxia e tratamento da rejeição aguda e mesmo da crónica.

Como se sabe, grande parte da morbilidade e, sobretudo, da mortalidade no transplante renal pode estar paradoxalmente relacionada com a imunossupressão, porque ao prevenir a rejeição do enxerto, aumenta a susceptibilidade a infecções e a neoplasias. É, portanto, um desafio constante a administração de imunossuppressores em doses suficientes,

que ao prevenirem a rejeição, não aumentem o risco de infecções oportunistas (por exemplo, *Citomegalovírus* e *Pneumocystis carinii*), e de doenças malignas. Além disso, os imunossuppressores apresentam toxicidades específicas.

Actualmente, a imunossupressão assenta em três abordagens:

- Depleção dos linfócitos circulantes, destruindo-os;
- Uso de um inibidor da activação dos linfócitos (ciclosporina ou tacrolimus) para interromper os eventos precoces da activação dos linfócitos T induzida pelos antígenos e da produção de citocinas, factores decisivos para a subsequente cascata de eventos imunológicos, conduzindo à rejeição do enxerto;
- Uso de vários inibidores metabólicos para interferir com a proliferação dos linfócitos via essencial para amplificar a resposta imunológica.

Assim, os imunossuppressores estão divididos naturalmente em dois grupos: os usados na terapêutica de indução e os usados na terapêutica de manutenção.

A cada vez maior e melhor compreensão do fenómeno de rejeição do enxerto abriu portas para o desenvolvimento de imunossuppressores com mecanismos de acção cada vez mais específicos e mais potentes.

A grande questão em debate consiste em descobrir a imunossupressão ideal, que consiste na prevenção eficaz da rejeição aguda e crónica, com maximização da sobrevida do doente e do enxerto, a par da nefrotoxicidade e da incidência de infecções e de neoplasias. Paralelamente pretende-se que seja económica e praticável nos centros de transplantação renal. Assim, novas moléculas foram recentemente seleccionadas para o desenvolvimento de fármacos imunossuppressores com base na sua capacidade para actuar nas vias das células T activadas. Estes compostos têm sido avaliados em ensaios clínicos e estudos para compreender o impacto no sistema imunológico e na sobrevida dos doentes e dos enxertos e complementar os actuais esquemas e protocolos de imunossupressão. De entre os novos

imunossupressores em investigação, destacam-se os agentes biológicos: *belatacept* e *alefacept*, os agentes orgânicos: *ISA247*, *AEB071* e *CP-690,550*, e outros agentes como o *bortezomib* e o *eculizumab*.

Os avanços continuam nas áreas da imunologia clínica e da imunossupressão. Ainda há muito a aprender, no entanto, antes que os doentes com doença renal crónica possam viver livres dos custos e dos riscos associados com a transplantação. No futuro, o grande objectivo da terapêutica imunossupressora consiste no desenvolvimento de uma abordagem antigénio-específico, cuja meta-final é a tolerância imunológica no hospedeiro, ou seja, a prevenção específica e segura da rejeição do enxerto, a par da preservação da imunocompetência e da integridade do sistema imunológico.

## 5. Referências

### Artigos

Aspeslet L, et al (2001) ISA(TX)247: a novel calcineurin inhibitor. *Transplant Proceedings* 33: 1048-1051.

Borie DC, et al (2005) Combined used of the JAK3 inhibitor CP690,550 with mycophenolato mofetil to prevent kidney allograft rejection in nonhuman primates. *Transplantation* 80: 1756-1764.

Borie DC, et al (2005) Immunosuppression by the JAK3 inhibitor CP690,550 delays rejection and significantly prolongs kidney allograft survival in nonhuman primates. *Transplantation* 79: 791-801.

Colvin RB (2009) Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *Journal of the American Society of Nephrology* 18: 1046-1056.

Cooper JE, Wiseman AC (2009) Novel immunosuppressive agents in kidney transplantation. *Clinical Nephrology* 73: 333-343.

Cruzado JM, et al (2009) New Immunosuppressive Protocols With The Advent of Novel Biological Drugs. *Transplantation* 88: S20-S23.

Durrbach A, et al (2010) A phase III Study of Belatacept vs Cyclosporine in Kidney Transplants from Extended Criteria Donors (BENEFIT-EXT Study). American Journal of Transplantation. *In press*.

Durrbach A, et al (2010) Advances in immunosuppression for renal transplantation. Nature Reviews Nephrology 6: 160-167.

Evenou JP, et al (2009) The potent protein kinase C selective inhibitor AEB071 (sotrastaurin) represents a new class of immunosuppressive agents affecting early T-cell activation. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 330: 792-801.

Everly MJ, et al (2008) Bortezomib provides effective therapy for antibody- and cell-mediated acute rejection. Transplantation 86, 1754-1761.

Flechner SM, et al (2004) De novo kidney transplantation without use of calcineurin inhibitors reserves renal structure and function at two years. American Journal of Transplantation 4: 1776-1785.

Gaber AO, et al (2008) ISA247: A Phase IIB Multicenter, Open Label, Concentration Controlled Trial in de novo Renal Transplantation. American Journal of Transplantation 8: 336.

Gregory CR, et al (2004) Compared with cyclosporine, ISATX247 significantly prolongs renal-allograft survival in nonhuman primate model. Transplantation 78: 681-685.

Gupta G, Womer KL (2010) Profile of belatacept and its potencial role in prevention of graft rejection following renal transplantation. *Drug, Design, Development and Therapy. In press.*

Halloran PF (2004) Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *New England Journal of Medicine* 351: 2715-2729.

Kaplan B (2010) Belatacept: The Promises and Challenge of Belatacept and Costimulatory Blockade. *American Journal of Transplantation* 10: 441-442.

Kaufman DB, et al (2005) Alemtuzumab induction and prednisone-free maintenance immunotherapy in kidney transplantation: comparison with basiliximab induction – long-term results. *American Journal of Transplantation* 5: 2539-2548.

Khwaja K, et al (2004) Outcome at 3 years with prednisone-free maintenance regimen: a single-center experience with 349 kidney transplantation recipients. *American Journal of Transplantation* 4: 980-987.

Lebranchu Y (2009) New Approaches to De Novo Immunosuppression and Steroid Elimination. *Transplantation Proceedings* 41: S39-S41.

Locke JE, et al (2009) The use of antibody to complement protein C5 for salvage treatment of severe antibody-mediated rejection. *American Journal of Transplantation* 9: 231-235.

Marcén R (2009) Immunosuppressive Drugs in Kidney Transplantation: Impact of Patient Survival, and Incidence of Cardiovascular Disease, Malignancy and Infection. *Drugs* 69(16): 2227-2243.

Nankivell B, et al (2003) The natural history of chronic allograft nephropathy. *New England Journal of Medicine* 349: 2326-2333.

Opelz G, et al (2006) Dissociation between risk of graft loss and risk of non-Hodgkin lymphoma with induction agents in renal transplant recipients. *Transplantation* 81: 1227-1233.

O'Shea J, et al (2004) A new modality for immunosuppression: targeting the JAK/STAT pathway. *Nature Reviews Drug Discovery* 3: 555-564.

Paniagua R, et al (2005) Effects of JAK3 inhibition with CP690,550 on immune cell populations and their functions in nonhuman primate recipients fo kidney allografts. *Transplantation* 80: 1283-1292.

Papp K, et al (2008) Efficacy of ISA247 in plaque psoriasis: a randomised, multicentre, double-blind, placebo-controlled Phase III study. *Lancet* 371: 1337-1342.

Pascual J, et al (2004) Steroid withdrawal in renal transplant patients on triple therapy with a calcineurin inhibitor and mycophenolato mofetil: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Transplantation* 78: 1548-1556.

Perry DK, et al (2009) Proteasoma inhibition causes apoptosis of normal human plasma cells preventing alloantibody production. *American Journal of Transplantation* 9: 201-209.

Rowshani AT, et al (2006) No difference in degree of interstitial sirius red-stained area in serial biopsies from AUC over time curves-guided CsA vs. Tac treated renal transplant recipients at one year. *Journal of the American Society of Nephrology* 17: 305-312.

Russ G, et al (2005) Superior outcomes in renal transplantation after early cyclosporine withdrawal and sirolimus maintenance therapy, regardless of baseline renal function. *Transplantation* 80: 1204-1211.

Scherer MN, et al (2007) Current concepts and perspectives of immunosuppression in organ transplantation. *Langenbecks' Archives of Surgery* 392: 511-523.

Shapira MY, et al (2009) Alefacept treatment for refractory chronic extensive GVHD. *Bone Marrow Transplantation* 43: 339-343.

Tedesco H, et al (2006) Immunotherapy for De Novo Renal Transplantation: What's in the pipeline? *Drugs* 66(13) 1665-1684.

Trivedi HL, et al (2009) Abrogation of anti-HLA antibodies via proteasome inhibition. *Transplantation* 87: 1555-1561.

Vella J, Brennan DC, Post TW (2010) Investigational immunosuppressive drugs and approaches in clinical kidney transplantation. *In press*.



Vincenti F, et al (2010) A Phase III Study of Belatacept based Immunosuppression Regimens vs Cyclosporine in Renal Transplant Recipients (BENEFIT Study). American Journal of Transplantation. *In press*.

Vincenti F, et al (2005) Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. New England Journal of Medicine 353: 770-781.

Vincenti F, et al (2008) What's next in the pipeline. American Journal of Transplantation 8: 1972-1981.

Vincenti F (2002) What's in the Pipeline? New Immunosuppressive Drugs in Transplantation. American Journal of Transplantation 2: 898-903.

Weaver TA, et al (2009) Alefacept promotes co-stimulation blockade based allograft survival. Nature Medicine 15: 746-749.

Wéclawiak H, et al (2010) Biological agents in kidney transplantation: belatacept is entering the field. Expert Opinion on Biological Therapy 10: 1501-1508.

Womer KL, Kaplan B (2009) Recent Developments in Kidney Transplantation – A Critical Assessment. American Journal Transplantation 9(6): 1265-1271.

## **Livros**

Kindt TJ, et al: Kuby IMMUNOLOGY, 6th edition. New York, W. H. Freeman and Company, 2007.

Pereira CA, Henriques J: Transplantação de órgãos e de tecidos. In Cirurgia – Patologia e Clínica, 2.<sup>a</sup> edição. McGraw-Hill, 2006.

Tanagho EA, McAninch JW: *Smith's* General Urology, 17th edition. USA, McGraw-Hill, 2008.

Townsend CM, et al: Sabiston Textbook of Surgery, 17th edition. Philadelphia, WB Saunders, 2004.

Warrel DA, et al: Oxford Textbook of Medicine Online.