ATUALIDADES EM

NEFROLOGIA

4

Jenner Cruz
Rui Toledo Barros

sarvier

ATUALIDADES EM

NEFROLOGIA

— 4 —

ATUALIDADES EM NEFROLOGIA 4

Coordenadores
Jenner Cruz
Rui Toledo Barros

Comissão Editorial
Elias David Neto, Ita Pfeferman Heilberg, Jenner Cruz, José Augusto Meneses da Silva, José Hermogenes Rocco Suassuna, Luiz Sérgio Fonseca Azevedo, Maria Eliete Pinheiro, Maria Ermecilia Almeida Melo, Maria Socorro Custódio Pestalozzi, Ricardo de Castro Cintra Sesso, Rui Toledo Barros, Tânia Maria Saboya de Araujo, Walter Luiz Gouvea Filho

Projeto Gráfico
CLR Balieiro Editores Ltda.

Fotolitos
Bureau Bandeirante de Pré-Impressão

Impressão/Acabamento
Editora Ave Maria Ltda.

Direitos Reservados
Nenhuma parte pode ser duplicada ou reproduzida sem expressa autorização do Editor

Sarvier
Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda.
Rua Dr. Amancio de Carvalho nº 459
CEP 04012-090 Telefax (011) 571-3439
São Paulo – Brasil

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Atualidades em nefrologia, 4 / coordenadores Jenner Cruz, Rui Toledo Barros. -- São Paulo : SARVIER, 1996.

Vários colaboradores.
Bibliografia.

1. Nefrologia 2. Rins – Doenças I. Cruz, Jenner. II. Barros, Rui Toledo.

96-3453 CDD-616.61
NLM-WJ 300

Índices para catálogo sistemático:

1. Doenças renais : Medicina 616.61
2. Nefrologia : Medicina 616.61
3. Rins : Doenças : Medicina 616.61

ATUALIDADES EM

NEFROLOGIA

— 4 —

Coordenadores

JENNER CRUZ
RUI TOLEDO BARROS

Comissão Editorial

Elias David Neto
Ita Pfeferman Heilberg
Jenner Cruz
José Augusto Meneses da Silva
José Hermogenes Rocco Suassuna
Luiz Sérgio Fonseca Azevedo
Maria Eliete Pinheiro
Maria Ermecilia Almeida Melo
Maria Socorro Custódio Pestalozzi
Ricardo de Castro Cintra Sesso
Rui Toledo Barros
Tânia Maria Saboya de Araujo
Walter Luiz Gouvea Filho

◆

Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda.
Rua Dr. Amancio de Carvalho nº 459
CEP 04012-090 Telefax (011) 571-3439
São Paulo - Brasil

São Paulo – 1996 – Brasil

A minha esposa
Helga Maria
e a meu neto
Guilherme,

Jenner Cruz

COLABORADORES

◆

Adam Stefanski

Professor Assistente, Departamento de Medicina Interna, Universidade Ruperto Carola, Heidelberg, Alemanha.

Alvaro Pacheco Silva

Professor Adjunto da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina e Pesquisador do CNPq.

Ana Durce Oliveira da Paixão

Doutora em Nefrologia pela Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina e Professora Adjunta da Disciplina de Farmacologia da Universidade Federal de Alagoas.

André Luís Balbi

Médico Nefrologista, Pós-Graduando do Curso de Fisiopatologia em Clínica Médica, da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Antonio Bartolomeu Cruzera

Médico Comissionado do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas e Pós-Graduando em Nível de Doutorado na Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Antonio Carlos Seguro

Livre-Docente e Médico Assistente Docente do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas e Responsável pelo Laboratório de Pesquisa Básica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Antonio Eduardo Silva

Professor Adjunto Doutor da Disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Antonio José Barros Magaldi

Doutor em Nefrologia e Médico Assistente Doutor do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Antonio Marmo Lucon

Professor Associado da Disciplina de Urologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Aparecido B. Pereira

Professor Adjunto da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Ayrton Cassio Fratezzi

Professor Assistente Doutor do Instituto de Radiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Carlos Alberto Balda

Mestre em Nefrologia pela Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Carlos Eduardo Negrão

Professor Titular da Disciplina de Fisiologia do Exercício da Escola de Educação Física da Universidade de São Paulo e Pesquisador do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Carlos José Martins Pena

Médico Nefrologista, Pós-Graduando da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Celso Amodeo

Médico do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. Pós-Graduando em Nível de Doutorado da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Claudia Maria de Barros Helou

Doutora em Nefrologia e Médica Assistente Doutora do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

David Saitovitch

Doutorando (Ph. D.) do Departamento de Cirurgia Nuffield da Universidade de Oxford, Inglaterra. Bolsista da CAPES.

Décio Mion Jr.

Doutor em Medicina e Chefe da Unidade de Hipertensão Arterial do Hospital das Clínicas e da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Domingos O. d'Ávila

Professor Titular, Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS), Chefe do Serviço de Nefrologia do Hospital São Lucas da PUC-RS, Porto Alegre.

Dulce Elena Casarini

Pesquisadora e Professora do Curso de Pós-Graduação da Disciplina de Nefrologia, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Eberhard Ritz

Professor Titular, Departamento de Medicina Interna, Universidade Ruperto Carola, Heidelberg, Alemanha.

Edmundo Pessoa de Almeida Lopes

Professor Assistente da Disciplina de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco e Pós-Graduando da Disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Eduardo Mazzucchi

Médico Assistente da Unidade de Transplante Renal da Divisão de Clínica Urológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Elias David Neto

Doutor em Nefrologia, Médico Assistente Doutor da Unidade de Transplante Renal da Divisão de Clínica Urológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Elisa Mieko Suemitsu Higa

Doutora em Nefrologia pela Escola Paulista de Medicina. Pós-Doutorado na Division of Renal Diseases and Hypertension, University of Colorado Health Sciences Center. Médica e Pesquisadora da Disciplina de Nefrologia, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Elisabete A. dos Santos

Biologista, Pós-Graduanda de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

Emmanuel de Almeida Burdmann

Livre-Docente, Supervisor do Grupo de Insuficiência Renal Aguda do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Euthymia Brandão de Almeida Prado

Doutora em Nefrologia, Médica Assistente Doutora do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas e Responsável pelo Grupo de Imunopatologia Renal da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Fabio B. Lima

Professor Associado do Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

Flávio Jota de Paula

Médico Assistente Doutor da Unidade de Transplante Renal da Divisão de Clínica Urológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Francisco Habermann

Professor Assistente Doutor da Disciplina de Nefrologia, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Francisco Monteiro

Pós-Graduando em Nefrologia, em Nível de Doutorado, da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Frederico Castelo Branco Cavalcanti

Doutor em Nefrologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Frida Liane Plavnik

Mestre em Nefrologia, Pós-Graduanda em Nível de Doutorado da Disciplina de Nefrologia, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Gianna Mastroianni Kirsztajn

Doutora em Nefrologia pela Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Hélio Gomes Cardim Silva

Médico Assistente da Clínica de Nefrologia do Departamento de Medicina da Santa Casa de São Paulo e Professor Instrutor da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

Heloísa Cattini Perrone

Mestre e Doutora em Nefrologia pela Escola Paulista de Medicina, Professora Adjunta do Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

Hugo Abensur

Médico Assistente Doutor da Unidade de Diálise do Serviço de Nefrologia e Médico Chefe do Ambulatório de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Irene de Lourdes Noronha

Médica Assistente Doutora do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Ita Pfeferman Heilberg

Mestre e Doutora em Nefrologia pela Escola Paulista de Medicina, Coordenadora do Ambulatório de Litíase Renal, Professora Orientadora de Disciplina de Nefrologia, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Jenner Cruz

Livre-Docente e Professor Titular da Disciplina de Nefrologia do Curso de Medicina da Universidade de Mogi das Cruzes, Médico Assistente Docente do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

João Egídio Romão Júnior

Livre-Docente em Nefrologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Supervisor da Unidade de Diálise e Assistente da Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Joel C. Heimann

Professor Associado da Disciplina de Nefrologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Jorge Elias Kalil Filho

Livre-Docente de Imunologia e Professor Assistente Docente da Disciplina de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

José Augusto Meneses da Silva

Chefe do Serviço de Nefrologia do Hospital Semper, Médico Nefrologista do Centro de Tratamento de Cálculos Renais e Biliares – Lithocentro – e Coordenador do Estudo Multicêntrico Brasileiro em Litíase – Multilit –, da Região de Minas Gerais.

José Luiz Monteiro

Professor Assistente Doutor da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

José Mauro Vieira Júnior

Pós-Graduando em Nível de Doutorado da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

José Nery Praxedes

Professor Assistente Doutor da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Julio Toporovski

Professor Titular do Departamento de Pediatria e Puericultura, Diretor da Unidade de Nefrologia Infantil e Diretor do Departamento de Pediatria e Puericultura da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

Kaethy Bisan Alves

Professor Adjunto do Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Lígia Araújo Martini

Mestre em Nutrição pela Escola Paulista de Medicina, Nutricionista do Ambulatório de Litíase Renal, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Lucila Maria Valente Lopes

Pós-Graduanda da Disciplina de Nefrologia, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Luís Cuadrado Martin

Médico Nefrologista, Pós-Graduando do Curso de Fisiopatologia em Clínica Médica da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Luís Yu

Doutor em Nefrologia, Médico Assistente Doutor do Grupo de Insuficiência Renal Aguda do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Luiz Antonio Miorin

Doutor em Nefrologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Médico Assistente da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

Manuel Carlos Martins de Castro

Mestre e Doutor em Nefrologia, Médico Assistente Doutor da Unidade de Diálise do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Marcello Fabiano de Franco

Professor Titular do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Marcos Roberto de Assis Pinto

Médico Nefrologista, Pós-Graduando em Nível de Doutorado, da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Maria Benedita Barbosa Reis

Médica Assistente do Serviço de Emergências Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Maria de Fátima Fernandes Váttimo

Mestre em Biologia Molecular, Pós-Graduanda em Nível de Doutorado da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal do Estado de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Maria do Carmo Borges Teixeira

Doutora em Nefrologia pela Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Maria Fernanda C. Carvalho

Mestre em Nefrologia, Professora Assistente da Disciplina de Nefrologia, do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Mayumi Shima

Nutricionista da Unidade de Diálise do Serviço de Nefrologia e da Divisão de Nutrição e Dietética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Miguel Carlos Riella

Professor Titular de Clínica Médica, Chefe do Departamento de Clínica Médica, Diretor do Serviço de Nefrologia da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná.

Miguel Cendoroglo Neto

Professor Adjunto Doutor da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Mirian A. Boim

Biomédica, Pesquisadora Associada da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Myrthes Toledo Barros

Doutora em Imunologia, Médica Assistente Doutora do Serviço de Alergia e Imunopatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Naomi S. Hell

Professor Titular do Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

Nereida Kilza da Costa Lima

Médica Assistente Doutora do Centro de Saúde Escola da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Nestor Schor

Livre-Docente, Professor Titular da Disciplina de Nefrologia e Chefe do Ambulatório de Litíase Renal da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Nicolas Panajotopoulos

Pesquisador do Laboratório de Imunologia do Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Estado de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Odair Marson

Professor Adjunto da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Oscar Fernando Pavão dos Santos

Professor Adjunto da Disciplina de Nefrologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Pasqual Barretti

Mestre em Nefrologia, Professor Assistente da Disciplina de Nefrologia, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Paulo César Ayroza Galvão

Médico Assistente do Grupo de Insuficiência Renal Aguda do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e Pós-Graduando em Nível de Doutorado da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Paulo Roberto O. Faraco

Médico do Serviço de Nefrologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Professor Permanente do Curso de Mestrado em Nefrologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, "Doctor of Philosophy" pela Universidade de Melbourne, Austrália.

Pedro Jabur

Professor Titular de Nefrologia, Departamento de Medicina da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

Peter J. Morris

Professor Titular do Departamento de Cirurgia Nuffield, Universidade de Oxford, John Radcliffe Hospital, Headington, Oxford, Inglaterra.

Priscilla Kincaid-Smith

Professor Emérito de Medicina, Departamento de Patologia, Universidade de Melbourne, Vitória, Austrália.

Regina Célia Rodrigues de Moraes Abdulkader

Mestre e Doutora em Fisiologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Médica Assistente Doutora do Laboratório de Fisiopatologia Renal e do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Grupo de Insuficiência Renal Aguda.

Renato Costa Monteiro Filho

Pesquisador do Instituto Nacional de Saúde e Pesquisa Médica da França (INSERM), Responsável pelo Grupo de Pesquisa "Imunologie Strutturale", da Unidade 25 do INSERM, Hospital Necker, Paris, França.

Ricardo de Castro Cintra Sesso

Professor Adjunto da Disciplina de Nefrologia, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Roberto Jorge da Silva Franco

Professor Assistente Doutor da Disciplina de Nefrologia, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Roberto Zatz

Livre-Docente e Professor Associado da Disciplina de Nefrologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Rui Toledo Barros

Professor Assistente Doutor da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Sami Arap

Professor Titular da Disciplina de Urologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Valéria Pereira Lanzoni

Professor Adjunto Doutor do Departamento de Medicina e do Departamento de Anatomia Patológica da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Vanda Jorgetti

Doutora em Nefrologia, Médica Assistente Doutora do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Vera H. Koch

Mestre em Pediatria pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Chefe da Unidade de Nefrologia Pediátrica do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Vicente César Massola

Mestre e Doutor em Nefrologia, Supervisor da Unidade de Diálise do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Nefrologia da Universidade de São Paulo e Diretor do Serviço de Nefrologia do Hospital do Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira".

Virgílio Gonçalves Pereira Júnior

Pós-Graduando em Nível de Doutorado da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Vitor A. Soares

Professor Assistente Doutor da Disciplina de Nefrologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

William Carlos Nahas

Superviror da Unidade de Transplante Renal da Divisão de Clínica Urológica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Yvoty Alves dos Santos Sens

Doutora em Nefrologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Professor Adjunto da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Ciências Médicas e Chefe da Clínica de Nefrologia do Departamento de Medicina da Santa Casa de São Paulo.

PREFÁCIO

◆

Atualidades em Nefrologia 4 retrata o esforço e o compromisso do Departamento de Nefrologia Clínica da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN) em disseminar informações atualizadas e relevantes.

Com 50 capítulos, abordando os mais variados temas nefrológicos, os editores Jenner Cruz e Rui Toledo Barros conseguiram expressivo número de colaboradores nacionais e internacionais.

Apraz-me prefaciar esta nova publicação, pois esta vem de encontro à filosofia da atual diretoria, a de investir em Educação Médica Continuada.

Oxalá o exemplo possa ser seguido pelos demais Departamentos da SBN!

Parabéns aos editores e à Nefrologia Brasileira.

Miguel C. Riella

Presidente da SBN 1995-1996

APRESENTAÇÃO

◆

ATUALIDADES EM NEFROLOGIA 4 é o quarto volume de uma série iniciada em 1988 quando fui Coordenador do Departamento de Nefrologia Clínica da Sociedade Brasileira de Nefrologia. Desde o primeiro volume os direitos autorais desta obra revertem integralmente para a Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN).

Em virtude da possibilidade de alteração dos Estatutos da Sociedade, vetando a reeleição dos membros dos Departamentos resolveu-se diminuir o número de editores e criar uma Comissão Editorial a ser escolhida entre os membros do antigo Departamento de Nefrologia Clínica e os candidatos ao atual, eleitos em 1994 e coordenada pelo Prof. Rui Toledo Barros. Decidiu-se que seriam convidados, para compor a presente obra, autores indicados pelos Presidente da SBN, Coordenadores dos Departamentos, Presidentes das Regionais, membros da Comissão Editorial, e responsáveis pelos principais centros universitários do Brasil. Como no ATUALIDADES EM NEFROLOGIA 3, eminentes professores, residentes no exterior, foram também convidados a colaborar. Contou-se com o grande auxílio dos Professores Irene de Lourdes Noronha, Luiz Sérgio Fonseca Azevedo, Paulo Roberto O. Faraco e Vanda Jorgetti, para recebimento das colaborações dos Professores Eberhard Ritz, Peter J. Morris, Priscilla Kincaid-Smith e Renato Costa Monteiro Filho, a quem muito agradecemos.

Dos três trabalhos recebidos em inglês resolvemos traduzir o da Profª Kincaid-Smith, onde ela emitiu idéias originais sobre o quadro clínico da nefropatia da IgA. Como eram suas idéias, a Autora não achou necessário incluir referências bibliográficas no trabalho.

Queremos agradecer à Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda. e à sua equipe de produção e em especial à senhora Maria Ofélia da Costa Seraphim pela revisão do texto e particularmente aos Autores e Colaboradores dos capítulos desta obra que lhes pertence.

A todos, nosso muito obrigado,

Jenner Cruz
Rui Toledo Barros

CONTEÚDO

1. EMBRIOGÊNESE RENAL 1
Maria de Fátima Fernandes Váttimo
Oscar Fernando Pavão dos Santos

2. SEDIMENTO URINÁRIO REVISITADO .. 8
Paulo Roberto O. Faraco

3. RESERVA FUNCIONAL RENAL 15
Luiz Antonio Miorin
Regina Célia Rodrigues de Moraes Abdulkader
Euthymia Brandão de Almeida Prado

4. INFLUÊNCIA DE FATORES REOLÓGICOS NA FUNÇÃO RENAL 21
Ana Durce Oliveira da Paixão
Nestor Schor

5. DISTÚRBIOS ELETROLÍTICOS NO PACIENTE CRÍTICO 28
Antonio Carlos Seguro
Antonio José Barros Magaldi
Claudia Maria de Barros Helou

6. PROTEÍNAS DE BAIXO PESO MOLECULAR EM GLOMERULOPATIAS: UMA PRIMEIRA ABORDAGEM 43
Gianna Mastroianni Kirsztajn
Aparecido B. Pereira

7. MICROALBUMINÚRIA EM DIABÉTICOS, HIPERTENSOS E IDOSOS 52
Jenner Cruz
Antonio Bartolomeu Cruzera

8. RIM E FATORES DE CRESCIMENTO 58
Irene de Lourdes Noronha

9. PATOGÊNESE DAS GLOMERULOPATIAS PROGRESSIVAS: PAPEL DA HIPERTENSÃO E DA HIPERTROFIA GLOMERULARES 73
Roberto Zatz

10. GLOMERULONEFRITE MEMBRANOPROLIFERATIVA IDIOPÁTICA 81
Maria Fernanda C. Carvalho
Marcello Fabiano de Franco
Vitor A. Soares

11. ASPECTOS MOLECULARES DAS DOENÇAS AUTO-IMUNES 93
Carlos Alberto Balda
Alvaro Pacheco Silva

12. MECANISMOS IMUNOLÓGICOS DA NEFROPATIA DA IgA: PAPEL DOS RECEPTORES CELULARES 104
Renato Costa Monteiro Filho

13. GLOMERULONEFRITE MESANGIAL DA IgA 111
Priscilla Kincaid-Smith

14. GLOMERULOPATIA ASSOCIADA AOS VÍRUS DAS HEPATITES B e C 115
Lucila Maria Valente Lopes
Edmundo Pessoa de Almeida Lopes
Ricardo de Castro Cintra Sesso

15. TRATAMENTO IMUNOSSUPRESSOR DA NEFRITE LÚPICA 124
Rui Toledo Barros

16. AMILOIDOSE RENAL 129
Marcos Roberto de Assis Pinto
Euthymia Brandão de Almeida Prado

17. HEMATÚRIA EM PORTADORES DE TRAÇO FALCIFORME 138
Ivoty Alves dos Santos Sens
Luiz Antonio Miorin
Hélio Gomes Cardim Silva
Pedro Jabur

18. COMPROMETIMENTO RENAL NA HANSENÍASE 144
Gianna Mastroianni Kirsztajn
Aparecido B. Pereira

19. NEPHROPATHY IN TYPE II DIABETES 154
Eberhard Ritz
Adam Stefanski

20. NEFROTOXICIDADE DA ANFOTERICINA B 162
José Luiz Monteiro

21. AVANÇOS DA BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR NA INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA 168
Mirian A. Boim
Oscar Fernando Pavão dos Santos
Nestor Schor

22. FISIOPATOLOGIA DA INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA PÓS-RENAL 179
Carlos José Martins Pena
Nestor Schor

23. INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA ASSOCIADA À INSUFICIÊNCIA CARDÍACA 186
Regina Célia Rodrigues de Moraes Abdulkader

24. INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA E FALÊNCIA DE MÚLTIPLOS ÓRGÃOS 190
Domingos O. d'Ávila

25. AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DIALÍTICA DA DIÁLISE PERITONEAL AMBULATORIAL CONTÍNUA 197
Hugo Abensur

26. ASPECTOS NUTRICIONAIS OBSERVADOS EM CRIANÇAS EM DIÁLISE PERITONEAL AMBULATORIAL CONTÍNUA 200
Maria Benedita Barbosa Reis
Mayumi Shima
João Egídio Romão Júnior

27. PRESCRIÇÃO DE ANTIBIÓTICOS EM PERITONITES 208
Miguel Carlos Riella

28. MÉTODOS DIALÍTICOS EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA 215
Paulo César Ayroza Galvão
Luís Yu

29. SISTEMAS VASOATIVOS ATUANTES NA HEMODIÁLISE 222
Manuel Carlos Martins de Castro

30. RESPOSTA IMUNOLÓGICA NA UREMIA 230
Myrthes Toledo Barros
João Egídio Romão Júnior

31. TOXICIDADE DA UREMIA 241
Vicente César Massola

32. HIPERTENSÃO ARTERIAL ESSENCIAL COMO CAUSA DE INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA 248
André Luís Balbi
Luís Cuadrado Martin
Pasqual Barretti
Francisco Habermann
Roberto Jorge da Silva Franco

33. LESÕES HISTOLÓGICAS HEPÁTICAS EM PACIENTES RENAIS CRÔNICOS COM HEPATITE B e C 256
Miguel Cendoroglo Neto
Valéria Pereira Lanzoni
Antonio Eduardo Silva

34. TERAPIA IMUNOSSUPRESSORA E TECIDO ÓSSEO 263
Virgílio Gonçalves Pereira Júnior
Vanda Jorgetti

35. DOENÇA ÓSSEA NA HIPERCALCIÚRIA 268
Ita Pfeferman Heilberg
Lígia Araújo Martini
Heloísa Cattini Perrone
Nestor Schor

36. ABORDAGEM DE FAMILIARES NA DOAÇÃO DE ÓRGÃOS DE CADÁVERES 276
Flávio Jota de Paula
Frederico Castelo Branco Cavalcanti

37. CAPTAÇÃO E MANUTENÇÃO DE DOADORES CADÁVERES 280
Flávio Jota de Paula
Frederico Castelo Branco Cavalcanti

38. TRANSPLANTE RENAL EM SITUAÇÕES UROLÓGICAS ESPECIAIS 286
William Carlos Nahas
Eduardo Mazzucchi
Elias David Neto
Sami Arap

39. NEFROTOXICIDADE POR CICLOSPORINA 291
José Mauro Vieira Júnior
Emmanuel de Almeida Burdmann

40. NOVAS TÉCNICAS DE PROVAS CRUZADAS UTILIZADAS NO TRANSPLANTE RENAL 301
Francisco Monteiro
Nicolas Panajotopoulos
Jorge Elias Kalil Filho

41. NON-PHARMACOLOGIAL MECHANISMS OF GRAFT TOLERANCE 312
David Saitovitch
Peter J. Morris

42. HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA PÓS-TRANSPLANTE RENAL 331
Maria do Carmo Borges Teixeira
Elias David Neto

43. BACTERIOLOGIA E QUADRO CLÍNICO DA INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO NA INFÂNCIA 337
Julio Toporovski

44. LITOTRIPSIA EXTRACORPÓREA POR ONDAS DE CHOQUE (LECO) 344
José Augusto Meneses da Silva

45. O ÓXIDO NÍTRICO E O RIM 357
Elisa Mieko Suemitsu Higa

46. MONITORIZAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL NA CRIANÇA 366
Vera H. Koch
Décio Mion Jr.

47. ATIVIDADE DA ENZIMA CONVERSORA DA ANGIOTENSINA I (CININASE II) NA URINA DE HIPERTENSOS E NORMOTENSOS 369
Dulce Elena Casarini
Frida Liane Plavnik
Kaethy Bisan Alves
Odair Marson

48. HIPERTENSÃO E RESISTÊNCIA À INSULINA 375
Nereida Kilza da Costa Lima
Fabio B. Lima
Naomi S. Hell
Elisabete A. dos Santos
Joel C. Heimann

49. HIPERTENSÃO ARTERIAL RENOVASCULAR 382
José Nery Praxedes
Antonio Marmo Lucon
Ayrton Cassio Fratezzi

50. TRATAMENTO NÃO-FARMACOLÓGICO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL: RESTRIÇÃO DE SAL E EXERCÍCIO FÍSICO 403
Joel C. Heimann
Nereida Kilza da Costa Lima
Celso Amodeo
Carlos Eduardo Negrão

ÍNDICE REMISSIVO 411

1

EMBRIOGÊNESE RENAL

Maria de Fátima Fernandes Váttimo
Oscar Fernando Pavão dos Santos

INTRODUÇÃO

A complexidade funcional e estrutural dos néfrons dos mamíferos tem íntima relação com as diversas e coordenadas fases que levam ao seu total desenvolvimento. Vários modelos experimentais têm sido aplicados no sentido de elucidar os mecanismos celulares e moleculares envolvidos na nefrogênese, ou seja, os processos pelos quais células indiferenciadas e desprovidas de polaridade apicobasolateral ou junções intercelulares se transformam em glomérulo, túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal e sistema coletor.

Assim, este capítulo descreverá a embriologia básica para o desenvolvimento renal, considerando os aspectos celulares e moleculares mais relevantes envolvidos neste evento.

NEFROGÊNESE

Em humanos, o desenvolvimento do rim metanéfrico, o rim permanente, ocorre durante a quarta ou quinta semana de gestação, sendo que em comparação a outros órgãos o rim é o de desenvolvimento mais tardio na embriogênese. Sabe-se porém que antes da formação do metanéfron podem ser distinguidos o pronéfron e o mesonéfron, sendo que o primeiro é uma estrutura transitória e não funcionante e aparece no embrião humano no início da quarta semana de gestação. O mesonéfron é mais volumoso, surge no final desta mesma semana e não há evidências de sua função[1].

O broto ureteral, sabidamente o indutor gênese do metanéfron, deriva do ducto pronéfrico, sendo que o último é originário do cordão nefrogênico do mesoderma intermediário. Dessa forma, o desenvolvimento do rim permanente depende diretamente de algumas interações mesênquimo-epiteliais que iniciam a diferenciação em outros órgãos e tecidos[2].

Estudos em camundongos demonstram que o desenvolvimento do metanéfron se inicia no 11º dia da gestação e em ratas ao redor do 12º dia[3], merecendo estes animais grande destaque neste capítulo, tendo em vista que parte dominante dos conhecimentos desta área se baseia em investigações experimentais.

O evento de iniciação da formação do metanéfron exige um "reconhecimento" entre as células do mesênquima do blastema metanéfrico (também conhecido como metanefrogênico ou mesênquima metanéfrico) e as células epiteliais do broto ureteral, uma expansão caudal do ducto de Wolff. Este evento recíproco é chamado indução, e envolve basicamente o broto ureteral e o mesênquima metanéfrico e já foi demonstrado que os dois tecidos devem manter algum contato físico célula-célula para que se concretize a indução[3]. Mais recentemente, porém, este conceito foi ampliado de forma a considerar a liberação de inducinas pelo broto ureteral, as quais incitam as células do mesênquima metanéfrico indiferenciado a aderirem umas às outras e eventualmente formarem um epitélio polarizado com diferentes fenótipos que podem compreender glomérulos, túbulos proximais e distais e alça de Henle[2].

Recentemente foi identificada uma proteína que poderia estar envolvida com o processo de indução, que foi denominada epimorfina. Embora classificada como uma possível promotora da conversão mesênquimo-epitelial no bulbo capilar, apresenta também forte expressão no broto ureteral e, provavelmente, mantém comunicação com o mesênquima metanéfrico. Porém, os mecanismos intracelulares através dos quais a epi-

morfina atuaria são desconhecidos[4]. Esta compactação das células epiteliais leva posteriormente à formação de agregados que originam a vesícula renal.

Há, porém, um espaço substancial de conhecimento a respeito dos eventos pós-indução ao nível de genoma até a resposta das células do mesênquima a se epitelizarem. De fato, os estágios iniciais desta fase requerem interações morfogenéticas entre as células mesenquimais, de forma que o passo evolutivo seguinte se caracteriza pela proliferação das células do broto ureteral invadindo o mesênquima, levando ao crescimento e à bifurcação do broto, expandindo o córtex[5]. As vesículas renais, formadas pelo agrupamento das células mesenquimais no broto ureteral, assumem um formato de "vírgula" ("comma-shape"), fenômeno este favorecido pela expressão de "sindecan", uma glicoproteína da matriz extracelular, e servem no futuro para a diferenciação dos epitélios glomerular e tubular[6,7,8].

Um segundo estágio nesta transição envolve uma completa mudança na natureza molecular das células em cada agregado, de forma que elas se polarizam e se transformam em células epiteliais, que a seguir perdem as moléculas de superfície e da matriz intra e extracelular, além da molécula de adesão celular neural (N-CAM), a vimentina e o colágeno, respectivamente. Somente após um ou dois dias estas proteínas serão repostas com proteínas da uvomorulina, citoqueratina e proteínas da membrana basal[9,10,11,12]. O fenômeno de alteração do fenótipo das células mesenquimais é denominado conversão.

A conversão de células mesenquimais não polarizadas para um epitélio que se transformará em rim será mais profundamente analisada nas págs. 4-5, onde se discorrerá a respeito do estabelecimento da polaridade.

Segue-se então a formação de lúmen, sendo que com o crescimento o "comma-shape" se transforma em "s-shape", os túbulos se alongam e os podócitos glomerulares se tornam sinuosos. Os "s-shape" fundem-se com as ramificações do broto ureteral e por último formam os ductos coletores e o sistema pielocalicial e, concomitantemente, as regiões adjacentes se transformam em túbulo contorcido proximal, desenvolvendo a borda "em escova" em sua superfície interna. Os primeiros glomérulos darão origem àqueles localizados mais distalmente do broto ureteral. Os vasos da aorta distal invadem os glomérulos em desenvolvimento, levando por último ao crescimento dos capilares glomerulares. O desenvolvimento deste rim imaturo começa ao redor do 11º dia no camundongo e termina por volta do 17º dia[3,5,9,10,13].

Logicamente, considerando a complexidade das diversas fases do desenvolvimento renal, tornou-se compulsória a adoção de estudos experimentais para seu melhor detalhamento, e certamente apenas o desenvolvimento de técnicas cada vez mais sofisticadas no que diz respeito aos modelos de estudo da nefrogênese tornou viável a compreensão mais ampla deste evento. Assim, detalharemos a seguir alguns dos modelos mais importantes utilizados atualmente nesta área, uma vez que, indubitavelmente, as alterações ocorridas nesta fase são pré-requisitos para a instalação de doenças renais pós-natais como displasias congênitas, glomerulopatias hereditárias e formas infantil e adulta de rim policístico.

Cultura de rim embrionário

A técnica de cultura de órgão idealizada por Grobstein nos anos 50 tem viabilizado diversas investigações nesta área até os dias de hoje. Através dela observou-se que muitos fenômenos envolvidos no desenvolvimento do mesênquima, da indução em diante, podem ser mimetizados *in vitro* com a cultura do mesênquima metanéfrico na presença de um indutor, de um meio sem soro bovino, porém suplementado com hormônios e outros co-fatores. Nesta técnica, o rim embrionário, de aproximadamente 11 dias de gestação no camundungo, é obtido através de microdissecção, isolado do broto ureteral e demais estruturas e co-cultivado através de um filtro semipermeável com um órgão indutor, utilizando mais freqüentemente a medula espinhal embrionária, retina ou glândula salivar, sendo que os tecidos nervosos tendem a se mostrar os mais potentes indutores e muito provavelmente melhores do que o próprio broto ureteral. O rim embrionário pode também ser cultivado sem agente indutor nas mesmas condições de cultivo, porém, observa-se que o endotélio capilar glomerular não se desenvolve[2,14]. Entretanto, observou-se que a indução ocorria desde que houvesse contato físico entre as estruturas, ou seja, ao se cultivar o mesênquima metanéfrico no espaço superior e o tecido epitelial nervoso no espaço inferior, separados por membranas com poros que fossem suficientemente pequenos para impedir o contato célula-célula, detectou-se a interrupção do processo de indução.

Este modelo experimental tornou possível o estudo da atuação de vários fatores de crescimento e componentes da matriz extracelular na nefrogênese, através da modulação do meio com anticorpos, oligonucleotídeos anti-sense e até pela

ação direta de ativadores ou inibidores sintéticos de processos biológicos, como agentes responsáveis pela sinalização intracelular.

Em relação à matriz extracelular (MEC), este modelo de cultura de rim embrionário possibilitou o estudo da laminina, uma glicoproteína que compõe a matriz extracelular e que assume função vital para a formação do epitélio polarizado, que uma vez suprimida do meio de cultura por meio de anticorpos se observa grande prejuízo na nefrogênese[15]. Outros estudos que avaliaram a expressão de diferentes componentes da matriz sugerem que os proteoglicanos (heparan e sindecan) e a tenascina (proteína de matriz) atuam no processo de indução mesênquimo-epitelial[16,17]. Entretanto, grande parte dos componentes da matriz extracelular e moléculas de adesão apresentam padrão de expressão que se modifica com o decorrer das horas no rim em cultura, dificultando assim a interpretação dos resultados dessas modificações quando correlacionados com a nefrogênese.

Torna-se lógico imaginar que os processos de diferenciação e crescimento estarão diretamente relacionados com mecanismos regulatórios muito rigorosos. As matrizes extracelulares, em associação com as moléculas de adesão, funcionarão como pontes de comunicação entre substâncias externas e o meio intracelular. Temporalmente, matrizes mais "tubulogênicas" ou "estimuladoras de crescimento" se ativarão e serão equilibradas por matrizes "inibitórias". Ressalta-se como matrizes "estimulatórias" o colágeno tipo I, a laminina, a fibronectina, sendo que o colágeno tipo IV, a vitronectina e o heparan sulfato apresentam efeito "inibitório"[18]. Obviamente, as enzimas proteolíticas apresentam papel fundamental neste processo de regulação de crescimento por sua ação sobre as matrizes.

Além do estudo da MEC, este modelo tem permitido a avaliação da atuação de diversos fatores de crescimento durante a embriogênese renal, sendo que através do emprego de oligonucleotídeos sense e anti-sense tornou-se possível a identificação do tecido e, em alguns casos, o tipo específico de célula responsável pela produção de determinado fator de crescimento.

Observou-se, portanto, que o emprego de oligonucleotídeos sense caracterizou a participação do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I), que uma vez adicionado ao meio de cultura induz aumento no rim metanéfrico com acentuação dos seus lóbulos e uma elevação na população de néfrons[19]. Por outro lado, foi observado distúrbio significante de crescimento quando utilizado um oligonucleotídeo anti-sense (impede a produção de uma proteína ligadora de um RNAm específico) contra o receptor do fator de crescimento de nervos (NGF)[20].

Ao fator de crescimento de transformação alfa (TGF-α) tem sido atribuído efeito tubulogênico e de desenvolvimento epitelial na fase de formação do sistema coletor urinário a partir do broto ureteral, porém no que diz respeito aos tecidos que se ramificam (pâncreas, rim, glândula salivar e mama) tem sido relatado efeito inibitório ao fator de crescimento de transformação beta (TGF-β)[21,22,23,24].

Foi observado por Santos e cols, através do modelo de rim embrionário co-cultivado com gel de células epiteliais de rim de cão ("Madin-Darby canine kidney" – MDCK), manutenção da nefrogênese através da suplementação do meio com bloqueador do fator de crescimento epidérmico, destituindo deste a participação nesta fase de desenvolvimento[25]. Com relação à fase de angiogênese renal, tem sido relatado efeito estimulatório do fator de crescimento de fibroblasto básico (bFGF), que demonstrou participação também na fase de formação dos glomérulos[26]. Nos últimos cinco anos o fator de crescimento hepático (HGF) tem recebido grande destaque como modulador do desenvolvimento renal. Embora animais "knockout" para HGF tenham apresentado desenvolvimento próximo ao normal, os estudos *in vitro* sugerem que a inibição ou bloqueio do HGF causa prejuízo na diferenciação e no crescimento renal. Postula-se que a interação e a integridade do eixo HGF e seu receptor de membrana, o c-met, sejam fundamentais para o desenvolvimento adequado do rim[26]. Possíveis distúrbios nesse eixo podem promover ou no mínimo tomar parte da gênese da doença policística do adulto.

Estudos mais detalhados mostram que a resposta celular aos diversos fatores de crescimento depende não só de sua inter-relação com a MEC, mas também do tipo celular envolvido. A atividade morfogenética do HGF, TGF-α e EGF (fator de crescimento da epiderme) difere em intensidade e importância, como observado em estudos de cultura de células MDCK ou IMCD (células do ducto coletor medular interno)[21].

Assim, pode-se concluir que a relação entre os fatores de crescimento e a embriogênese renal é um campo de pesquisa amplo e que ainda merece muita atenção por parte dos pesquisadores desta área, no sentido de elucidar os mecanismos moleculares desencadeados por cada um destes agentes e que originam transformações morfológicas durante o crescimento e o desenvolvimento renal.

Contudo, como nesta fase de desenvolvimento múltiplos processos celulares e moleculares estão envolvidos, ocorrem simultaneamente,

e seguramente diversas linhagens celulares são acionadas, é difícil distinguir através deste modelo um processo ou tipo celular isolados, dificuldade esta que limita a utilização deste método de estudo.

Dessa forma, os estudos com rim embrionário entraram em sua fase de manipulação molecular, e o desenvolvimento da tecnologia transgênica e a ruptura gênica passaram a assumir papel fundamental nesta área. Porém, apesar de uma discussão mais detalhada deste assunto não ser objetivo deste capítulo, torna-se compulsória a citação de algumas vantagens e desvantagens que estes métodos oferecem ao estudo da morfogênese renal.

A geração do camundongo "knockout" baseou-se na criação de uma lesão em determinado gene de interesse através da tecnologia de recombinação homóloga em células periféricas. Estas células passam a não expressar o gene preestabelecido e portanto suprimem sua função, incluindo aquela que participa do crescimento, conferindo, dessa forma, um novo fenótipo àquele animal. Fica lógico concluir os benefícios que essa manipulação pode trazer aos estudos dessa área. Entretanto, algumas limitações deste método devem ser citadas. Nem sempre fica fenotipicamente claro qual a característica afetada após a manobra gênica, de forma que a alteração observada no animal "knockout" pode ser confundida como uma conseqüência do "defeito"em outro órgão[27,28]. Por outro lado, esta técnica tem originado diversos animais com fenótipos relativamente normais, não podendo assim a alteração gênica ser correlacionada com qualquer resultado.

Além da técnica do camundongo "knockout", devemos citar também o modelo do camundongo transgênico, onde o gene é superexpressado, cujas finalidades são semelhantes àquelas descritas para os animais "knockout". Entretanto, a superexpressão do gene resultando em alteração fenotípica significante não é sempre clara e nem sempre as alterações observadas são conseqüentes a esta modificação gênica[29].

Assim sendo, estudos específicos na nefrogênese e na morfogênese epitelial obtidos através do método de rim embrionário, de células MDCK e de animais genericamente modelados têm revelado muita importância, porém são ainda insuficientes para a compreensão e definição de cada fase do desenvolvimento renal. Entretanto, o objetivo da discussão sobre os diversos métodos de estudo serve para enfatizar a utilidade dos múltiplos sistemas, cada um com uma vantagem em particular. Citaremos portanto outros dois modelos utilizados nesta área.

Modelos de cultura de célula para o estudo da morfogênese do epitélio polarizado

Como descrito anteriormente, logo após a indução se observa não só a expressão das moléculas de adesão celular e das proteínas da matriz, como também uma diferenciação desmossômica nos condensados mesenquimais seguindo-se pela polarização epitelial. Para melhor compreensão deste evento, desenvolveram-se modelos com células epiteliais que foram os únicos capazes de estudar, isoladamente, os mecanismos celulares envolvidos nesta fase.

Assim, as células MDCK assumem papel fundamental neste campo. Trata-se da linhagem celular mais amplamente estudada e homogênea de células epiteliais existentes[30] e que seguramente tem sido de importância indiscutível para o estudo do estabelecimento da polaridade apicobasolateral, do tráfego intracelular de proteínas e das junções intercelulares, características da célula epitelial matura, essenciais tanto para a futura função tubular como para os próprios mecanismos da tubulogênese epitelial e da morfogênese tubular[31].

Em vista de suas características de resistência e rápido crescimento em culturas, a célula MDCK proporcionou a idealização do protocolo "calcium-switch", que serviu como modelo primordial para estudos de eventos primários da formação do néfron. Resumidamente, sabe-se que a intensidade do contato célula-célula pode ser alterada variando-se a concentração de cálcio no meio de cultura, de tal forma que a redução da concentração deste íon a níveis de 5µmol/l resulta na diminuição do contato celular. As células tornam-se arredondadas, não estabelecendo junções intercelulares e comprometendo a polaridade epitelial. Por outro lado, concentrações elevadas de cálcio extracelular favorecem a formação das junções intercelulares e o estabelecimento da polaridade. Observa-se também uma reorganização do citoesqueleto, levando mais posteriormente à geração da resistência elétrica transepitelial, característica da formação das "tight junctions" e dos epitélios especializados em transporte[31]. A respeito da resistência elétrica celular, foi descrito que a uvomorulina, uma molécula de adesão, pode estar fortemente envolvida na geração desta característica proveniente do contato célula-célula, fato este que foi observado após sua inibição através de anticorpos (antiuvomorulina). Este modelo proporcionou também estudos a respeito do fenômeno de compactação epitelial, evento crucial na tubulogênese[32].

Observou-se que o citoesqueleto interage com a Na^+-K^+-ATPase citoplasmática para direcioná-la à membrana basal[33], e que o contato célula-célula redireciona as proteínas desmoplaquinas I e II (intracelulares) para a montagem dos desmossomos[34]. Não só o cálcio extracelular, como também o intracelular são importantes na formação de junções e da polaridade, atuando através de vias de fosforilação específicas, com inibição parcial da resistência transepitelial ("tight junctions") quando da utilização de bloqueadores da proteína quinase C (dependente do cálcio intracelular) ou de quelantes intracelulares de cálcio[31], de tal forma que na ausência de cálcio as junções não se formam.

Assim, com base nestes achados, tornou-se possível investigar o desenvolvimento de fenômenos bem precoces na nefrogênese, aplicando-se um modelo que emprega uma população homogênea de células de forma a correlacionar estes achados com aqueles que se sucedem no rim de embrião.

Além da aplicação ao estudo da embriogênese, este modelo pode ser utilizado em situações em que se observa o rompimento da polaridade, como períodos pós-isquêmicos. Observou-se que células MDCK, quando submetidas a situações de hipóxia ou depleção do conteúdo intracelular de ATP, passam a apresentar um padrão microscópico e de imunofluorescência semelhante àquele observado em baixas concentrações de cálcio no modelo "calcium-switch"[35]. Assim sendo, a compreensão dos mecanismos de recuperação da polaridade quando da elevação de cálcio pode facilitar a compreensão dos fenômenos que ocorrem na reperfusão tecidual, como observado na insuficiência renal aguda.

Entretanto, o modelo acima limita-se no sentido de não servir para estudos mais tardios que o aparecimento da polaridade, como por exemplo os mecanismos regulatórios básicos da tubulogênese, podendo esta fase ser mais bem avaliada através do próximo método a ser discutido.

Cultura de células epiteliais em gel de três dimensões

A fase evolutiva seguinte e talvez a mais crítica da morfogênese renal é a formação das estruturas tubulares e conseqüente arborização de maneira organizada, uma vez que o estabelecimento da conformação epitelial adequada determinará o perfil funcional deste tecido, considerando que no rim o controle das funções fisiológicas depende massivamente da topografia, das ramificações e do comprimento dessas estruturas. Nesta fase, têm sido adotadas técnicas de estudo sofisticadas como a cultura de células MDCK em gel de colágeno, ou gel de três dimensões.

Observou-se que as células MDCK quando cultivadas desta maneira apresentam proliferação significantemente maior, e, principalmente, formam estruturas císticas polarizadas com o lado basolateral voltado para o lado do gel (polaridade observada no rim adulto *in vitro*), ocorrendo porém inversão da polaridade quando as mesmas células são submetidas a cultura em suspensão. Por outro lado, quando adicionado HGF ao meio de cultura de três dimensões, observa-se formação de estruturas semelhantes a túbulos com polaridade apicobasolateral preservada[36].

A característica deste método de conseguir mimetizar inclusive a formação de estruturas com profundidade e lúmen tem orientado diversos estudos a respeito das alterações fisiopatológicas da doença cística renal e de distúrbios de formação de túbulos[37].

Recentemente, através desta técnica, observou-se que o HGF está envolvido com a formação de túbulos pelas células MDCK quando cocultivadas com fibroblastos. Haja vista que neste modelo não se permite o contato célula-célula, estando as linhagens celulares envolvidas separadas pelo gel, deveria ser um fator solúvel o responsável por este evento, que posteriormente revelou ser o HGF. Mais tarde postulou-se que o HGF tinha características idênticas ao fator dissociativo ("scatter factor" – SF), sendo que ambos provocavam dissociação das células MDCK quando cultivadas em plano único e, portanto, poderiam estar envolvidos nos mecanismos de metástase. Assim, o HGF foi caracterizado como tubulogênico, mitogênico e motogênico para células MDCK em plano único. Este modelo (três dimensões) permitiu delinear os mecanismos regulatórios da tubulogênese, desde os controles de fosforilação até a ação de fatores de crescimento. Foi possível comprovar a participação temporal das matrizes extracelulares e a importância do HGF[38,39,40,41].

A identificação dos efeitos dos diversos fatores de crescimento não compreende todos os mecanismos celulares ativados para resultar nas alterações observadas. Sabe-se, porém, que os fatores de crescimento interagem com uma variedade de moléculas no ambiente extracelular além dos receptores de membranas. Entre estes estão os componentes da MEC, como já descrito anteriormente. Além disso, os fatores de crescimento podem alterar a constituição química da matriz através da regulação da síntese de componentes específicos da matriz, como as proteases. A ação

2

SEDIMENTO URINÁRIO REVISITADO

Paulo Roberto O. Faraco

INTRODUÇÃO

A análise dos elementos particulados da urina é um método complementar de avaliação de doença renal cujo desenvolvimento se iniciou na primeira metade do século passado[1]. O instrumental básico para a sua realização, assim como os conceitos referentes ao significado dos elementos celulares da urina pouco se modificaram até recentemente. O objetivo deste capítulo é rever alguns aspectos da análise dos elementos particulados da urina à luz do conhecimento atual.

Para se obter o máximo de informação que o método pode proporcionar é necessário que o médico oriente a forma de colher a urina, processe a amostra e a análise, tendo em mente o contexto da condição clínica. Cada uma destas etapas, quando realizadas com metodologia adequada, pode diminuir o grau de imprecisão e subjetividade que envolvem este método complementar. Talvez aqui se encontre uma das justificativas para que a análise dos elementos formados da urina seja considerada menos importante que vários outros exames complementares que envolvem sofisticação e objetividade maiores. Existe tendência natural de nos atermos a resultados obtidos através de metodologias isentas de interpretações subjetivas. A análise dos elementos formados da urina, neste aspecto interpretativo, está muito mais próxima da propedêutica do que do método complementar laboratorial exato, livre da subjetividade do observador. Este seria mais um dos motivos para que o médico o realizasse como extensão da abordagem clínica do seu paciente e não deixasse esta tarefa para terceiros.

Independentemente do aspecto clínico envolvido no método, há também um aspecto puramente científico em relação à presença dos elementos e suas características na urina que nos intrigam. Nos últimos anos, através de técnicas laboratoriais que utilizam anticorpos monoclonais, do desenvolvimento de procedimentos mais refinados de isolamento e separação de proteínas, do aprimoramento óptico dos microscópios, etc., tem sido possível entender um pouco dos mecanismos que envolvem o aparecimento de determinados elementos na urina e sua correlação com diversas situações clínicas. Estes aspectos talvez tenham colaborado para que atualmente haja maior interesse no estudo deste fluido orgânico, resultante de inúmeras transformações metabólicas que ocorrem nos rins, e que percorre um longo trajeto desde quando ainda ultrafiltrado glomerular até sua eliminação através da uretra. Por esta razão, a análise da urina é um método complementar complexo, não tanto na sua realização, mas na sua interpretação, a qual deve ser feita a partir de evidências clínicas e do conhecimento da anatomia e da função de inúmeros segmentos dos órgãos que formam o aparelho urinário.

MICROSCÓPIO

A popularização dos microscópios ópticos com adaptadores de contraste de fase representou um avanço importante na observação dos elementos particulados da urina. O uso deste acessório aumenta de maneira significativa a sensibilidade do teste. A maioria dos microscópios ópticos comuns aceita esta adaptação, que consiste em um condensador e objetivas especiais, sem que o microscópio perca suas características originais para a observação de elementos com iluminação convencional.

Detalhes de um objeto observado ao microscópio são vistos devido à presença de regiões com densidades ópticas diferentes. Porém, os

detalhes de um objeto transparente são muito difíceis de ser observados quando se usa microscopia com iluminação convencional de campo claro. O uso de iluminação com campo escuro para a observação de um espécime transparente ressalta seus limites por causa do efeito de difração e dispersão das bordas, porém, evidencia muito pouco outros detalhes. Por esta razão, durante muitos anos se justificou o uso de corantes para melhor evidenciar os elementos da urina. No entanto, a falta de uniformidade de fixação dos corantes, associada a fenômenos de precipitação, além do aspecto pouco prático envolvendo o método, tornou o uso do contraste de fase mais adequado para este tipo de análise.

A iluminação com contraste de fase aumenta, como a própria denominação indica, o contraste entre estruturas de densidades muito próximas, tornando este método ideal para a observação dos elementos particulados da urina. Os índices de refração de um objeto transparente, como uma célula em meio líquido, variam muito pouco de um ponto a outro. Estes índices de refração dão origem a um espectro de difração no plano focal posterior da objetiva. As ondas difratadas pelas irregularidades no objeto, no caso específico, células e cilindros, são 1/4 de comprimento fora de fase em relação às ondas não difratadas que passam através das áreas ao redor. No método de contraste de fase desenvolvido pelo holandês Frits Zernick[2], e que lhe valeu o prêmio Nobel de física em 1953, o desvio de 1/4 de comprimento de onda é introduzido artificialmente nas ondas não difratadas para causar um contraste de campo que se forma devido à interferência com as ondas difratadas, dessa maneira os contrastes entre as estruturas são intensificados. Dependendo da direção do desvio introduzido pode-se obter contraste com fundo claro ou escuro.

O uso da iluminação com contraste de fase para análise da urina tem sido preconizado há mais de 20 anos[3]. Sua utilização, no entanto, só se popularizou quando se confirmou a necessidade de interpretar adequadamente a morfologia dos eritrócitos urinários para diferenciar a chamada hematúria glomerular da hematúria epitelial ou não-glomerular. Na verdade, o contraste de fase auxilia de maneira significativa na observação dos demais elementos, principalmente cilindros e células nucleadas. Numa série de amostras de urina com hematúria microscópica, a comparação entre dois observadores experientes, usando microscopia óptica comum e com adaptador de fase, resultou em contagens em média 30% superiores quando a fase foi utilizada[4]. Realmente, desde os trabalhos de Addis[5], passando por Gadeholt[6], até Birch & Fairley[7], o número de hemácias por mililitro de urina de indivíduos normais tem sido considerado progressivamente maior, devido ao desenvolvimento de instrumentos ópticos mais eficientes.

Portanto, o uso do microscópio com adaptador de fase é indispensável para aqueles que pretendem realizar análises precisas e adequadas dos elementos particulados da urina.

QUESTÃO DA QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS NA URINA

Rotineiramente se utiliza o método semiquantitativo em amostra centrifugada para a avaliação dos elementos particulados da urina. Esta prática, mesmo quando realizada com metodologia padronizada, não permite controlar adequadamente as diversas variáveis que interferem no resultado final. A ausência de uniformidade entre os laboratórios no preparo da amostra para a análise semiquantitativa inviabiliza comparações mais precisas entre resultados.

A centrifugação introduz uma série de variáveis que pouco influenciam qualitativamente a análise, porém o fazem de forma significativa quanto ao aspecto quantitativo. Além disso, a centrifugação não sedimenta completamente os elementos em suspensão[8], e, como a força centrífuga é diretamente proporcional ao peso da partícula, ao quadrado da velocidade e inversamente proporcional ao raio, a não padronização destes parâmetros resulta em sedimentações diferentes e conseqüentemente quantificações diversas. O uso de tubos com fundo cônico ou arredondado interfere na recuperação dos elementos[6], assim como o uso de lâmina e lamínula não permite o controle adequado da espessura da camada de líquido transferido por pipeta ou gotejamento[6], provocando variações entre x e 3x ou x e 10x, respectivamente. Por estes motivos, adotamos o método quantitativo em amostra não centrifugada para a contagem de eritrócitos e leucócitos da urina.

O método quantitativo clássico utiliza o número de partículas eliminadas na urina durante um período fixo de tempo. Hottinger[9] foi quem primeiro descreveu e determinou o número de células eliminadas na urina por unidade de tempo. Porém, é freqüentemente atribuído a Addis[5], através do seu trabalho clássico publicado em 1926, o desenvolvimento daquele método. Curiosamente, a quantificação dos elementos particulados da urina, principalmente hemácias, como proposta por Addis na primeira metade do século, ainda é utilizada por alguns autores[10]. Gadeholt[6] demonstrou, há mais de duas décadas,

que, em amostras de urina não centrifugadas, colhidas num intervalo de 2 horas, a concentração de eritrócitos não guarda qualquer correlação com os volumes através dos quais são excretados. Logo, o método preconizado por Addis já deveria ter sido abandonado.

Ao se encher adequadamente a câmara de contagem com amostra de urina contendo hemácias ou leucócitos, estes elementos se distribuem seguindo a distribuição de Poisson[11,12]. O conhecimento desta propriedade estatística apresentada pelos elementos distribuídos em um *continuum* de volume nos permite quantificar as partículas de forma mais sistemática.

A utilização da câmara de contagem para amostras não centrifugadas, além de eliminar todas as variáveis introduzidas pelos métodos de centrifugação e deposição da amostra sobre a lâmina, oferece mais precisão, pois as células se dispõem seguindo distribuição estatística definida, o que representa garantia de reprodutividade. Em condições ótimas de coleta da amostra de urina, alguns autores determinaram o limite máximo de 8.000 hemácias/ml[13] e 2.000 leucócitos/ml[14]. Por ser mais prático trabalhar com múltiplos de 10.000 quando observamos os elementos no retículo central da câmara de Neubauer, adotamos como normal contagens até 10.000 hemácias/ml, o que não difere significantemente do encontrado na literatura. Quanto aos leucócitos, é necessário que se inclua na contagem as células encontradas nos quadrados ao redor do retículo central da câmara para que múltiplos de 2.000 sejam alcançados.

Deve-se ressaltar que estes limites são adotados para amostras colhidas em situações bem controladas de contaminação. Aceita-se que cada laboratório estabeleça seus limites de normalidade para leucócitos, os quais são em grande parte determinados pelos cuidados com que a contaminação vaginal ou a uretral são evitadas na mulher, e quão tarde o jato médio de urina é coletado de homens não submetidos a circuncisão.

CÉLULAS NUCLEADAS DA URINA

A identificação das células de descamação da bexiga não se constitui em dificuldade. Na verdade, sua presença na amostra de urina, na maioria das vezes, é indesejável. As demais células nucleadas podem significar condições patológicas definidas. Os neutrófilos polimorfonucleares, os eosinófilos e as células referidas como tubulares correlacionam-se com doenças específicas, porém, outras células do sangue ou de segmentos específicos do néfron podem estar presentes na urina. Células referidas como de origem tubular são difíceis de ser caracterizadas através da análise de rotina, pois freqüentemente se assemelham aos neutrófilos polimorfonucleares que não se apresentam com núcleo característico. Nestas situações, a adição de ácido acético glacial à amostra na câmara de contagem permite, com maior facilidade, evidenciar a característica segmentada dos núcleos dessas células. Quando a transformação não ocorre, faz supor que sejam células tubulares ou monocitárias.

Para se caracterizar mais especificamente as células nucleadas da urina é necessária a utilização de técnicas de citoquímica ou imunocitologia. A citoquímica é um procedimento que exige um citopatologista para que as lâminas sejam lidas de maneira apropriada. A imunocitologia é mais vantajosa neste aspecto, pois não exige que o observador tenha treinamento em citopatologia, o que a torna uma técnica cuja análise e interpretação dos resultados podem ser realizadas pelo nefrologista.

A utilização de preparados de células urinárias através de citocentrifugação e marcação com anticorpos monoclonais específicos para células sangüíneas mononucleares e células epiteliais dos diversos segmentos do néfron nos permitiu demonstrar uma grande variedade de células existentes na urina de indivíduos portadores de nefropatias. Utilizando amostras de urina de 180 pacientes (88 mulheres e 92 homens) imediatamente antes de serem submetidos à biopsia renal, selecionamos aquelas que apresentavam mais de 5.000 leucócitos por ml e baixa contaminação por células de descamação da bexiga. Nas 54 amostras resultantes, observamos a seguinte freqüência de células: neutrófilos polimorfonucleares, 52/54 (96%); monócitos, 40/54 (74%); eosinófilos, 22/54 (41%); células CD4+, 25/54 (46%); células CD8+, 17/54 (32%). Quanto às células do néfron e urotélio, encontramos: túbulo proximal, 42/54 (78%); alça de Henle, 33/54 (61%), epitélio glomerular, 31/54 (57%), urotélio, 39/54 (72%)[15]. Os chamados corpúsculos ovais, que segundo alguns autores são células tubulares que sofreram degeneração gordurosa, em nossa opinião são monócitos, pois apresentaram positividade quando expostos a anticorpo FCM 32, específico para essas células, e negatividade contra o painel de anticorpos contra células do epitélio tubular, mostrando como a celularidade da urina é variada nas diversas formas de doenças renais. Resta encontrarmos correlações entre as células e as formas específicas de doenças renais para que realizemos uma dissecção do néfron através da celularidade urinária.

Segasothy e cols[16] caracterizaram a celularidade urinária encontrada em três situações clínicas distintas: necrose tubular aguda (NTA), nefrite intersticial aguda (NIA) e glomerulonefrite rapidamente progressiva (GNRP). A freqüência comparativa das células nas três situações foram: neutrófilo polimorfonuclear, muito elevado na NTA, valor intermediário na GNRP e baixo na NIA; monócitos e linfócitos, ausentes ou em muito baixo número na NTA e muito elevados tanto na GNRP como na NIA; epitélio glomerular, ausente ou em baixo número na NTA e NIA, sempre presente e em número elevado na GNRP; células tubulares e do urotélio, sempre elevadas nas três condições.

Estas observações experimentais sugerem que, da mesma forma como diversos estímulos nocivos levam o rim a desenvolver padrões histopatológicos específicos, padrões citológicos urinários também devem se correlacionar com as diversas doenças renais. Em se confirmando esta hipótese teríamos acesso não invasivo à resposta do néfron nas diversas fases evolutivas de uma agressão renal.

HEMÁCIAS NA URINA

Nos últimos 15 anos, após as primeiras publicações sobre dismorfismo eritrocitário na urina e sua correlação com sangramento glomerular ou de outros segmentos do aparelho urinário, alguns aspectos deste tema ainda geram controvérsias.

Addis, nas primeiras décadas deste século, definiu metodologia para melhor avaliar os elementos encontrados no sedimento urinário de indivíduos normais e portadores de doenças do trato urinário[5,17]. Naquela ocasião, foram descritas hemácias cujas morfologias variavam entre si e muitas vezes eram observadas com grandes distorções nos sedimentos de pacientes com a enfermidade então classificada como forma hemorrágica da doença de Bright. No seu trabalho clássico sobre o número de elementos existentes na urina de indivíduos normais, Addis chamou a atenção no sentido de não serem negligenciados os fragmentos de hemácias freqüentemente observados em determinadas amostras de urina. Larcom & Carter[18], em 1948, ao descreverem técnica de identificação de hemácias no sedimento urinário através de método de coloração, fizeram referência aos elementos fragmentados, que foram corados e que portanto seriam partículas hemáticas. Referiram-se, ainda, à presença destes fragmentos incluídos em cilindros granulosos e formularam a hipótese de que hemácias seriam destruídas ao passar pelos túbulos e seus fragmentos incorporados aos cilindros. Gadeholt[6], em 1964, ao publicar suas observações sobre erros de avaliação quantitativa dos elementos do sedimento urinário, fez referência às hemácias fragmentadas, porém não as correlacionou com qualquer doença específica. Lippman[19], em 1965, citou a presença de hemácias dismórficas, encontradas principalmente na urina de pacientes com glomerulopatias, porém, não considerou o achado importante para a diferenciação entre hematúria glomerular e não-glomerular. Brody e cols[20], em 1968, ao descreverem o uso do contraste de fase na análise dos elementos do sedimento urinário, relataram a existência de uma linha de pesquisa que buscava encontrar uma forma capaz de diferenciar a hematúria quanto a sua origem através da morfologia dos eritrócitos urinários. Em 1979, Birch & Fairley[7], utilizando contraste de fase com o propósito de melhor caracterizar a configuração dos contornos das células na urina, descreveram a presença de hemácias de formas bizarras e correlacionaram o achado com lesões glomerulares. Além disso, fizeram referência à possibilidade de que os valores relativos ao número de hemácias por ml de urina de indivíduos normais pudessem ser superiores aos aceitos até então, devido à simples razão de que com o contraste de fase os elementos que anteriormente não eram vistos ou valorizados passariam a ser contados. No mesmo ano, Schifferli e cols[21] descreveram técnica para melhor evidenciar cilindros hemáticos, uma vez que os achados de Birch & Fairley ainda não eram suficientemente consistentes a ponto de modificar a linha clássica da investigação de hematúrias. Em 1980, Birch & Fairley[22] publicaram, pormenorizadamente, as formas de hemácias consideradas como de origem glomerular e fizeram observações quanto à possibilidade de haver correlação entre o número total de hemácias na urina e o tipo de lesão glomerular correspondente. A partir desta publicação muitas outras se seguiram confirmando estes achados.

Inicialmente houve muita resistência, principalmente por parte dos autores norte-americanos em fazerem referências aos achados dos dois autores australianos, particularmente por se tratar de um exame complementar que está sujeito a interpretações subjetivas. Stamey & Kindrachuk[23] talvez tenham sido os autores norte-americanos que primeiro perceberam a importância das observações de Birch & Fairley e colaboraram para difundi-las. Atualmente, esta abordagem morfológica das hemácias na urina se popularizou entre os serviços de nefrologia e os livros-texto já incorporam esta metodologia como rotina a ser utilizada na análise da urina e ressaltam as vantagens desta abordagem na orientação de exploração de hematúrias.

Mesmo havendo consenso quanto à existência de correlação entre dismorfismo e sangramento glomerular, há abordagens diferentes em relação à quantificação do dismorfismo para que haja correlação mais adequada, além de tentativas de aprimoramento do método de modo a torná-lo mais objetivo. A evolução histórica desta observação tão simples, assim como tantas outras em ciência, resume-se na citação do Dr. Charles Dinarello[24], contida no seu artigo onde relata a dificuldade em convencer a comunidade científica da existência da interleucina-l: "Maybe redundancy in science is worthwhile since it is far more believable to have others reach the same conclusion based on different approaches".

Há duas abordagens descritas na literatura quanto à maneira de se correlacionar dismorfismo eritrocitário na urina e local do sangramento. Uma utiliza percentuais de hemácias dismórficas como fator determinante e outra utiliza o número de populações de hemácias dismórficas para indicar o provável local do sangramento.

O conceito de que a correlação entre dismorfismo e sangramento glomerular deve-se basear em percentuais de células dismórficas é muito difundido. Historicamente há razão para isto. Birch & Fairley fizeram a observação e demoraram a publicar, pois não tinham definido um valor numérico que confirmasse a correlação. Inicialmente acreditaram que o percentual de células dismórficas fosse a melhor forma de se fazer a correlação, porém, não estavam completamente convictos de que este seria o melhor critério a ser adotado. Esta informação foi passada a um membro do grupo de Adelaide que se empenhou neste conceito e publicou um estudo controlado usando o critério dos percentuais como forma de diferenciação entre hematúria glomerular e não-glomerular. Na verdade, Birch & Fairley[13] optaram por outro princípio. Eles sugeriram o critério que se baseia no número de populações de hemácias dismórficas, ou seja, a presença de dois ou mais tipos de formas, excluindo-se as hemácias normais, as crenadas e as ditas "fantasmas", o qual se correlaciona fortemente com hematúria de origem glomerular. Inicialmente, utilizamos o critério dos percentuais, o qual é válido, porém, o Dr. Douglas Birch nos demonstrou que é um método mais trabalhoso e exige que cada laboratório encontre o percentual de células dismórficas que deve servir de ponto de corte para delimitar se o sangramento é glomerular ou não. Diversas publicações fazem referências a percentuais, os quais freqüentemente são diferentes entre si[26,27,28]. O critério do número de populações dismórficas é mais prático, pois evita a necessidade de se contar um elevado número de hemácias e permite até uma certa demora na análise da amostra, já que, se houver modificação na morfologia das células, ela será relativamente uniforme, fazendo com que o número de populações não se altere. Atualmente utilizamos o critério do número de populações de eritrócitos.

Alguns autores descrevem formas de eritrócitos, as quais seriam mais específicas para a determinação do local do sangramento no trato urinário. Köhler e cols[29], em cujo artigo erroneamente citam Birch & Fairley como tendo preconizado o critério de 80% de dismorfismo como determinante de hematúria glomerular, referem-se à forma designada de acantócito, a qual seria um marcador típico para sangramento glomerular. O acantócito é a hemácia em forma de anel com pequenas vesículas fazendo protrusões na membrana, porém, reconhecem que há situações em que o sangramento é glomerular e esta forma não é encontrada. Tomita e cols[30] descreveram detalhadamente formas consideradas glomerulares e não-glomerulares e, baseados em percentuais de dismorfismo, encontraram graus de especificidade e sensibilidade muito próximos dos descritos por Birch & Fairley que usaram o critério de populações de hemácias.

Em nossa opinião, acreditar que as hemácias apresentam sempre o mesmo comportamento reológico, produzindo formas específicas de deformação ao serem submetidas aos mais variados estímulos físicos, químicos e biológicos que envolvem os néfrons nas diversas doenças renais que resultam em hematúria, seria admitir um capricho excessivo da natureza. Esta discussão parece se esgotar sem que se encontre um critério ideal para se definir sangramento glomerular ou não-glomerular, devendo-se talvez ao fato de não se conhecer exatamente os mecanismos que causam a distorção dos eritrócitos.

Há várias hipóteses para explicar a origem do dismorfismo eritrocitário. As diversas formas associadas à hematúria glomerular se assemelham às formas descritas por Bessis[31], uma década antes da publicação dos primeiros trabalhos de Birch & Fairley. Bessis[31] demonstrou que eritrócitos submetidos a variações de pH, tonicidade, exposição a ácidos graxos e drogas sofrem transformações morfológicas que podem ser reversíveis ou irreversíveis. Köhler e cols[29] também demonstraram o efeito do pH, da osmolaridade e das proteínas sobre a forma dos eritrócitos e concluíram que várias formas podem ser geradas artificialmente, exceto o acantócito. Ferreira F[º] e cols[32], analisando hemácias em urinas de densidades diferentes, encontraram percentuais variáveis de

dismorfismo relacionados ao estado de hidratação dos pacientes, porém, a dispersão daqueles percentuais não foi ampla o bastante para comprometer os limites utilizados como critério para definir hematúria glomerular ou não-glomerular. Scharamek & cols[33] observaram que nem a passagem de eritrócitos em seqüência através de várias soluções, cada uma simulando o fluido tubular de diferentes partes do néfron, nem a exposição das células a enzimas séricas, renais ou da urina causaram alterações típicas da membrana. Porém, ao exporem estas células a um meio contendo lisado de hemácias, 50 a 90% das células tornaram-se dismórficas. Ao mesmo tempo, a passagem apenas pelo meio hemolítico, sem prévia exposição aos diversos fluidos tubulares, não foi capaz de modificar os eritrócitos. Esta observação sugere uma explicação para a variabilidade do percentual de dismorfismo encontrado em urinas com densidades diferentes, as quais podem ser mais ou menos hemolíticas, e serve para explicar em parte porque alguns casos de hematúria de causa glomerular não apresentam um percentual tão elevado de dismorfismo. Mais uma vez fica a impressão de que o critério sugerido por Birch & Fairley para definir hematúria glomerular é o mais adequado.

TENDÊNCIAS ATUAIS

A identificação de diversos tipos de leucócitos e células do urotélio na urina e a possível correlação com uma entidade nosológica específica ainda é de pouca aplicação clínica, particularmente, por problemas técnicos. Há necessidade de um elevado número de leucócitos para que a citocentrifugação resulte em um preparado com número mínimo de células que seja estatisticamente representativo. A técnica preconizada por Segasothy e cols[16], a qual inclui a fixação das células com acetona e microondas, com o principal propósito de preservar ao máximo os antígenos celulares de superfície, nem sempre resulta em preparados morfologicamente adequados. No laboratório da Disciplina de Nefrologia da FCM-UERJ estamos conseguindo melhores resultados, no que diz respeito à preservação morfológica das células, através de modificação no método de fixação, aparentemente sem alterar os antígenos de superfície. Porém, a limitação no que se refere à quantidade de leucócitos da amostra ainda persiste. Roberti e cols[34], usando citometria de fluxo em urina de transplantados, relataram ser tecnicamente viável estudar amostras com baixa celularidade. Esta é uma técnica particularmente cara e encontramos dificuldades em definir adequadamente a "janela" ideal no aparelho para utilizar amostras de urina contendo células de tamanhos variados, o que não foi mencionado por Roberti e cols.

Outra abordagem promissora que eliminaria a limitação imposta pelo número de leucócitos da amostra seria a detecção de antígenos celulares específicos na urina. Iniciamos recentemente estudos substituindo as células pelo lisado do depósito e, através de técnica de ELISA, quantificamos e qualificamos os antígenos. Resultados preliminares utilizando um "kit" comercial (Tcell Sciences, MA, USA) para a detecção de CD4 em lisado de células encontradas na urina de transplantados foram positivos. A continuação dos experimentos deve mostrar a viabilidade desta técnica.

Quanto à análise dos eritrócitos na urina, pouco tem sido descrito para tornar o método mais objetivo. Shichiri e cols[35] descreveram um método para diferenciar hemácias glomerulares das epiteliais através de curvas de distribuição obtidas com auto-analisadores comumente empregados para amostras sangüíneas. Repetimos este estudo e concluímos que há grande limitação quando se trata de urinas pouco densas. Nestas situações a especificidade do teste torna-se muito baixa. Hyodo e cols[36] relataram as vantagens da análise da urina de pacientes com hematúria, usando microscópio-confocal a laser, porém tais vantagens se restringiram ao tempo de análise da amostra e ao reduzido número de células necessárias para um exame adequado.

Atualmente, em nossa opinião, principalmente em relação aos eritrócitos, a questão da morfologia não deve ser tratada de modo isolado, ou seja, valorizando-se apenas a presença ou não do dismorfismo, exceto naquelas situações em que hematúria é o único achado anormal. É necessário que se leve em conta, além dos aspectos clínicos, a quantidade de hemácias[37] e os outros elementos anormais que eventualmente possam ser encontrados na amostra para que se obtenha o máximo que o método pode oferecer.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. VIGLA J: Etude microscopique de l'urine, éclairée par l'analyse. *L'expérience* 1:177-193, 1838.
2. ZERNICK F: How I discovered phase contrast. *Science* 121:345-349, 1955.
3. RUSSO M, COCKETT ATK: Microscopie urinalysis with phase-contrast microscopy. *J Urol* 107:843-849, 1972.
4. FARACO P: *Análise Morfológica dos Eritrócitos Urinários ao Microscópio Óptico com Adaptador de Fase.* Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1986.
5. ADDIS T: The number of formed elements in the urinary sediment of normal individuals. *J Clin Invest* 2:409-412, 1926.

6. GADEHOLT H: Quantitative estimation of urinary sediment, with special regard to sources of error. *Br Med J* 1:1547-1549, 1964.
7. BIRCH DF, FAIRLEY KF: Haematuria: glomerular or non-glomerular? *Lancet* 2:845-846, 1979.
8. STONE WJ, BURKE GT: Urinary sediment – methods of centrifugation. *JAMA* 102:1548-1551, 1934.
9. HOTTINGER R: Über quantitative Eiterbestmmungen im Harne Nebst Bemerkungen Über Centrifugiren und Sedimentiren. *Zbl Med Wiss* 31:255-257, 1893.
10. SPARWASSER C, CIMNIAK HU, TREIBER U, PUST RA: Significance of the evaluation of asymptomatic microscopic haematuria in young men. *Br J Urol* 74:723-729, 1994.
11. RINSLER MG, GRAY CH: Test for blood in urine. *Amer J Clin Pathol* 27:589-601, 1957.
12. GADEHOLT H: Counting of cells in urine – the variability of haemocytometer counts. *Acta Med Scand* 183:9-16, 1968.
13. BIRCH DF, FAIRLEY KF, WHITWORTH JA, FORBES IK, FAIRLEY JK, CHESHIRE GR, RYAN GB: Urinary erythrocyte morphology in the diagnosis of glomerular hematuria. *Clin Nephrol* 20:78-84, 1983.
14. BECKER GJ, FAIRLEY KF: Urinalysis, in *Textbook of Nephrology* (3rd ed), edited by Massry SG, Glassock RJ, Baltimore, Williams & Wilkins, 1995, pp 1751-1771.
15. BIRCH DF, FARACO P, LAU D, KINCAID-SMITH P: Monoclonal antibody typing of nucleated cells in urine. (abstract) *Proceedings of the XI International Congress of Nephrology*, Tokyo, 1990, pp 369A.
16. SEGASOTH M, LAU TM, BIRCH DF, FAIRLEY KF, KINCAID-SMITH P: Immunocytologic dissection of the urine sediment using monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* 90:691-696, 1988.
17. ADDIS T: A clinical classification of Bright's disease. *JAMA* 85:163-167, 1925.
18. LARCOM CR, CARTER GH: Erythrocytes in urinary sediment: identification and normal limits. *J Lab Clin Med* 33:875-880, 1948.
19. LIPPMAN RW: *Urine and the sediment. A Practical Manual and Atlas*, New York, Charles Thomas Publ, 1965.
20. BRODY L, WEBSTER MC, KARK RM: Identification of elements of urinary sediment with phase-contrast microscopy. *JAMA* 206:1777-1781, 1968.
21. SCHIFFERLI J, REES AJ, PEARSE E: Haematuria: glomerular or non-glomerular? *Lancet* 2:1014, 1979.
22. BIRCH DF, FAIRLEY KF: Red cells in the urine. *Lancet* 1:424-426, 1980.
23. STAMEY TA, KINDRACHUK RW: *Urinary Sediment and Urinalysis, A Practical Guide for the Health Science Professional*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1985.
24. DINARELLO CA: Was the original endogenous pyrogen Interleukin-1? in *Interleukin-1: Inflamation and Disease*, edited by Bomford B, Henderson F. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1989, pp. 17-28.
25. FASSET RG, HORGAN BA, MATHEW TH: Detection of glomerular bleeding by phase-contrast microscopy. *Lancet* 1:1432-1434, 1982.
26. CHANG BS: Red cell morphology as a diagnostic aid in hematuria. *JAMA* 252:1747-1749, 1984.
27. RIZZONI G, BRAGGION F, ZACCHELLO G: Evaluation of glomerular and non-glomerular hematuria by phase contrast microscopy. *J Pediatr* 103:370-374, 1983.
28. POLLOCK C, PEI-LING L, GYORY AZ, GRIGG R, GALLERY EDM, CATERSON R, IBELS L, MAHONY J, WAUGH D: Dysmorphism of urinary red blood cells – value in diagnosis. *Kidney Int* 36:1045-1049, 1989.
29. KÖHLER H, WANDEL E, BRUNCK B: Acanthocyturia – a characteristic marker for glomerular bleeding. *Kidney Int* 40:115-120, 1991.
30. TOMITA M, KITAMOTO Y, NAKAYAMA M, SATO T: A new morphological classification of urinary erythrocytes for differential diagnosis of glomerular hematuria. *Clin Nephrol* 37:84-89, 1992.
31. BESSIS M: Red cell shapes. An illustrated classification and its rationale. *Nouv Rév Fr Hématol* 12:721-746, 1972.
32. FERREIRA Fº SR, RODRIGUES CC, RODRIGUES IP, BRASILEIRO C, OLIVEIRA PC: Influência dos fatores técnicos na morfologia dos eritrócitos presentes no sedimento de pacientes com hematúria. *J Bras Nefrol* 14:43-46, 1992.
33. SCHRAMEK P, MORITSCH A, HASCHKOWITZ H, BINDER BR, MAIER M: In vitro generation of dysmorphic erythrocytes. *Kidney Int* 36:72-77, 1989.
34. ROBERTI I, REISMAN L, BURROWS L, LIEBERMAN KV: Urine cytology and urine flow cytometry in renal transplantation – a prospective double blind study. *Transplantation* 59:495-500, 1995.
35. SHICHIRI M, OOWADA A, NISHIO Y, TOMITA K, SHIIGAI T: Use of autoanalyser to examine urinary red cell morphology in the diagnosis of glomerular hematuria. *Lancet* 2:781-785, 1986.
36. HYODO T, MIYAGAWA I, HANAMOTO N, YOSHINO Y, SHIO H, OKUTANI M, ODE T, IINO A: Diagnostic revolution of microhematuria by real-time confocal scanning laser microscope [Hyodo-Iino-Miyagawa (HIM) Method]. *Nephron* 68:401-402, 1994.
37. FAIRLEY KF, BIRCH DF: Hematuria: a simple method for identifying glomerular bleeding. *Kidney Int* 21:105-108, 1982.

3

RESERVA FUNCIONAL RENAL

Luiz Antonio Miorin
Regina Célia Rodrigues de Moraes Abdulkader
Euthymia Brandão de Almeida Prado

INTRODUÇÃO

À semelhança do que acontece com outros órgãos, os rins têm a capacidade de aumentar seu nível de trabalho, através da elevação da filtração glomerular, fato que tem recebido o nome genérico de reserva funcional renal. Que a filtração glomerular pode variar com estímulos externos é fato conhecido há muito tempo. Em 1923, Addis & Drury[1] estudaram em si mesmos as variações da depuração de uréia, e constataram por exemplo que havia maior depuração de uréia com a ingestão de proteínas de origem animal como carne e leite, o que não ocorria com a ingestão de "whisky" e de cana-de-açúcar. Em 1932, Shannon e cols[2] verificaram o mesmo em cães. Desde então muitos estudos têm demonstrado esse fato, que ganhou maior importância com a atribuição de Brenner e cols[3], que uma maior ingestão protéica, nos modelos de ablação, tem relação com a evolução do glomérulo para esclerose precoce, através do aumento do fluxo sangüíneo renal e da pressão transcapilar. Diante deste contexto, Bosch e cols[4] definiram a reserva funcional renal como sendo a filtração glomerular máxima após estímulo protéico oral, a partir de um período basal. Bosch e cols[5] também verificaram um comportamento bastante variado em diferentes doenças. O aumento da filtração glomerular depende não só da integridade do parênquima renal, mas também do momento em que está sendo medida, sendo o aumento maior no horário do almoço, como verificado por Buzio e cols[6]. Sabe-se ainda que a infusão de aminoácidos também pode representar estímulo para o incremento da filtração glomerular, como foi verificado por Graf e cols[7] e por Terwee e cols[8]. No entanto, a maior resposta ocorre por ingestão oral, como foi demonstrado por Smoyer e cols[9]. Castellino e cols[10] verificaram que crianças diabéticas sem reserva funcional renal, quando submetidas a restrição de proteínas na dieta, passaram a apresentá-la com sobrecarga oral aguda de proteínas. Losito e cols[11] constataram que, entre 34 hipertensos essenciais, 11 não apresentavam reserva funcional renal, e que esse subgrupo mostrava correlação entre albuminúria e sua filtração glomerular basal. Amore e cols[12] também verificaram que controles normais comparados a pacientes nefrectomizados 28 anos antes do estudo apresentavam maior reserva funcional renal, e que nestes ocorria maior incremento da albuminúria pós-sobrecarga protéica. Para Zuccala & Zucchelli[13] teríamos na verdade dois modos de aumentar a filtração glomerular, sendo que nos modelos de ablação teríamos por exemplo menor depuração de fatores renotrópicos, o que causaria hipertrofia do parênquima renal e conseqüente maior filtração glomerular, e outro em que, por uma maior ingestão protéica oral ou por infusão endovenosa de aminoácidos, haveria compensação funcional com diminuição da resistência vascular renal, que podemos chamar de reserva funcional renal. Em indivíduos normais, a filtração glomerular basal sofre interferência do tipo de dieta, sendo maior naqueles com dieta hiperprotéica, fato verificado por Pullman e cols[14], em 1954, e por Bergstron e cols[15], em 1985. Bosch e cols[4] também verificaram que a filtração glomerular basal de indivíduos vegetarianos era 67,9ml/min contra 110,4ml/min nos indivíduos não-vegetarianos. Assim podemos dizer que a reserva funcional renal seria uma maneira de enten-

der que os rins apresentam alguns néfrons em repouso com capacidade de aumentar a filtração do órgão como um todo, quando necessário, por uma maior carga de trabalho. Castellino e cols[16] demonstraram por exemplo que, em glomerulonefrites e função renal basal normal, a ingestão de 60g de proteína por dia fez aumentar a reserva funcional renal, quando comparada à ingestão de 130g de proteína por dia. Zeier e cols[17] estudaram comparativamente pacientes com doença renal policística autossômica dominante e com glomerulonefrites com igual função renal e verificaram que aqueles apresentavam reserva funcional renal enquanto estes não. Esse resultado foi atribuído ao fato de que os pacientes com doença policística autossômica dominante têm acometimento vascular renal interlobular e não desenvolvem glomerulosclerose à medida que envoluem para insuficiência renal crônica e, portanto, mantêm a capacidade de aumentar a sua filtração glomerular por vasodilatação aferente, quando comparados aos pacientes com glomerulonefrites.

Em relação à insuficiência renal aguda, data de muito tempo o conhecimento de que pode não haver normalização da filtração glomerular pós-recuperação clínica. Lowe[18], em 1952, demonstrou que a filtração glomerular em pacientes com insuficiência renal aguda persistiu abaixo do normal até por três anos após a recuperação clínica. Finkensteadt & Merril[19], em 1956, Price & Palmer[20], em 1960, Briggs e cols[21], em 1967, Lewers e cols[22], em 1970, Hal e cols[23], em 1970, também encontraram resultados semelhantes. Em nosso meio, Cruz & Cruz[24] estudaram 16 pacientes clinicamente recuperados após dois e seis meses de necrose tubular aguda e verificaram que tanto as capacidades de concentração quanto a de acidificação urinárias estavam diminuídas, e, além disso, a excreção de ácidos apresentou correlação positiva com a depuração de creatinina, e os autores concluíram existir um defeito tubular associado a um menor número de néfrons funcionantes. Abdulkader e cols[25] demonstraram, em 1992, que 6 de 14 pacientes (43%) apresentavam diminuição da filtração glomerular, após 2 a 36 meses de episódio de necrose tubular aguda. Treze dos 14 pacientes apresentavam proteinúria maior que 150mg/24h, sempre em nível não nefrótico. E os autores sugerem a possibilidade de que uma hiperfiltração relativa pudesse ter relação com essa proteinúria.

FISIOPATOLOGIA

A demonstração por Smoyer e cols[9] de que a infusão endovenosa de arginina, comparada à ingestão de igual quantidade do aminoácido, induz a uma menor resposta de aumento da filtração glomerular sugere a participação do fígado nessa resposta. Alvestrand & Bergstron[26] sugeriram que a absorção intestinal de proteínas levaria à liberação de um hormônio hepático (glomerulopressina), que, agindo sobre a arteríola aferente, levaria à vasodilatação e conseqüente aumento do fluxo sangüíneo renal e da filtração glomerular. A ausência do aumento da filtração glomerular pós-sobrecarga protéica em cirróticos, como verificado por Dratwa e cols[27], também sugere fortemente a participação do fígado nessa resposta. Uranga e cols[28] demonstraram aumento da filtração glomerular com a infusão de glucagon na veia porta, mas não com a infusão de glucagon diretamente na artéria renal. A hipótese de que algum hormônio poderia mediar a vasodilatação renal pós-sobrecarga protéica foi sugerida por Castellino e cols[29], que não encontraram aumento da filtração glomerular em indivíduos normais submetidos à infusão juntamente com somatostatina. Castellino e cols[30] também concluíram que são necessários níveis elevados dos hormônios: glucagon, de crescimento e de insulina, além de níveis elevados de aminoácidos, para se obter a resposta de aumento da filtração glomerular, uma vez que a reposição hormonal isolada, sem a infusão de aminoácidos, assim como a infusão de aminoácidos, sem a reposição hormonal, falharam em induzir a resposta renal de aumento da filtração glomerular, nos protocolos em que foi usada a somatostatina. Em cães, a infusão de insulina não produziu aumento da filtração glomerular e do fluxo plasmático renal, como foi demonstrado por DeFronzo e cols[31]. Hirschberg & Kopple[32] demonstraram haver aumento concomitante de glucagon e tardio de hormônio de crescimento, após infusão de arginina, além de verificarem haver resposta de aumento da filtração glomerular mesmo em indivíduos com deficiência do hormônio de crescimento, o que sugere que esse hormônio não deve ter participação importante na resposta de aumento da filtração glomerular pós-infusão de aminoácidos. Bergstron e cols[33] interrogam a participação do glucagon uma vez que só encontraram correlação entre a resposta de aumento da filtração glomerular e o aumento dos níveis de glucagon após 3 horas da sobrecarga protéica. Premen e cols[34] também sugerem que são necessárias concentrações de glucagon mais altas que as encontradas pós-sobrecarga protéica para se obter a mesma resposta de aumento da filtração glomerular em cães. Premen[35] também verificou não serem todos os aminoácidos capazes de induzir aumento da filtração glomerular. Os de cadeia ramificada, como vali-

na, leucina e isoleucina, não foram capazes de induzir vasodilatação renal. Rocha e cols[36] verificaram que os aminoácidos de cadeia ramificada não são glucagonotróficos, uma vez que sua infusão em cães não levou a aumento dos níveis de glucagon. Esses aminoácidos de cadeia ramificada têm seu metabolismo no tecido muscular. O aumento da oferta de aminoácidos glucagonotróficos, que são metabolizados no fígado, promove maior disponibilidade para a neoglicogênese, induzindo a secreção de glucagon, que é responsável por essa via metabólica[36].

Em relação ao papel do sistema renina-angiotensina, no aumento da filtração glomerular pós-sobrecarga protéica, há dados controversos. Woods e cols[37] demonstraram que a inibição da enzima conversora da angiotensina não afetou a resposta renal à sobrecarga protéica em cães. Krishna e cols[38] observaram que o incremento da filtração glomerular pós-sobrecarga protéica não foi inibido por enalapril. Em humanos, Ruilope e cols[39] verificaram que, quando havia ativação do sistema renina-angiotensina por restrição de sódio na dieta, não existia resposta de aumento da filtração glomerular, o que era corrigido com o uso de captopril.

Ruilope e cols[39], assim como Krishna e cols[38], Hirchberg e cols[40] e Herrera e cols[41] verificaram que o aumento da filtração glomerular e do fluxo sangüíneo renal pós-sobrecarga protéica pode ser inibido pela administração prévia de indometacina, o que sugere a participação das prostaglandinas (PG) na resposta vasodilatadora renal. Herrera e cols[41] observaram que a indometacina atenua o aumento da depuração de inulina e de paramino-hipurato, que ocorre pós-sobrecarga protéica aguda, sem alterar a excreção urinária de sódio e de potássio, porém diminuindo a excreção urinária de PGE_2.

Também ao óxido nítrico, ou fator relaxante do endotélio, tem sido atribuído um papel importante na resposta renal à sobrecarga protéica. Fisiologicamente, essa substância é produzida nas células endoteliais a partir da L-arginina[42], que forma o óxido nítrico, potente estimulador da guanilato-ciclase-sintetase, o que faz aumentar a concentração local de monofosfato cíclico de guanosina com conseqüente relaxamento da musculatura do vaso[43]. King e cols[44] verificaram menor incremento da filtração glomerular em resposta à infusão de glicina e também de uma mistura de aminoácidos em ratos submetidos à infusão prévia de L-N^{ω}-monometilarginina (L-NMMA), um inibidor competitivo da conversão da L-arginina em óxido nítrico.

Rodriguez-Iturbe e cols[45] encontraram aumento concomitante da filtração glomerular e da concentração plasmática de fator natriurético atrial pós-ingestão de proteínas em indivíduos normais, o que não ocorreu quando a ingestão foi de carboidratos.

Woods e cols[46] atribuem a resposta à sobrecarga protéica ou à infusão de aminoácidos ao mecanismo de "feedback" tubuloglomerular. O aumento de aminoácidos circulantes levaria à maior carga filtrada desses aminoácidos e também à maior reabsorção deles, com maior absorção de sódio e diminuição da oferta desse íon à mácula densa, o que por sua vez diminuiria a liberação de renina, com conseqüente diminuição local de angiotensina e vasodilatação da arteríola aferente. O achado de que a oferta de sódio ao túbulo distal pós-infusão de aminoácidos se mantém normal apesar da sua absorção proximal aumentada fala a favor desse mecanismo[46]. Woods & Young[47] verificaram ausência de resposta renal à sobrecarga protéica em cães com síndrome de Fanconi induzida por ácido maléico. Woods e cols[48] também não encontraram aumento da filtração glomerular pós-sobrecarga protéica quando havia administração prévia de furosemida em cães. Essas são duas situações nas quais o mecanismo de "feedback"estaria pouco operante.

Rodriguez-Iturbe e cols[49] concluíram que a resposta fisiológica à sobrecarga protéica se caracteriza por aumento da filtração e do fluxo sangüíneo renal, sendo o incremento da filtração glomerular proporcionalmente maior do que o do fluxo sangüíneo renal pelo menos em altos níveis de hiperfiltração. Esses autores relacionam esse fato ao aumento da pressão transcapilar.

RESERVA FUNCIONAL RENAL E INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA

Estudamos pacientes recuperados de necrose tubular aguda até dois meses da recuperação clínica (grupo precoce, n = 12) e de 6 a 24 meses da recuperação clínica (grupo tardio, n = 9), comparados a grupo controle normal, n = 7, através de protocolo em que os indivíduos foram mantidos em jejum por 12 horas e no dia seguinte receberam sobrecarga protéica oral com 1,5g de proteína/kg de peso, sem adição de sal, no horário do almoço[50]. Nessas condições obtivemos dados de filtração glomerular basal e máxima pós-estímulo protéico (Tabela 3.1 e Fig. 3.1). Nos pacientes do grupo precoce, a filtração glomerular basal foi menor do que aquela do grupo tardio e do grupo controle. Nos três grupos, a filtração glomerular máxima foi estatisticamente maior do que a respectiva filtração glomerular basal, como é visto na figura 3.1, portanto os três grupos apresenta-

Tabela 3.1 – Filtração glomerular basal e máxima pós-sobrecarga protéica e reserva funcional renal nos grupos precoce, tardio e controle.

	FGb ml/(min/ 1,73m²)	FGmáx ml/(min/ 1,73m²)	RFR ml/(min/ 1,73m²)
Grupo precoce	55,75#+ (47-70)	87,73#* (67-97)	21,11 (13-37)
Grupo tardio	78,18 (78-90)	90,41* (85-156)	23,70 (14-37)
Grupo controle	75,37 (75-92)	183,96* (132-227)	109,40 (34-148)

RFR = reserva funcional renal; FGb = filtração glomerular basal; FGmáx = filtração glomerular máxima.
* p < 0,05 *vs.* basal
\# p < 0,05 *vs.* controle
\+ p < 0,05 *vs.* tardio

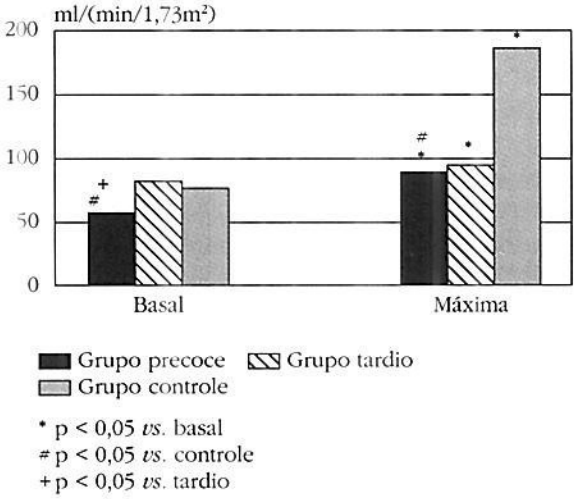


Figura 3.1 – Filtração glomerular basal e máxima pós-sobrecarga protéica.

ram reserva funcional renal, que foi maior no grupo controle do que nos dois grupos de pacientes recuperados de necrose tubular aguda (Fig. 3.2).

Nos três grupos de estudo obtivemos aumento da excreção de albumina na urina pós-sobrecarga protéica, sendo essa diferença significante só no grupo precoce (Fig. 3.3). A correção dos valores de albuminúria pela respectiva filtração glomerular demonstrou que só no grupo controle houve diminuição dos valores pós-sobrecarga protéica em relação ao período basal, portanto com maior incremento relativo da filtração glomerular do que da albuminúria. Nos dois grupos de pacientes houve persistência dos valores em relação ao período basal, sendo que passaram a ser menores do que aqueles do grupo controle, após sobrecarga protéica (Fig. 3.4).

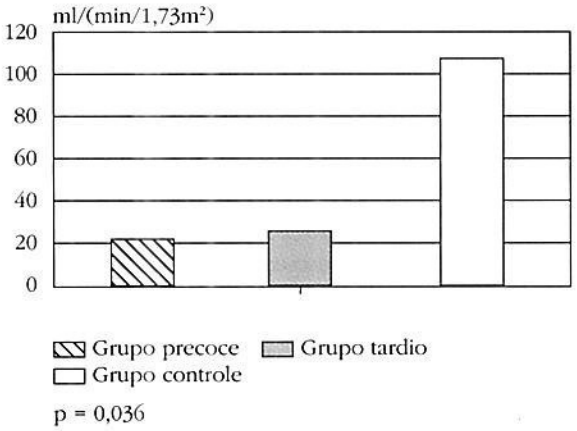


Figura 3.2 – Reserva funcional renal.

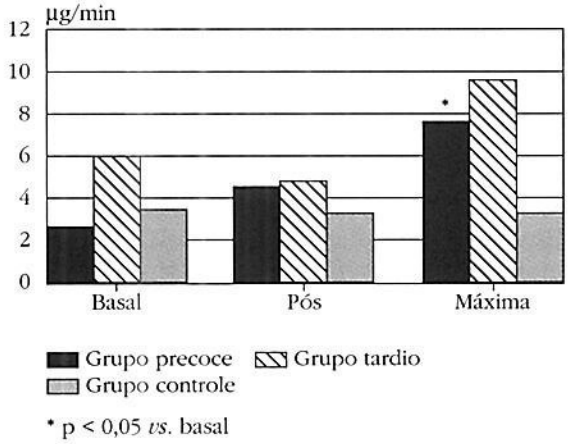


Figura 3.3 – Excreção de albumina basal, pós e máxima.

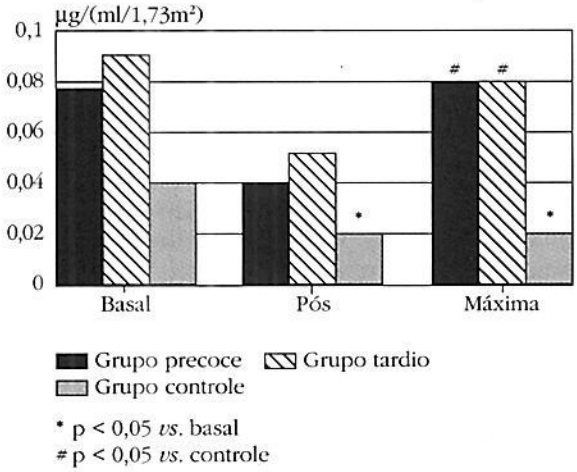


Figura 3.4 – Excreção de albumina basal, pós e máxima, corrigida pela respectiva filtração glomerular.

Embora os três grupos tenham apresentado aumento da filtração glomerular pós-sobrecarga protéica, e portanto tenham reserva funcional renal, esta foi menor nos dois grupos de pacientes quando comparados aos controles normais. O comportamento da albuminúria, juntamente com a menor reserva funcional renal, pode sugerir que após necrose tubular aguda deve existir um certo grau de hiperfiltração por néfron nesses pacientes.

CONCLUSÃO

A reserva funcional renal pode estar influenciada por condições nutricionais prévias, doenças preexistentes e mesmo condições terapêuticas prévias. Assim sendo, pode-se considerar que o estudo da reserva funcional renal deve ser encarado como metodologia adicional complementar nas diferentes nefropatias, e, mais do que isso, pode servir como instrumento indutor de aumento da filtração glomerular para que se analise a resposta renal em comparação a indivíduos normais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADDIS T, DRURY DR: The rate of urea excretion. The effect of various other factors than blood urea concentration on the rate of urea excretion. *J Biol Chem* 55:629-638, 1923.
2. SHANNON JA, JOLLIFE N, SMITH HW: The excretion of urine in the dog: the effect of maintenance diet, feeding, etc., upon the quantity of glomerular filtrate. *Am J Physiol* 101:625-638, 1932.
3. BRENNER BM, MEYER TW, HOSTETER TW: Dietary protein intake and progressive nature of kidney disease: the role of haemodynamically mediated glomerular sclerosis in aging renal ablation and intrinsic renal disease. *N Engl J Med* 307:652-659, 1982.
4. BOSCH JP, SACCAGGI A, LAUER A, RONCO C, BELLEDONNE M, GLABMAN S: Renal functional reserve in humans. Effect of protein intake on glomerular filtration rate. *Am J Med* 75:943-950, 1983.
5. BOSCH JP, LEW S, GLABMAN S, LAUER A: Renal hemodynamic changes in humans. Response to protein loading in normal and disease kidneys. *Am J Med* 81:809-815, 1986.
6. BUZIO C, QUARETTI P, ARISI L, NEGRO A, BARANI R, ALQUATI MG: Time dependent increase of glomerular filtration rate after oral protein load: evidence for diurnal variations in renal response. *Scand J Lab Invest* 48:15-19, 1988.
7. GRAF H, STUMMVOLI HK, LUGER A, PRAGER R: Effect of anino acid infusion on glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 308:159-160, 1983.
8. TERWEE PM, GEERLINGS W, ROSMAN JB, SLUITER WJ, VAN DER GEEST S, DONKER AJM: Testing renal reserve filtration capacity with an amino acid solution. *Nephron* 41:193-199, 1985.
9. SMOYER WE, BROUHARD BH, RASSIN DK, LAGRONE L: Enhanced GFR response to oral versus intravenous arginine administration in normal adults. *J Lab Clin Med* 118:166-175, 1991.
10. CASTELLINO P, DE SANTO NG, CAPASSO G, ANASTACIO P, COPPOLA S, CAPODICASA G, PERNA A, TORELLA R, SALVATORE T, GIORDANO C: Low protein alimentation normalizes renal haemodynamic response to acute protein ingestion in type I diabetic children. *Eur J Clin Invest* 19:78-83, 1989.
11. LOSITO A, FORTUNATI F, ZAMPI I, DEL FAVERO A: Impaired renal functional reserve and albuminuria in essencial hypertension. *Br Med J* 296:1562-1564, 1988.
12. AMORE A, COPO R, ROCCATELLO D, MARTINA G, ROLLINO C, NOVELLI F, AMPRIMO MC, CAVALLI G, PICCOLI G: Single kidney function: effect of acute protein and water loading on microalbuminuria. *Am J Med* 84:711-717, 1988.
13. ZUCCALA A, ZUCCHELLI P: Use and misuse of the renal functional reserve concept in clinical nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 5:410-417, 1990.
14. PULLMAN TN, ALVING AS, DERN RJ, LANDOWNE M: The influence of dietary protein intake on specific renal functions in normal man. *J Lab Clin Med* 44:321-332, 1954.
15. BERGSTRON J, AHLBERG M, ALVESTRAND A: Influence of protein intake on renal hemodynamics and plasma hormone concentrations in normal subjects. *Acta Med Scand* 217:189-196, 1985.
16. CASTELLINO P, CIRILLO D, CASIERE D, PLUVIO C, CIACCI C, GIORDANO M, PLUVIO M, TORELLA R, COPPOLA S, GIORDANO C: Elevated dietary protein intake impairs the renal hemodynamic response to hyperaminoacidemia in patients with primary glomerular diseases. *Nephron* 58:164-169, 1991.
17. ZEIER M, SCHIMID M, NOWACK R, ZACHAREWICS S, HASSLACHER C, RITZ E: The response of GFR to amino acids differs between autosomal dominant polycystic kidney disease (APKD) and glomerular diseases. *Nephrol Dial Transplant* 7:501-506, 1992.
18. LOWE KG: The late prognosis in acute tubular necrosis. *Lancet* 1:1086-1088, 1952.
19. FINKENSTAEDT JT, MERRIL JP: Renal function after recovery from acute renal failure. *N Engl J Med* 254:1023-1026, 1956.
20. PRICE JDE, PALMER RA: A funcional and morphological follow-up study of acute renal failure. *Arch Intern Med* 105:114-122, 1960.
21. BRIGGS JD, KENNEDY AC, YOUNG LN, LUKE RG, GRAY M: Renal function after acute tubular necrosis. *Br Med J* 3:513-516, 1967.
22. LEWRS DT, MATHEW TH, MAHER JF, SCHREINER GE: Long-Term follow-up of renal function and histology after acute tubular necrosis. *Ann Intern Med* 73:523-529, 1970.
23. HALL JW, JOHNSON WJ, MAHER FT, HUNT JC: Immediate and long-term prognosis in acute renal failure. *Ann Intern Med* 73:515-521, 1970.
24. CRUZ HMM, CRUZ J: Urinary hydrogen ion excretion and concentrating capacity in the recovery phase of acute renal insufficiency due to acute tubular necrosis. *Rev Hosp Clin Fac Med S. Paulo* 43:148-156, 1988.
25. ABDULKADER R, MALHEIRO P, DAHER E, CRUZ H, YU L, BURDMANN E, SABBAGA E, MARCONDES M: Late evaluation of glomerular filtration rate, proteinuria, and urinary acidification after acute tubular necrosis. *Ren Fail* 14:57-61, 1992.
26. ALVESTRAND A, BERGSTRON J: Glomerular hyperfiltration after protein ingestion, during glucagon infusion, and in insulin-dependent diabetes is induced by a liver hormone: deficient production of this hormone in hepatic failure causes hepatorenal syndrome. *Lancet* 1:195-197, 1984.
27. DRATWA M, BURETTE A, VAN GOSSUM M, COLLART F, WENS R, CHARLIER L, TIELEMANS C, DELTENRE M: No rise in glomerular filtration rate after protein loading in cirrhotics. *Kidney Int* 32(Suppl 22):S32-S34, 1987.
28. URANGA J, FUENZALIDA R, RAPOPORT AL, del CASTILHO E: Effect of glucagon and glomerulopressin on the renal function of the dog. *Horm Metab Res* 11:275-279, 1979.
29. CASTELLINO P, HUNT W, DeFRONZO RA: Regulation of renal hemodynamics by plasma amino acid and hormone concentrations. *Kidney Int* 32(Suppl 22):S15-S19, 1987.

30. CASTELLINO P, GIORDANO C, PERNA A, DeFRONZO RA: Effects of plasma amino acid and hormone levels on renal hemodynamics in humans. *Am J Physiol* 255:F444-F449, 1988.
31. DeFRONZO RA, GOLDBERG M, AGUS ZS: The effects of glucose and insulin on renal electrolyte transport. *J Clin Invest* 58:83-90, 1976.
32. HIRSCHBERG R, KOPPLE JD: Role of growth hormone in the amino acid-induced acute rise in renal function in man. *Kidney Int* 32:382-387, 1987.
33. BERGSTRON J, AHLBERG M, ALVESTRAND A: Influence of protein intake on renal hemodynamics and plasma hormone concentrations in normal subjects. *Acta Med Scand* 217:189-196, 1985.
34. PREMEN AJ, HALL JE, SMITH Jr MJ: Postprandial regulation of renal hemodynamics: role of pancreatic glucagon. *Am J Physiol* 248:F656-F662, 1985.
35. PREMEN AJ: Nature of the renal hemodynamics action of amino acids in dogs *Am J Physiol* 256:F516-F523, 1989.
36. ROCHA DM, FALOONA GR, UNGER RH: Glucagon-stimulating activity of 20 amino acids in dogs. *J Clin Invest* 51:2346-2351, 1972.
37. WOODS LH: Mechanisms of renal vasodilatation after protein feeding: role of the renin-angiotensin system. *Am J Physiol* 264:R601-R609, 1993.
38. KRISHNA GG, NEWEL G, MILLER E, HEEGER P, SMITH R, POLANSKY M, KAPOOR S, HOELDTKE R: Protein induced glomerular hiperfiltration: Role of hormonal factors. *Kidney Int* 33:578-583, 1988.
39. RUILOPE LM, RODICIO J, ROBLES RG, SANCHO J, MIRANDA B, GRANGER JP, ROMERO C: Influence of low sodium diet on the renal response to amino acid infusions in humans. *Kidney Int* 31:992-999, 1987.
40. HIRSCHBERG RR, ZIPSER RD, SLOMOWITZ LA, KOPPLE JD: Glucagon and prostaglandins are mediators of aminoacid-induced rise in renal hemodynamics. *Kidney Int* 33:1147-1155, 1988.
41. HERRERA J, RODRIGUEZ-ITURBE B, PARRA G, COELHO J, GARCIA R, COLINA-CHOURIO J, SINAIKO A: Urinary prostaglandin E and kallikrein activity in glomerular hyperfiltration induced by a met meal in man. *Clin Nephrol* 30:151-157, 1988.
42. PALMER RMJ, ASHTON DS MONCADA S: Vacular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333:664-666, 1988.
43. VANHOUTTE BM: Endothelium and control of vascular function. *Hypertension* 13:658-667, 1989.
44. KING AJ, TROY JL, ANDERSON S, NEURINGER JR, GUNNING M, BRENNER BM: Nitric oxide: a potencial mediator of amino acid-induced renal hyperemia and hyperfiltration. *J Am Soc Nephrol* 1:1271-1277, 1991.
45. RODRIGUEZ-ITURBE B, HERRERA J, GUTKOWSKA J, PARRA G, COELLO J: Atrial natriuretic factor increases after protein meal in man. *Clin Sci* 75:495-498, 1988.
46. WOODS LL, MIZELLE HL, MONTANI JP, HALL JE: Mechanisms controlling renal hemodynamic and electrolyte excretion during amino acids. *Am J Physiol* 251:F303-F312, 1986.
47. WOODS LL, YOUNG EW: Impaired renal hemodynamic response to protein feeding in dogs with experimental Fanconi syndrome. *Am J Physiol* 261:F14-F21, 1991.
48. WOODS LL, DEYOUNG DR, SMITH BE: Regulation of renal hemodynamics after protein feeding: effects of loop diuretics. *Am J Physiol* 261:F815-F823, 1991.
49. RODRIGUEZ-ITURBE B, HERRERA J, GARCIA R: Relationship between glomerular filtration rate and renal blood flow at different levels of protein-induced hyperfiltration in man. *Clin Sci* 74:11-15, 1988.
50. MIORIN LA: *Resposta Renal à Sobrecarga Protéica em Pacientes Recuperados de Necrose Tubular Aguda*. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

4

INFLUÊNCIA DE FATORES REOLÓGICOS NA FUNÇÃO RENAL

Ana Durce Oliveira da Paixão
Nestor Schor

◆

CONSIDERAÇÕES ELEMENTARES SOBRE HEMORREOLOGIA

Hemorreologia é a ciência que estuda a deformação do fluxo sangüíneo. Este conceito abrange cada componente individual do sangue (eritrócitos, leucócitos, plaquetas e plasma), os quais coletivamente influenciam a viscosidade, e esta, a distribuição e a adequação do fluxo.

Diferente da água que é um líquido newtoniano, porque sua viscosidade independe da tensão sobre as camadas do fluido ("shear stress" ou atrito laminar do fluido), o sangue é um líquido não-newtoniano que tem por característica apresentar viscosidade dependente do "shear stress" em condições de temperatura e pressão fixas.

O conceito de "shear stress" é definido pela equação 1, onde F (dinas) representa a força aplicada horizontalmente sobre uma camada de fluxo de área A (cm^2). O conceito de "shear rate" (gradiente de velocidade entre as camadas do fluido) é definido pela equação 2, onde Δx representa a dimensão do deslocamento produzido pela força F por unidade de tempo (Δt) e Δy a distância entre duas camadas do fluxo[1].

O coeficiente de viscosidade sangüínea é expresso pela relação entre o "shear stress" e o "shear rate", de acordo com a equação 3.

$$\tau = \frac{F\ (dinas)}{A\ (cm^2)} \qquad \text{Equação 1}$$

$$\gamma = \frac{\Delta x}{\Delta t \Delta y} = \frac{x}{\Delta y} \cdot (s^{-1}) \qquad \text{Equação 2}$$

$$\eta = \frac{\tau\ (dinas \cdot s)}{\gamma\ (cm^2)}\ (\text{equilíbrio}) \qquad \text{Equação 3}$$

"Shear rate" e viscosidade sangüínea

O "shear rate" é um importante determinante da viscosidade. Quando a velocidade e o "shear rate" do fluxo diminuem, a viscosidade aumenta[2,3,4]. As vênulas pós-capilares apresentam "shear rate" de $10s^{-1}$ e viscosidade sangüínea aumentada[5].

Com "shear rate" acima de $20s^{-1}$, as células mais próximas da parede do vaso movem-se para o centro, e a migração axial diminui rapidamente, principalmente por causa da colisão com outras células. Contudo, a migração para o centro deixa um espaço hipocelular acima de 8µm contra a superfície endotelial. As células são transferidas de uma região de alto "shear rate" e baixa velocidade para uma região de mais baixo "shear rate" e alta velocidade. Como conseqüência, a resistência ao fluxo relacionada às células é reduzida, enquanto a velocidade celular é aumentada[6].

Em valores de "shear rate" superiores a $100s^{-1}$, o sangue se comporta como um líquido newtoniano. O "shear stress" é suficiente para penetrar na membrana celular[7], condição na qual a membrana na face axial da célula é pressionada contra a membrana do lado oposto. A membrana deformada leva sob ela o citoplasma, estabelecendo assim a transmissão do "shear stress" para o interior da célula. As camadas do plasma não mais circundam a célula mas empurram-na, transmitindo sua energia através delas, minimizando a resistência ao fluxo.

Diâmetro vascular e viscosidade sangüínea – variação da viscosidade sangüínea ao longo do leito vascular

Assim como o "shear rate", o diâmetro do vaso é de grande importância na determinação da visco-

sidade sangüínea. Em vasos menores de 300µm de diâmetro, a viscosidade sangüínea diminui, não por dependência do "shear rate", mas porque o hematócrito torna-se reduzido. Em média, as células atravessam o vaso mais rapidamente que o plasma. Por isso, o valor do hematócrito no tubo em determinado instante (o hematócrito dinâmico) é menor do que o hematócrito quando o sangue entra no tubo. Esta redução de valor do hematócrito é significativa em vasos menores de 300µm de diâmetro e reduz a viscosidade do sangue que passa através da microvasculatura. Este fenômeno, que foi orginalmente descrito como o efeito Fahraeus-Lindqvist[8] e confirmado em estudos *in vitro* por outros investigadores[9,10,11,12], prediz que a viscosidade sangüínea se torna reduzida quando o sangue flui através de capilares de diâmetro reduzido.

Como a viscosidade sangüínea é diretamente influenciada pelo "shear rate" e indiretamente pelo diâmetro do vaso, flutua de acordo com a velocidade do fluxo e o tamanho do vaso. Nas artérias e nas veias o "shear rate" é elevado o bastante para induzir alterações na forma dos eritrócitos. O efeito deste fenômeno em reduzir a viscosidade é limitado por valores relativamente elevados de hematócrito.

Nas arteríolas, a resistência ao fluxo é muito sensível a estímulos metabólicos e hormonais, os quais regulam o diâmetro do vaso e constantemente alteram a distribuição do sangue. Os efeitos reológicos de tal regulação são transmitidos para o leito capilar quando o "shear rate" e a concentração celular flutuam drasticamente[13]. Regulação adicional da hemodinâmica capilar é gerada nas vênulas pós-capilares. Nestes vasos, o "shear rate" é reduzido o suficiente para permitir agregação celular, o que resulta em aumento da viscosidade sangüínea.

O fluxo sangüíneo nos capilares é único, porque este segmento apresenta um diâmetro próximo ao diâmetro dos eritrócitos. Os eritrócitos humanos têm diâmetro interno de aproximadamente 7,5µm, enquanto os capilares nutritivos possuem diâmetros de 3-5µm. Nestes capilares, o fluxo é especialmente dependente da deformidade celular. Uma vez nos capilares, as células passam em fila única separadas por um "bolus" de plasma. As células e os espaços intercalados formam um fluxo central, o qual tem sua largura dependente do "shear rate" e deformidade dos eritrócitos[7]. Como as células ocupam o mesmo eixo do fluxo, elas fluem mais rapidamente do que o plasma marginal que está entre o eixo e o endotélio[14]. Isto significa que as camadas de plasma que originalmente têm baixo "shear rate" e alta velocidade próximas ao eixo são desviadas perifericamente, onde elas desenvolvem maior "shear rate" e menor velocidade.

Importância da deformidade eritrocitária na viscosidade sangüínea

Em baixos valores de "shear rate", os eritrócitos agregam-se formando massas empilhadas ("rouleaux"). Quando o fluxo alcança compartimentos de "shear rate" mais elevado, o "rouleaux" se dissolve e a viscosidade sangüínea diminui. Depois que o agregado se desintegra, o aumento adicional do "shear rate" reduz ainda mais a viscosidade sangüínea. Este fenômeno é devido à deformidade dos eritrócitos (DE).

Soluções de hemoglobina de concentrações semelhantes às encontradas nas células (33-35g/dl) são várias vezes mais viscosas do que no plasma[15], porque no eritrócito o efeito da viscosidade citoplasmática sobre a resistência da célula para a deformação é minimizado pela presença da hemoglobina. O fato de sua área se estender o mínimo necessário para circundar seu volume faz com que o eritrócito possa mudar sua forma sem distender sua membrana, tal ocorrido é precisamente o que é permitido pela anatomia da membrana celular, a qual é extremamente modulável mas não extensível[16].

Devido à alta relação superfície-volume e flexibilidade de suas membranas, os eritrócitos sujeitos ao "shear stress" sofrem várias alterações, as quais reduzem sua resistência ao fluxo. Primeiro elas assumem forma elipsóide alinhando-se paralelamente em direção ao fluxo. Esta conformação reduz a viscosidade por diminuir o desvio das camadas de plasma ao redor das células[17].

O estudo da DE é um campo que vem despertando interesse nestas últimas décadas. A DE desempenha função essencial no suprimento de oxigênio para os tecidos. Em condições normais, este fenômeno permite que as células sangüíneas, que têm diâmetro de 7µm, fluam através de capilares com diâmetros de 3-5µm. A redução na DE resulta em comprometimento da perfusão de tecidos periféricos[18,19,20].

Além disso, algumas evidências[19,21] sugerem que a DE pode ser um fator determinante da sobrevivência dos eritrócitos. Para que passem através do baço, as células devem atravessar vasos com diâmetros de 0,5-1,0µm. Portanto, o baço age como um filtro altamente eficiente e qualquer redução na DE pode impedir a passagem destas células na microvasculatura, ocasionando assim seqüestro e destruição.

O fenômeno de DE pode permitir que o sangue permaneça fluído mesmo em hematócritos muito elevados ou interferir com a interação pla-

queta-vasos sangüíneos *in vitro*[22,23]. Em casos de deformidade reduzida ocorre maior aderência plaquetária ao subendotélio.

A habilidade de deformação celular permite uma redução de viscosidade sangüínea nos grandes vasos, em resposta à força do fluido, onde os eritrócitos transformam-se de bicôncavos em elipsóides no eixo central paralelo ao fluido na posição subendotelial[18,19].

A deformidade do fluxo é uma conseqüência de três fatores: 1. existe uma grande razão entre a área de superfície da membrana e o volume celular, inerente à forma de disco bicôncava; 2. as propriedades viscoelásticas da membrana; 3. a viscosidade da solução intracelular de hemoglobina.

Significante número de pacientes portadores de doença arterial obstrutiva crônica apresentam DE inadequada[17]. Foi observado em 1975 que a pentoxifilina, uma substância vasoativa, induzia melhora na DE destes pacientes[24]. Outras drogas foram também avaliadas, inclusive o buflomedil[25] e a torbafilina[26]. Estas drogas vasoativas são usadas principalmente nas doenças arteriais obstrutivas crônicas e também em distúrbios hematológicos, como anemia falciforme[27].

"Shear stress" e viscosidade sangüínea

Influência dos eritrócitos na viscosidade sangüínea

O hematócrito, as deformidades eritrocitária e leucocitária, a viscosidade plasmática e a agregação dos elementos celulares são fatores que afetam a viscosidade sangüínea porque alteram o "shear stress". A influência da concentração de eritrócitos na viscosidade sangüínea tem sido extensamente estudada *in vitro*. A viscosidade sangüínea eleva-se com o aumento do hematócrito.

Uma partícula introduzida num fluxo desvia as camadas do fluido, causando compressão local do meio (reduzindo Δr) e aumentando a distância que o meio deve percorrer (Δl) para circundar a partícula[7]. Se o fluxo original deve ser mantido, a pressão sobre a coluna do fluido ("shear stress") deve ser aumentada para suprir energia objetivando "shear rate" mais elevado na área onde a partícula está suspensa. A necessidade de aumento na pressão (P) para manter o fluxo (Q) implica aumento da resistência (R), como indicado pela expressão de Hagen-Poiseulle: $Q = P/R$. Desde que $R = 8\eta l/\pi r^4$ e se r for constante, a elevação na resistência devido a uma partícula suspensa deve representar um aumento da viscosidade. Como cada partícula suspensa causa um aumento isolado no "shear rate", o efeito das partículas é ativo. Portanto, a viscosidade da suspensão aumenta com a concentração de partículas.

Trevan[28] expressou uma relação quantitativa entre o volume total de eritrócitos, a viscosidade do plasma e a viscosidade total do sangue da seguinte forma: hematócrito abaixo de 40% apresenta relação linear com aumento de viscosidade, hematócrito acima de 40% apresenta relação logarítmica com a viscosidade. Posteriormente, Whittaker & Winton[29] demonstraram que a relação hematócrito-viscosidade depende do viscosímetro utilizado. Naturalmente este achado é devido ao fato de a viscosidade depender também do "shear rate"[12,18,26] e do efeito Fahraeus-Lindqvist[8]. Estudos mais recentes[30], utilizando "shear rate" constante, tendo em vista sua desprezível importância na microvasculatura, demonstraram que a relação aumento de hematócrito e aumento de viscosidade é linear quando analisada em viscosímetros de até 6µm de diâmetro, tornando-se logarítmica quando analisada em viscosímetros com diâmetros de 9-40µm. Esta diferença de comportamento pode ser interpretada através da transição de uma única camada de células em viscosímetros de diâmetros reduzidos para multicamadas celulares em viscosímetros de diâmetros elevados.

O tamanho das partículas é também importante. Partículas maiores desviam as camadas de fluido mais do que as partículas menores e, portanto, causam maior aumento na viscosidade. Mais importante que o real tamanho da partícula é o seu "volume efetivo", o qual depende da sua forma e tendência de girar no fluxo. Quanto maiores a assimetria e a oscilação exibidas pela partícula, maior o volume do meio que ela desloca quando se move, aumentando seu volume efetivo e influenciando a viscosidade.

O conceito de volume celular efetivo é evocado para explicar o aumento na viscosidade sangüínea observado em valores de "shear rate" baixos (menores de $10s^{-1}$). A adesão celular que ocorre nestes valores de "shear rate" criam massas ("rouleaux"), as quais apresentam maior volume efetivo do que cada célula individualmente[31]. Portanto, a agregação celular resulta em aumento da viscosidade sangüínea.

A reatividade endotelial às alterações de "shear stress" tem despertado interesse nos fisiologistas, especialmente após o implante das novas técnicas de cultura destas células. Os resultados obtidos de cultura de células endoteliais, somados aos estudos de microvasculatura isolada[32,33] que evidenciam dilatação em resposta ao "shear stress", sugerem a participação da prostaciclina[34], do óxido nítrico (NO)[35], a ativação dos canais de potássio[36], a ativação dos canais de potássio seguida da liberação de nitrovasodilatador[37] e a ativação dos canais de cálcio mecano-

transdutores[38]. A produção de NO em resposta às alterações agudas de fluxo é dependente da ativação de proteína G[39], semelhante à ativação induzida por agentes vasoativos como a bradicinina, a histamina e a trombina, e de cálcio intracelular. Portanto, tem a participação da enzima constitutiva, a qual é dependente da Ca^{+2}-calmodulina[40], o que significa que os estímulos de estiramento são capazes, à semelhança aos agonistas hormonais, de desencadear sinalização intracelular. *In vivo*, o aumento da viscosidade sangüínea em várias condições experimentais determina a produção de fatores vasodilatadores[41].

Os estímulos fisiológicos para a geração de NO no endotélio ainda não estão bem definidos, sabe-se que o fluxo pulsátil, o "shear stress" e o aumento crônico do fluxo sangüíneo representam estímulos determinantes. Achados mais recentes demonstram que nas arteríolas, onde a resistência hidráulica e o "shear stress" são maiores, ocorre maior produção de NO[42]. Uma evidência indiscutível consiste no conhecimento de que a produção de NO é localizada e representa provavelmente um dos mais importantes mecanismos de adaptação do sistema cardiovascular.

As células mesangiais apresentam características funcionais semelhantes às células musculares lisas e são responsáveis pela modulação da hemodinâmica renal, inclusive participando com a produção de hormônios[43]. Sobre células mesangiais cultivadas em superfície flexível, estímulos do tipo estiramento-relaxamento ciclicamente sincronizados e monitorizados por computador[44] induzem alteração da morfologia celular. As células transformam-se de forma estelar para a forma em "correia", ocorrendo também alterações na organização dos filamentos de actina[45] e no perfil de componentes da matriz mesangial. Os níveis de colágenos I, III e IV na matriz extracelular tornam-se elevados[46]. O estiramento mecânico produz proliferação celular, avaliada através das expressões dos genes c-fos, erg-1 e aumento da síntese protéica, avaliada através da presença da S6 quinase[47]. As elevações nos níveis de RNAm para c-fos e erg-1 e a ativação da S6 quinase são atenuadas na presença de H7, um inibidor da PKC, indicando ser esta enzima uma potencial mediadora de todos estes processos[48]. Além das alterações no padrão de crescimento celular, o estiramento mecânico aumenta também a produção de prostaglandinas (PG) nas células mesangiais[45].

POLICITEMIA E FUNÇÃO RENAL

Como a resistência vascular é determinada pelo tônus vascular e pela viscosidade sangüínea aparente[49], a hemodinâmica renal é efetivamente modulada em resposta às alterações da viscosidade sangüínea, seja por alteração da viscosidade plasmática, seja por alteração do hematócrito.

A redução aguda do hematócrito, experimentalmente induzida por transfusão isovolêmica, provoca aumento do fluxo urinário (V'), na excreção de sódio e potássio, no fluxo plasmático (FPR) e sangüíneo renal (FSR), redução da resistência vascular renal total (RVRT) e da fração de filtração (FF), enquanto o aumento agudo do hematócrito induz redução do fluxo plasmático e sangüíneo renal, aumento da resistência vascular renal e da fração de filtração. Sobre a hemodinâmica glomerular foi evidenciado que o aumento agudo de hematócrito por transfusão isovolêmica induz elevação das resistências arteriolares aferente (R_A) e eferente (R_E), e da fração de filtração (SNFF) devido à redução do gradiente de pressão transglomerular (ΔP)[50].

Pacientes portadores de *cor pulmonale* com policitemia secundária apresentam FPR reduzido e FF elevada. Os autores sugerem que nestes pacientes a resistência capilar pós-glomerular encontra-se elevada, sendo necessária a redução do hematócrito para reverter a hipertensão capilar e suas seqüelas[51]. Pacientes com doença cardíaca cianótica congênita têm um perfil de função renal semelhante ao perfil do paciente com *cor pulmonale*[52]. As análises de morfologia renal destes pacientes revelam alterações estruturais do gênero aumento no diâmetro glomerular, congestão e dilatação capilar, hipercelularidade mesangial, esclerose glomerular focal[53,54] e hialinização arteriolar[52]. Estes pacientes policitêmicos apresentam grave proteinúria, provavelmente em conseqüência às anormalidades morfológicas e funcionais do glomérulo.

Ratos Münich-Wistar com policitemia induzida por eritropoetina apresentam aumento no V', no FSR e na FF, enquanto a RVRT e a filtração glomerular (FG) não se alteram. As alterações na hemodinâmica glomerular são evidenciadas por redução nas R_A e R_E, aumento no fluxo glomerular (Q_A), na filtração glomerular por néfron (SNGFR) e no coeficiente de ultrafiltração glomerular (K_f). A microscopia óptica não revela alterações de morfologia renal nestes animais. A policitemia não induz alterações na pressão capilar glomerular (P_{CG}) ou no ΔP. O aumento da FF pode sugerir elevação na resistência arteriolar eferente. No entanto, o que se observa é que a vasodilatação eferente na policitemia apresenta-se proporcionalmente superior à vasodilação aferente. Este dado, aliado à observação de que o Q_A e a SNGFR apresentam-se elevados sem elevações paralelas do FPR e FG, sugere redistribuição de fluxo em condições de policitemia[55].

A administração de um inibidor da NO sintase, o L-NAME, nos ratos Münich-Wistar policitêmicos induz significativo aumento na RVRT e na FF e redução no FSR e na FG. No entanto, esta droga induz as mesmas alterações no grupo de animais normocitêmicos com exceção de sua ação na FG. Sobre a hemodinâmica glomerular no grupo policitêmico, o L-NAME reduz, significativamente, o Q_A, a SNGFR e aumenta as R_A e R_E. Estes dados indicam que o NO deve ter participação nos eventos renais induzidos pela policitemia[56].

Mais ainda, a administração de indometacina em ratos Münich-Wistar policitêmicos induz significativa redução no V', no FSR e na FG e importante elevação da RVRT. Sobre a hemodinâmica glomerular, a indometacina reverte o aumento no Q_A, na SNGFR, bem como reverte a redução nas resistências arteriolares[55]. Assim como o NO, as prostaglandinas parecem de grande importância na manutenção da função renal e redistribuição do fluxo sangüíneo presente na policitemia (Fig. 4.1). No entanto, estas alterações de hemodinâmica renal podem representar o gatilho para a ocorrência de alterações estruturais, tais como as apresentadas na *cor pulmonale* e doença cardíaca cianótica congênita[52,53,54].

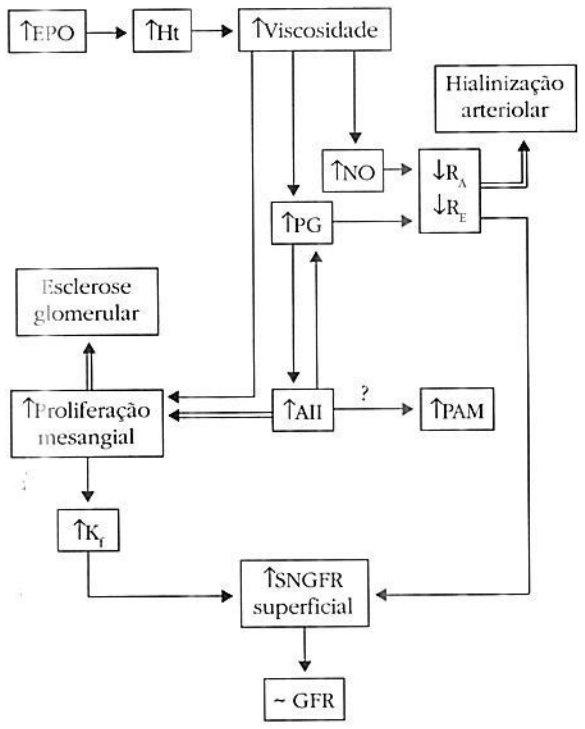


Figura 4.1 – Representação esquemática das alterações renais observadas em condições de policitemia. A esclerose glomerular e a hialinização arteriolar são pressupostas da evolução policitêmica. Ht = hematócrito; EPO = eritropoetina.

Alguns investigadores, através de alterações no hematócrito ou viscosidade plasmática, têm relacionado a hiperviscosidade à vasodilatação renal, a qual manteria o fluxo plasmático renal inalterado. A redução da resistência vascular renal, por sua vez, tem sido correlacionada à ativação do sistema renina-angiotensina[57]. É importante considerar algumas evidências que sugerem ser o alto fluxo cortical responsável pela autoregulação presente na hiperviscosidade, o que não ocorreria na medula renal, em conseqüência do baixo fluxo medular[58].

A administração aguda de PG vasodilatadoras provoca a síntese de renina renal, estimulando seqüencialmente a produção de angiotensina II (AII)[59]. Níveis elevados de hematócrito induzidos por transfusão isovolêmica em cães[57] levam à vasodilatação renal e elevam a atividade de renina plasmática (PRA). A policitemia induzida pela eritropoetina também induz a formação de RNAm para renina no rim[60]. Possivelmente, a vasodilatação renal precede a liberação de angiotensina. Os nossos dados, no entanto, sugerem que os efeitos renais das PG sobrepujam os efeitos renais da angiotensina.

Em células endoteliais, o "shear stress" é tão potencialmente estimulador da síntese de PG quanto de NO[34,35]. Em células mesangiais, há evidências de que o "shear stress" estimula a produção de PG vasodilatadoras[45]. Todavia, não há evidências de que o mesmo ocorra em relação à produção de NO, pois a enzima NO sintetase, até então caracterizada em células mensangiais, é de natureza induzível e não dependente da Ca^{+2}-calmodulina[61,62]. É possível que a importância renal maior das PG no evento policitêmico se deva ao fato de sua produção concomitante por endotélio e células mesangiais. É possível também que a ativação do sistema renina-angiotensina (SRA) seja responsável por maior produção de PG.

Não há na literatura evidências concernentes à mediação de PG na ação vasodilatadora da policitemia. Na prática médica, este dado pode ser útil no sentido de se investigar efeitos benéficos ou maléficos de inibidores da cicloxigenase na função renal de indivíduos policitêmicos.

Ratos Münich-Wistar (MW) submetidos a 5/6 de ablação renal, um modelo experimental de insuficiência renal crônica (IRC), quando se tornam policitêmicos pelo tratamento com eritropoetina, não apresentam alteração no V', mas apresentam redução no FSR e FG e aumento na RVRT e FF. Portanto, ao contrário do que se observou em ratos normais, os ratos com insuficiência renal crônica apresentam evolução acelerada de perda da função renal caracterizada por proteinúria e função renal reduzida[63].

Garcia e cols[64], respaldados por um elegante modelo experimental, demonstraram os efeitos da anemia e da policitemia induzidas por eritropoetina, em ratos renais crônicos. Os dados desta investigação demonstram aumento de resistências arteriolares, redução do Q_A e SNGFR e aumento da P_{CG} com redução do K_f.

Ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos a 5/6 de ablação renal, quando se tornam policitêmicos pelo tratamento com eritropoetina, apresentam aumento no V′, e nenhuma alteração no FSR, na FG, na FF ou na RVRT. Diferente da raça MW, a policitemia nos SHR com insuficiência renal não induz progressão acelerada de redução da função renal[65].

É importante considerar que tal modelo de policitemia induzida por eritropoetina não está isento de uma possível ação direta desta droga. Devido à importância das células mesangiais na modulação da hemodinâmica renal, em nosso Serviço foi investigado o efeito da eritropoetina sobre a concentração de cálcio intracelular em células mesangiais. Nossos dados indicam que a eritropoetina induz aumento na concentração de cálcio intracelular nestas células[66]. No entanto, a concentração de eritropoetina, na qual se observa efeito direto, está na ordem de 15UI/ml, enquanto os níveis plasmáticos observados quando doses de até de 500UI/kg são administradas apresentam-se em torno de 2-3UI/ml[67].

Finalmente, o impacto de novas descobertas e o entendimento do "sistema" endotelial com suas células "adjacentes" (como por exemplo: a célula mesangial) trazem novamente a necessidade de um melhor e novo entendimento do enfoque dos fatores reológicos modificando a biologia vascular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MERRILL EW: Rheology of blood. *Phys Rev* 49(4):863-887, 1969.
2. COPLEY AL, KRCHMA LC, WHITNEY ME: Humoral rheology. I. Viscosity studies and anomalous flow properties of human blood systems with heparin and other anticoagulants. *J Gen Physiol* 26:49-64, 1942.
3. WELLS Jr RE, DENTON R, MERRILL EW: Measurement of viscosity of biologic fluids by cone plate viscometer. *J Lab Clin Med* 57:646-656, 1961.
4. WELLS Jr RE: The rheology of blood in microvasculature. *N Engl J Med* 270:832-889, 1964.
5. HORNE MK: Sickle cell anemia as a rheologic disease. *Am J Med* 70:288-298, 1981.
6. GOLDSMITH HL: The microrheology of red blood cell suspensions. *J Gen Physiol* 52(Suppl 1): 5S-27S, 1968.
7. SURGENOR DM, CHIEN S: Biophysical behavior of red cells in suspensions, in *The Red Blood Cell*, (2nd ed) edited by Surgenor DM, New York, Academic Press, 1975, p. 1131.
8. FAHRAEUS R, LINDQVIST T: The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *Am J Physiol* 96:562-568, 1931.
9. BARBEE JH, COKELET GR: Prediction of blood flow in tubes with diameters as small as 29μ. *Microvasc Res* 3:17:21, 1971.
10. GUPTA BB, SESHADRI V: Flow of red blood cell suspensions through narrow tubes. *Biorheology* 14:133-143, 1977.
11. HALIKAS G, SHEPPARD W: The viscosity of water and of blood in small diameter cappillary tubes. Anomalous viscosity of blood. *Biorheology* 6:137-142, 1969.
12. HAYNES RH, BURTON, AC: Role of the non-Newtonian behavior of blood in hemodynamics. *Am J Physiol* 197:943-950, 1959.
13. SCHMID-SCHONBEIN GW: Cell distribution in capillary networks. *Microvasc Res* 19:18-44, 1980.
14. FUNG YG: Stochastic flow in capillary blood vessels. *Microvasc Res* 5:34-48, 1973.
15. CHIEN S: Abnormal rheology of oxygenated blood in sickle cell anemia. *J Clin Invest* 49:623-634, 1970.
16. BURTON AC: Role of geometry of size and shape, in the microcirculation. *Fed Proc* 25:1753-1760, 1966.
17. HARRIS JW, BREWSTER HH, HAM TH, CASTLE WB: Studies on the destruction of red blood cells. X. the biophysics and biology of sickle cell disease. *Arch Intern Med* 97:145-168, 1956.
18. LOWE GDO: Red cell deformability – methods and terminology. *Clin Hemorrheol* 4:159-175, 1984.
19. MOHANDAS N, PHILIPS WM, BESSIS M: Red blood cell deformability and hemolytic anemias. *Semin Hematol* 16:95-114, 1979.
20. DORMANDY JA: Red cell deformability. *Eur Neurol* 22(Suppl 1):23-29, 1983.
21. WEED RI: The importance of erythocyte deformability. *Am J Med* 49:147-151, 1970.
22. AARTS PAAM, HEETHAAR RM, SIXMA JJ: Red blood cell deformability influences platelet-vessel wall interaction in flowing blood. *Blood* 64:1228-1233, 1984.
23. AARTS PAAM, BANGA, JD, VAN HOUWELINGEN HC, HEETHAAR RM, SIXMA JJ: Increased red blood cell deformability due to isoxsuprine administration decreases platelet adherence in a perfusion chamber: a double-blind crossover study in patients with intermittent claudication. *Blood* 67:1474-1481, 1986.
24. EHRLY AM: Improvement of the flow properties of blood. A new therapeutical approach in occlusive arterial disease. *Angiology* 27:188-196, 1976.
25. CLISSOLD SP, LYNCH S, SORKIN EM: Buflomedil: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in peripheral and cerebral vascular diseases. *Drugs* 33:430-460, 1987.
26. CABBANES R, PISTONNE M, FAGET P, MEITE M, BASSEMBIE J: Rheological study of sickle-cells in SCD patients treated with pentoxifylline: a comparative study. (Abstract) *Clin Hemorheol* 3:232, 1983.
27. AVIADO DM, PORTER JM: Pentoxifyline: a new drug for the treatment of intermittent claudication. Mechanism of action, pharmacokinetics, clinical efficacy and adverse effects. *Pharmacotherapy* 4:297-307, 1984.
28. TREVAN JW: The viscosity of blood. *Biochem J* 12:60-71, 1918.
29. WHITTAKER SRF, WINTON FR: The apparent viscosity of blood flowing in the isolated hindlimb of the dog, and its variation with corpuscular concentration. *J Physiol* (London) 78:339-369, 1933.
30. PRIES AR, NEUHAUS D, GAEHTGENS P: Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *Am J Physiol* 263(32):H1770-H1778, 1992.
31. CHIEN S: Shear dependence of effective cell volume as a determinant of blood viscosity. *Science* 168:977-979, 1970.
32. KOLLER A, SUN D, KALEY G: Role of shear stress and endothelial prostaglandins in flow and viscosity-induced dilation of arterioles in vitro. *Cir Res* 72:1276-1284, 1993.

33. KOLLER A, KALEY G: Prostaglandins mediate arteriolar dilation to increased blood flow velocity in skeletal muscle microcirculation. *Circ Res* 67:529-534, 1990.
34. FRANGOS JA, ESKIN GS, McINTIRE LV, IVES CL: Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells. *Science* 227:1477-1479, 1985.
35. BUGA GM, GOLD ME, FUKUTO JM, IGNARRO LJ: Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 17:187-193, 1991.
36. OLENSEN S-P, CLAPHAM DE, DAVIES PF: Haemodynamic shear stress activates a K^+ current in vascular endothelial cells. *Nature* 331:168-170, 1988.
37. COOKE JP, ROSSITCH Jr E, ANDON NA, LOSCALZO J, DZAU VJ: Flow activates an endothelial potasium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest* 88:1663-1671, 1991.
38. LANSMAN JB, HALLAM TJ, RINK TJ: Single stretch-activated ion channels in vascular endothelial cells as mechanotransducers? *Nature* 325:811-813, 1987.
39. KUCHAN MJ, JO H, FRANGOS JA: Role of G proteins in shear stress-mediated nitric oxide production by endothelial cells. *Am J Physiol* 267:C753-C758, 1994.
40. LÜCKOFF A, POHL U, MULSCH A, BUSSE R: Differential role of extra- and intracellular calcium in the release of EDRF and prostacyclin from cultured endothelial cells. *Br J Pharmacol* 95:189-196, 1988.
41. MELKUMYANTS AM, BALASHOV SA: Effect of blood viscosity on arterial flow induced dilator response. *Cardiovasc Res* 24:165-168, 1990.
42. MONCADA S, PALMER MJ, HIGGS EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43(2):109-142, 1991.
43. MENÉ P, SIMONSON MS, DUNN MJ: Physiology of the mesangial cell. *Physiol Rev* 69:1347-1424, 1989.
44. BANES AJ, GILBERT J, TAYLOR D, MONABREAU O: A new vacuum-operated stress-providing instrument that applies static or variable duration cyclic tension or compression to cells in vitro. *J Cell Sci* 75:35-43, 1985.
45. HARRIS RC, AKAI Y, YASUDA T, HOMMA T: The role of physical forces in alterations of mesangial cell function. *Kidney Int* 45 (Suppl 45):S17-S21, 1994.
46. HARRIS RC, HARALSON MA, BADR KF: Continuous stretch-relaxation in culture alters rat mesangial cell morphology, growth characteristics and metabolic activity. *Lab Invest* 66:548-554, 1992.
47. AKAI Y, HOMMA T, BURNS KD, HARRIS RC: Mechanical strecht/relaxation stimulates protein kinase C activity, calcium influx and protooncogene expression in cultured rat mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* 3:460, 1992.
48. HOMMA T, AKAI Y, BURNS KD, HARRIS RC: Activation of S6 kinase by repeated cycles of stretching and relaxation in rat glomerular mesangial cells: Evidence for involvement of protein kinase C. *J Biol Chem* 267:23129-23135, 1992.
49. JAY AWL, ROWLANDS S, SKIBO L: The resistance to blood flow in the cappillaries. *Can J Physiol Pharmacol* 50:1007-1013, 1972.
50. SCHRIER RW, EARLY LE: Effects of hematocrit on renal hemodynamics and sodium excretion in hydropenic and volume-expanded dogs. *J Clin Invest* 49:1656-1667, 1970.
51. WILCOX CS, PAYNE J, HARRISON BDW: Renal function in patients with chronic hypoxaemia and cor pulmonale following reversal of polycythemia. *Nephron* 30:173-177, 1982.
52. JONG PE, WEENING JJ, DONKER AJM, van der HEM GK: The effect of phlebotomy on renal function and proteinuria in a patient with congenital heart cyanotic disease. *Nephron* 33:225-226, 1983.
53. DE WARDENER HE, McSWINEY RR: Renal haemodynamics in primary polycythemia. *Lancet* 2:204-205, 1951.
54. DRUMMOND KN, VERNIER RL, WORTHEN HG, GODD RA: The associated occurrence of the nephrotic syndrome and congenital heart disease. *Pediatrics* 31:103-114, 1963.
55. PAIXÃO ADO, RAZVICKAS CV, SCHOR N: *Erythropoietin Effects on Glomerular Hemodynamics*. 26th Annual Meeting of American Society of Nephrology. Boston, 1993.
56. PAIXÃO ADO, RAZVICKAS CV, SCHOR, N: Nitric oxide (NO) mediate renal vasodilatation during polycythemia induced by erythropoetin (EPO). IX Congresso Latinoamericano de Nefrologia. San Juan, 1994.
57. SIMCHOM S, CHEN RYZ, CARLIN RD, FAN F-C, JAN K-M, CHIEN S: Effects of blood viscosity on plasma renin activity and renal hemodynamics. *Am J Physiol* 250(19):F40-F46, 1986.
58. NASHAT FS, SCHOLEFIELD FR, TAPPIN JW, WILCOX CS: The effects of changes in haematocrit on the intrarenal distribution of blood flow in the dog's kidney. *J Physiol* (Lond) 201:639-655, 1969.
59. SCHOR N, BRENNER BM: Possible mechanism of prostaglandin-induced renal vasoconstriction in the rat. *Hypertension* 3(6 Pt 2):II-81-85, 1981.
60. EGGENA P, WILLSEY P, JAMGOTCHIAN N, TRUCKENBROD L, HU MS, BARRET JD, EGGENA MP, CLEGG K, NAKHOUL F, LEE DBN: Influence of recombinant human erythropoietin on blood pressure and tissue renin-angiotensin systems. *Am J Physiol* 261(24):E642-E646, 1991.
61. SCHULTZ PJ, ARCHER SL, ROSENBERG ME: Inducible nitric oxide synthase mRNA and activity in glomerular mesangial cells. *Kidney Int* 46:683-689, 1994.
62. SCHULTZ PJ, TAYEH MA, MARLETTA MA, RAIJ L: Synthesis and action of nitric oxide in rat glomerular mesangial cells. *Am J Physiol* 261:F600-F606, 1991.
63. PAIXÃO ADO, RAZVICKAS CV, BOIM MA, AJZEN H, SCHOR N: Renal hemodynamic effects of L-NAME in normal and 5/6 nephrectomized rats treated with erythropoietin (rHuEPO). XIIIth International Congress of Nephrology. Madrid, 1995.
64. GARCIA JF, SHERWOOD J, GOLDWASSER E: Radioimmunoassay of erythropoietin. *Blood Cells* 5:405-419, 1979.
65. PAIXÃO ADO, RAZVICKAS CV, BOIM MA, SCHOR N: Erythropoietin (rHuEPO) effects on renal hemodynamics of 5/6 nephrectomized normotensive and hypertensive rats. XIIIth International Congress of Nephrology. Madrid, 1995.
66. PAIXÃO ADO, FERREIRA AT, OSHIRO MEM, SCHOR N: Erythropoietin effects on intracellular calcium of mesangial cells. XIIIth International Congress of Nephrology. Madrid, 1995.
67. ESCHBACH JW: The anemia of chronic renal failure: pathophysiology and effects of recombinant erythropoetin. *Kidney Int* 35:134-148, 1989.

5

DISTÚRBIOS ELETROLÍTICOS NO PACIENTE CRÍTICO

Antonio Carlos Seguro
Antonio José Barros Magaldi
Claudia Maria de Barros Helou

◆

DISTÚRBIOS DO METABOLISMO DO SÓDIO

INTRODUÇÃO

O sódio é o principal íon do fluido extracelular. Sua concentração plasmática normal varia entre 135 e 145mEq/l. As modificações da concentração plasmática de sódio estão ligadas diretamente às alterações da osmolaridade plasmática.

A osmolaridade plasmática (Posm) pode ser calculada pela equação:

$$Posm = 2[Na^+] + \frac{glicose}{18} + \frac{uréia}{6}$$

A concentração de sódio é multiplicada por 2, por considerarmos, além deste cátion, os ânions que o acompanham (cloreto, bicarbonato, etc.). Dividimos a glicemia (em mg/100ml) por 18, baseados na própria definição de osmolaridade, ou seja, 1 mol de uma substância em 1 litro de água do plasma corresponde a 1Osm.

1 mol de glicose = 180 gramas
180g-1 litro-1Osm
180g-1litro-1.000mOsm
180mg-1 litro-1mOsm
18mg-100ml-1mOsm

O mesmo raciocínio deve ser feito com a uréia cujo peso molecular é igual a 60. Vários livros apresentam esta fórmula dividindo a uréia por 2,8 por considerar apenas o nitrogênio uréico (BUN), que contribui com 2 átomos na fórmula da uréia (peso molecular do nitrogênio é igual a 14).

A osmolaridade medida nos aparelhos (osmômetros), normalmente, é um pouco menor que a calculada, porque os solutos eletrolíticos (NaCl) não se dissociam completamente na água.

A maior parte da osmolaridade normal (285mOsm/kg H_2O) é devida ao sódio. Portanto, diminuição ou aumento da concentração plasmática de sódio, em geral, levam a hipo ou hiperosmolaridade do plasma e suas conseqüências[1,2,3].

HIPONATREMIA

A hiponatremia é definida como uma concentração plasmática inferior a 135mEq/l.

Em algumas situações, conhecida como pseudo-hiponatremia, a concentração baixa de sódio ocorre por um aumento da fase não aquosa do plasma[4]. Normalmente, 7% do plasma é constituído por proteínas e lípides (fase não aquosa). Nas doenças, como o mieloma múltiplo, com produção de uma proteína anômala, ou na lipólise exagerada observada no *Diabetes mellitus* descompensado, o aumento destes componentes do plasma diminui a fase aquosa do plasma, fazendo com que os aparelhos convencionais, espectrofotômetros de chama, acusem concentrações plasmáticas baixas de sódio, pois estes aparelhos não medem a atividade dos íons apenas na fase aquosa. A extração das proteínas anômalas ou do excesso de lípides normaliza a leitura do sódio. Deve-se observar que a osmolaridade plasmática medida nesta situação é normal.

O conhecimento da pseudo-hiponatremia é importante no sentido de se evitar tratamentos errôneos destes distúrbios.

Outra causa em que a hiponatremia está associada a uma osmolaridade plasmática normal ou à hiperosmolaridade é observada quando ocorre redistribuição da água do intracelular para o ex-

tracelular, devido à presença de altas concentrações de uma substância no extracelular que não difunde livremente pela membrana celular, gerando um gradiente osmótico entre os dois compartimentos[1,2].

A causa mais comum deste tipo de hiponatremia é a hiperglicemia. Para cada 100mg/dl de aumento de glicose plasmática acima de 100mg/dl, a concentração plasmática de sódio diminui cerca de 1,6mEq/l, o mesmo ocorre em pacientes que recebem infusão de manitol. O tratamento deste distúrbio é dirigido no sentido de diminuir a concentração de glicose ou de manitol.

Hiponatremia verdadeira

As hiponatremias podem ser divididas em hiponatremias por perda de sódio e hiponatremias dilucionais (ganho de água).

As hiponatremias por perda de sódio caracterizam-se por sintomas e sinais clínicos de contração do volume extracelular. Nestes casos, a concentração urinária de sódio é baixa, exceto quando a hiponatremia é devida ao uso de diuréticos, nefropatia perdedora de sal ou na alcalose metabólica grave com bicarbonatúria que leva à perda obrigatória de sódio[5].

As principais fontes de perda de sódio são o tubo digestivo, o rim e a pele. A concentração de sódio nas secreções digestivas[6] podem ser vistas na tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Concentração de sódio nas secreções digestivas.

Fluido	Volume (l/dia)	Na^+ (mEq/l)
Saliva	1	20-80
Suco gástrico	1-2	20-100
Bile	1	150-250
Suco pancreático	1-2	120
Secreção do intestino delgado	1-2	140

Como podemos observar, a perda de sódio é maior na diarréia do que no vômito. As fístulas ileais podem levar a perdas em torno de 6 litros/dia de uma solução com alta concentração de sódio, e se tratadas com soluções hipotônicas deste cátion podem produzir hiponatremia importante. Pacientes com AIDS têm diarréia produzida pelo próprio vírus HIV e freqüentemente desenvolvem hiponatremia com contração do volume extracelular[7].

As perdas insensíveis por sudorese excessiva e perspiração, que podem ser observadas em esportistas após grande exercício físico, pessoas que trabalham em locais de alta temperatura ou pacientes com febre alta, inicialmente levam à hipernatremia, uma vez que a concentração de sódio no suor é da ordem de 30mEq/l, entretanto, devido à sede intensa, estas pessoas repõem o seu déficit em água sem repor a perda de sódio, desenvolvendo hiponatremia, que pode ser a causa de câimbras que aparecem após exercício físico. A ingestão concomitante de pequena quantidade de sal nestas situações previne este distúrbio[5,8].

As perdas renais são importantes causas de hiponatremia, dentre estas estão as observadas em pacientes com insuficiência renal aguda ou crônica com poliúria, principalmente nas doenças que atingem a medula do rim, como pielonefrite crônica, doença cística medular, quando a perda de sódio exagerada faz com que, além de aumentar a ingestão de sódio na dieta, seja necessária suplementação de NaCl[5].

Os diuréticos produzem hiponatremia por perda de sódio, porém, a incapacidade de diluir urina que se segue ao uso dos diuréticos de alça e dos tiazídicos, como veremos, é a principal causa de hiponatremia com o uso destes agentes farmacológicos.

Outra causa renal de perda de sódio é a chamada diurese pós-desobstrução. Toda vez que as vias urinárias são obstruídas, o aumento da pressão intratubular altera os mecanismos de reabsorção de sódio e água, provavelmente por alterações do citoesqueleto da célula tubular. Quando as vias urinárias são desobstruídas, ocorre poliúria importante com grande natriurese que podem levar à desidratação se não repostas adequadamente, como tem sido observado em pacientes prostáticos ou com bexigoma por obstrução da sonda vesical.

A aldosterona no túbulo coletor aumenta a reabsorção de sódio e a secreção de potássio. Na doença de Addison, a insuficiência adrenal é caracterizada por episódios de desidratação e hipotensão, acompanhadas de hiperpotassemia e hipermelanose das mucosas. Este quadro tem sido descrito com relativa freqüência com AIDS[7].

Alguns pacientes com lesão do sistema nervoso central por infecção, trauma, tumores, hemorragia subaracnóidea podem apresentar grande perda urinária de sódio que parece mediada pelo fator natriurético atrial e não relacionada à secreção inapropriada de hormônio antidiurético[5,9].

Um estudo das causas de hiponatremia em pacientes adultos internados no Hospital das Clínicas da FMUSP mostrou, como pode ser visto na tabela 5.2, que a incidência de hiponatremia associada à hipovolemia foi da ordem de 8,5%. Esta porcentagem é muito baixa, provavelmente porque a história clínica e os sinais de exame físico

Tabela 5.2 – Incidência de hiponatremia quanto à sua gravidade e estado de hidratação dos pacientes (dados obtidos de Pizzotti e cols[3]).

Sódio sérico (mEq/l)	Hipervolemia (%)	Normal (%)	Hipovolemia (%)	Total (%)
125-128 (leve)	12,8	10,6	–	23,4
119-124 (moderada)	14,9	21,3	6,4	42,6
118 (grave)	14,9	17,0	2,1	34,0
Total	42,6	48,9	8,5	100,0

de desidratação são facilmente reconhecidos pelo médico e assim, muitas vezes, a dosagem de sódio plasmático não é solicitada.

O tratamento das hiponatremias por perda de sódio deve ser feito com a remoção da causa básica e a expansão do volume extracelular, se necessário com soro fisiológico (150mEq/l de sódio, osmolaridade de 300mOsm) pela via endovenosa.

Hiponatremia dilucional

São hiponatremias causadas pelo excesso de água, não pela perda de sódio, e devem-se à incapacidade de diluir urina.

Um homem normal pode tomar até 15 litros de água por dia sem que desenvolva qualquer distúrbio metabólico, desde que seu mecanismo de diluição urinária esteja operando corretamente, fazendo com que se elimine uma urina diluída até uma osmolaridade de 50mOsm/kg de H_2O.

Como podemos ver na figura 5.1, o mecanismo de diluição urinária depende fundamentalmente de três fatores:

1. da quantidade de fluido que deixa o túbulo proximal, ou seja, da oferta de fluido aos segmentos distais. Este volume depende da filtração glomerular e da reabsorção proximal que é isosmótica, portanto, não contribui para a diluição urinária. Assim sendo, se a filtração glomerular diminuir e/ou a reabsorção proximal aumentar, a capacidade de diluir urina se reduzirá;
2. do perfeito funcionamento da porção espessa da alça de Henle (segmento diluidor), pois é neste segmento que é impermeável à água e onde é reabsorvido cloreto de sódio que fica hipotônico (em torno de 100mOsm/kg de H_2O);
3. da impermeabilidade à água do ducto coletor, a qual depende do hormônio antidiurético. Na ausência de vasopressina, o ducto coletor permanece praticamente impermeável à água. A reabsorção de solutos neste segmento faz com que a osmolaridade urinária[2] atinja valor tão reduzido quanto 50mOsm/kg de H_2O.

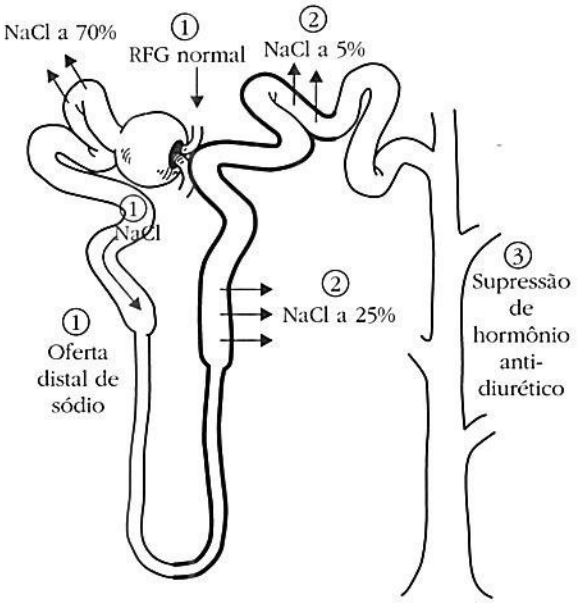


Figura 5.1 – A formação de água livre depende de três condições: 1. filtração glomerular normal e oferta distal de sódio adequado, o qual representa a quantidade de sódio não reabsorvida no túbulo proximal; 2. perfeito funcionamento dos segmentos diluidores que reabsorvem sódio sem reabsorver água; 3. supressão do hormônio antidiurético para não permitir a reabsorção de água no ducto coletor.

A alteração de qualquer um destes três fatores leva à incapacidade de diluir urina, a qual se associada à livre ingestão de água produz hiponatremia.

Assim, por exemplo, na insuficiência renal, a queda importante da filtração glomerular impossibilita a diluição urinária. Se a filtração glomerular cair, por exemplo, para 5ml/min, serão filtrados 7.200ml em 24 horas, dos quais 70% aproximadamente serão reabsorvidos no túbulo proximal; os 2 litros restantes chegam ao segmento diluidor, mesmo que este esteja funcionando normalmente e que o ducto coletor seja impermeável à água, apenas este volume de urina livre de solutos poderia ser excretado; se o paciente ingerir mais que 2 litros desenvolverá hiponatremia.

O uso de diuréticos que atuam nos segmentos diluidores, como a furosemida e os tiazídicos, inibe a diluição urinária, fazendo com que se excrete uma urina com osmolaridade de 300mOsm/kg de H_2O. A ingestão liberada de água nesta situação leva à hiponatremia dilucional, que ocorreu em 56% dos casos de hiponatremia de pacientes internados no Hospital das Clínicas da FMUSP, como pode ser visto na tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Fatores desencadeantes dos 49 episódios de hiponatremia (dados obtidos de Pizzotti e cols[3]).

	Nº de pacientes	Freqüência (%)
Restrição de sal sem restrição de água	34	68
Diuréticos: tiazídicos	15	30
furosemida	13	26
Pneumopatia aguda	11	22
Cirurgia	10	20
Cirrose	10	20
Soro hipotônico	9	18
Neoplasia	9	18
Drogas que aumentam a liberação de hormônio antidiurético	6	12
Doença aguda do SNC	6	12
Hiperglicemia	3	6
Insuficiência renal	3	6
Hemorragia grave	2	4
Insuficiência cardíaca	2	4
Pseudo-hiponatremia	2	4
Diarréia	1	2

Em situações clínicas, como na insuficiência cardíaca, na cirrose hepática, na síndrome nefrótica por lesões mínimas da criança, existe diminuição da volemia arterial efetiva, que, via barorreceptores e receptores de volume, estimula a liberação de hormônio antidiurético, o qual, agindo no ducto coletor aumentando a reabsorção de água, impede a diluição urinária com conseqüente hiponatremia. Além disso, na insuficiência cardíaca e na cirrose hepática a reabsorção proximal está aumentada com conseqüente menor oferta de sódio aos segmentos diluidores, reduzindo mais ainda a capacidade de diluir urina nestas situações clínicas[10,11,12].

Em pacientes com pneumonia, intubados e mantidos em ventilação mecânica com pressão expiratória positiva (PEEP), o aumento da pressão inspiratória e expiratória faz com que o retorno venoso diminua, com conseqüente redução do débito cardíaco e da volemia arterial efetiva, a qual é potente estímulo para maior secreção de hormônio antidiurético. Os pacientes, nesta condição, devem ter sua oferta de água livre reduzida[13].

As drogas que estimulam a produção ou a ação do hormônio antidiurético, como a clorpropamida, os antiinflamatórios não-hormonais e a ciclofosfamida, inibem a capacidade máxima de diluição urinária, o que também é observado em pacientes portadores da síndrome de secreção inapropriada de hormônio antidiurético.

Como mostra a tabela 5.2, as hiponatremias dilucionais constituíram 91,5% das hiponatremias nos pacientes internados no Hospital das Clínicas da FMUSP; destes, 42,6% apresentavam-se edemaciados (insuficiência cardíaca, cirrose, insuficiência renal). O tratamento destes pacientes deve ser feito com restrição de sal e água, diuréticos e com o tratamento específico da causa básica, com digital, inibidores da enzima de conversão, e vasodilatadores na insuficiência cardíaca. Nos casos dialíticos de insuficiência renal, este método terapêutico corrige o distúrbio.

Nas hiponatremias dilucionais com volume extracelular normal, associado em geral a drogas que estimulam a produção de hormônio antidiurético, a retirada destas resolve o distúrbio.

Nos casos mais raros de secreção inapropriada de hormônio antidiurético, além do tratamento da causa básica (remoção de tumores, por exemplo), a restrição hídrica, a administração de furosemida com NaCl e de drogas que inibem a ação do hormônio antidiurético na célula do ducto coletor como a dimetilclortetraciclina e, no futuro, o emprego dos inibidores específicos do receptor V_2 do hormônio antidiurético são medidas eficazes[14,15].

As conseqüências clínicas da hiponatremia estão relacionadas ao edema celular, principalmente da célula cerebral. A hiposmolaridade do extracelular em relação ao intracelular faz com que ocorra um fluxo de água do extra para o intracelular com conseqüente edema da célula. Alguns estudos mostraram que não há perfeita correlação entre o nível sérico de sódio e as alterações neurológicas, de tal forma que um paciente com Na^+ plasmático de 115mEq/l pode ser assintomático e outro cujo Na^+ é de 120mEq/l pode apresentar-se em coma. Outro estudo feito com pacientes hiponatrêmicos não selecionados mostrou boa correlação, embora com considerável superposição de valores entre o estado mental do paciente e o grau de hiponatremia[16,17]. Estes dados estão mais de acordo com o estudo por nós realizados no Hospital das Clínicas da FMUSP[3], no qual quatro dos cinco pacientes hiponatrêmicos com sintomas neurológicos tinham hiponatremia grave ($Na^+ < 112$mEq/l).

Outro fator importante no aparecimento de sintomas neurológicos em pacientes hiponatrêmicos é o tempo de indução da hiponatremia. Geralmente, quando este distúrbio se desenvolve em menos de 24 horas, resulta em estupor e coma por edema cerebral, enquanto a hiponatremia crônica relaciona-se a sintomas mais leves, devido às alterações das células cerebrais que se defendem da hiposmolaridade pela extrusão de solutos como Na^+, K^+ e Cl^- do seu interior[18].

Devem-se tratar as hiponatremias dilucionais agudas sintomáticas observando-se a fórmula clássica:

$$\text{Déficit de } Na^+ = 0{,}6 \times \text{peso} \times (Na^+ \text{ desejado} - Na^+ \text{ do paciente})$$

Admite-se que o sódio desejado seja em níveis discretamente hiponatrêmicos, cerca de 125mEq/l, ou se a concentração do paciente for menor do que 105mEq/l é mais seguro aumentá-la em 20mEq/l.

A correção deve ser feita com solução de NaCl a 3% com velocidade de 0,7 a 2mEq/l/h, com determinação freqüente do Na^+ plasmático do paciente. Deve-se evitar a correção com velocidades mais rápidas ou para a normonatremia (140mEq/l), pois estas estão associadas à desmielinização da ponte cerebral com desenvolvimento de sintomas neurológicos e até morte do paciente. A furosemida deve ser associada ao tratamento no sentido de se evitar edema pulmonar e reduzir o risco da síndrome de desmielinização por diminuir o ritmo de queda do sódio plasmático[2,3,5,17].

A mortalidade da hiponatremia é relativamente alta (em nossos casos foi de 25%), a maioria devido à doença de base do paciente. Ainda em nossa casuística, em apenas 1 caso dos 49 estudados o óbito poderia ser atribuído ao distúrbio[3].

HIPERNATREMIA

A hipernatremia, sódio plasmático acima de 145mEq/l, está associada ao aumento da osmolaridade plasmática. Pode ser produzida por excesso de sódio ou por perda excessiva de água[1,19,20].

A hipernatremia por excesso de sódio só ocorre em situações nas quais o rim não consegue excretar a sobrecarga deste íon, como no recém-nascido, no idoso e nos pacientes com insuficiência renal. Na maioria das vezes é iatrogênica, e a principal causa é a administração de soluções de bicarbonato de sódio (8,4 ou 10%) para a correção da acidose metabólica. Estas soluções são hipertônicas em sódio e, uma vez administradas aos pacientes acima citados, podem levar à hipernatremia. O erro na prescrição ou no preparo de soluções endovenosas de NaCl pode também produzir este distúrbio.

A grande maioria dos casos de hipernatremia é devida à perda excessiva de água, sem sua reposição. Um paciente com *Diabetes insipidus* pode urinar 9 litros de água por dia sem desenvolver qualquer distúrbio, desde que tome quantidade equivalente em água; entretanto, se apresentar vômitos ou entrar em coma, rapidamente estará hipernatrêmico.

Uma causa comum de hipernatremia é a febre alta em crianças e no idoso. A grande perda de água por sudorese e perspiração desde que não reposta produz hipernatremia. Devemos ressaltar que, nestas duas faixas etárias, a capacidade máxima de concentração urinária está diminuída, colaborando para a produção do distúrbio.

Na diurese osmótica que ocorre na hiperglicemia, ou sobrecarga de solutos por alimentação enteral ou parenteral, a perda urinária é maior de água do que de sódio, e desde que a ingestão de água se encontre comprometida pode-se desenvolver hipernatremia.

Pacientes com *Diabetes insipidus* central ou nefrogênico podem ficar hipernatrêmicos se não ingerirem água.

O cérebro é particularmente sensível às alterações do volume celular. Na hipernatremia, o aumento da osmolaridade do extracelular leva à desidratação da célula pelo fluxo de água do intra para o extracelular. A redução do volume cerebral traciona vasos meníngeos resultando em hemorragia intracraniana[1,19,20].

Um mecanismo de defesa da célula nervosa diante da hipernatremia é a entrada de solutos para seu interior, principalmente potássio, sódio e cloro, que se inicia 15 a 30 minutos após a indução da hipernatremia e se completa ao fim de 2 horas[18].

Se a hipernatremia for mais duradoura, um outro mecanismo de defesa passa a operar: é a geração dos solutos idiogênicos, que são solutos orgânicos como o mioinositol, a taurina, a glicerilfosforilcolina e a betaína, que entram na célula proveniente do extracelular de co-transporte sódio-dependente. Estes mecanismos fazem com que o volume das células retorne ao original[18].

Quando as células cerebrais submetidas a um curto tempo de hipertonicidade retornam a um ambiente de normotonicidade, seu volume aumenta e rapidamente retorna ao volume original devido à rápida saída dos eletrólitos acumulados (K^+, Na^+, Cl^-). Entretanto, quando estas células permaneceram por tempo prolongado em ambiente hipertônico, acumulando no seu interior os solutos idiogênicos, a volta ao ambiente de normotonicidade causa edema celular que regride muito lentamente porque a saída do mioinositol acumulado é muito lenta[18].

Estes fatos explicam porque no paciente uma hipernatremia aguda produz sintomas cerebrais e porque uma correção rápida da hipernatremia pode produzir edema cerebral.

Nos casos de hipernatremia por excesso de sódio, o tratamento pode ser feito com diuréticos ou, nos casos mais graves, com diálise.

Nos pacientes com déficit de água que estejam muito desidratados, devemos utilizar inicialmente soro fisiológico para a expansão do volume extracelular. A seguir, calculamos o déficit em água através da equação:

$$\text{Déficit } H_2O = 0{,}6 \times \text{peso (kg)} \times [(Na/140) - 1] \text{ em litros}$$

A via preferencial para a reposição é a gastrintestinal devido ao aumento da ingestão de água ou à administração desta por sonda nasogástrica, porém freqüentemente empregamos a via endovenosa, porque os pacientes hipernatrêmicos, em geral, têm o sensório comprometido, não podendo deglutir. Além disso a administração de grandes volumes de fluido causa distensão gástrica e aumenta o risco de aspiração.

A reposição endovenosa do déficit de água pode ser feita com soro glicosado a 5% ou soro fisiológico diluído em soro glicosado a 5% em duas partes iguais. A correção de uma hipernatremia crônica deve ser feita em 48 horas a uma velocidade de correção de 1mEq/l/h, com determinações da concentração plasmática de sódio a cada 4 horas[1].

A mortalidade da hipernatremia na população adulta é em torno de 40%, principalmente devido à doença de base[1,19].

DISTÚRBIOS REFERENTES AO POTÁSSIO

INTRODUÇÃO

Diversos processos básicos celulares necessitam da participação do potássio. Entre estas importantes funções podemos citar: manutenção do tamanho celular, crescimento e divisão da célula, síntese protéica e de DNA, controle do pH intracelular, manutenção da excitabilidade e contratilidade de células musculares, inclusive cardíacas[21-23].

A quantidade de potássio corpóreo total num indivíduo normal de 70kg é de 3.500 a 4.000mEq. A distribuição deste cátion é predominantemente intracelular, atingindo a concentração de 140 a 150mEq/l. As células musculares contribuem com o armazenamento de cerca de 2.300 a 3.000mEq e, dessa maneira, a variação da quantidade do potássio corpóreo é proporcional à quantidade da massa muscular. Como sabemos, o K^+ desempenha importante função na contração muscular, daí a razão das células musculares serem o principal reservatório deste íon no organismo. A seguir, são as células ósseas que contribuem com o armazenamento de cerca de 300mEq; os hepatócitos e as hemácias contribuem com cerca de 250mEq; cada reservatório e todo o restante celular são responsáveis por 300mEq[21-23].

Então, pode-se dizer que a quantidade de potássio presente no plasma de indivíduos normais (3,5 a 5,0mEq/l) é extremamente baixa em relação à quantidade total deste cátion no organismo, pois representa apenas 2% do potássio corpóreo total.

Para manter os níveis de K^+ corpóreo, um indivíduo normal tem de ingerir ou receber de 75 a 100mEq/dia de potássio.

O tubo gastrintestinal é responsável pela reabsorção de cerca de 90% do K^+ ingerido, sendo atribuída ao cólon a função de secretar os 10% que são eliminados pelas fezes. Embora a capacidade do cólon em secretar potássio seja limitada, a absorção deste cátion pelo tubo gastrintestinal pode diminuir em 50 a 60% nos pacientes com insuficiência renal crônica[22].

Mas, em condições não agudas, o papel de regulador da homeostase do potássio é na verdade exercido pelo rim.

O túbulo de conexão e o ducto coletor desde o seu segmento cortical até a porção medular externa são os locais reguladores da excreção urinária de potássio, tanto em condições normais quanto em depleção ou sobrecarga deste cátion.

As células principais do ducto coletor e as do túbulo de conexão transportam ativamente o K^+ para o intracelular através da ação da bomba Na^+-K^+-ATPase presente na membrana basolateral destas células. O K^+ é então passivamente secretado para a luz tubular através de canais ou pelo co-transporte K^+-Cl^- presentes na membrana luminal[21,24].

Diversos fatores influenciam a secreção de K^+ para a luz tubular[21,24]:

1. *Gradiente eletroquímico entre luz e célula* – a diferença de potencial entre a luz e a célula favorece a saída do K^+ do intracelular em direção à luz tubular.
2. *Oferta de sódio* – a reabsorção de sódio gera diferença de potencial entre o lúmen e a célula, favorecendo a secreção de K^+. Também estimula a atividade da bomba Na^+-K^+-ATPase devido ao aumento do Na^+ intracelular e assim o conteúdo de K^+ no interior da célula aumenta.
3. *Fluxo do fluido luminal* – apenas o aumento do fluxo luminal é estímulo para a secreção de K^+.

4. *Mineralocorticóides* – estes hormônios modulam diretamente a atividade da bomba Na^+-K^+-ATPase por aumento de locais catalíticos ou pelo aumento do sódio intracelular favorecido pela formação de proteínas que agem na membrana apical.
5. *Equilíbrio acidobásico* – em condições de alcalose, a secreção de K^+ aumenta e nas acidoses depende se esta for aguda ou crônica. Nos casos de acidemia aguda, a secreção de K^+ diminui e nos casos crônicos a secreção de K^+ aumenta.

Dois tipos de balanço estão envolvidos para se manter a homeostase normal de potássio:

- *Externo:* onde a ingestão diária, o transporte gastrintestinal, a reabsorção e a secreção urinária estão harmoniosamente integrados, de maneira que o conteúdo corpóreo total de potássio é mantido. Assim, o balanço externo é igual à ingestão (≅100mEq/dia) subtraída da excreção fecal (10mEq/dia) e da excreção urinária (90mEq/dia).
- *Interno:* representa o movimento do potássio entre os espaços intra e extracelulares. Os fatores reguladores deste movimento são: hormônios (insulina, catecolamina e aldosterona), equilíbrio acidobásico e tonicidade plasmática.

HIPOCALEMIAS

As hipocalemias são diagnosticadas quando a concentração de K^+ plasmático é inferior a 3,5mEq/l. É muito rara a ocorrência de hipocalemia por falta de ingestão de potássio, uma vez que este íon é o cátion mais abundante nos alimentos de origem animal ou vegetal. Entretanto, indivíduos portadores de anorexia nervosa e que induzem o vômito (bulimia) podem desenvolver hipocalemia.

Embora a concentração de K^+ no suco gástrico não seja fatal (≅15mEq/l), a perda de suco gástrico por vômito ou por sonda nasogástrica resulta freqüentemente em hipocalemia. O mecanismo responsável pelos níveis baixos de K^+ plasmático é principalmente decorrente da alcalose metabólica desenvolvida pela perda de ácido clorídrico e não pela perda de K^+ pelo suco gástrico.

Numa fase inicial, a diminuição da concentração do K^+ plasmático é decorrente do tamponamento que as células efetuam devido ao pH alcalino. Em condições de pH alcalino, os íons K^+ movem-se para o intracelular devido à saída de H^+ da célula para o extracelular. A contração do volume extracelular desenvolvida nestes casos é responsável pelo aumento agudo de bicarbonato e da aldosterona plasmática. Assim, a hipocalemia é principalmente decorrente da caliurese induzida pela alcalose metabólica do que pelas perdas de K^+ pelo suco gástrico[22].

Embora em indivíduos normais a concentração de potássio nas fezes seja elevada (≅75mEq/l), as perdas entéricas diárias deste cátion são baixas porque o volume de água excretado por dia pelas fezes é baixo (≅100ml). O cólon é o local regulador da excreção fecal de potássio e vários fatores influenciam a secreção deste cátion. Mas os níveis de aldosterona plasmática e a quantidade de sódio a ser reabsorvido parecem ser os mais importantes[25,26].

A hipocalemia nas diarréias agudas é menos grave que nas diarréias crônicas, porque a perda de potássio é inversamente proporcional ao volume total de fezes. Nas diarréias agudas, a oferta de sódio ao cólon é elevada devido ao alto volume das fezes. Dessa maneira, a alta concentração de sódio no lúmen do cólon prejudica a secreção de potássio[27]. Por outro lado, diarréias crônicas de pequeno volume podem induzir hipocalemias graves[28]. Apesar da secreção de K^+ pelo cólon diminuir com o aumento do fluxo entérico, não podemos esquecer que a espoliação de K^+ pode ser intensa numa diarréia aguda, como, por exemplo, no caso da cólera. A explicação é porque embora a concentração de K^+ diminua nas fezes a quantidade eliminada aumenta (quantidade eliminada = concentração de K^+ nas fezes × volume).

Das diversas doenças intestinais que cursam com diarréia e, portanto, sujeitas a hipocalemia, gostaríamos de ressaltar a intensa perda de potássio intestinal que ocorre na AIDS. Smith e cols descrevem que as causas para a ocorrência de diarréia crônica em pacientes portadores de AIDS são múltiplas, podendo inclusive ser de origem não-infecciosa. São descritas a ocorrência de neoplasias na parede intestinal, como também a atrofia de vilosidades que resultaria em má absorção[29].

Como a concentração de K^+ no suor é baixa (5 a 10mEq/l), dificilmente esta via é causadora de hipocalemia importante, mesmo em condições de exercício intenso em temperaturas elevadas[30]. Aliás, a ocorrência de hipocalemia em indivíduos submetidos a exercício físico em lugares de temperatura elevada está relacionada principalmente ao aumento da secreção renal de K^+. Estes indivíduos desenvolvem contração do volume extracelular pelas perdas excessivas de Na^+ através do suor, o que induz elevações dos níveis plasmáticos de aldosterona.

Por motivos didáticos as perdas de K^+ pelo rim serão agrupadas de acordo com os níveis da pressão arterial sistêmica.

Pressão arterial normal

A principal causa de hipocalemia neste grupo é o uso de diuréticos que atuam no túbulo proximal (manitol e acetazolamida), na porção espessa ascendente da alça de Henle (furosemida e bumetanida) e no início do distal (tiazídicos). Vários mecanismos estão envolvidos na caliurese produzida por estes diferentes grupos de diuréticos. Entretanto, todos induzem uma maior oferta de Na^+, Cl^- e fluxo de volume aos segmentos distais do néfron, o que aumenta a secreção de K^+ pelo túbulo de conexão e ducto coletor[31].

Através da técnica de "clearance" estudamos o mecanismo de espoliação de K^+ induzido pela furosemida[32]. Observamos que a caliurese induzida por este diurético não é apenas devido à maior secreção de K^+ pelos segmentos distais do néfron decorrente da maior oferta de sódio. Os nossos resultados mostraram que parte da caliurese também é resultante de menor reabsorção de K^+ pela porção espessa ascendente da alça de Henle.

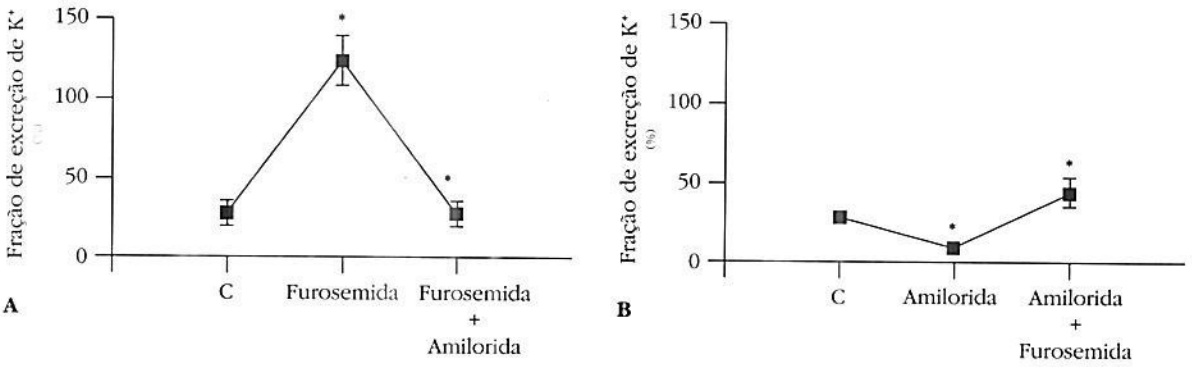
A figura 5.2 mostra os resultados referentes à fração de excreção de K^+ (FE K^+) quando a furosemida era administrada ora antes ora após bloqueio do ducto coletor pelo uso de amilorida. Observa-se que a caliurese induzida pela furosemida diminui significantemente após a associação com a amilorida. Entretanto, ao se realizar inicialmente o bloqueio distal com a amilorida, a furosemida induz intensa caliurese, como mostra a figura 5.2. O aumento da fração de excreção de K^+ não é decorrente de maior secreção deste cátion pelo ducto coletor, uma vez que a amilorida foi usada primeiro. Estes resultados sugerem então que a furosemida, ao inibir o transporte de cloreto de sódio na porção espessa ascendente da alça de Henle, também inibe a reabsorção de potássio neste segmento.

Outra causa de hipocalemia de origem renal está relacionada à menor reabsorção de ânions. Neste caso, a presença de cargas negativas no lúmen tubular gera diferença de potencial que favorece a secreção de K^+. Podemos citar então a administração de drogas com cargas negativas, como, por exemplo, as penicilinas. Também é o mecanismo que explica a hipocalemia desenvolvida nos casos de acidose tubular renal devido à menor reabsorção de bicarbonato.

Nas acidoses tubulares renais, a hipocalemia pode ocorrer tanto na forma distal quanto na proximal. No caso do tipo proximal, a hipocalemia torna-se mais evidente se administrarmos bicarbonato para compensar a acidemia do paciente. O hiperaldosteronismo secundário à depleção do volume extracelular é citado também como causa de aumento de secreção renal de K^+ e portanto da hipocalemia[22].

A anfotericina B é um antifúngico que induz insuficiência renal hipocalêmica. Esta droga induz a formação de poros na membrana luminal dos segmentos distais do néfron. Por isso, grandes perdas de potássio ocorrem através de vazamento deste cátion para a luz tubular. Recentemente, em nosso laboratório, Dorea e cols demonstraram prevenção da lesão renal ao se usar intralípides para diluir a anfotericina B[33].

A deficiência de magnésio está relacionada como causa e efeito de hipocalemia através de perda renal de potássio. Os mecanismos envolvidos não estão, até o momento, bem esclarecidos. Entretanto, hiperaldosteronismo sempre é obser-



* $p < 0,01$ em relação ao controle

Figura 5.2 – A caliurese induzida pela furosemida é bloqueada pela associação com amilorida. A fração de excreção de potássio (FE K^+) retorna aos níveis controle após a associação com amilorida (**A**). Ao se administrar inicialmente amilorida (**B**), observa-se diminuição significante da FE K^+ em relação ao controle. Entretanto, ao se associar a furosemida, a caliurese aumenta significantemente apesar do bloqueio distal exercido pela amilorida. Estes resultados indicam a participação da porção espessa ascendente da alça de Henle na reabsorção de K^+ (dados obtidos de Leão e cols[32]).

vado nestes casos. Também tem sido descrita diminuição da atividade da bomba Na^+-K^+-ATPase, uma vez que o Mg^{++} regula a região catalítica desta enzima. Várias toxinas e drogas como os aminoglicosídeos, cisplatina e diuréticos causam depleção dos estoques intracelulares[31] de Mg^{++}.

Gostaríamos de lembrar que a reposição de Mg^{++} deve ser feita preferencialmente por sais de cloreto e não de sulfato. O cloreto é um ânion monovalente e de fácil transporte, o que não ocorre com o sulfato, que induz diferença de potencial intraluminal acarretando secreção de potássio.

A síndrome de Bartter, embora seja rara, é sempre citada como exemplo de hipocalemia. A explicação plausível pela intensa perda urinária de Na^+, K^+, Mg^{++} e Cl^- baseia-se atualmente na idéia de que haja um defeito no co-transportador Na^+-K^+-$2Cl^-$ presente na porção espessa ascendente da alça de Henle e no transporte de Cl^- no coletor cortical[22]. Assim, o aumento da oferta distal de Na^+, Cl^-, K^+ e Mg^{++} combinado a um defeito no transporte de Cl^- pelo coletor cortical aumentariam a secreção de K^+ pelo coletor.

Pressão arterial elevada

Pacientes portadores de hipertensão arterial sistêmica podem apresentar hipocalemias, e para melhor classificá-las são divididas de acordo com os níveis plasmáticos de renina.

Pressão arterial elevada com níveis aumentados de renina plasmática

Neste grupo de indivíduos encontram-se os casos de hipertensão arterial maligna, renovascular (estenose da artéria renal), mulheres que fazem uso de contraceptivos orais e tumores secretores de renina. Em todos estes casos, as elevações de renina plasmática acompanham-se de aumentos de aldosterona e então ocorre caliurese por maior secreção renal de potássio[22,31].

Pressão arterial elevada com níveis diminuídos de renina plasmática

O hiperaldosteronismo primário, quer seja por nódulo funcionante autônomo da supra-renal (síndrome de Conn) quer por hiperplasia bilateral desta glândula, é a causa mais freqüente de hipocalemia em indivíduos hipertensos com níveis diminuídos de renina plasmática[22,31].

Também são descritas uma grande variedade de síndromes em que pacientes apresentam hipocalemia associada a hipertensão mas com níveis baixos de renina e aldosterona. Estes pacientes apresentam outros tipos de mineralocorticóides circulantes, como nos casos genéticos de deficiência da 17α-hidroxilase e da 11β-hidroxilase[22,31].

Pressão arterial elevada com níveis normais de renina plasmática

A síndrome de Cushing e os tumores produtores de ACTH são os exemplos de hipocalemia associada a hipertensão arterial sistêmica com níveis normais de renina plasmática[22,31].

Os glicocorticóides induzem caliurese por aumentar o fluxo e a quantidade de sódio aos segmentos distais do néfron[24]. Então, o aumento da secreção renal de K^+ causado pelos glicorticóides é por mecanismo diferente ao dos mineralocorticóides.

Manifestações clínicas da hipocalemia

O potencial de repouso transmembrana das células musculares depende da relação do potássio intra e extracelular. Na hipopotassemia, as células ficam hiperpolarizadas de tal forma que a despolarização e a subseqüente estimulação da contração muscular podem não ocorrer, produzindo sintomas de fraqueza muscular e até paralisia. Também podem ocorrer pelos mesmos motivos: íleo paralítico e retenção urinária[31].

A alteração da polarização do músculo cardíaco resulta em alterações eletrocardiográficas como a diminuição da amplitude da onda T, depressão do segmento ST, aparecimento da onda U além do aparecimento de extra-sístoles atriais e/ou ventriculares. As arritmias cardíacas podem agravar-se se o paciente fizer uso de digital[31].

Quanto aos níveis pressóricos, estudos em humanos têm sugerido a correlação entre aumento da pressão arterial e níveis de depleção[22] de K^+. Kaplan e cols[31] demonstraram aumento da ação hipotensora de tiazídicos quando se corrigiu a depleção de K^+.

A hipocalemia também induz alterações no sistema renal como queda do fluxo sangüíneo deste órgão e da filtração glomerular. Então, o rim em condições de depleção de K^+ torna-se mais sensível à isquemia[35] e às drogas nefrotóxicas[22].

A perda da capacidade de concentração urinária com manifestações clínicas de poliúria e polidipsia também é descrita nas hipocalemias. Acredita-se que a depleção de K^+ diminua o co-transporte Na^+-K^+-$2Cl^-$ da porção espessa ascendente da alça de Henle. Também é descrita a resistência ao hormônio antidiurético pelo ducto coletor nos estados de depleção de K^+. Então, a redução da tonicidade da medula associada a

uma menor ação do hormônio antidiurético no ducto coletor pode explicar o aumento do volume urinário nas condições de hipocalemia[22].

Tem sido também correlacionada a presença de cistos na medula renal de pacientes com hiperaldosteronismo e hipocalemia[36]. Acredita-se que em estados de depleção de K^+, a Na^+-K^+-ATPase do ducto coletor medular se desloca da borda basolateral para a face luminal, a fim de aumentar a reabsorção deste cátion.

Os efeitos metabólicos mais importantes associados à hipocalemia são: a menor tolerância à glicose e a alcalose metabólica[22,31].

A intolerância a carboidratos tem sido associada tanto à diminuição da produção de insulina quanto à menor sensibilidade periférica a este hormônio.

A insulina desempenha importante papel modulador do K^+ extra-renal através da indução da entrada deste íon para o interior da célula, como também pela presença de um "feedback" existente entre os níveis plasmáticos e a liberação deste hormônio pelo pâncreas[22,23].

Alguns estudos têm mostrado que o efeito da insulina, favorecendo a entrada do K^+ para o interior da célula, é independente do metabolismo da glicose e de maneira indireta. A interação deste hormônio com o receptor gera um segundo mensageiro que, por sua vez, estimula o contratransporte Na^+-H^+, resultando num aumento da concentração do Na^+ intracelular[37]. A elevação do Na^+ no citosol estimula a atividade da Na^+-K^+-ATPase, resultando então na entrada de K^+ para o interior da célula[38].

A alcalose metabólica está relacionada ao estímulo para a gênese da amônia, ao aumento da reabsorção proximal de bicarbonato e à saída de K^+ do intra para o extracelular com conseqüente entrada de íons H^+ para o interior da célula. Neste caso, a hipocalemia é conseqüência da alcalose metabólica, mas pode ser a causa deste distúrbio acidobásico. Ao submetermos ratos a restrição dietética de K^+ por duas semanas notamos que os níveis de K^+ plasmático atingiram valores extremamente baixos ($1,8 \pm 0,1$mEq/l), a ponto de desenvolverem alcalose metabólica (pH = $7,47 \pm 0,01$ e bicarbonato = $29,7 \pm 1,0$)[39].

Tratamento das hipocalemias

As hipopotassemias são tratadas através da reposição dietética deste cátion, exceto nos casos graves em que ocorrem arritmias cardíacas e/ou manifestações neuromusculares. Nesses casos, a reposição de K^+ é feita por via endovenosa de maneira lenta, velocidade de 10 a 40mEq/h, sem ultrapassar a concentração de 60mEq/l. É importante lembrar que a reposição dos estoques intracelulares de K^+ sempre se realiza do intravascular para o intracelular. Assim, reposições rápidas podem precipitar a morte do paciente devido à hipercalemia aguda[31].

A suplementação dietética pode ser realizada através do aumento da ingestão de frutas e de carnes. Entretanto, restrições à suplementação dietética através do aumento da ingestão de frutas têm sido apontadas na literatura. O motivo é o aumento dos níveis plasmáticos de citrato, que pode induzir uma maior entrada de K^+ para o intracelular devido ao seu efeito alcalinizante. Por outro lado, as fórmulas farmacêuticas são irritantes da mucosa gástrica e intestinal. Não podemos esquecer que os pacientes que necessitam de suplementação diária de K^+ são justamente os que necessitam também de outros medicamentos, e assim a possibilidade de gastrite e/ou úlcera gástrica aumenta.

Nos pacientes que desenvolvem hipocalemia por perda renal, a administração de diuréticos retentores de potássio (espironolactona, amilorida e triantereno) tem sido uma opção desde que estes pacientes não apresentem insuficiência renal. Nestes casos aconselhamos a monitorização dos níveis plasmáticos de K^+ de maneira mais freqüente pelos riscos de hipercalemia.

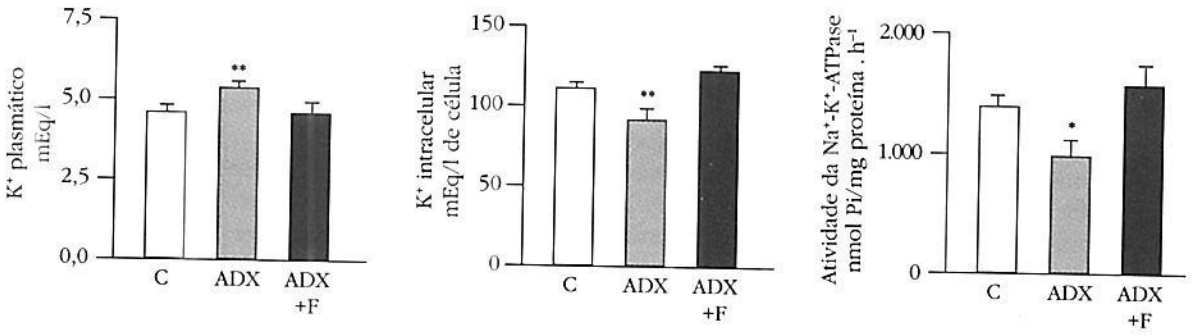
HIPERCALEMIAS

As hipercalemias são diagnosticadas quando a concentração plasmática de K^+ ultrapassa os valores acima de 5mEq/l. Este distúrbio pode-se desenvolver por redistribuição do potássio do intra para o extracelular ou por uma menor excreção renal de potássio.

A distribuição anormal de K^+ ocorre na acidose metabólica devido à maior entrada na célula dos íons H^+ com conseqüente saída de K^+ para o extracelular. A falta de insulina como também da aldosterona induz à hipercalemia, como já foi referido.

Grande parte dos casos de hiperpotassemia é observada em pacientes que recebem oferta excessiva de K^+ e os mecanismos de secreção renal estão alterados.

A falta de aldosterona é outra causa importante de hipercalemia. Na doença de Addison, a destruição da glândula da supra-renal pela tuberculose ou por outra etiologia é o exemplo mais citado. Nesses pacientes, a hipercalemia só ocorre se houver restrição salina[22]. Não é incomum também a ocorrência de elevações de K^+ plasmático em pacientes que fazem uso crônico de corticóide com suspensão abrupta ("Addison medicamentoso").



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ (ADX *vs* controle e ADX *vs* ADX + F)

Figura 5.3 – Efeito da adrenalectomia (ADX) e do tratamento com florinef (ADX + F) na atividade da Na^+-K^+-ATPase de hemácias de ratos e na concentração de K^+ plasmático e intracelular (dados obtidos de Helou e cols[41]).

A ação de mineralocorticóides favorecendo a entrada de potássio para o intracelular ainda é questionada por alguns autores, embora estudos realizados em humanos[40] e em diferentes espécies de animais[41,43] tenham mostrado a participação de mineralocorticóides no balanço interno de potássio.

Em nosso laboratório realizamos estudo para avaliar qual o mecanismo envolvido na regulação do K^+ extra-renal exercido pelo florinef (9α-fluoridrocortisona), uma vez que esta droga tem sido usada no tratamento da doença de Addison. Observamos que os ratos submetidos à adrenalectomia bilateral apresentavam elevações do K^+ plasmático e diminuição da concentração deste cátion no intracelular de hemácias, provavelmente devido à diminuição da atividade da Na^+-K^+-ATPase nestas células (Fig. 5.3). Apesar de as hemácias serem células anucleadas, a administração diária de florinef recuperou a atividade da Na^+-K^+-ATPase, retornando a valores semelhantes ao controle[41]. Os níveis de K^+ plasmático também voltaram a níveis controle com recuperação dos estoques intracelulares de K^+, como ilustra a figura 5.3.

Como a aldosterona utiliza receptores citoplasmáticos envolvendo síntese protéica para a sua ação, é de se estranhar que este hormônio possa exercer efeito modulatório em células anucleadas. Entretanto, Wehling e cols[44] demonstraram que a aldosterona exerce ação estimulatória no contratransporte Na^+-H^+. Então, como no caso da insulina, o acúmulo de sódio intracelular estimula a atividade da Na^+-K^+-ATPase, que, por sua vez, aumenta o transporte de K^+ para o interior da célula.

A falta de aldosterona plasmática também pode ocorrer devido à diminuição da produção de renina, e por isso estes casos são denominados de hipoaldosteronismo hiporreninêmico. No caso de pacientes diabéticos, alterações morfológicas do aparelho justaglomerular têm sido demonstradas. Esta seria então uma das razões pelas quais a hipercalemia ocorre em diabéticos com perda moderada da função renal.

As drogas que bloqueiam a enzima de conversão da angiotensina I em II impedem a formação de aldosterona. Portanto, não é raro a hipercalemia, principalmente nos pacientes diabéticos que já apresentam tendência ao hipoaldosteronismo hiporreninêmico, como já foi referido em relação aos pacientes diabéticos.

Na insuficiência renal aguda, a hipercalemia pode ser conseqüente à diminuição da filtração glomerular, como também à diminuição da capacidade secretora do néfron. Neste caso, vários fatores podem estar relacionados: lesões dos segmentos do néfron responsáveis pela secreção de potássio e diminuição do fluxo de volume e da oferta distal de sódio[22].

Na insuficiência renal de causa obstrutiva, a hipercalemia é observada devido à incapacidade renal em secretar K^+, em conseqüência das alterações na atividade da Na^+-K^+-ATPase e no contratransporte Na^+-H^+ das células do ducto coletor[45].

Na insuficiência renal crônica, observam-se mecanismos adaptativos para aumentar a excreção de K^+ pelos néfrons remanescentes, como também pelo intestino. Entretanto, quando a filtração glomerular atinge valores menores do que 3ml/min, os níveis de K^+ plasmático elevam-se. Também é observada hipercalemia se a oferta de potássio aumentar nos pacientes com filtração glomerular em torno de 15ml/min.

Portanto, monitorização freqüente dos níveis de K^+ sérico deve ser realizada principalmente em pacientes com perda de função renal e que recebem inibidores da enzima de conversão da angiotensina I em II, principalmente se forem diabéticos.

Outro grupo de drogas que requer atenção são os diuréticos de ação no ducto coletor. Eles são conhecidos como diuréticos retentores de K^+, mas os mecanismos de ação da amilorida e do triantereno são diferentes ao da espironolactona. A amilorida e o triantereno inibem a reabsorção de sódio por fechar os canais de sódio da membrana apical. A espironolactona compete com a aldosterona pelos receptores intracelulares[24]. Então, indivíduos com filtração glomerular abaixo de 25ml/min estão sujeitos a desenvolver hipercalemias se forem administrados estes diuréticos.

Por último, é importante lembrar que os antiinflamatórios não-hormonais também podem induzir hipercalemias em pacientes com déficit de função renal. A razão seria o bloqueio da produção de prostaglandinas que, por sua vez, estimulam a síntese de renina-aldosterona.

Conseqüências da hipercalemia

Quando os níveis séricos de potássio aumentam, a relação potássio intra/extracelular diminui, o potencial de repouso das células fica menos negativo, ou seja, mais próximo do limiar de excitação e a célula fica despolarizada. Como resultado final, a velocidade de condução diminui e aumenta o ritmo de repolarização.

A cardiotoxicidade é a principal causa de morte nos pacientes com hiperpotassemia. A alteração mais precoce ao eletrocardiograma é o aumento da amplitude da onda T devido ao crescimento do ritmo de repolarização. A condução através do sistema de Purkinje e do músculo ventricular fica retardada com o alargamento do espaço PR e do complexo QRS. A onda P também se alarga ocasionando fibrilação ventricular e assistolia a seguir[22,23]. Como a arritmia cardíaca é uma complicação grave, podendo ser fatal, a hiperpotassemia requer tratamento imediato.

As alterações neuromusculares causando parestesias, fraqueza muscular e até mesmo paralisia que se inicia pelas extremidades atingindo tronco e músculos respiratórios podem ocorrer nas hipercalemias graves[22].

Tratamento

A infusão endovenosa de cálcio antagoniza os efeitos da hiperpotassemia no coração evitando a parada cardíaca.

Os níveis séricos de potássio podem ser reduzidos por medidas que induzem a redistribuição deste cátion para o intracelular. Podemos citar então a administração de glicose com insulina, a correção da acidose com bicarbonato e o uso de agentes β_2-adrenérgicos estimulantes[22,23].

A retirada de potássio do organismo pode ser feita através do uso de resinas que trocam na luz intestinal o K^+ pelo Ca^{++} no caso do Soarcal ou o K^+ pelo Na^+ no caso do Kayexalate, geralmente na dose de 15g a cada 8 horas[22,23]. Embora originalmente estas resinas foram formuladas para a administração via retal, a via oral vem amplamente sendo utilizada com sucesso.

Nos casos de pacientes com insuficiência renal impossibilitados do uso do tubo gastrintestinal, a diálise passa a ser o tratamento de escolha.

Os diuréticos de ação proximal ou na porção espessa ascendente da alça de Henle podem também ser empregados como redutores dos níveis de K^+ plasmático. Entretanto, muitas vezes os pacientes apresentam insuficiência renal e por isso a administração de diuréticos passa a não ser eficaz.

Nos casos de hipoaldosteronismo, a melhor escolha recai para o uso do 9α-fluoridrocortisona (florinef) na dose inicial de 0,1mg/dia.

Considerações finais

Convém lembrar que a concentração plasmática de K^+ no recém-nascido é de 4,8 a 5,2mEq/l, níveis estes mais elevados que os do adulto. Somente no final do segundo ano de vida é que o K^+ plasmático do lactente apresenta valores semelhantes aos do adulto[46].

A explicação para a ocorrência de níveis mais elevados de K^+ plasmático no lactente seria devido à imaturidade morfológica e funcional que o rim apresenta nesta fase da vida. Ao nascer, os diversos segmentos do néfron ainda não se diferenciaram, o que ocorrerá ao longo dos três primeiros anos. Por isso, apesar de o lactente apresentar níveis elevados de aldosterona plasmática, a capacidade das células do ducto coletor em secretar K^+ é limitada[46].

Estudos realizados por nós[47] e por Sigström e cols[48] demonstraram que a atividade da Na^+-K^+-ATPase em hemácias de crianças lactentes e em pré-escolares (2 anos e meio a 5 anos) aumenta com a idade. Estes resultados sugerem que a imaturidade ao nascer não é restrita ao rim e também aos componentes do balanço interno.

A atividade da H^+-K^+-ATPase também foi por nós[47] analisada nas hemácias de crianças lactentes e em pré-escolares (2 anos e meio a 5 anos) sadios e encontramos correlação inversa entre os níveis de K^+ plasmático e a atividade da H^+-K^+-ATPase, sugerindo a participação desta enzima na regulação do K^+ plasmático, como ilustra a figura 5.4.

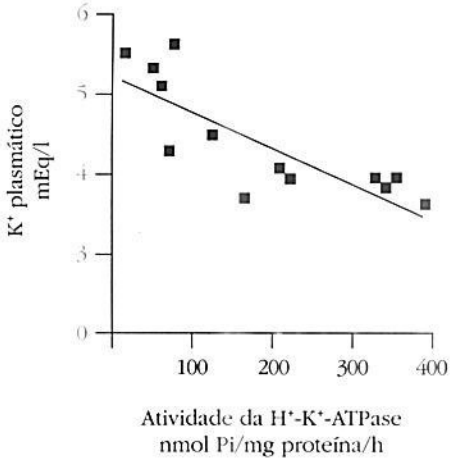


Figura 5.4 – Correlação entre a concentração plasmática de K^+ e a atividade da H^+-K^+-ATPase da membrana de hemácias de crianças lactentes e pré-escolares (2 anos e meio a 5 anos) saudáveis. $r = 0{,}799$; $p < 0{,}001$ (dados obtidos de Cavinatto e cols[47]).

Gostaríamos também de salientar alguns aspectos que ocorrem com o idoso. É freqüente encontrarmos na literatura referências que o idoso é sujeito a hipercalemia. Estudos têm apontado principalmente disfunções no eixo renina-angiotensina-aldosterona como responsáveis pelos níveis mais elevados de K^+ plasmático nos idosos[49]. Portanto, precauções têm de ser tomadas ao se administrar drogas retentoras de potássio, como no caso dos inibidores de enzima de conversão e diuréticos de ação no ducto coletor como a espironolactona, e triantereno e a amilorida.

Entretanto, não há relatos na literatura de como o idoso reage se for exposto à depleção de K^+. Recentemente, submetemos ratos velhos à dieta sem K^+ e comparamos os efeitos a um grupo de jovens[50]. Observamos que os níveis de aldosterona plasmática nos velhos já eram significantemente mais baixos que nos jovens. A concentração de K^+ plasmático diminuiu em ambos os grupos, mas de maneira mais intensa no jovem, a ponto de desenvolver alcalemia metabólica após duas semanas de restrição de K^+ na dieta (Fig. 5.5). Estes resultados sugerem que o idoso deva ter mecanismos mais eficientes que o jovem para conservar o K^+.

Enfim, o manuseio de K^+ para se manter a homeostase deste cátion é complexo e varia de acordo com a faixa etária.

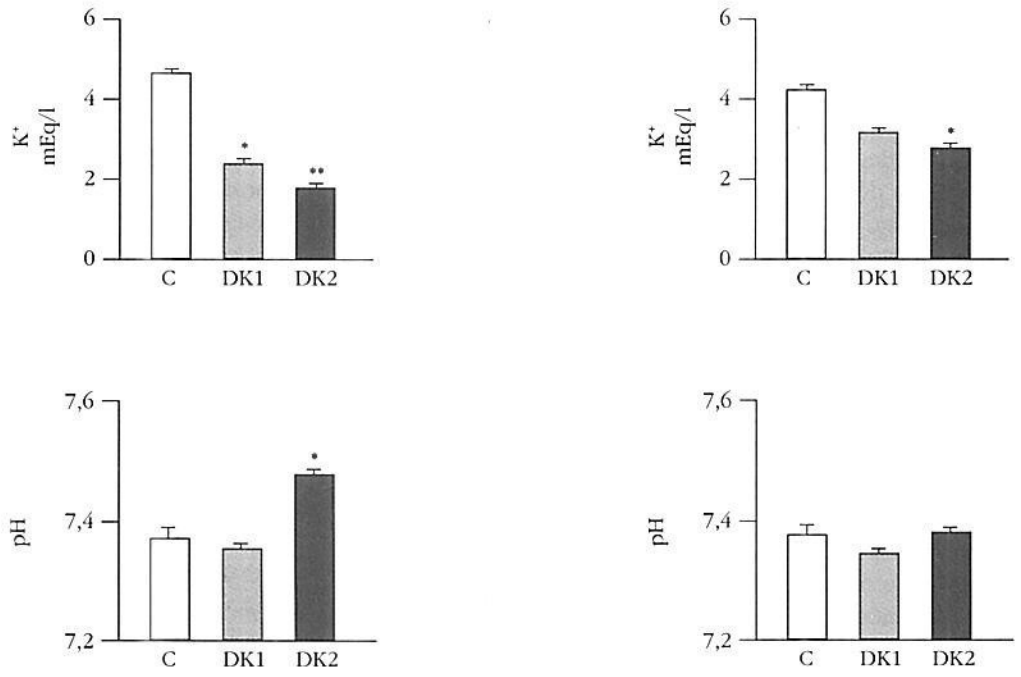


Figura 5.5 – Os ratos submetidos à restrição dietética de potássio apresentaram diminuição significante dos níveis de K^+ plasmático. Observamos que os ratos adultos jovens apresentaram hipocalemia mais grave que os idosos já na primeira semana (DK1) de tratamento. Após duas semanas (DK2) de restrição de potássio na dieta, a hipocalemia acentuou-se nos ratos jovens a ponto de estes desenvolverem alcalose metabólica (dados obtidos de Araujo e cols[50]).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AYUS JC, BRENNAN S: Hypernatremia, in *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders.* (2nd ed), edited by Arieff AI, de Fronzo RA, New York, Churchill Livingstone, 1995, pp 304-317.
2. DE FRONZO RA, ARIEFF AI: Disorders of sodium metabolism, in *Fluid Electrolyte and Acid-Base Disorders.* (2nd ed), edited by Arieff AI, de Fronzo RA, New York, Churchill Livingstone, 1995, pp 255-303.
3. PIZZOTTI NJE, MADI JC, IAMANACA AI, SEGURO AC, ROCHA AS: Hiponatremia: estudo de sua epidemiologia e mortalidade. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 44(6):307-311, 1989.
4. WEISBERG LS: Pseudohiponatremia: a reappraisal. *Am J Med* 86:315-318, 1989.
5. MULLOY AL, CARUANA RJ: Hyponatremic emergencies. *Med Clin North Amer* 79:155-168, 1995.
6. PHILLIPS SF: Small and large intestinal disorders: associated fluid and electrolyte complications, in *Maxwell and Kleeman's Clinical Disorders of Fluid and Electrolyte Metabolism.* (5th ed), edited by Narins RG, New York, McGraw-Hill, Inc., 1994, pp 1137-1151.
7. POMPILIO CE, SEGURO AC: Hiponatremia e SIDA. *Rev Med HU-USP* 4:43-47, 1994.
8. ARMSTRONG LE, CURTIS WC, HUBBARD RW, FRANCESCONI RP, MOORE R, ASKEW EW: Symptomatic hyponatremia during prolonged exercise in heat. *Med Sci Sports Exerc* 23:543-549, 1993.
9. WIJDICKS EF, ROPPER AH, HUNNICUTT EJ, RICHARDSON GS, NATHANSON JA: Atrial natriuretic factor and salt wasting after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 22:1519-1524, 1991.
10. BICHET D, SZATALOWICZ V, CHAIMOVITZ C, SCHRIER RW: Role of vasopressin in abnormal water excretion in cirrhotic patients. *Ann Inter Med* 96:413-417, 1982.
11. SZATALOWICZ VL, ARNOLD PE, CHAIMOVITZ C, BICHET D, BERL T, SCHRIER RW: Radioimmunoassay of plasma arginine vasopressin in hyponatremic patients with congestive heart failure. *N Engl J Med* 305:263-266, 1981.
12. USBERG M, FEDERIC S, MECCARIELLO S: Role of plasma vasopressin in the impairment of water excretion in nephrotic syndrome. *Kidney Int* 25:422-429, 1984.
13. SZATALOWICZ VL, GOLDBERG JP, ANDERSON RJ: Plasma antidiuretic hormone in acute respiratory failure. *Am J Med* 72:583-587, 1982.
14. DECAUX G: Treatment of the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone by long loop diuretics. *Nephron* 35:82-88, 1983.
15. FORREST Jr JN, COX M, HONG C, MORRISON G, BIA M, SINGER I: Superiority of demeclocycline over lithium in the treatment of chronic syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone. *N Engl J Med* 298:173-178, 1978.
16. ANDERSON RJ, CHUNG H, KLUGE R, SCHRIER RW: Hyponatremia: a prospective analysis of its epidemiology and the pathogenic role of vasopressin. *Ann Inter Med* 102:164-168, 1985.
17. STERNS RH: Severe symptomatic hyponatremia: treatment and outcome. A study of 64 cases. *Ann Intern Med* 107:656-664, 1987.
18. Mc MANUS ML, CHURCHWELL KB, STRANGE K: Regulation of cell volume in health and disease. *N Engl J Med* 333:1260-1266, 1995.
19. SNYDER NA, FEIGAL DW, ARIEFF AI: Hypernatremia in elderly patients: a heterogenous, morbid, and iatrogenic entity. *Ann Inter Med* 107:309-319, 1987.
20. SIMMONS MA, ADCOCK EW, BARD H, BATTAGLIA FC: Hypernatremia and intracranial hemorrhage in neonates. *N Engl J Med* 291:6-10, 1974.
21. VALTIN H, SCHAFER JA: K^+ balance: renal handling of K^+, in *Renal Function, Mechanisms Preserving Fluid and Solute Balance in Health,* (3rd ed), edited by Valtin H, Schafer JA, Boston, Little, Brown and Company, 1994, pp 235-257.
22. KAMEL SK, HALPERIN ML, FABER MD, STEIGERWALT SP, HEILIG CW, NARINS RG: Disorders of potassium balance, in *Brenner and Rector's the Kidney,* (5th ed), edited by Brenner WB, Philadelphia, WB Saunders Company, 1996, pp 999-1037.
23. DE FRONZO RA, SMITH JD: Disorders of potassium metabolism, hyperkalemia, in *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders,* (2nd ed), Arieff AI, de Fronzo RA, New York, Churchill Livingstone, 1995, pp 319-386.
24. GIEBISCH G, MALNIC G, BERLINER RW: Control of renal potassium excretion, in *Brenner and Rector's the Kidney,* (5th ed), edited by Brenner BM, Philadelphia, WB Saunders Company, 1996, pp 371-407.
25. SWEIRY JH, BINDER HJ: Characterization of aldosterone-induced potassium secretion in rat distal colon. *J Clin Invest* 83:844-851, 1984.
26. HALEVY J, BUDINGER ME, HAYSLETT JP, BINDER HJ: Role of aldosterone in the regulation of sodium and chloride transport in the distal colon of sodium depleted rats. *Gastroenterology* 91:1227-1233, 1986.
27. FORDTRAN JS: Speculations on the pathogenesis of diarrhea. *Fed Proc* 26:1405-1414, 1967.
28. RAJENDRAN VM, KASHGARIAN M, BINDER HJ: Aldosterone induction of electrogenic sodium transport in the apical membrane vesicles of rat distal colon. *J Biol Chem* 264:18638-18644, 1989.
29. SMITH PD, QUINN TC, STROBER W, JANOFF EN, MASUR H: Gastrointestinal infections in AIDS. *Ann Inter Med* 116:63-77, 1992.
30. KNOCHEL JP, DOTIN LN, HAMBURGER RJ: Pathophysiology of intense physical conditioning in a hot climate, I, mechanisms of potassium depletium. *J Clin Invest* 51:242-255, 1972.
31. SMITH JD, PERAZELLA MA, de FRONZO RA: Hypokalemia, in: *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders,* (2nd ed), edited by Arieff AI, de Fronzo RA, New York, Churchill Livingstone, 1995, pp 387-426.
32. LEÃO MIP, HELOU CMB, COSTA R, ROCHA AS, MAGALDI JB: Mecanismo da espoliação de potássio produzida pela furosemida. *Rev Bras Pesq Med Biol* 12(6):391-399, 1979.
33. DOREA EL, YU L, CASTRO I, CAMPOS SB, SEGURO AC: Nephrotoxicity of amphotericin B is attenuated by solubilizing with lipid emulsion. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 6(3):996, 1995.
34. KAPLAN NM, CARNEGIE A, RASKIN P: Potassium supplementation in hypertensive patients with diuretic-induced hypokalemia. *N Engl J Med* 312:746-749, 1985.
35. SEGURO AC, SHIMIZU MHM, MONTEIRO JL, ROCHA AS: Effect of potassium depletion on ischemic renal failure. *Nephron* 51(3):350-354,1989.
36. TORRES VE, YOUNG WFJ, OFFORD KP, HATTERY RR: Association of hypokalemia, aldosteronism and renal cysts. *N Engl J Med* 322:345-351, 1990.
37. MOORE RD: Stimulation of Na: H exchange by insulin. *Biophys J* 33:203-210, 1981.
38. ZIERLER K: Insulin hyperpolarizes rat myotube primary culture without simulating glucose uptake. *Diabetes* 36:1035-1040, 1987.
39. HELOU CMB, ARAUJO M, SEGURO AC: Effect of low and high potassium diets on H^+-K^+-ATPase and Na^+-K^+-ATPase activities in the rat inner medullary collecting duct cells. *Renal Physiol Biochem* 17:21-26, 1994.
40. DE FRONZO RA. Hyperkalemia and hyporeninemic hypoaldosteronism. *Kidney Int* 17:118-134, 1980.
41. HELOU CMB, SEGURO AC, ROCHA AS: Efeito da 9-alfa-fluorhidrocortisona (Florinef) na regulação extra-renal do potássio. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 47(2):61-64, 1992.

42. WALD H, SCHERZER P, POPOVTZER MM: Parallel changes in red blood cell and renal Na-K-ATPase activity in adrenal and electrolyte disorders in the rat. *Pflugers Arch* 404:56, 1985.
43. ALEXANDER EA, LENVINSKY NG: An extrarenal mechanism of potassium adaptation. *J Clin Invest* 47:740-748, 1968.
44. WEHLING M, EISEN C, CHRIST M: Aldosterone-specific membrane receptors and rapid non-genomic actions of mineralocorticoids. *Mol Cell Endocrinol* 90(1):C5-9, 1993.
45. SABATINI S, KUNTZMAN NA: Enzyme activity in obstructive uropathy: basis for salt wasting and the acidification defect. *Kidney Int* 37:79-84, 1990.
46. SATLIN LM: Maturation of renal potassium transport. *Pediatric Nephrol* 5:260-269, 1991.
47. CAVINATTO JN, ARAUJO M, SEGURO AC, HELOU CMB: Effect of acute diarrhea on Na^+-K^+-ATPase and H^+-K^+-ATPase activities in red blood cells of infants (submetido).
48. SIGSTRÖM L, WALDENSTRÖM J, KARLBERG P: Characteristics of active sodium and potassium transport in erythrocytes of healthy infants and children. *Acta Paediatr Scand* 70:347-352, 1981.
49. LINDEMAN RD: Aging and renal function, in *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders,* (2nd ed), edited by Arieff AI, de Fronzo RA, New York, Churchill Livingstone, 1995, pp 905-919.
50. ARAUJO M, HELOU CMB, SEGURO AC: Low K intake modulates H-K-ATPase and Na-K-ATPase activities in the inner medullary collecting ducts (IMCD) of aging rats. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 6(3):438, 1995.

6

PROTEÍNAS DE BAIXO PESO MOLECULAR EM GLOMERULOPATIAS

UMA PRIMEIRA ABORDAGEM

Gianna Mastroianni Kirsztajn
Aparecido B. Pereira

◆

INTRODUÇÃO

Proteínas plasmáticas com pesos moleculares abaixo de 40kd estão presentes apenas em baixas concentrações no sangue de indivíduos saudáveis. Tais proteínas parecem passar a barreira glomerular de modo relativamente fácil. A maior parte das proteínas filtradas são aparentemente reabsorvidas pelos túbulos renais e apenas uma pequena fração delas é excretada na urina final[1].

A determinação de proteínas de baixo peso molecular, na urina, tem sido utilizada com o objetivo de avaliar a lesão tubular, e métodos sensíveis e precisos tornaram-se disponíveis para tanto. Esses testes baseiam-se no fato de as células tubulares proximais reabsorverem quase que totalmente as proteínas de baixo peso molecular filtradas, como é o caso com β_2-microglobulina (β_2M), proteína transportadora de retinol (RBP), lisozima, ribonuclease (RNase) pancreática[2] e cadeias leves de imunoglobulinas[3]; também tem sido examinada a liberação para a urina de enzimas de origem tubular[2], como N-acetil-β-D-glucosaminidase (enzima encontrada nos lisossomos do túbulo proximal), alanina-aminopeptidase, fosfatase alcalina, γ-glutamiltransferase (localizadas na membrana da borda "em escova") e glutation-transferase, cuja forma α se localiza nas células tubulares proximais e a forma π, nas células epiteliais de túbulos distais e ductos coletores[4]; quando as células tubulares são lesadas, elas liberam essas enzimas cujas atividades, então, aumentam na urina[5]. As enzimas lisozima e RNase, por sua vez, tal como a RBP e a β_2M, são quase livremente filtradas através dos glomérulos e quase completamente reabsorvidas e catabolizadas pelas células tubulares proximais.

PROTEÍNA TRANSPORTADORA DE RETINOL (RBP)

Até pouco tempos atrás, a determinação de β_2M na urina era amplamente utilizada para a detecção de dano tubular, mas a sua instabilidade em urina ácida não a faz adequada para um teste de triagem[2]; como vimos, várias outras proteínas de baixo peso molecular vêm sendo analisadas com esse fim. Tivemos a oportunidade de utilizar a RBP urinária (RBPu) como marcador de disfunção tubular proximal em pacientes com glomerulopatias e, em alguns casos, comparamos os seus níveis com os de β_2M urinária (β_2Mu). A sua escolha, como marcador principal, dentre outras razões, deveu-se: ao desenvolvimento e conseqüente disponibilidade de método de dosagem adequado em nosso Serviço[6] e à sua estabilidade em urina ácida, não requerendo precauções especiais na coleta da amostra de urina[2,7]. Também favorável à utilização da RBP é o fato de que seus níveis, no sangue, elevam-se em poucas situações, dentre as quais citaríamos: insuficiência renal crônica[7,8,9,10] ou aguda[11] e uso de drogas anticonvulsivantes, como difenil-hidantoína e fenobarbital[12]. No que tange aos níveis urinários de RBP, há relatos de que eles se elevam após administração recente de *Haemacell* (por inibição da

reabsorção tubular de proteínas de baixo peso molecular), na gravidez[13] e em doenças febris[14]; por outro lado, a redução de seus níveis só é esperada em caso de doença hepática grave[11].

Têm sido publicados estudos sobre o comportamento da RBPu em indivíduos normais[15,16], pacientes com nefropatia induzida por drogas (analgésicos, aminoglicosídeos), intoxicação por metais pesados (cádmio, arsênico), pacientes tratados com lítio[17,18], pacientes com necrose tubular aguda com rabdomiólise ou intoxicação por substâncias nefrotóxicas, várias condições associadas a tubulopatia proximal[19], crianças com tubulopatias proximal e distal[20], pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise[7] e em tratamento conservador[9], pacientes com *Diabetes mellitus*[21,22,23,24,25,26], lúpus eritematoso sistêmico[27], síndrome nefrótica[28,29] e insuficiência cardíaca crônica[30].

Em 1968, Kanai e cols identificaram a RBP, proteína de transporte da vitamina A, no plasma humano[31]. Pouco depois, em 1971, Peterson descreveu um complexo de transporte de retinol, que concluiu ser ele já caracterizado por Kanai e cols[1].

A RBP humana é uma proteína pequena, com 182 aminoácidos e 3 pontes dissulfeto[32], peso molecular de 21kd[7] e motilidade α_1 na eletroforese[33]. É sintetizada em hepatócitos, onde recebe uma molécula de retinol, no retículo endoplasmático[34], transportando-o do fígado para os tecidos epiteliais. No plasma, aproximadamente 90% desta proteína liga-se à pré-albumina (também conhecida como transtirretina), formando um complexo 1:1[32,34], que lhe confere a vantagem fisiológica de reduzir sua eliminação através do rim[32]. A proteína, livre ou complexada com pré-albumina (RBP-PA), é reconhecida pelo receptor de retinol em membranas celulares; tais receptores expressam-se nas células que necessitam de vitamina A[35]. Após o retinol ser liberado para os tecidos-alvo, a RBP sofre uma modificação conformacional, que reduz sua afinidade pela pré-albumina, e é rapidamente eliminada do plasma por filtração glomerular; nas células do túbulo renal proximal, sofre endocitose e é degradada[34]. Dados mais recentes, entretanto, indicam que o metabolismo da RBP é mais complexo e que ela é sintetizada não apenas em células hepáticas, mas também em vários tecidos extra-hepáticos[34]. Ultimamente, acumularam-se evidências de que o retinol é liberado para as células-alvo, não só através da ligação de RBP aos receptores de superfície das células, mas também para lipossomos ou membranas plasmáticas sem que ocorra interação entre RBP e receptores de superfície das células[36].

Por fim, no que se refere ao manuseio renal de RBP, sabe-se que, em condições normais, o glomérulo filtra a RBP plasmática livre e retém a pré-albumina e o complexo RBP-PA. A RBP filtrada é reabsorvida pelas células tubulares proximais. As células renais obtêm retinol da RBP e não da RBP-PA[34]. Há relatos de que a maior parte da RBP na urina encontra-se livre (isto é, não-ligada à pré-albumina), mesmo em pacientes com proteinúria glomerular de grande monta[7]. No entanto, pouco se sabe a esse respeito e estudos em andamento no nosso Serviço (ainda não publicados) revelam que tanto RBP livre como complexada podem ser encontradas na urina em pacientes com glomerulopatias, na vigência de proteinúria nefrótica.

Há evidências de que a excreção de proteínas de baixo peso molecular aumenta quando a função tubular renal torna-se deficiente. Estudando o comportamento da RBP livre em insuficiência renal, Peterson e cols[37] (1971a) mostraram que o soro de um paciente bilateralmente nefrectomizado continha quantidades consideráveis de RBP livre. Outros autores também observaram níveis muito elevados de RBP livre no soro de pacientes com insuficiência renal grave. O aumento de RBP livre no soro é presumivelmente responsável pela elevação da concentração de RBP total observada durante a insuficiência renal[7].

Um estudo de Bernard e cols (1988) mostrou que o manuseio renal de RBP livre é semelhante àquele da β_2M. Ambas as proteínas são reabsorvidas pelo túbulo proximal com uma eficiência de cerca de 99,97%. Muito provavelmente, a reabsorção tubular das duas proteínas vem a ser um processo saturável. Deve existir uma capacidade máxima de transporte, mas o valor do limiar é, até o momento, desconhecido, o que torna difícil a interpretação de RBPu elevada em pacientes com taxa de filtração glomerular diminuída. Além disso, a reabsorção dessas duas proteínas atinge a saturação no mesmo nível de insuficiência renal. Um mecanismo comum provavelmente é responsável pela captação renal de β_2M e RBP livre. Essa conclusão é reforçada por estudos experimentais que mostram uma competição entre β_2M e RBP no que diz respeito à sua captação por rins de rato[7].

"PROTEÍNA TRANSPORTADORA DE RETINOL" E OUTROS MARCADORES DE LESÃO TUBULAR EM GLOMERULOPATIAS

Tem-se atribuído o mérito da aplicação clínica das proteínas de baixo peso molecular, como marcadores de dano tubular, no acompanhamen-

to do tratamento e do próprio curso da doença renal, a Portman e cols, que, em 1986, valeram-se da determinação da β_2Mu para o diagnóstico do envolvimento tubular em várias doenças renais num total de 182 crianças. Esses autores concluíram que a fração de excreção de β_2M (FEβ_2M) ajudava a diferenciar doença tubular de doença glomerular e identificava envolvimento tubular em uma doença glomerular primária. Observaram que as medidas seqüenciais de β_2M forneciam informações úteis a respeito das alterações de função tubular. Constataram que a FEβ_2M era normal em crianças com doença de lesões mínimas (DLM), mas elevada em glomerulosclerose segmentar e focal (GESF), glomerulopatia membranosa (GNM) e glomerulonefrite membranoproliferativa (GNMP). Levantaram a hipótese de que a determinação da FEβ_2M em glomerulopatias poderia ter valor prognóstico, ao encontrarem uma correlação entre valores elevados, presença de alterações tubulointersticiais e progressão para insuficiência renal terminal, concluindo que a medida da FEβ_2M ajudaria a identificar os pacientes em risco[38]. Estudos realizados no nosso Serviço reiteraram essas conclusões e avaliaram, em crianças e adultos, o valor não só da β_2Mu, como também da RBPu na detecção de córtico-sensibilidade em síndrome nefrótica[29,39].

Alguns autores consideram que a presença de glicosúria ou outras anormalidades tubulares ou β_2M elevada na urina ajudariam a diferenciar crianças com GESF daquelas com DLM[40].

Outros autores têm reforçado a utilidade de marcadores tubulares no acompanhamento de crianças com síndrome nefrótica. Panchenko e cols[41] (1994) estudaram a excreção de duas enzimas urinárias (N-acetil-β-D-glucosaminidase ou NAG e γ-glutamiltransferase ou γ-GT) em crianças com DLM e GESF e constataram uma elevação em GESF. A excreção de NAG em GESF foi três a nove vezes mais elevada que em pacientes com síndrome nefrótica por DLM em remissão ou durante recidiva, mostrando a utilidade potencial da medida dessa enzima na detecção do tipo e da atividade da doença; mas, a excreção de γ-GT não foi diferente nas duas doenças. NAG e γ-GT correlacionaram-se com nitrogênio uréico sangüíneo em DLM e GESF. γ-GT correlacionou-se positivamente com creatinina sérica em ambas. Em GESF, γ-GT e NAG apresentaram uma correlação negativa com taxa de filtração glomerular. Panchenko e cols[41] (1994) sugerem que excreção urinária de enzimas, particularmente NAG, e de aminoácidos pode ser útil no diagnóstico e na graduação de lesão em síndrome nefrótica por DLM e GESF em crianças.

Crianças com síndromes nefrótica córtico-sensível com múltiplas recidivas, em remissão, tiveram excreção urinária significativamente aumentada de NAG, mas normal de RBP; a maioria delas, mesmo aquelas fora de tratamento, teve recidivas nos meses prévios à avaliação, o que significa que a doença poderia ainda estar ativa de alguma forma. É importante recordar que a excreção aumentada de NAG parece mostrar atividade da síndrome nefrótica, lesando células de túbulos contornados proximais. A excreção urinária de enzimas e de proteínas de baixo peso molecular reflete dois mecanismos diferentes de lesão tubular: a enzimúria pode ser um sinal de doença renal ativa causando dano às células do túbulo contornado proximal; a proteinúria de baixo peso molecular pode indicar função ou número de células tubulares proximais diminuídos.

Estudamos 238 pacientes com glomerulopatias, primárias e secundárias, provenientes do Ambulatório de Glomerulopatias do Hospital São Paulo/Escola Paulista de Medicina (UNIFESP). Estes pacientes foram subdivididos em 10 grupos, tais como: DLM, proliferação mesangial (PM), GESF, GNM, GNMP, glomerulonefrites proliferativas (GNP), glomerulonefrite difusa aguda (GNDA), nefropatia por IgA, hematúria glomerular isolada e nefrite lúpica (Tabela 6.1); vale salientar que todos tinham, quando da entrada no estudo, níveis de creatinina sérica de, no máximo, 2mg/dl.

Verificamos, numa primeira análise, comparando os níveis de RBPu entre indivíduos normais e pacientes com glomerulopatias, que, em algumas delas (DLM, GNDA, hematúria glomerular e nefrite lúpica), com freqüência os níveis de RBPu não se distinguem daqueles encontrados em indivíduos normais e são inferiores aos de outras glomerulopatias (GESF, GNM e GNMP), do ponto de vista estatístico. Ainda desse ponto de vista, os níveis de RBPu de pacientes com nefrite lúpica foram inferiores aos daqueles com GESF.

O limite superior da normalidade para valores de RBPu é de 0,040mg/l; porém, para os pacientes com glomerulopatias, observamos que o ponto de corte ideal (estabelecido com base em percentuais de sensibilidade e especificidade) era de 1,000mg/l para a avaliação de prognóstico.

Estudando cada grupo de doença, buscamos estabelecer um perfil da RBPu como marcador de acometimento tubulointersticial e, na seqüência, relataremos as peculiaridades de cada grupo, assim como as eventuais modificações desse perfil associadas às intervenções terapêuticas.

Tabela 6.1 – Níveis de RBPu (em mg/l) encontrados no estudo de 238 pacientes com glomerulopatias.

Grupo	Nº	RBPu mínimo-máximo	RBPu mediana
DLM	21	0,019-6,645	0,048
PM	05	0,019-0,923	0,470
GESF	35	0,005-102,750	2,160
GNM	35	0,042-101,850	0,710
GNMP	17	0,045-27,850	0,513
GNP	07	0,071-19,910	0,535
GNDA	36	0,001-2,830	0,086
Hematúria isolada	30	0,005-0,763	0,077
Nefropatia IgA	08	0,026-15,640	0,142
Nefrite lúpica	44	0,016-19,100	0,159

Doença de lesões mínimas

Em DLM, os níveis de RBPu encontram-se, em geral, na faixa de normalidade; no entanto, eventualmente, mostravam-se elevados (como em 2 dos 21 pacientes).

Acompanhando pacientes com DLM (todos córtico-sensíveis), observamos que aqueles que tinham RBPu normal antes do tratamento mantiveram níveis normais, e aqueles que tinham níveis elevados antes do início da corticoterapia passaram a apresentar níveis normais por ocasião dos dois meses de tratamento, quando a dosagem de RBPu foi repetida, embora ainda se detectasse proteinúria nesse momento, a qual veio a desaparecer pouco tempo depois.

A esse nível, devemos esclarecer que a referência à normalização da RBPu durante o tratamento impôs-se pelo fato de todos esses pacientes terem sido tratados, a princípio, com corticóide; não podemos, entretanto, afastar a possibilidade de a normalização ocorrer simplesmente com o auxílio de medidas gerais de suporte, orientação dietética, diureticoterapia, uso de anti-hipertensivos, dentre outras. Da mesma forma, imaginamos que, se ocorresse uma remissão espontânea, os níveis de RBPu também cairiam. De fato, os pacientes com DLM podem apresentar elevação de RBPu enquanto se encontram em síndrome nefrótica, presumivelmente por desenvolverem disfunção tubular transitória, e os níveis de RBPu voltam ao normal no seguimento, possivelmente devido ao restabelecimento das condições hemodinâmicas, o que costuma coincidir com a resposta ao tratamento instituído. Não sabemos se a normalização decorre simplesmente da melhora das condições hemodinâmicas ou se está relacionada com a corticoterapia que poderia ser responsável inclusive por tal recuperação; a distinção é impossibilitada pelo fato de termos tratado todos os casos de DLM tão precocemente quanto possível.

É digno de nota que nossos pacientes com recidivas apresentaram níveis de RBPu normais. Imaginamos que, como essas recidivas, em geral, foram detectadas mais precocemente que a descompensação inicial (pois os pacientes faziam coletas regulares de exames no seguimento ambulatorial e estavam mais afeitos à sintomatologia da doença), lesão tubular decorrente de hipovolemia não chegou a desenvolver-se; isso reforçaria o papel das alterações hemodinâmicas na elevação de RBPu em DLM.

Proliferação mesangial

O número de pacientes com PM, no estudo que estamos descrevendo, era pequeno, de modo que pudemos apenas presumir que esses pacientes usualmente têm RBPu normal. Tivemos, entretanto, a oportunidade de acompanhar pacientes com PM, ali não incluídos, com RBPu elevada e que normalizou durante o tratamento, como no caso da DLM, coincidindo também com a resposta à corticoterapia.

Glomerulosclerose segmentar e focal

Para o grupo com GESF, o estudo da RBPu parece particularmente interessante; se, por um lado, encontramos uma variação muito grande de níveis de RBPu nessa doença, por outro, esses níveis parecem refletir, de forma precisa, o grau de acometimento tubular funcional; assim, a sua dosagem vem a ser útil no nosso julgamento em relação ao prognóstico e à resposta a tratamento.

Para esses pacientes, nossos dados sugerem que a resposta a tratamento relaciona-se com o encontro de RBPu normal ou normalização de RBPu anteriormente elevada.

Para os pacientes com GESF submetidos a corticoterapia, observamos que a primeira RBPu (determinada antes do tratamento) foi pouco sensível para a detecção de resposta a tratamento, mas a segunda RBPu (durante o tratamento) revelou uma sensibilidade de 100%, com pequena redução da especificidade. Daí concluirmos que, para o acompanhamento de corticoterapia, em GESF, a determinação de RBPu durante o tratamento é um guia muito útil. O momento escolhido por nós para a segunda dosagem é também aquele em que, freqüentemente, se decide sobre a manutenção ou não da terapêutica, de modo que o encontro de valores normais de RBPu sem negativação da proteinúria, por volta do segundo ou terceiro mês, reforça a necessidade de se continuar com o tratamento.

Considerando, portanto, os casos com DLM e GESF com RBPu inicial elevada e que vem a normalizar-se no curso do seguimento, imaginamos que a primeira RBPu está identificando uma lesão tubulointersticial importante, porém funcional e potencialmente reversível.

Diferentes estudos[42] concluem que, embora um subgrupo de pacientes com síndrome nefrótica idiopática por GESF responda a tratamento com corticóide, esta resposta não pode ser prevista clinicamente (ou a partir de dados clínico-laboratoriais e/ou histológicos). É interessante salientar que vários autores comentam, poder-se-ia até dizer que lamentam, a falta de um marcador capaz de indicar os pacientes com síndrome nefrótica que responderão a tratamento[43], particularmente aqueles com GESF[42,44]. Outros clamam por um método laboratorial simples, não-invasivo, capaz de estabelecer um índice prognóstico de progressão de doença renal[45,46]. Diante dessas colocações é que sugerimos acrescentar aos recursos de investigação a determinação da RBPu.

Sem a informação suplementar advinda da dosagem de RBPu (ou outros marcadores de disfunção tubular ou seletividade glomerular), com freqüência as dúvidas sobre a necessidade de manter o tratamento se avolumam e qualquer intercorrência pode levar o médico à suspensão da droga, reduzindo muito as chances do paciente de alcançar a remissão.

Glomerulopatia membranosa

Em GNM, a comparação dos níveis de RBPu antes e durante tratamento com corticóide revelou uma diferença significante (em 11 de 12 pacientes, o nível de RBPu caiu com 2 meses de tratamento), e, embora esse comportamento não tenha uma relação clara com resposta a tratamento (pouco freqüente no grupo estudado, apenas 2 em 12 pacientes), talvez esteja associado a uma mudança na seletividade glomerular ou no estado funcional dos túbulos proximais.

Ikegaya e cols[47] (1994), avaliando pacientes com GNM submetidos a tratamento com prednisolona, observaram que a depuração fracional de dextrano tendeu a normalizar-se paralelamente à melhora da proteinúria. É possível que, ao menos em parte, tal redução na proteinúria dependa de uma melhora na seletividade para o tamanho da barreira glomerular. Imaginamos que, nos nossos casos, a diminuição dos níveis de RBPu possa decorrer de uma recuperação da barreira glomerular, que passaria a reter, pelo menos em parte, RBPu complexada, com conseqüente redução nos níveis urinários de RBP.

Glomerulonefrite membranoproliferativa

No que se refere à GNMP, nossos resultados não permitem identificar pacientes que poderiam responder a tratamento, pois nenhum deles apresentou remissão com os esquemas administrados. Observamos, entretanto, que os pacientes desse grupo que evoluíram com perda ou manutenção de função renal tinham inicialmente creatininas séricas estatisticamente semelhantes, mas os níveis iniciais de RBPu eram capazes de distinguir aqueles que evoluiriam com perda ou manutenção de função renal, como grupo.

Ao acompanharmos os níveis de RBPu antes e com dois a três meses de tratamento em pacientes com síndrome nefrótica (por DLM, PM, GESF, GNM e GNM, analisados em conjunto), concluímos que a RBPu foi um bom marcador de córtico-sensibilidade no grupo como um todo, mas sobretudo no subgrupo DLM-PM-GESF. Observamos que a ocorrência de níveis normais de RBPu antes ou durante o tratamento é bastante sugestiva de boa resposta à corticoterapia e, eventualmente, também às outras drogas imunossupressoras. Resultados enganosos advêm sobretudo dos casos de GNM e podem dever-se à inadequação do esquema terapêutico usado; os casos que responderam (de imediato ou tardiamente) comportaram-se como os pacientes do grupo DLM-PM-GESF. Na GNMP, os valores de RBPu foram, em geral, elevados e não se observou resposta ao tratamento; mas, como já foi dito, o pequeno número de casos não possibilita que façamos generalizações.

Levando em conta as informações fornecidas tanto pela análise estatística quanto pela aplicação da dosagem de RBPu no dia-a-dia do atendi-

mento ambulatorial, acreditamos que a realização de pelo menos duas dosagens (com intervalo de aproximadamente dois meses) é ideal para o acompanhamento do tratamento. É possível inferir que, particularmente nas doenças passíveis de responder a tratamento, a RBPu inicial elevada pode vir a cair e mesmo normalizar no curso do tratamento. De posse desse tipo de informação, imaginamos que a primeira RBPu permite-nos triar algumas doenças ou, numa mesma doença, estabelecer se há acometimento tubular grave ou não; o que não se pode afirmar é se tal dano tubular é agudo e transitório ou crônico e, conseqüentemente, irreversível.

Glomerulonefrites proliferativas

No que se refere ao grupo GNP, a sua heterogeneidade, o número reduzido de pacientes e, coincidentemente, o curto seguimento não nos permitiram fazer qualquer generalização dos resultados. Os níveis de RBPu foram variáveis, mas podemos dizer que predominaram valores normais entre os pacientes que evoluíram com manutenção de função renal.

Glomerulonefrite difusa aguda

Dentre os pacientes com GNDA acompanhados por nós, só se documentou RBPu elevada em dois casos, na fase aguda, o que poderia ser decorrente de necrose tubular aguda focal, freqüentemente observada nesses casos. Um desses pacientes permaneceu em seguimento, e tanto esse como os dois pacientes apresentaram níveis normais de RBPu nas determinações posteriores.

A maioria dos pacientes com GNDA parece evoluir favoravelmente, mas o prognóstico a longo prazo não está bem estabelecido, em particular quando considerados pacientes de todas as idades[48,49,50]. Por esse motivo, incluímos, nessa avaliação, pacientes em fase de recuperação e de cura, inclusive muitos anos (no máximo, seis anos) após o diagnóstico da síndrome nefrítica aguda, para tentar detectar eventuais lesões tubulointersticiais que se mantivessem silenciosas ao longo do tempo. O grupo de GNDA não era muito numeroso se subdividido de acordo com o tempo decorrido desde o episódio agudo, e o seguimento dos pacientes é deveras irregular, justamente pela falta de sintomatologia; no entanto, considerando-se o que nos foi possível reunir, não detectamos acometimento tubulointersticial nesses pacientes após a fase aguda e, mesmo nesta, tal acometimento pareceu constituir uma exceção.

Hematúria

Hematúrias glomerulares e não-glomerulares são inicialmente diferenciadas, em nosso Serviço, com base na microscopia de contraste de fase; a ocorrência de eritrócitos dismórficos, codócitos e acantócitos torna a hematúria glomerular mais provável.

Em nossos casos de hematúria isolada, definidos como de origem glomerular com base na detecção de dismorfismo eritrocitário, a RBPu mostrou-se sempre normal.

Nefropatia da IgA

Por motivos ainda não muito claros, o número de pacientes com diagnóstico de nefropatia da IgA em nosso Serviço e mesmo em outras instituições no Brasil é pequeno, impedindo-nos de reunir maior número de casos, de modo que, do ponto de vista estatístico, os nossos resultados em relação a essa doença não permitem tirar maiores conclusões. De qualquer forma, é notório que o único paciente com RBPu alterada (de fato, permanentemente elevada) evoluiu rapidamente para insuficiência renal terminal. O outro paciente que evoluiu mal tinha RBPu normal mesmo com creatinina sérica igual ou superior a 2mg/dl; é interessante comentar que, durante todo o acompanhamento ambulatorial (inclusive precedendo este estudo), hipertensão arterial fora de controle era a principal intercorrência neste caso.

Lai e cols[45] (1986) sugeriram que a excreção fracional de β_2M pode ser um bom indicador do prognóstico a longo prazo para pacientes com nefropatia da IgA. Os pacientes com alterações tubulointersticiais moderadas a graves na biopsia renal tiveram uma excreção fracional de β_2M significantemente mais alta quando comparados com aqueles com envolvimento tubulointersticial ausente ou leve.

Nefrite lúpica

Em nossos casos de lúpus eritematoso sistêmico, o prognóstico não foi previsto com precisão pelos valores iniciais de RBPu. Acreditamos que, nessa doença em especial, mas não apenas nela, o componente vascular é muito importante no que tange ao prognóstico, assim como é praticamente consenso que algumas lesões glomerulares, dentre as quais ressaltaríamos a ocorrência de crescentes, podem ser decisivas na evolução das glomerulonefrites. Além disso, o curso de nefrite lúpica é particularmente instável, sujeito às peculiaridades da doença e das intervenções

terapêuticas, tornando muito improvável que um marcador isolado possa estabelecer o prognóstico nesses casos.

Para a adequada valorização dos resultados de RBPu nessa doença, há indícios de que devemos avaliar se o paciente está ou não em atividade quando da sua dosagem. Lembraríamos, aqui, que Sesso e cols[51] (1994) mostraram que a lesão tubular detectada pela RBPu é freqüente em pacientes com nefrite lúpica ativa, ao contrário do observado em pacientes com nefropatia estável ou sem evidências de atividade renal, mesmo na presença de atividade extra-renal. Outros estudos evolutivos sobre o comportamento da RBPu em lúpus eritematoso sistêmico, considerando a presença ou não de atividade, encontram-se em andamento em nosso Serviço.

Salgado Filho[52] (1994) observou que os níveis de β_2Mu e FEβ_2M estavam aumentados em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico ativo, independente de tratar-se de atividade renal ou em outro nível. Nesse estudo, fez-se cuidadosa avaliação da histopatologia, mas não se detectou uma boa correlação entre os níveis de β_2Mu ou FEβ_2M e as lesões renais à histopatologia. Observou-se apenas que os níveis de β_2Mu e FEβ_2M foram mais elevados nos tipos histológicos com um componente inflamatório mais acentuado (classes III e IV). Um outro achado relevante correspondeu ao encontro de níveis séricos elevados de β_2M em pacientes em atividade lúpica; esse marcador mostrou-se altamente sensível e específico para separar doença ativa de inativa.

É importante comentar, como há pouco mencionamos, que o dano vascular renal é um evento comum em nefrite lúpica e também pode ajudar a identificar os pacientes com maior probabilidade de progredir para insuficiência renal terminal[53]. Durante o seguimento de nossos pacientes, percebemos que alguns deles, inclusive com perda de função renal detectável por elevação de creatinina, tinham RBPu normal (sugerindo ausência de lesão tubulointersticial) e hipertensão arterial sistêmica moderada a grave, como uma das intercorrências principais no curso da doença. Acreditamos que, nesses casos, a perda de função renal se deu predominantemente pelo acometimento vascular, o que explica uma freqüência relativamente maior de casos com perda de função renal e RBPu normal na nefrite lúpica, quando comparada com as demais glomerulopatias.

Por fim, avaliando 163 pacientes com glomerulopatias (aqui excluídos os pacientes com GNDA e hematúria glomerular isolada, assim como pacientes dos outros grupos que não continuaram em seguimento), procuramos estabelecer se a RBPu era capaz de detectar precocemente os pacientes que evoluiriam ou não com perda de função renal. Valemo-nos, para isso, de determinações semestrais de RBPu e de outros parâmetros de função renal. Constatamos que os pacientes com RBPu > 1mg/dl evoluíram mais freqüentemente para insuficiência renal do que aqueles com valores ≤ 1mg/dl. Refizemos essa análise envolvendo apenas pacientes com creatinina sérica normal (≤ 1,2mg/dl) e constatamos que a RBPu continuava sendo capaz de distinguir pacientes que evoluiriam com perda ou manutenção de função renal, enquanto grupos.

Chamou-nos a atenção que um dos grupos em que a determinação de RBPu revelou-se particularmente eficiente na detecção de perda de função renal foi o dos pacientes com GESF. Aqueles que evoluíram para insuficiência renal crônica, no período de acompanhamento, tiveram RBPu muito elevada desde o início e não apresentaram valores de RBPu normais em nenhum momento, independente de terem usado ou não tratamento com corticóide e/ou imunossupressores.

É aspiração de muitos investigadores encontrar a adequada combinação de achados clínicos e laboratoriais que torne possível prever os tipos de glomerulopatias, sem realizar a biopsia renal, sendo particularmente importante em situações em que ela está contra-indicada ou quando a decisão quanto à terapêutica é urgente. Alguns estudos têm surgido, reunindo informações clínicas e laboratoriais com esse fim[54]. Considerando as informações fornecidas pela RBPu, imaginamos que ela poderia também contribuir para que cheguemos mais próximo do diagnóstico, assim como do prognóstico de cada uma das glomerulopatias.

Um outro aspecto que gostaríamos de ressaltar é o fato de a RBPu apresentar várias características de um bom marcador laboratorial:

1. pode ser determinada numa amostra isolada de urina e a sua coleta não exige maiores precauções;
2. é determinada por um método laboratorial reprodutível e de boa precisão[6];
3. sua elevação, quando a creatinina sérica está normal, traduz disfunção tubular;
4. permite acompanhar o grau de acometimento tubulointersticial no curso da doença renal;
5. quando não se dispõe de biopsia renal, pode ajudar o médico a estabelecer o provável diagnóstico da glomerulopatia; por outro lado, quando a biopsia renal está disponível, permite o acompanhamento das lesões tubulointers-

ticiais encontradas, através de dosagens seqüenciais; poderia também revelar lesões existentes, mas não visualizadas na biopsia renal, por serem focais, além de servir como índice para seguimento da intensidade do acometimento tubulointersticial ou do seu aparecimento, se antes ausente.

Obviamente, algumas dessas características são compartilhadas por outros marcadores laboratoriais.

Enfim, a facilidade de dosagem das proteínas de baixo peso molecular e, em particular, da RBPu em relação a outros testes de função tubular faz dessas dosagens os testes de escolha na detecção de disfunção tubular proximal.

Nesse estudo, concluímos que a determinação de RBPu, marcando a ocorrência de lesão tubular, transitória ou persistente, tem importância prognóstica no seguimento das glomerulopatias, tanto no que se refere à progressão para insuficiência renal, como no que tange à resposta ao tratamento da síndrome nefrótica.

Acreditamos que a determinação de RBPu contribua para a compreensão do que acontece durante o processo de doença renal rumo à perda de função, e permita a detecção dos pacientes em risco, mais precocemente, para que se iniciem o quanto antes medidas para retardar a progressão e identificar, sobretudo dentre os pacientes nefróticos, aqueles com potencial de resposta ao tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PETERSON PA: Demonstration in serum of two physiological forms of the human retinol-binding protein. *Eur J Clin Invest* 1:437-444, 1971.
2. BERNARD AM, VYSKOCYL A, MAHIEU P, LAUWERYS R: Assessment of urinary retinol-binding protein as an index of proximal tubular injury. *Clin Chem* 33(6):775-779, 1987.
3. BERNARD AM, MOREAU D, LAUWERYS R: Comparison of retinol-binding protein and β2-microglobulin determination in urine for the early detection of tubular proteinuria. *Clin Chim Acta* 126:1-7, 1982.
4. SUNDBERG AGM, APPELKVIST E-L, BÄCKMAN L, DALLNER G: Urinary π-class glutathione transferase as an indicator of tubular damage in the human kidney. *Nephron* 67:308-316, 1994.
5. JUNG K, PERGANDE M, SCHIMKE E, RATZMANN KP, ILLUS A: Urinary enzymes and low-molecular-mass proteins as indicators of diabetic nephropathy. *Clin Chem* 34(3):544-547, 1988.
6. PEREIRA AB, NISHIDA SK, VIEIRA JGH, LOMBARDI MTFC, SILVA MS, AJZEN H, RAMOS OL: Monoclonal antibody-based immunoenzymometric assays of retinol-binding protein. *Clin Chem* 39(3):472-476, 1993.
7. BERNARD AM, VYSKOCYL A, MAHIEU P, LAUWERYS R: Effect of renal insufficiency on the concentration of free retinol-binding protein in urine and serum. *Clin Chim Acta* 171(1):85-94, 1988.
8. GENTILE MG, FELLIN G, MANNA GM, D'AMICO G, TESTOLIN G, PORRINI M, SIMONETTI P: Vitamin A and retinol binding protein in chronic renal insufficiency. *Int J Artif Organs* 11(5):403-404, 1988.
9. MENEZES EAM, SILVA MS, NISHIDA SK, MOREIRA SRS, VENTURA RTP, PEREIRA AB: Levels of urinary retinol binding protein (URRBP) in patients with chronic renal failure (CRF) of different ethiologies (abstract). *Kidney Int* 46(6):1748, 1994.
10. SILVA MS, MENEZES EAM, NISHIDA SK, DRAIBE SA, AJZEN H, PEREIRA AB: Serum levels of retinol binding protein (RBP) in patients with chronic renal failure (CRF). (abstract) *Kidney Int* 46(6):1749, 1994.
11. BANKSON DD, RIFAI N, SILVERMAN LM: Serum retinol-binging protein and creatinine in onset of and recovery from acute renal failure. *Clin Chem* 33(10):1942, 1982.
12. KOLOWSKI BW, TAYLOR ML, BAER MT, BLYLER EM, TRAHMS C: Anticonvulsant medication use and circulation levels of total thyroxine, retinol binding protein, and vitamin A in children with delayed cognitive development. *Am J Clin Nutr* 46:360-368, 1987.
13. BEETHAM R, DAWNAY A, MENABAWY M, SILVER A: Urinary excretion of albumin and retinol-binding protein during normal pregnancy. *J Clin Pathol* 41:1089-1092, 1988.
14. DONALDSON MDC, CHAMBERS RE, WOOLRIDGE MW, WHICHER JT: Alpha-1-microglobulin, beta-2-microglobulin and retinol binding protein in childhood febrile illness and renal disease. *Pediatr Nephrol* 4:314-318, 1990.
15. VAISBICH MH: *Determinação dos Níveis Urinários da Proteína Transportadora do Retinol (RBP) em Recém-nascidos Pré-termo e a Termo, Lactentes e Crianças Maiores.* São Paulo, 1992. (Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina)
16. SMITH GC, WINTERBORN MH, TAYLOR CM, LAWSON N, GUY M: Assessment of retinol-binding protein excretion in normal children. *Pediatr Nephrol* 8:148-150, 1994.
17. JENSEN HV, HOLM J, HEMMINGSEN L, THIESEN S, ANDERSEN J: Urinary excretion of albumin and retinol-binding protein in lithium-treated patients. *Acta Psychiatr Scand* 78:375-378, 1988.
18. JENSEN HV, HEMMINGSEN L, HOLM J, CHRISTENSEN EM, AGGERNAES H: Urinary excretion of albumin and retinol-binding protein in lithium-treated patients: a longitudinal study. *Acta Psychiatr Scand* 85:480-483, 1992.
19. LAPSLEY M, SANSOM PA, MARLOW CT, FLYNN FV, NORDEN AGW: Beta-2-glycoprotein-1 (apolipoprotein H) excretion in chronic renal tubular disorders: Comparison with other protein markers of tubular malfunction. *J Clin Pathol* 44(10):812-816, 1991.
20. VAISBICH MH, NISHIDA SK, SILVA MS, OKAY Y, CARVALHAES JTA, TOPOROVSKI J, SESSO R, PEREIRA AB: *Urinary Retinol-binding Protein (RBPur) in Primaries Tubulopathies.* Abstracts of the XIII[th] International Congress of Nephrology, Madrid, 1995, pp. 16.
21. BEETHAM R, SILVER A, DAWNAY A: Urinary albumin and retinol-binding protein in diabetes. *Clin Chem* 33(5):713, 1987.
22. CATALANO C, WINOCOUR PH, GILLESPIE S, GIBB I, ALBERTI KGMM: Effect of posture and acute glycaemic control on the excretion of retinol-binding protein in normoalbuminuric insulin-dependent diabetic patients. *Clin Sci* 84(4):461-467, 1993.
23. HOLM J, HEMMINGSEN L, NIELSEN NV, THOMSEN M: Increased urinary excretion of the retinol-binding protein in insulin-dependent diabetes mellitus in the absence of microalbuminuria. *Clin Chim Acta* 170:345-350, 1987.
24. HOLM J, HEMMINGSEN L, NIELSEN NV: Relationship between the urinary excretion of albumin and retinol-binding protein in insulin-dependent diabetics. *Clin Chim Acta* 177:101-106, 1988.

25. PONTUCH P, JENSEN T, DECKERT T, ONDREJKA P, MIKULECKY M: Urinary excretion of retinol-binding protein in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with microalbuminuria and clinical diabetic nephropathy. *Acta Diabetol* 28:206-210, 1992.
26. ROWE DJF, ANTHONY F, POLAK A, SHAW K, WARD CD, WATTS GF: Retinol binding protein as a small molecular weight marker of renal tubular function in diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 24:477-482, 1987.
27. RETTORI RMV: Avaliação da Proteína Carreadora do Retinol Urinária como Índice de Disfunção Tubular Proximal na Nefropatia Lúpica. São Paulo, 1993. (Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina)
28. BEETHAM R, NEWMAN D: Urinary albumin and low molecular weight protein excretion in the nephrotic syndrome – sequential studies during corticosteroid treatment. *Ann Clin Biochem* 29:450-453, 1992.
29. SANTOS AP: Utilidade da Proteína Transportadora do Retinol e β2-Microglobulina como Testes Preditivos de Córtico-responsividade em Pacientes com Síndrome Nefrótica: São Paulo, 1993. *Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina.*
30. ELLEKILDE G, HOLM J, EYBEN FE, HEMMINGSEN L: Above-normal urinary excretion of albumin and retinol-binding protein in chronic heart failure. *Clin Chem* 38(4):593-594, 1992.
31. KANAI M, RAZ A, GOODMAN WS: Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J Clin Invest* 47:2025-2044, 1968.
32. CHEN WYJ, JAMES HO, GLOVER J: Retinol transport proteins. *Biochem Soc Trans* 14(5):925-928, 1986.
33. SMITH FR, RAZ A, GOODMAN WS: Radioimmunoassay of human plasma retinol-binding protein. *J Clin Invest* 49:1754-1761, 1970.
34. GJOEN T, BJERKELUND T, BLOMHOFF HK, NORUM KR, BERG T, BLOMHOFF R: Liver takes up retinol-binding protein from plasma. *J Biol Chem* 262(23):10926-10930, 1987.
35. SANDBLOM P, AQVIST J, JONES TA, NEWCOMER ME, GUNSTEREN WF, TAPIA O: Structural changes in retinol binding protein induced by retinol removal. A molecular dynamics study. *Biochem Biophys Res Commun* 139(2):564-570, 1986.
36. BYCHKOVA VE, BERNI R, ROSSI GL, KUTYSHENKO VP, PTITSYN OB: Retinol-binding Protein is in the Molten Globule State at Low pH. *Biochemistry* 31:7566-7571, 1992.
37. PETERSON PA: Characteristics of vitamin A-transporting protein complex occurring in human serum. *J Biol Chem* 246(1):34-43, 1971a.
38. PORTMAN RJ, KISSANE JM, ROBSON AM: Use of β2 microglobulin to diagnose tubulo-interstitial renal lesions in children. *Kidney Int* 30(1):91-98, 1986.
39. SESSO R, SANTOS AP, NISHIDA SK, KLAG MJ, CARVALHAES JT, AJZEN H, RAMOS OL, PEREIRA AB: Prediction of steroid responsiveness in the idiopathic nephrotic syndrome using urinary retinol-binding protein and beta-2-microglobulin. *Ann Inter Med* 116(11):905-909, 1992.
40. CAMERON JS: Proteinuria and progression in human glomerular diseases. *Am J Nephrol* 10(Suppl 1):81-87, 1990.
41. PANCHENKO EL, CHESNEY RW, ROY III S, BUDREAU AM, BOEHM KA: The differential diagnostic value of urinary enzyme and amino acid excretion in children with nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 8:142-147, 1994.
42. AGARWAL SK, DASH, SC, TIWARI SC, BHUYAN UN: Idiopathic adult focal segmental glomerulosclerosis: a clinicopathological study and response to steroid. *Nephron* 63(2):168-171, 1993.
43. ABDURRAHMAN MB, ELIDRISSY ATH, MAHMOUD K, AL RASHEED S, AL MUGEIRIN M: Failure of clinical and laboratory characteristics to diferentiate mesangial proliferative from minimal-change nephrotic syndrome. *Acta Paediatr* 82:579-581, 1993.
44. KORBET SM: The treatment of focal segmental glomerular sclerosis: steroid-resistance or steroid reluctance? *Kidney Curr Survey World Literat* 1(1):2-3, 1992.
45. LAI KN, LAI FM-M, VALLANCE-OWEN J: The clinical use of serum beta-2-microglobulin and fractional beta-2-microglobulin excretion in IgA nephropathy. *Clin Nephrol* 25(5):260-265, 1986.
46. NAGASE M, SAKAKIBARA K, HONDA N, TAKADA Y, TAKADA A: Does measurement of urinary rare proteins provide diagnostic significance in glomerular diseases? *Contrib Nephrol* 68:141-148, 1988.
47. IKEGAYA N, NAGASE M, HONDA N, KUMAGAI H, HISHIDA A: Correlation between histologic features and glomerular permeability in membranous nephropathy and immunoglobulin A nephropathy. *J Lab Clin Med* 123:94-101, 1994.
48. BRENNER BM, COE FL, RECTOR FC: *Clinical Nephrology*, Philadelphia, W.B. Saunders, 1987, pp. 93-160.
49. POPOVIC-ROLOVIC M, KOSTIC M, ANTIC-PECO A, JOVANOVIC O, POPOVIC D: Medium-and long-term prognosis of patients with acute poststreptococcal glomerulonephritis. *Nephron* 58:393-399, 1991.
50. RICHMOND DE, DOAK PB: The prognosis of acute post infectious gomerulonephritis in adults: a long-term prospective study. *Aust NZ J Med* 20:215-218, 1990.
51. SESSO R, RETTORI R, NISHIDA S, SATO E, AJZEN H, PEREIRA AB: Assessment of lupus nephritis activity using urinary retinol-binding protein. *Nephrol Dial Transplant* 9:367-371, 1994.
52. SALGADO FILHO N: Níveis Séricos e Urinários de Beta-2-Microglobulina na Avaliação de Pacientes Portadores de Lupus Eritematoso Sistêmico. São Paulo, 1994. (Tese de Doutorado, Escola Paulista de Medicina)
53. BANFI G, BERTANI T, BOERI V, FARAGGIANA T, MAZZUCCO G, MONGA G, SACCHI G: Renal vascular lesions as a marker of poor prognosis in patients with lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 18(2):240-248, 1991.
54. TOMURA, S, TSUTANI K, SAKUMA A, TAKEUCHI J: Discriminant analysis in renal histological diagnosis of primary glomerular diseases. *Clin Nephrol* 23(2):55-62, 1985.

7

MICROALBUMINÚRIA EM DIABÉTICOS, HIPERTENSOS E IDOSOS

Jenner Cruz
Antonio Bartolomeu Cruzera

INTRODUÇÃO

Sabe-se, talvez desde 1694, que a urina pode conter proteínas. Foi nessa data, em Leydden, que Fredericus Dekkers demonstrou a presença de proteína na urina, através do calor, até a fervura e adição de ácido acético[apud 1], método este usado até os nossos dias. Coube porém a Richard Bright fazer, pioneiramente, a relação entre presença de proteínas na urina e doenças renais[2] e a Mörner comprovar, definitivamente, sua existência na urina, em 1895[apud 3].

O termo **albuminúria** foi introduzido por Martin Solon[apud 1], sendo muitas vezes utilizado como sinônimo de proteinúria[4,5]. Hoje, sabe-se que a albumina, como veremos após, constitui cerca de um terço do total das proteínas normais da urina[6], sendo seu limite máximo de excreção ao redor de 30mg/dl[7].

O rim filtra diariamente 10 a 15kg de proteínas do soro por dia, mas, devido à reabsorção tubular, apenas 30 a 130mg/dia aparecem na urina normal, sendo 150mg/dia em adultos e 140mg/m^2 de área corpórea em crianças os valores máximos admitidos[3,8], 60% das quais de origem do filtrado glomerular e as restantes produzidas pelo rim ou pelo trato inferior[3].

A pequena quantidade de proteína, constante da urina normal, não era constatada, em geral, pelos métodos antigos de dosagem através de calor, ácido acético, bromofenol azul, ácido nítrico ou ácido sulfossalicílico[3,4,9]. Acreditava-se, também, que a proteinúria estava normalmente ausente da urina, na maioria dos mamíferos sadios, ou era constituída somente de traços[10].

Um terço a um quarto da excreção urinária normal de proteínas é composto de albumina; número semelhante de excreção é apresentado por uma mucoproteína de alto peso molecular, descrita por Tamm & Horsfall[11], que reage imunoquimicamente como uma alfa-globulina no pH 8,6. O restante da excreção protéica é composto por alfa, beta e gama-globulinas, fibrinogênio e componentes derivados do trato urinário inferior, incluindo um seromucóide prostático[12]. A imunoglobulina A (IgA), que não é filtrada pelos glomérulos e sim secretada pelas células uroepiteliais dos túbulos, atinge no máximo 3% da excreção urinária normal de proteínas[13]. A proteína de Tamm-Horsfall foi considerada idêntica à uromodulina, uma glicoproteína que inativa as linfocinas: interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF), cujo papel etiológico no trato urinário ainda é motivo de controvérsia[14]. Portanto, cerca de 60% da excreção de proteínas é oriunda do plasma e o restante do trato urinário inferior[6].

A determinação da quantidade de proteína na urina é um dos exames mais úteis para o diagnóstico, conduta e prognóstico de uma nefropatia. Uma proteinúria pode ser intermitente, postural e persistente.

Proteinúria persistente é definida como um aumento na excreção urinária de proteína, acima dos valores normais, em vários exames, sem relação com a posição assumida pelos pacientes (em pé ou deitado). Esse tipo de proteinúria é quase sempre sinal de doença renal estrutural, mesmo quando a função renal e o sedimento urinário são normais e o paciente assintomático[15-18]: pode ser discreta, inferior a 3,5g/dia (nefrítica), ou ma-

ciça (nefrótica). Metade dos pacientes com proteinúria persistente desenvolve hipertensão arterial sistêmica em cinco anos, e um quinto insuficiência renal em dez, mas, muitas vezes, a insuficiência renal demora décadas para se instalar e mesmo, por vezes, nunca se instala, tendendo a desaparecer com o correr dos anos[8], especialmente quando adequadamente tratada.

Há pouco mais de 30 anos, em 1963, o grupo do Hospital Guy de Londres descreveu o primeiro método de radioimunoensaio (RIA) para detectar baixas concentrações de albumina na urina[16], havendo atualmente vários métodos, incluindo quimioimunoensaios, para fazer essa dosagem[19-29].

CONCEITO DE MICROALBUMINÚRIA

A capacidade de se dosar baixas concentrações de albumina na urina possibilitou a Viberti e cols[30], em 1982, criar o termo **microalbuminúria** para designar a excreção urinária subclínica de albumina, superior a 30mg/dia.

Esta definição sofreu alterações por outros autores, sendo considerada atualmente, principalmente entre pacientes diabéticos, como um aumento anormal da excreção urinária de albumina entre os valores acima de 30 e igual ou abaixo de 300mg/dia, ou 20 e 200µg/min, respectivamente[31-45].

O termo **microalbuminúria** também é empregado para uma excreção urinária de albumina acima de 5 a 20mg/dia, mas inferior à quantidade detectada pelos métodos de rotina de 200 a 250mg/dia[31,46-47]. Para se determinar o grau de microalbuminúria de um paciente deve-se fazer não uma, mas várias determinações, tal a variabilidade deste exame[47].

O Grupo de Estudo Colaborativo de Microalbuminúria do Reino Unido (Microalbuminuria Collaborative Study Group, United Kingdom) definiu **normoalbuminúria** como a excreção urinária de albumina inferior a 30µg/min, embora reconheça que 75% dos normais excretem menos de 13µg/min, considerando microalbuminúria valores superiores a 30µg/min[48].

Nos hipertensos essenciais, a microalbuminúria pode ser definida como valores iguais ou superiores a 14µg/min (20mg/dia[49]), mas não superiores a 200µ/min (300mg/dia).

MICROALBUMINÚRIA EM DIABÉTICOS

A incidência de nefropatia diabética, principalmente quando decorrente de *Diabetes mellitus* tipo II, está crescendo em diferentes partes do mundo[50], inclusive entre nós, sendo muito importante o seu diagnóstico e tratamento precoces.

Embora a proteinúria fosse demonstrada em diabéticos desde o fim do século XVIII[51], coube a Richard Bright, em 1836, esclarecer que a presença de albuminúria em diabéticos refletiria a associação de uma doença renal séria e específica[52]. Um século após, Kimmelstiel & Wilson descreveriam a glomerulosclerose intercapilar nodular em pacientes diabéticos sofrendo de uma síndrome clínica caracterizada por proteinúria maciça, insuficiência renal e hipertensão arterial[53].

Um dos mais importantes achados laboratoriais é uma elevação de 20 a 40% na taxa de filtração glomerular acompanhada de um discreto aumento da excreção urinária de albumina[54], superior aos 15µg/min dos normais, mas inferior aos 100µg/min detectável pelas técnicas utilizadas até 1976.

A microalbuminúria aumenta com o exercício[55] e diminui com o perfeito controle do diabetes, e normalização da glicemia, embora sem erradicá-la completamente[56].

É bem possível que haja uma sensibilidade especial para um paciente adquirir a nefropatia diabética no diabetes tipo 1, pois ocorre raramente antes de 10 anos de diabetes insulino-dependente[57], freqüentemente entre 10 e 20 anos de doença e muito raramente após 30 anos[58]. O diabético tipo 1 que não desenvolveu nefropatia em 30 anos de doença não o fará mais.

Segundo nossa experiência, a nefropatia diabética pode ser o primeiro sinal de diabetes tipo 2.

A microalbuminúria deve ser um marcador de uma disfunção geral do endotélio vascular, que predispõe a entrada de lipoproteínas aterogênicas no endotélio[59], condiciona doença cardiovascular[60-61], hipertensão arterial[61], dislipidemia[62], maior adesividade plaquetária[62], resistência à insulina[63] e neuropatia autonômica[61,64-66].

Coube e Zatz e cols[67] demonstrar pela primeira vez, em ratos tornados diabéticos, que a administração de inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECAs) protegeria efetivamente esses animais do desenvolvimento de proteinúria e de lesões glomerulares estruturais segmentares.

Lewis e cols, em 1993, resumindo o "Collaborative Study Group of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition", realizado nos Estados Unidos e no Canadá, concluíram que o captopril é um protetor renal em diabéticos insulino-dependentes que apresentam nefropatia estabelecida[68]. Eles encontraram uma diminuição do risco cardíaco de 56% em diabéticos tipo 1 tratados com captopril × placebo, sem interromperem a sua medicação habitual[68]. Os efeitos benéficos dessa terapia se acompanham de poucos efeitos colaterais desagradáveis atribuíveis a esta droga, que deve ser indicada a diabéticos hipertensos ou

normotensos, mesmo com nefropatia clínica evidente[68]. A nefropatia do diabetes insulino-dependente melhora sensivelmente com a normalização da pressão arterial para níveis iguais ou inferiores a 12 × 7mmHg[50] através da administração de IECAs associados, se necessário, a diuréticos e beta-bloqueadores, e normalização da glicemia e da dislipidemia.

O mesmo parece não ocorrer com a nefropatia tipo 2, havendo evidências de que as duas formas de diabetes têm comportamento diverso[66]. Segundo a nossa experiência, o uso de IECAs em diabéticos tipo 2, após a instalação da nefropatia diabética, não tem se mostrado muito eficiente.

MICROALBUMINÚRIA EM HIPERTENSOS

Se a microalbuminúria foi investigada como um ótimo método para prever a presença de nefropatia diabética, ela também foi estudada em hipertensos com creatinina normal[37]. A prevalência de microalbuminúria em hipertensão essencial varia com a intensidade da duração da hipertensão, variando de 13 a 40% dos pacientes com hipertensão leve a moderada[37,41,69].

A excreção urinária de albumina (EUA) foi avaliada por nós em 26 hipertensos essenciais em tratamento anti-hipertensivo utilizando diversas drogas, encontrando cinco pacientes (19%) com microalbuminúria (definida como EUA superior a 14µg/min)[49].

A prevalência e/ou a intensidade de microalbuminúria diminuem com o tratamento anti-hipertensivo[70-74], aumentando com o tratamento inadequado[70,75] e com a gravidade da hipertensão arterial[32,34,37-38,40,43,70-71,73-74,76-78].

Observamos que a EUA correlacionou-se positiva e significativamente com os níveis de pressão arterial sistólica, diastólica e média, sendo mais intensa a correlação com a pressão sistólica que com a diastólica[49], o que está de acordo com a maior parte dos trabalhos publicados[32,42,44-45,72-73,75-76,79-82], mas não todos[37].

Encontramos correlação positiva entre os valores de EUA e os valores do índice de massa corpórea (IMC)[49], como também foi encontrado em hipertensos[41,78] ou não[43]. Um dos mecanismos propostos foi um aumento da insulinemia após sobrecarga de glicose[41,42]. Nosadini e cols encontraram microalbuminúria apenas em hipertensos essenciais com resistência à insulina[39]. Tanto a EUA quanto os valores do IMC são altos e significativamente relacionados aos valores da pressão sistólica, em detrimento da diastólica[49,83], talvez decorrente de arterioarteriolosclerose vascular renal[49].

Não houve correlação entre a EUA e a duração da hipertensão[41,49,82].

O tratamento anti-hipertensivo reduz a EUA[43,45,73,75], sendo esse efeito aparentemente maior com os IECAs que com outros hipotensores[42,45,78].

Acredita-se que a microalbuminúria da hipertensão essencial tem causa multifatorial: fatores hemodinâmicos como aumento da pressão capilar intraglomerular[41,43,72,78,82,84-85], lesões estruturais glomerulares[43,70-72-73,78-80,82,84], alterações tubulares[74,82], disfunção da barreira endotelial glomerular[40,76], secretação do antígeno fator de von Willebrand pelo endotélio vascular lesado[44], hereditariedade[76,86], ou fatores raciais[81], sendo muito maior em brancos que em não brancos.

Em hipertensos essenciais, a presença de microalbuminúria foi associada à maior freqüência de eventos cardiovasculares, doença vascular periférica, mortalidade[32,34,36-37,45,76-78,84], retinopatia hipertensiva[70], hipertrofia ventricular esquerda[36,79], hiperinsulinemia e alterações lipídicas[42,84].

MICROALBUMINÚRIA EM IDOSOS

Teoricamente, poder-se-ia concluir que os pacientes idosos, com algum grau de arteriosclerose senil, mas não hipertensos nem diabéticos, com fundo de olho normal, não devem apresentar arteriosclerose retiniana nem renal, e portanto não devem ser microalbuminúricos.

Experimentalmente, sabe-se, desde Addis[87], que em ratos machos a excreção urinária de proteínas aumenta com a idade. A albuminúria é o maior componente da proteinúria de ratos proteinúricos de meia-idade[88], começando juntamente com o aparecimento de lesões histológicas renais[89]. Esta proteinúria é inicialmente seletiva, tornando-se após não-seletiva, demonstrando uma perda progressiva da seletividade da barreira glomerular[90], crescendo a ponto de tornar-se maciça, apesar de grande redução da filtração glomerular[91]. A redução do conteúdo de proteínas da dieta pode prevenir parcialmente esta forma de lesão renal[92]. Há bastante evidência de que a proteinúria de ratos, com redução de sua massa renal, depende da redução do tamanho e da seletividade da barreira glomerular[93]. As evidências sugerem também que essa alteração glomerular seria causada por um aumento do fluxo e da pressão intraglomerular, idêntico ao proposto para a hipertensão arterial[94], e que o tratamento com certas drogas hipotensoras é capaz de reduzir este grau de lesão[95].

Em humanos, segundo nossa experiência, o hipertenso, adequadamente tratado, dificilmente desenvolve proteinúria[96]. Porém, em ratos idosos

a esclerose glomerular pode ocorrer mesmo sem a presença de hipertensão arterial. Bell e cols[97] encontraram aumento do mesângio no glomérulo de ratos idosos, talvez decorrente de acúmulo de IgM e IgG[98], outra causa provável de esclerose glomerular, independente do aumento da pressão arterial.

Finalmente muitos idosos são obesos, dislipidêmicos, hiperglicêmicos (sem serem diabéticos) e/ou hipertensos. A excreção urinária de albumina correlaciona-se significativamente com o índice de massa corpórea, e a presença de microalbuminúria em obesos é um sinal de complicações, como em diabéticos e idosos[99]. A microalbuminúria em idosos pode ser muitas vezes multifatorial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FISHBERG AM: *Hypertension and Nephritis* (5th ed), Philadelphia, Lea & Febiger, 1954, p 119.
2. BRIGHT R: *Reports of Medical Cases*, London, Lomanns, Rees, Orme, Brown and Green, 1827.
3. BERGGARD I: Studies on the plasma proteins in normal human urine. *Clin Chem Acta* 6:413-429, 1961.
4. KNIGHTS Jr EM, JABLOKOW V: A one-drop method for detection of albuminuria. *JAMA* 165:1277-1279, 1957.
5. DEROW HA: The diagnostic value of serial measurements of albuminuria in ambulatory patients. *N Engl J Med* 227:827-829, 1942.
6. McGARRY E, SEHON AH, ROSE B: The isolation and electrophoretic characterization of the proteins in the urine of normal subjects. *J Clin Invest* 34:832-844, 1955.
7. SHIHABI ZK, KONEN JC, O'CONNOR ML: Albuminuria vs urinary total protein for detecting chronic renal disorders. *Clin Chem* 37:621-624, 1991.
8. ABUELO JG: Proteinuria: diagnostic principles and procedures. *Ann Intern Med* 98:186-191, 1983.
9. FREE AH, RUPE CO, METZLER I: Studies with a new clorimetric test for proteinuria. *Clin Chem* 3:716-727, 1957.
10. ADDIS T: Proteinuria. *Trans Assos Am Physicians* 57:106-108, 1942.
11. TAMM I, HORSFALL Jr PL: A mucoprotein derived from human urine which reacts with influenza, mumps, and Newcastle disease viruses. *J Exp Med* 95:71-97, 1952.
12. PATTE J-C, BALDASSAIRE G, LORET J: Immuno-électrophorétique des protéinuries normales et pathologiques. *Rev Fr Étud Clin Biol* 3:960-970, 1958.
13. BIENENSTOCK J, TOMASI Jr TB: Secretory gamma-A in normal urine. *J Clin Invest* 47:1162-1171, 1968.
14. HESSION C, DECKER JM, SHERBLOM AP, KUMAR S, YUE CC, MATTALIANO RJ, TIZARD R, KAWASHIMA E, SCHMEISSNER U, HELETKY S, CHOW EP, BURNE CA, SHAW A, MUCHMORE AV: Uromodulin (Tamm-Horsfall glycoprotein): a renal ligant for lymphokines. *Science* 237:1479-1484, 1987.
15. VIBERT GC, MacKINTOSH D, BILOUS RW, PICKUP JC, KEEN H: Proteinuria in diabetes mellitus, role of spontaneous and experimental variation of glycemia. *Kidney Int* 21:714-720, 1982.
16. KEEN H, CHLOUVERAKIS C: An immunoassay method for urinary albumin at low concentrations. *Lancet* 2:913-914, 1963.
17. POLLAK VE, PIRANI CL, MUEHRCKE RC, KARK RM: Asymptomatic persistent proteinuria: studies by renal biopsies. *Guys Hosp Rep* 107:353-358, 1958.
18. PHILLIPPI PJ, REYNOLDS J, YAMAGUCHI H, BEERING SC: Persistent proteinuria in asymptomatic individuals: renal biopsy studies on 50 patients. *Milit Med* 131:1311-1320, 1966.
19. ANTOINE B, SYMVOULIDS A, DARDENNE M: La stabilité évolutive des états de protéinurie permanente isolée. *Nephron* 6:526-536, 1969.
20. CHRISTENSEN CK, ORSKOV C: Rapid screening PEG radioimmunoassay for quantification of pathological microalbuminuria. *Diabetic Nephrop* 3:92-94, 1984.
21. SAMUELLE CT, WALKER BJ, SMITH RF, DHART H, NELSTROP GA: Assay of microalbuminuria using gel electroimmunoassay. *Diabetic Med* 1:298-300, 1984.
22. WATTS GF, BENNETT JE, ROWE DJ, MORRIS RW, GATLING W, SHAW KM, POLAK A: Assessment of immunochemical methods for determining low concentrations of albumin in urine. *Clin Chem* 32:1544-1548, 1986.
23. GIAMPIETRO O, LUCCHETTI A, CRUSCHELLI L, CLERICO A, BERNI R, PENNO G, GREGORI G, BERTOLI S, GIORDANI R, NAVALES R: Measurement of urinary albumin excretion (UAE) in diabetic patients: immunonephalometry versus radioimmunoassay. *J Nucl Med Allied Sci* 33:252-257, 1989.
24. HORTON JK, DAVIES M, WOODHEAD JS, WEEKS I: A rapid and sensitive method for estimating low concentrations of albumin in human urine. *Clin Chem Acta* 186:45-51, 1989.
25. PHILLIPOU G, JAMES SK, SEABORN CJ, PHILLIPS PJ: Screening for microalbuminuria by use of a rapid, low-cost colorimetric assay. *Clin Chem* 35:456-458, 1989.
26. van KAMP GJ, van BEZU JSM, MULDER C: A rapid and sensitive immunosorbent assay for urinary albumin. *Ann Clin Biochem* 26:427-429, 1989.
27. HILBORNE LH, LIN PC, HIGGINS SA, RODGERSON DO: Evaluation of Behring Nephelometer for detection of low level urinary albumin. *Am J Clin Pathol* 93:405-410, 1990.
28. JUNG K, NICKEL E, PERGANDE M: A microalbuminuria assay using bromphenol blue. *Clin Chem Acta* 187:163-172, 1990.
29. MEDCALF EA, NEWMAN DJ, GORMAN EG, PRICE CP: Rapid, robust method for measuring low concentrations of albumin in urine. *Clin Chem* 36:446-499, 1990.
30. VIBERT I GC, HILL RD, JARRETT RJ, ARGYROPOULOS A, MAHMUD U, KENN H: Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1:1430-1432, 1982.
31. MOGENSEN CE: Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy. (Nephrology forum) *Kidney Int* 31:673-689, 1987.
32. YUDKIN JS, FORREST RD, JACKSON CA: Microalbuminuria as predictor of vascular disease in non-diabetic subjects. Islington Diabetes survey. *Lancet* 2:530-533, 1988.
33. DAMSGAARD EM, FROLAND A, JORGENSEN OD, MOGENSEN CE: Microalbuminuria as predictor of increase mortality in elderly people. *BMJ* 300:297-300, 1990.
34. LJUNGMAN S: Microalbuminuria in essential hypertension. *Am J Hypertens* 3:956-960, 1990.
35. VALVO E, CASAGRANDE P, BEDOGNA V, Dal SANTO F, ALBERTI D, FONTANAROSA C, BRAGGIO P, MASCHIO G: Renal functional reserve in patients with essential hypertension: effect of inhibition on the renin-angiotensin system. *Clin Sci* 78:585-590, 1990.
36. BERRUT G, CHAMEAU AM, BOUHANICK B, PAGE JD, HALLAB M, RICHARD C, GIRAULT A, FRESSINAUD P, MARRE M: Microalbuminurie et hypertrophie ventriculaire gauche au cours de l'hypertension artérielle essentielle. *Presse Méd* 21:1275-1278, 1992.
37. BIGAZZI R, BIANCHI S, CAMPESE VM, BALDARI G: Prevalence of microalbuminuria in a large population of patients with mild to moderate essential hypertension. *Nephron* 61:94-97, 1992.
38. KAPLAN NM: Microalbuminuria: a risk factor for vascular and renal complications of hypertension. *Am J Med* 92 (Suppl 4B):8S-12S, 1992.

39. NOSADINI R, CIPOLLINA MR, SOLINI A, SAMBATARO M, MOROCUTTI A, DORIA A, FIORETTO P, BROCCO E, MUOLLO B, FRIGATO F: Close relationship between microalbuminuria and insulin resistance in essential hypertension and non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol* 3(Suppl 4):S56-S63, 1992.
40. RAMBAUSEK M, FLISER D, RITZ E: Albuminuria of hypertensive patients. *Clin Nephrol* 38(Suppl 1):S40-S45, 1992.
41. AGEWALL S, PERSSON B, SAMUELSSON O, LJUNGMAN S, HERLITZ H, FAGERBERG B: Microalbuminuria in treated hypertensive men at high risk of coronary disease. *J Hypertens* 11:461-469, 1993.
42. BIANCHI S, BIGAZZI R, VALTRIANI C, CHIAPPONI I, SGHERRI G, BALDARI G, NATALI A, FERRANNINI E, CAMPESE VM: Elevated serum insulin levels in patients with essential hypertension and microalbuminuria. *Hypertension* 23(6 Part 1):681-687, 1994.
43. MOGENSEN CE: Systemic blood pressure and glomerular leakage with particular reference to diabetes and hypertension. *J Intern Med* 235:297-316, 1994.
44. PEDRINELLI R, GIAMPIETRO O, CARMASSI F, MELILLO E, DELL'OMO G, CATAPANO G, MATTEUCCI E, TALARICO L, MORALE M, De NEGRI F, Di BELLO V: Microalbuminuria and endothelial disfunction in essential hypertension. *Lancet* 344:14-18, 1994.
45. RUILOOPE LM, RODICIO JL: Microalbuminuria in clinical practice. *Kidney Curr Surv World Literat* 4:211-216, 1995.
46. MITCH WE: Dietary protein restriction in patients with chronic renal failure. (Nephrology forum) *Kidney Int* 40:326-341, 1991.
47. DULLART RP, ROELSE H, SLUITER WJ, DOORENBOS H: Variability of albumin excretion in diabetes. *Neth J Med* 34:287-296, 1989.
48. Risk factors for development of microalbuminuria in insulin dependent diabetic patients: a cohort study. Microalbuminuria Collaborative Study Group, United Kingdom. *BMJ* 306:1235-1259, 1993.
49. CRUZ HMM, CRUZERA AB, CRUZ J: Microalbuminuria em hipertensos essenciais tratados. *Rev Hosp Clín Fac Med S Paulo* (a ser publicado).
50. RITZ E, STEFANSKI A: Nephropathy in type II diabetes, em *Atualidades em Nefrologia 4*, editado por Cruz J, Barros RT, São Paulo, Sarvier, 1996, pp. 154-161.
51. ROLLO J: *Cases of Diabetes Mellitus*, 2nd ed, London, Delly, 1798.
52. BRIGHT R: Cases and observations illustrative of renal disease accompanied with the secretion of albuminous urine. *Guys Hosp Rep* 1:338-1360, 1836.
53. KIMMELSTIEL P, WILSON C: Intercapillary lesion in the glomeruli of the kidney. *Am J Pathol* 12:83-97, 1936.
54. PARVING HH: Increased microvascular permeability to plasma protein in short-term and long-term juvenile diabetics. *Diabetes* 25(Suppl 2):884-889, 1976.
55. MOGENSEN CE, VITTINGHUS E, SOLLING K: Abnormal albumin excretion after two provocative renal tests in diabetes: physical exercise and lysine injection. *Kidney Int* 16:385-393, 1979.
56. VIBERTI GE, PICKUP JC, JARRETT RJ, KEEN H: Effect of control of blood glucose on urinary excretion of albumin and B2 microglobulin in insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med* 300:638-641, 1979.
57. GALL MA, ROSSING P, SKOTT P, DAMSBO P, VAAG A, BECH K, DEJGAARD A, LAURITZEN M, LAURITZEN E, HOUGAARD P, et al: Prevalence of micro and macroalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and large vessel disease in European type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 34:655-661, 1991.
58. BORCH-JOHNSEN K: The prognosis of insulin-dependent diabetes mellitus. An epidemiological approach. *Dan Med Bull* 36:336-348, 1989.
59. DECKERT T, FELDT-RASMUSSEN B, BORCH-JOHNSEN K, JENSEN T, KOFOED-ENEVOLDSEN A: Albuminuria reflects widespread vascular damage. The Steno hypothesis. *Diabetologia* 32:219-226, 1989.
60. WINOCOUR PH: Microalbuminuria. *BMJ* 304:1196-1197, 1992.
61. PARVING HH, HOMMEL E, MATHIESEN E, SKOTT P, EDSBERG B, BAHNSEN M, LAURITZEN M, HOUGAARD P, LAURITZEN E: Prevalence of microalbuminuria arterial hypertension, retinopathy an neuropathy in patients with insulin-dependent diabetes. *Br Med J* 296:156-160, 1988.
62. JONES SL, CLOSE CF, MATTOCK MB, JARRETT RJ, KEEN H, VIBERTI GC: Plasma lipid and coagulation factor concentrations in insulin dependent diabetics with microalbuminuria. *BMJ* 298:487-490, 1989.
63. GROOP L, EKSTRAND A, FORSBLOM C, WIDÉN E, GROOP PH, TEPPO AM, ERIKSSON J: Insulin resistance, hypertension and microalbuminuria in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 36:642-647, 1993.
64. EWING DJ, CAMPBELL IW, CLARKE BF: The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *Q J Med* 49:95-108, 1980.
65. PARVING HH, SMIDT UM, FRIISBERG B, BONNEVIE-NIELSEN V, ANDERSEN AR: A prospective study of glomerular filtration rate and arterial blood pressure in insulin-dependent diabetics with diabetic nephropathy. *Diabetologia* 20:457-461, 1981.
66. MALINS JM: *Clinical Diabetes Mellitus*, London, Eyre & Spottis woode, 1968.
67. ZATZ R, DUNN BR, MEYER TW, ANDERSON S, RENNKE HG, BRENNER BM: Prevention of diabetes glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertensive. *J Clin Invest* 77:1925-1930, 1986.
68. LEWIS EJ, HUNSICKER LG, BAIN RP, ROHDE RD: The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 329:1456-1462, 1993.
69. HAFFNER SM, STERN MP, GRUBER MK, HAZUDA HP, MITCHELL BD, PATTERSON JK: Microalbuminuria. Potential marker for increased cardiovascular risk factors in nondiabetic subjects? *Arteriosclerosis* 10:727-731, 1990.
70. BIESENBACH G, ZAZGORNIK J: High prevalence of hypertensive retinopathy and coronary heart disease in hypertensive patients with persistent microalbuminuria under short intensive antihypertensive therapy. *Clin Nephrol* 41:211-218, 1994.
71. CHRISTENSEN CK: Rapidly reversible albumin and β2-microglobulin hyperexcretion in recent severe essential hypertension. *J Hypertens* 1:45-51, 1983.
72. ERLEY CM, HAEFELE U, HEYNE N, BRAUN N, RISLER T: Microalbuminuria in essential hypertension. Reduction by different antihypertensive drugs. *Hypertension* 21:810-815, 1993.
73. PEDERSEN EB, MOGENSEN CE: Effect of antihypertensive treatment on urinary albumin excretion, glomerular filtration rate, and renal plasma flow in patients with essential hypertension. *Scan J Clin Lab Invest* 36:231-237, 1976.
74. SCARPELLI PT, CHEGAI E, CASTIGLI E, LIVI R, CAGNOMI M, CAPELLI: Renal handling of albumin and beta-2 microglobulin in human hypertension. *Nephron* 40:122-123, 1985.
75. PARVING HH, JENSEN HA, MOGENSEN GE, EVRIN PE: Increased urinary albumin-excretion rate in benign essential hypertension. *Lancet* 1:1190-1192, 1974.
76. FLISER D, KLIMM HD, HÖRNER D, RITZ E: Proteinuria as a function of hypertension and age. *Contrib Nephrol* 105:25-32, 1993.
77. GIACONI S, LEVANTI C, FOMMEI E, INNOCENTI F, SEGHIERI G, PALLA L, PALOMBO C, GHIONE S: Microalbuminuria and casual and ambulatory blood pressure monito-

ring in normotensives and in patients with borderline and mild essential hypertension. *Am J Hypertens* 2:259-261, 1989.
78. MIMRAM A, RIBSTEIN J: Microalbuminuria in essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 15:1061-1067, 1993.
79. CERASOLA G, COTTONE S, D'IGNOTO G, FULANTELLI MA, GRASSO L, MANGANO MT, MARCELINO T: Microalbuminuria, an early marker of renal changes in essential hypertension. *Ann Ital Med Int* 5:180-185, 1990.
80. COTTONE S, CERASOLA G: Microalbuminuria fractional clearance and early renal permselectivity changes in essential hypertension. *Am J Nephrol* 12:326-329, 1992.
81. GERBER LM, SHMUKLER, C, ALDERMAN MH: Differences in urinary albumin excretion rate between normotensive and hypertensive, white and nonwhite subjects. *Arch Intern Med* 152:373-377, 1992.
82. WEST JNW, GOSLING P, DIMMITT SB, LITTLER WA: Nondiabetic microalbuminuria in clinical practice and its relationship to posture, exercise and blood pressure. *Clin Sci* 81:373-377, 1991.
83. HOEGHOLM A, BANG LE, KRISTENSEN KS, NIELSEN JW, HOLM J: Microalbuminuria in 411 untreated individuals with established hypertension, white coat hypertension, and normotension. *Hypertension* 24:101-105, 1994.
84. MIMRAM A, RIBSTEIN J, DuCAILAR G: Is microalbuminuria a maker of early vascular dysfunction in essential hypertension? *Hypertension* 23:1018-1021, 1994.
85. PERSSON B, ANDERSSON OK, WYSOCKI M, HEDNER T: Calcium antagonism in essential hypertension: effect on renal haemodynamics and microalbuminuria. *J Int Med* 231:247-252, 1992.
86. GRUNFELD B, PERELSTEIN E, SIMSOLO R, GIMENEZ M, ROMERO JC: Renal function reserve and microalbuminuria in offspring of hypertensive parents. *Hypertension* 15:257-261, 1990.
87. ADDIS T: Proteinuria and cylindruria. *Proc California Acad Med* 38:32-52, 1931.
88. BOLTON WK, BENTON FR, MacLAY JG, STURGILL BC: Spontaneous glomerular sclerosing in aging Sprague-Dawley rats. *Am J Pathol* 85:27-300, 1976.
89. NEUHAUS OW, FLORY W: The effect of dietary protein on the excretion of $\alpha 2\mu$, the sex-dependent protein of the adult male rat. *Biochim Biophys Acta* 411:74-86, 1978.
90. PERRY SM: Proteinuria in the Wistar rat. *J Pathol Bacteriol* 89:729-733, 1965.
91. CHANUTIN A, FERRIS E: Experimental renal insufficiency produce by partial nephrectomy. *Arch Intern Med* 49:767-787, 1932.
92. MEYER TW, HOSTETTER TH, RENNKE HG, NODDIN JL, BRENNER BM: Preservation of renal structure and function by long term protein restriction in rats with reduced nephron mass. (abstract) *Kidney Int* 23:218, 1983.
93. ROBSON AM, MOR J, ROOT ER, JAGER BV, SHANKEL SW, INGELFINGER JR, KIENSTRA RA, BRICKER NS: Mechanism of proteinuria in nonglomerular disease. *Kidney Int* 16:416-429, 1979.
94. HOSTETTER TH: The hyperfiltering glomerulus. *Med Clin North Am* 68:367-398, 1984.
95. PURKERSON ML, HOFFSTEN PE, KLAHR S: Pathogenesis of glomerulopathy associated with renal infarction in rats. *Kidney Int* 9:407-417, 1976.
96. CRUZ J, CRUZ HMM: Tratamento da hipertensão arterial no idoso. Avaliação retrospectiva em 90 pacientes com idade igual ou superior a 65 anos. *I Congresso Ibero-Latino-Americano de Geriatria e Gerontologia*, São Paulo, Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia, 1986, pp 35.
97. BELL Jr RH, BORJESON BA, WOLF PL, FERNÁNDEZ-CRUZ L, BRIMM JE, LEE S, SAYERS HJ, ORLOFF MJ: Quantitative morphological studies of aging changes in the kidney of the Lewis rat. *Renal Physiol* 7:176-184, 1984.
98. COUSER WG, STILMANT MM: Mesangial lesions and focal glomerular sclerosis in the aging rat. *Lab Invest* 33:491-501, 1975.
99. LOKKEGAARD N, HAUPTER I, KRISTENSEN TB: Microalbuminuria in obesity. *Scand J Urol Nephrol* 26:275-278, 1992.

8

RIM E FATORES DE CRESCIMENTO

Irene de Lourdes Noronha

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos foram identificados muitos peptídeos que têm capacidade de induzir crescimento celular. Devido a este marcante efeito biológico, estes peptídeos foram denominados fatores de crescimento. Entretanto, atualmente está claro que este grupo de moléculas solúveis apresenta outros efeitos biológicos além da característica pela qual foram originariamente denominados.

Fatores de crescimento são polipeptídeos produzidos e liberados por diferentes tipos celulares que apresentam grande espectro de atividades biológicas: regulam diversas fases da resposta imune e inflamatória, incluindo inflamação, proliferação, cicatrização, além de participarem do processo de reparação após lesão.

Devido às características moleculares e ao mecanismo de ação, os fatores de crescimento são considerados como fazendo parte da grande família das citocinas. No entanto, pelo fato de estes peptídeos modularem a proliferação de células não-imunes, foram subclassificados como fatores de crescimento.

Os fatores de crescimento são constitutivamente expressos em diversos tipos celulares. Seu principal modo de ação é no local onde são produzidos e secretados, agindo nas células vizinhas (definida como ação parácrina). Os fatores de crescimento podem também agir na mesma célula que os sintetizou (de uma forma chamada autócrina). Finalmente, podem exercer seus efeitos biológicos em outros órgãos, semelhante aos hormônios clássicos (ação do tipo endócrina).

Os fatores de crescimento agem nas células-alvo por meio de receptores específicos, induzindo nestas células uma resposta específica. Estes receptores são proteínas transmembranosas que apresentam um domínio extracelular, que especificamente reconhece e une-se aos fatores de crescimento. Além disso, apresentam um domínio intracitoplasmático que contém uma proteína quinase, que é a responsável pela geração do sinal intracelular. Esta proteína quinase induz a fosforilação de resíduos de tirosina, e os receptores que apresentam esta característica são designados de membros da família de receptores tirosina quinase.

Semelhante às citocinas, os diferentes fatores de crescimento apresentam efeitos biológicos sinérgicos e redundantes. No presente capítulo serão abordados alguns dos principais fatores de crescimento envolvidos na progressão das doenças renais e na insuficiência renal aguda.

FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR (TGF – "Transforming growth factor")

Os fatores de crescimento transformadores (TGF) são polipeptídeos originalmente identificados como produtos de células transformadas por vírus capazes de induzir, em cultura, transformação fenotípica em células não-neoplásicas[1]. Existem dois tipos de TGF: o TGF-α e o TGF-β, que são peptídeos distintos, com atividades biológicas específicas e que agem em diferentes sistemas de receptores. Neste capítulo serão abordadas exclusivamente as características biológicas do TGF-β.

Estrutura e bioquímica do TGF-β (TGF-β)

A família dos TGF-β compreende cinco membros denominados como TGF-β1 a β5, sendo que em mamíferos foram identificadas três isoformas (TGF-β1, β2 e β3). TGF-β2 e β3 são menos abundantes do que TGF-β1. A molécula de TGF-β é um homodímero de aproximadamente 25kd.

Receptores para TGF-β (TGF-βRec)

O TGF-β liga-se especificamente a receptores presentes na superfície da célula, os quais estão presentes em praticamente todos os tipos celulares. Existem três tipos de receptores para TGF-β denominados tipos I, II e III, com peso molecular de 65kd, 85-90kd e 280kd, respectivamente, sendo o tipo III expresso com mais abundância[2]. Os mecanismos moleculares intracelulares desencadeados após união do TGF-β ao seu receptor ainda estão em investigação.

Local de produção do TGF-β

TGF-β é produzido por grande variedade de tipos celulares, incluindo plaquetas, monócitos/macrófagos ativados, células endoteliais e células mesangiais[3]. É produzido e secretado como forma latente (LTGF-β) e biologicamente inativo, devendo ser ativado para poder exercer seus efeitos biológicos[4]. Esta forma latente do TGF-β é composta por três componentes: TGF-β1, TGF-β LAP (peptídeo associado à latência do TGF-β) e o LTBP (proteína de ligação do TGF-β latente)[5]. Os mecanismos de ativação ainda não foram completamente elucidados, mas já foi demonstrado que a ativação ocorre a nível extracelular, em locais com baixo pH e envolve a ação de proteases (como plasmina e catepsina D), as quais promovem clivagem do TGF-β LAP por proteólise[6]. Uma vez que os receptores de TGF-β são constitutivamente expressos em quase todas as células, aparentemente o estágio mais decisivo que controla os efeitos do TGF-β é determinado pelo processo de ativação.

As células mesangiais produzem TGF-β, cuja síntese pode ser induzida por PDGF e por EGF[7]. Alternativamente, a produção de TGF-β no rim pode ter como fonte macrófagos, fibroblastos e plaquetas[8]. Neste contexto, os macrófagos devem desempenhar um papel importante mediando o processo de fibrose, uma vez que a diminuição da infiltração de macrófagos acompanha-se de melhora da fibrose glomerular e intersticial.

A expressão de TGF-β encontra-se constitutivamente presente em glomérulos normais de ratos[9], camundongos[10] e seres humanos[11-13]. No entanto, diversos modelos experimentais de glomerulonefrite (GN), tais como GN proliferativa mesangial induzida por anticorpos anti-Thy 1[14,15], GN antimembrana basal glomerular[16] e lesão renal por puromicina (PAN)[17] cursam com aumento da expressão de TGF-β. Em diversas doenças renais em humanos também foi detectado aumento da expressão de TGF-β.

Efeitos biológicos do TGF-β

O TGF-β apresenta grande variedade de efeitos biológicos modulando a proliferação e a diferenciação celular (Quadro 8.1). Os efeitos imunológicos do TGF-β são predominantemente inibidores: TGF-β inibe a proliferação de células T, inibe a expressão de receptores para IL-2 (IL-2R) e suprime a produção de anticorpos pelos linfócitos B. O desenvolvimento de camundongos "knockout" para TGF-β (isto é, camundongos alterados geneticamente de maneira que não expressam o gene para TGF-β) mostrou efeitos inflamatórios dramáticos letais nas primeiras semanas de vida[18].

Quadro 8.1 – Principais efeitos biológicos do TGF-β.

1. Efeito fibrogênico – promove acúmulo de matriz extracelular
   - aumenta a produção dos componentes da matriz (fibronectina, proteoglicanos, decorina, colágeno tipo IV)
   - diminui a degradação da matriz
   - aumenta a expressão de integrinas
2. Efeito sobre a proliferação celular
   - inibe a proliferação de células epiteliais, endoteliais, fibroblastos, células T e B
   - efeito bifásico em células mesangiais: inibição ou estimulação da proliferação dependendo da concentração
3. Efeito imunossupressor
   - inibe a expressão de IL-2R
   - suprime a produção de anticorpos
4. Quimiotático para macrófagos e fibroblastos

Com relação à proliferação celular, o TGF-β pode agir como inibidor ou estimulador, dependendo do tipo de célula na qual vai agir. Em células epiteliais, endoteliais, fibroblastos, linfócitos T e B, a ação predominante do TGF-β é a de inibição da proliferação celular[19]. Por outro lado, o TGF-β apresenta efeito bifásico em células mesangiais em cultura: em concentrações elevadas, o TGF-β inibe o crescimento celular e em baixas concentrações tem efeito mitogênico[20].

Um dos efeitos biológicos mais relevantes do TGF-β é a sua habilidade de regular a produção e o "turnover" de matriz extracelular, dando a característica ao TGF-β de fator fibrogênico. Um efeito primário do TGF-β é o aumento da síntese de todas as proteínas da matriz, tais como fibronectina, proteoglicanos (decorina e biglican) e colágeno tipo IV[21,22], levando ao acúmulo de matriz extracelular[23]. Além disso, o TGF-β inibe a degradação da matriz[6] por diminuir a atividade de proteases. Finalmente, o TGF-β estimula a expressão de receptores de adesão celular. A expressão renal de integrinas é relevante, pois facilita a interação entre célula e matriz extracelular.

Deve ser ainda ressaltado que o TGF-β é quimiotático para macrófagos e fibroblastos, estimulando o crescimento de fibroblastos imaturos. Assim, nos locais de lesão, a produção de TGF-β pode recrutar macrófagos e fibroblastos, os quais, por sua vez, aumentam a produção de TGF-β.

O aumento da produção de TGF-β em GN correlaciona-se temporalmente com o aumento da formação de componentes da matriz extracelular e o desenvolvimento de fibrose, demonstrada em estudos experimentais[9,10,14-17] e confirmada em pacientes com diversas formas de doenças renais. Em tecido renal normal, ocorre fraca positividade para TGF-β em células mesangiais e ocasionalmente em células endoteliais e em túbulos renais[12,24]. No entanto, a expressão renal de TGF-β encontra-se aumentada em pacientes com nefropatia da IgA[11]. O TGF-β, além dos efeitos fibrogênicos, estimula a produção de IgA[25], podendo assim ter relevância patogenética neste tipo de nefropatia. No transplante renal, a expressão de TGF-β em rejeição aguda é encontrada em células mononucleares infiltrativas[12]. Na rejeição crônica há marcante expressão das três isoformas de TGF-β por células mononucleares intersticiais e fibroblastos, e em áreas de expansão de matriz extracelular[13,26]. De maneira semelhante, biopsias renais de pacientes com vasculite ANCA-positiva (anticorpos anticitoplasma de neutrófilos) com lesões ativas apresentam aumento da expressão de TGF-β, porém, em fases mais avançadas da doença a presença de TGF-β foi marcante em crescentes fibrocelulares e fibrosos e em áreas já com fibrose intersticial[24].

Diversos estudos apontam para um papel relevante do TGF-β na patogênese da nefropatia diabética como mediador da expansão glomerular. Yamamoto e cols[27] encontraram expressão aumentada de TGF-β em glomérulos de ratos diabéticos que se acompanhava de aumento de proteoglicanos e de outros componentes de matriz. Além disso, concentrações elevadas de glicose no meio de cultura de células mesangiais e de células epiteliais de túbulo proximal aumentam a produção de TGF-β com elevação da produção de colágeno[28,29].

O TGF-β pode também ser o mediador da fibrose que acompanha a nefrotoxicidade à ciclosporina A (CsA)[30]. A CsA, além de efeitos antiproliferativos para células T, células tubulares renais e fibroblastos[31,32], estimula de forma dose-dependente a síntese de colágeno. Estudos experimentais demonstraram que a CsA reduz aumento da produção de TGF-β e a expressão de TGF-βRec, tanto em células renais em cultura[31] como em animais tratados com CsA[30,33], sugerindo que o TGF-β pode ser o mediador dos efeitos antiproliferativo e fibrogênico da CsA[31-33]. Neste contexto, a angiotensina II pode ter papel central, uma vez que a angiotensina II induz a síntese de TGF-β[34]. Burdmann e cols[35] demonstraram que em animais tratados com CsA o bloqueio farmacológico com losartan (antagonista de receptor da angiotensina II) protege contra o desenvolvimento da fibrose intersticial.

A atividade de TGF-β pode ser também detectada em urina e correlaciona-se com o grau de lesão renal. Noh e cols[36] demonstraram esta associação analisando modelo experimental de GN crescêntica. Mais recentemente, Dominguez e cols[37] detectaram em casos de glomerulosclerose focal e GN membranosa níveis urinários de atividade de TGF-β significativamente elevados, níveis estes que se correlacionaram positivamente com a concentração plasmática de creatinina.

Finalmente, macrófagos peritoneais de pacientes portadores de insuficiência renal crônica em diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD) apresentam aumento da expressão de TGF-β1, sugerindo uma participação deste fator de crescimento no mecanismo de fibrose peritoneal que acontece neste procedimento dialítico[38]. Estes autores demonstraram ainda que diferentes concentrações de glicose no meio de cultura de células mesoteliais estimulam a expressão de RNA mensageiro (RNAm) para TGF-β de maneira dose-dependente.

A evidência definitiva do papel *local* do TGF-β foi fornecida pelos elegantes experimentos realizados por Isaka e cols[39], os quais utilizaram transfecção do gene de TGF-β em rim normal de rato. A transfecção do gene do TGF-β levou ao aumento da expressão glomerular de TGF-β, induzindo aumento da matriz extracelular com lesão glomerular grave e conseqüente progressão para glomerulosclerose[39]. No entanto, até o momento ainda não foram totalmente elucidados os mecanismos responsáveis pela expressão aumentada e mantida de TGF-β em determinadas situações fisiopatológicas. Além da glicose, a angiotensina II também demonstrou ser um potente indutor da síntese de TGF-β[34]. Como a indução da síntese de TGF-β pela angiotensina II foi demonstrada *in vitro* em cultura de células, a possibilidade de seus efeitos vasoconstritores influenciar estes resultados foi afastada.

O bloqueio da atividade biológica de TGF-β promove controle da fibrogênese e da progressão da doença renal?

Nos últimos anos, alguns trabalhos foram desenvolvidos tendo como objetivo o bloqueio do TGF-β em modelos experimentais de GN. Em

1991, Okuda e cols[40] demonstraram que ratos nefríticos recebendo dieta pobre em proteína, o que experimentalmente atenua a progressão da doença renal, apresentaram acentuada redução da expressão de TGF-β. Mais recentemente, estudos demonstraram que este efeito pode ser resultado de restrição de L-arginina da dieta. A redução específica da L-arginina na ingesta diminui a proteinúria e a expressão de TGF-β[41].

Outra estratégia mais direta de bloqueio do TGF-β é o uso de anticorpo neutralizante anti-TGF-β. A administração de soro anti-TGF-β em ratos com GN proliferativa mesangial preveniu o acúmulo de matriz extracelular com correspondente redução na produção de proteoglicanos[42]. Na prática clínica, este tipo de tratamento apresenta algumas desvantagens, tais como o desenvolvimento de resposta antianticorpo, a qual, a longo prazo, suprime o efeito terapêutico neutralizante do anticorpo em uso. Além disso, o anti-TGF-β1 tem sua ação limitada, uma vez que está dirigido contra uma isoforma do TGF-β. Mais recentemente, Border e cols[43] demonstraram que um proteoglicano chamado decorina tem a habilidade de neutralizar a atividade de todas as três isoformas do TGF-β (β1, β2 e β3). Este efeito bloqueador mais amplo é provavelmente devido à união da decorina ao TGF-β neutralizando a sua atividade. Assim, injeções de decorina em ratos com GN proliferativa mesangial suprimem os efeitos do TGF-β, tais como a produção de matriz extracelular, promovendo melhora da doença renal.

FATOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DE PLAQUETAS (PDGF – "Platelet derived growth factor")

O fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) foi descoberto em 1974, quando se observou que um material liberado pelas plaquetas era a principal fonte de mitógenos presente no soro e responsável pelo crescimento de determinadas células em cultura[44]. O PDGF é armazenado nos grânulos-α das plaquetas e liberado durante a coagulação sangüínea. O papel biológico mais importante do PDGF é o de induzir a proliferação de células de origem mesenquimal. É considerado importante mitógeno para células da musculatura lisa, fibroblastos e células mesangiais.

Estrutura e bioquímica do PDGF

O PDGF é uma glicoproteína catiônica de aproximadamente 30kd, formada por duas cadeias distintas de polipeptídeos denominados cadeias A e B[45,46]. O PDGF pode existir como homodímero AA ou BB ou como heterodímero AB, dependendo do tipo de célula que sintetiza este fator de crescimento. Por exemplo, plaquetas humanas produzem todas as três formas de PDGF[47], enquanto macrófagos ativados sintetizam somente PDGF-BB[48]. Aparentemente, a cadeia B é a principal responsável pela atividade mitogênica do PDGF[49].

Receptores para PDGF (PDGF-Rec)

A resposta ao PDGF é mediada pelos receptores para PDGF (PDGF-Rec) expressos na superfície celular. Os PDGF-Rec são formados por duas subunidades denominadas α e β[50]. As diferentes isoformas de PDGF ligam-se a diferentes classes de PDGF-Rec[51]. Mais ainda, diferenças na atividade mitogênica dependem do tipo de PDGF-Rec. O maior efeito mitogênico do PDGF é mediado via receptor tipo β, o qual se liga ao homodímero PDGF-BB com alta afinidade e ao heterodímero AB com baixa afinidade. Após a interação do PDGF com seus receptores ocorre uma cascata de ativação, responsável pela transmissão do sinal mitogênico na célula.

Local de produção do PDGF e expressão de PDGF-Rec

Além de macrófagos e plaquetas, outras células são capazes de produzir e secretar PDGF, tais como fibroblastos, células mesangiais, células da musculatura lisa dos vasos e células endoteliais[35,52]. Estudos de imuno-histoquímica e de hibridização *in situ* em tecido renal normal revelaram fraca expressão constitutiva de PDGF e de PDGF-Rec a nível mesangial e em interstício[3,11]. As células mesangiais, além de sintetizar e secretar PDGF-A e B[52], expressam PDGF-Rec, o que indica que elas também são responsivas à ação de moléculas de PDGF, aqui funcionando de maneira autócrina ou parácrina.

Diversos estudos demonstraram que em glomerulonefrites o PDGF é produzido tanto pelas células residentes como pelas células infiltrantes. O aumento da expressão renal de PDGF e de PDGF-Rec foi descrito em diversos modelos experimentais de GN, tais como: GN proliferativa mesangial induzida por anticorpos anti-Thy 1[52], nefropatia da IgA experimental[53], em glomerulosclerose induzida por puromicina (PAN)[54], em camundongos com GN mediada por imunocomplexos[55], em nefrite por soro nefrotóxico[56], em modelo de ablação renal 5/6[57] e em hipertensão arterial maligna[58]. Na nefropatia diabética experimental há aumento da expressão de PDGF-B. Apesar

de a terapêutica com inibidor da enzima de conversão diminuir a proteinúria de ratos diabéticos, não ocorre alteração da expressão renal de PDGF[59]. Ratos tratados com CsA apresentam expressão aumentada de PDGF na arteríola aferente[60].

Os primeiros dados sobre a expressão de PDGF em doenças renais humanas foram descritos por Frampton e cols em biopsias de pacientes com nefrite lúpica[61]. O PDGF foi detectado em áreas mesangiais e em capilares glomerulares. Na nefropatia da IgA ocorre aumento da expressão mesangial de PDGF e de PDGF-Rec, tanto a nível de RNAm como de proteína que se correlaciona positivamente com a intensidade da proliferação de células mesangiais[11,53] (Fig. 8.1). Resultados semelhantes foram demonstrados em biopsias renais de pacientes com vasculite ANCA-positiva. PDGF e PDGF-Rec estão presentes em casos com lesões ativas. Entretanto, estes fatores se expressam predominantemente em casos com crescentes fibrocelulares e fibrosos e em áreas de fibrose intersticial[24].

Em biopsias renais de pacientes com rejeição celular aguda pós-transplante há aumento da expressão de PDGF e de PDGF-Rec em células mononucleares infiltrantes, em células mesangiais e em células endoteliais[13]. No entanto, em rejeição crônica, além da expressão destes fatores nas células intersticiais, há marcante expressão de PDGF e de PDGF-Rec na parede dos vasos acometidos que apresentam proliferação da íntima, sugerindo a participação do sistema PDGF/PDGF-Rec na indução das lesões proliferativas vasculares[13,62].

Efeitos biológicos do PDGF

O papel biológico mais importante do PDGF é a indução da proliferação de células mesenquimais, principalmente fibroblastos, células mesangiais e células da musculatura lisa. Estas células não somente têm a habilidade de produzir o peptídeo, como também são responsivas à sua ação. Em glomerulonefrites, o PDGF é o mediador mais

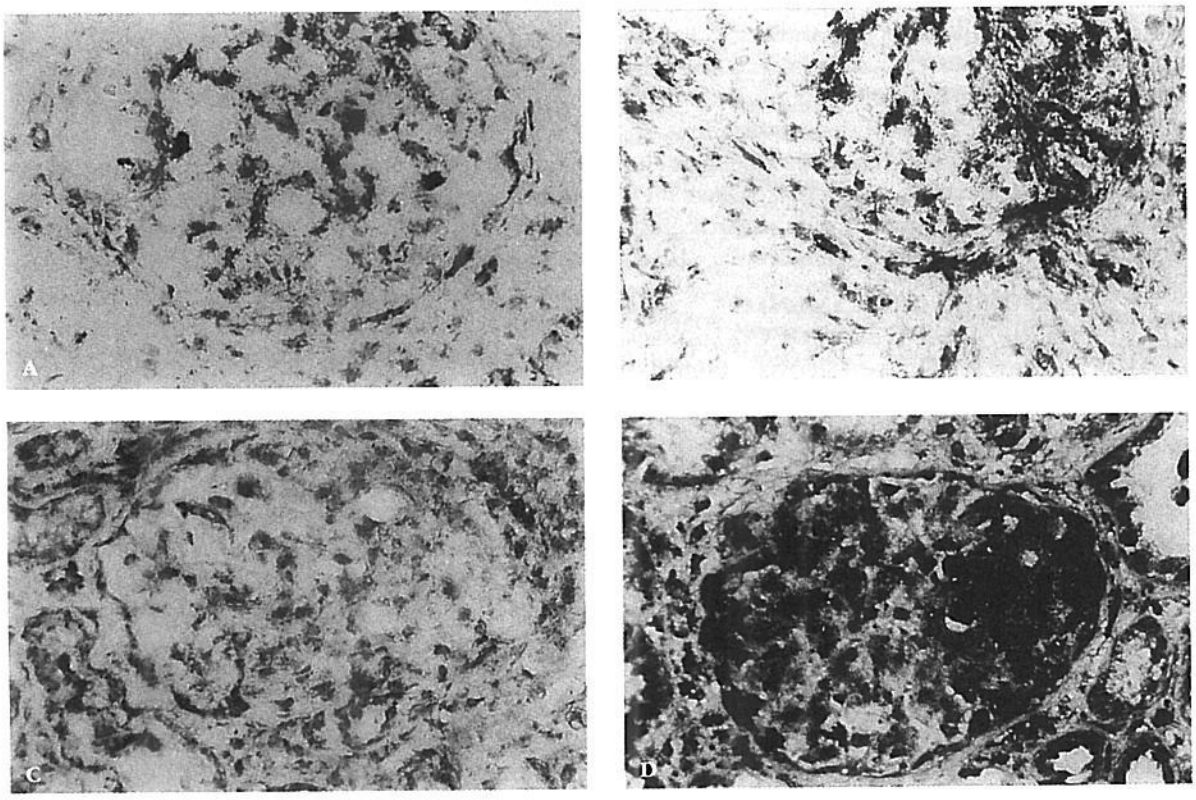


Figura 8.1 – Expressão de PDGF e TGF-β utilizando hibridização *in situ* com sondas marcadas com material não-radioativo (digoxigenina) em biopsias renais de pacientes portadores de nefropatia da IgA. **A)** GN proliferativa mesangial. Expressão do RNAm para PDGF-B em células mesangiais, em células epiteliais da cápsula de Bowman e discreta em células intersticiais (250×). **B)** GN proliferativa mesangial com crescentes segmentares. Expressão do RNAm para PDGF-B também em crescentes glomerulares. **C)** GN proliferativa mesangial. Expressão do RNAm para PDGF-Rec tipo β em células mesangiais e em células epiteliais da cápsula de Bowman. **D)** GN proliferativa mesangial. Marcante expressão do RNAM para TGF-β em glomérulo e em células epiteliais de túbulo distal.

importante responsável pela proliferação de células glomerulares, característica importante da progressão das glomerulopatias. Por estes importantes efeitos mitogênicos, o PDGF é apontado como fator que desempenha um papel central na patogênese das doenças renais (Quadro 8.2).

Quadro 8.2 – Principais efeitos biológicos do PDGF.

1. Efeito mitogênico
   - mediador da proliferação de células mesangiais
   - estimula a proliferação de fibroblastos
   - estimula a proliferação de células da musculatura lisa
2. Fator quimiotático para células inflamatórias
3. Regulação da hemodinâmica glomerular
   - vasoconstrição pós-glomerular
4. Regulação do "turnover" da matriz extracelular

As principais evidências sobre o papel do PDGF e de seus receptores na patogênese das glomerulonefrites baseiam-se nos estudos realizados em modelos experimentais de GN (já citados acima). Em GN proliferativa mesangial induzida em ratos por meio de anticorpos anti-Thy 1, o aumento de RNAm para cadeias A e B de PDGF e PDGF-Rec coincide com o desenvolvimento da proliferação celular[52]. O bloqueio de PDGF, utilizando-se anticorpos neutralizantes anti-PDGF em ratos com nefrite proliferativa mesangial, resultou em supressão significativa da proliferação de células mesangiais e conseqüentemente prevenção da progressão da doença[63]. No modelo de ablação renal 5/6[57], o desenvolvimento de proliferação de células mesangiais, que ocorre na fase inicial, associa-se ao aumento da expressão de PDGF-B e PDGF-Recβ por células glomerulares. No modelo de hipertensão maligna, o aumento da expressão de PDGF-B correlaciona-se com a gravidade da lesão glomerular e o tratamento com anti-hipertensivos reduz a expressão do gene de PDGF com diminuição da lesão glomerular[58].

O papel direto do PDGF mediando a proliferação glomerular com subseqüente desenvolvimento da glomerulosclerose foi demonstrado com a administração de PDGF em ratos. A infusão de PDGF induz o aumento da proliferação de células glomerulares tanto em ratos normais como em ratos que receberam doses subnefritogênicas do anticorpo anti-Thy 1. Entretanto, o efeito é mais marcante em animais doentes do que em ratos normais, sugerindo que a presença de lesão renal prévia aumenta a resposta mesangial[64]. A evidência definitiva do papel local do PDGF foi apresentada pelos estudos de Isaka e cols[39]. Como já descrito para o TGF-β, os autores demonstraram que a transfecção do gene do PDGF-B em rim de rato normal promoveu aumento da expressão de PDGF no glomérulo, levando à proliferação de células glomerulares e glomerulosclerose.

Além da ação do PDGF em células mesangiais, deve ser ressaltada a ação mitogênica do PDGF em células da musculatura lisa. A nível renal, além de macrófagos e células mesangiais, as células da musculatura lisa dos vasos podem ser uma importante fonte de PDGF; além de ser também células-alvo para a ação deste fator de crescimento.

Finalmente, o PDGF tem atividades quimiotáticas para células inflamatórias. Apresenta ainda efeitos hemodinâmicos: a infusão de PDGF em artéria renal induz contração de células mesangiais e vasoconstrição pós-glomerular[65].

FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA (IGF – "Insulin-like growth factor")

Estrutura e bioquímica do IGF

O fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) é um polipeptídeo de cadeia simples composto por 70 aminoácidos, com peso molecular de 7,5kd. Sua estrutura é praticamente idêntica nas várias espécies de mamíferos. Tanto o IGF-I como o IGF-II apresentam grande homologia com a pró-insulina. O peptídeo IGF-I maduro é formado por duas cadeias denominadas A e B (que correspondem às cadeias A e B da insulina) ligadas por pontes de enxofre.

O IGF circula ligado a proteínas carreadoras chamadas de proteínas carreadoras de IGF (IGF-BP = IGF – "binding proteins"). Existem pelo menos seis formas de IGF-BP. Apenas 1% do IGF é encontrado no sangue na forma livre, com meia-vida biológica de apenas 10 a 12 minutos. A maioria do IGF circulante encontra-se na forma de um complexo com a IGF-BP com peso molecular de 150kd (que tem meia-vida de 12 a 15 horas) ou como complexo menor com peso molecular de 40kd (meia-vida de 20 a 30min)[66]. O IGF-I ligado ao IGF-BP-3 no complexo de 150kd não consegue atravessar a barreira capilar. Assim, o complexo de 150kd provavelmente serve como reservatório para o IGF-I e controla sua biodisponibilidade. Apenas o IGF-I livre e o complexo menor com peso molecular de 40kd são ultrafiltrados no glomérulo e acabam sendo catabolizados pelas células dos túbulos proximais[67]. O papel fisiológico do IGF-BP com peso molecular de 40kd não está claro. Provavelmente funciona como uma

proteína carreadora que transporta o IGF-I da circulação para as células-alvo facilitando a ação do IGF-I em nível tecidual.

Local de produção do IGF-I

O IGF-I é produzido por diversos tipos celulares, inclusive macrófagos e plaquetas. O fígado é a principal fonte de IGF-I circulante. O rim também pode sintetizar IGF-I, e o principal local de produção renal são os ductos coletores corticais e medulares[68,69]. Também foi detectada síntese de IGF-I em células mesangiais em cultura[70,71], em túbulos proximais[72], alça de Henle[69] e nos túbulos contorneados distais.

O aumento da produção renal de IGF-I foi demonstrado em diversas situações fisiopatológicas. Na hipertrofia renal compensatória após nefrectomia unilateral há aumento da expressão de IGF-I, sugerindo um papel deste peptídeo no crescimento renal[69,73,74]. O aumento do tamanho renal em ratos diabéticos é acompanhado não somente pelo aumento de IGF-I[75], como também pela elevação da expressão de receptores para IGF[76,77]. Deve-se ainda ressaltar que camundongos transgênicos para IGF-I desenvolvem aumento do tamanho glomerular[78].

Em modelo experimental de insuficiência renal aguda (IRA) isquêmica foi demonstrada produção aumentada de IGF-I em células tubulares proximais na fase de recuperação[72,79], sugerindo que o IGF-I possa ter participação na regeneração de células tubulares renais. Finalmente, o IGF-I foi implicado na patogênese da arteriosclerose devido à sua capacidade de induzir a expressão de receptores para LDL-colesterol e diminuir a expressão de receptores para HDL-colesterol. Dessa maneira, há diminuição da remoção do colesterol do tecido propiciando a formação de "foam cells" durante a aterogênese[80].

Receptores para IGF (IGF-Rec)

O receptor para IGF (IGF-Rec) é um complexo tetramérico semelhante ao receptor para insulina. O receptor é formado por subunidades α e β, sendo que a subunidade β contém um domínio de tirosina quinase. A união do IGF ao seu receptor promove a fosforilação da subunidade β do receptor levando à transmissão do sinal por meio da membrana. Os mecanismos de transmissão do sinal intracitoplasmático são pouco conhecidos.

A insulina pode-se unir ao IGF-Rec, porém com baixa afinidade, assim como tanto o IGF-I como o IGF-II podem-se ligar ao receptor de insulina, mas também com pouca afinidade.

Apesar de os ductos coletores serem a principal fonte de IGF-I no rim, normalmente não têm receptores para IGF, e por este motivo a ação do IGF-I acontece em outros locais que expressam estes receptores. As principais células-alvo são as células glomerulares mesangiais[70,71,77,81], células endoteliais e da musculatura lisa dos vasos. Assim, o glomérulo renal é um potencial local para a ação de IGF-I, tanto derivado da circulação como produzido localmente. As células do túbulo proximal também expressam IGF-Rec em sua membrana basolateral[79,82].

Efeitos biológicos do IGF-I

O IGF-I regula o desenvolvimento, o metabolismo e a proliferação de diversos tecidos. No quadro 8.3 são sumarizados os principais efeitos biológicos do IGF-I. O IGF-I é o principal mediador das ações do hormônio de crescimento (GH), que por sua vez regula a síntese de IGF. Diversos estudos demonstraram que a administração de doses farmacológicas de IGF-I de forma aguda[83-85] ou crônica[86,87] leva ao aumento da filtração glomerular (FG) e do fluxo plasmático renal (FPR), tanto em animais como no homem[83,86,87]. A infusão aguda de IGF-I causa vasodilatação da arteríola eferente também, em menor grau, da aferente. Este efeito primário na vasculatura renal é considerado o principal mecanismo que leva ao aumento do FPR. O efeito vasodilatador renal é rápido, observado 90 minutos após o início da infusão[83,84,86].

Quadro 8.3 – Principais efeitos biológicos do IGF-I.

1. Efeito hemodinâmico
   - aumento da filtração glomerular
   - aumento do fluxo plasmático renal
   - efeito vasodilatador: vasodilatação da arteríola eferente e em menor grau da aferente
2. Fator renotrópico
   - aumenta a síntese de DNA em células tubulares
   - melhor recuperação funcional e histológica em IRA experimental
3. Efeito anabolisante
   - aumenta a síntese protéica
4. Principal mediador das ações do GH
5. Efeitos tubulares
   - aumenta a reabsorção tubular de fosfato

Os mecanismos pelos quais o IGF-I causa a vasodilatação renal e a hiperfiltração ainda não estão claros. A ação hemodinâmica do IGF-I não é dependente da angiotensina, uma vez que não é bloqueada por inibidores de enzima de conversão. Mais recentemente, alguns estudos têm su-

gerido que o óxido nítrico possa exercer um papel nesta resposta. O IGF-I induz diretamente a produção de óxido nítrico em células endoteliais em cultura[88]. Haylor e cols[89] demonstraram que a vasodilatação renal induzida por IGF-I é completamente inibida por NG-nitro-1-arginina (que é um inibidor da síntese de óxido nítrico). As prostaglandinas podem também exercer um papel mediador, uma vez que a indometacina bloqueia a vasodilatação renal induzida pelo IGF-I, porém este bloqueio é apenas parcial[85,89].

O principal efeito do IGF-I na função tubular renal é o de aumentar a reabsorção de fosfato. A administração de IGF-I aumenta a reabsorção tubular de fosfato com queda da excreção urinária de fosfato[90], sem alterar significativamente a absorção tubular de sódio[86]. Quigley & Baum[91] demonstraram que o IGF não tem efeito no transporte de sódio em túbulo isolado perfundido. A queda da fração de excreção de sódio pode ser uma resposta adaptativa para manter o balanço de sódio em situação de aumento da FG.

Uso de IGF-I recombinante

Em 1992, Miller e cols[92] demonstraram que a administração de IGF-I em modelo de IRA isquêmica em ratos acelera a recuperação da função renal e a regeneração do epitélio tubular proximal lesado. Estas alterações associaram-se a significativa redução na mortalidade. Estes achados iniciais sugerem um efeito benéfico da administração de IGF-I em IRA e potencial uso terapêutico.

Desde então, inúmeros trabalhos experimentais administrando IGF-I em IRA isquêmica têm sido publicados confirmando os achados de que o IGF-I acelera a recuperação da função renal e aumenta o FG[93-95]. A eficácia do IGF-I neste modelo experimental pode ser devida a vários mecanismos. A administração de IGF recombinante aumenta o FPR e a FG. Além disso, o IGF-I aumenta a síntese de DNA, sendo considerado um agente renotrópico para o túbulo proximal. O IGF-I pode ainda promover a ativação de receptores de fator de crescimento epidérmico (EGF)[95]. Finalmente, IGF-I é um agente anabolisante: apresenta efeitos anticatabólicos, diminuindo a degradação de proteínas e aumentando a síntese protéica em ratos com IRA isquêmica[94].

O uso de IGF-I em IRA induzida por cloreto de mercúrio também mostrou melhora da recuperação funcional e histológica[96]. Por outro lado, o uso de IGF-I em modelo de IRA por contraste iodado não mostrou efeitos benéficos[97].

A eficácia terapêutica do IGF-I em pacientes com IRA ainda não foi comprovada. IGF-I recombinante já foi administrado em indivíduos saudáveis, com alguns efeitos colaterais descritos[83,87], tais como congestão nasal, dor no maxilar e taquicardia. O uso de IGF-I em pacientes com insuficiência renal crônica moderada resultou em aumento da FG e do FPR[98]. O IGF-I recombinante tem sido utilizado em pacientes em diálise peritoneal ou em hemodiálise na tentativa de aumentar o balanço protéico, podendo assim ser eficaz no tratamento da má nutrição destes pacientes[99].

FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO (EGF – "Epidermal growth factor")

O EGF é um fator de crescimento presente em vários tecidos, inclusive no rim. Foi isolado pela primeira vez na década de 60, a partir de glândulas submaxilares de camundongo. É um fator de crescimento que apresenta importantes atividades mitogênicas para células epidérmicas e epiteliais. O EGF também é detectado em urina, recebendo o nome de urogastrona, devido à sua capacidade de inibir a secreção ácida gástrica. O EGF urinário é provavelmente o produto da síntese do EGF pelo ramo ascendente da alça de Henle e pelo túbulo distal.

Estrutura e bioquímica do EGF

O EGF é sintetizado como prepro-EGF, um grande precursor glicosilado com tamanho de 1.217 aminoácidos. O prepro-EGF é uma proteína de membrana que apresenta um domínio citoplasmático, um domínio transmembranoso e um grande domínio extracelular. O EGF maduro possui peso molecular de 6kd, com 53 aminoácidos e está localizado próximo ao domínio transmembranoso do seu precursor. A forma de EGF biologicamente ativa é liberada do precursor por meio de quebra proteolítica[100], podendo ser eliminada na urina. O EGF tem uma homologia de 35-40% ao TGF-α, enquanto o precursor do EGF apresenta 33% de homologia com o receptor LDL-colesterol.

Receptores para EGF (EGF-Rec)

O receptor para EGF (EGF-Rec) é uma glicoproteína com peso molecular de 170kd, a qual possui alta afinidade para EGF e para TGF-α[101]. A união do EGF com seu receptor ativa a tirosina quinase, resultando numa resposta intracelular que leva à mitose. O receptor tem homologia com o proto-oncogene C-erb-B2.

Os EGF-Rec estão presentes no glomérulo (nas células mesangiais), nos túbulos proximais e nos ductos coletores[102]. A densidade do receptor é maior na membrana basolateral[103]. Deve ser ressaltado que o EGF-Rec está ausente no ramo ascendente espesso da alça de Henle e no túbulo distal, locais onde o EGF é produzido.

Local de produção do EGF

O rim produz grandes quantidades de EGF sob a forma de molécula ligada ao seu precursor. Em rim normal ocorre expressão do gene do prepro-EGF, sendo que a síntese deste fator de crescimento é maior no rim do que em outros tecidos. O EGF é sintetizado pelas células do ramo ascendente espesso da alça de Henle e pelo túbulo distal[104]. A maior parte do EGF no rim está presente na forma precursora ancorada à membrana, enquanto a expressão da forma com peso molecular de 6kd é muito baixa. Apesar de o tecido renal ter pouco EGF maduro, altos níveis de EGF são eliminados pela urina.

A produção renal de EGF, assim como sua excreção urinária, encontra-se reduzida de forma marcante em quase todas as formas de IRA. Níveis de RNAm para prepro-EGF estão diminuídos em modelos experimentais de IRA nefrotóxica, como por cloreto de mercúrio[105] e por gentamicina[106]. Na IRA causada por cisplatina a expressão renal de prepro-EGF encontra-se diminuída 12 a 72 horas após a administração da droga[107]. Também na IRA isquêmica há diminuição da expressão do EGF, que se mantém baixa por quatro dias[107]. A expressão de EGF reaparece após a recuperação funcional e morfológica do rim. A excreção urinária de EGF diminui após a indução de IRA em todos os modelos, inclusive em humanos[108]. Esta queda não se deve à diminuição da carga filtrada, uma vez que a queda da filtração glomerular por néfron (SNGF) é de 20%, enquanto a de excreção de EGF cai 90%.

As alterações da produção de EGF renal e de sua excreção renal estão relacionadas com significantes alterações na densidade de EGF-Rec. Logo após a agressão ocorre aumento da expressão de EGF-Rec[109].

O significado fisiológico da redução da produção renal de EGF na IRA induzida por drogas ou por isquemia ainda é desconhecido. A ausência do EGF em condições nas quais suas propriedades mitogênicas seriam o mais apropriado sugere que o EGF de origem renal não está atuando como um mitógeno. A diminuição da síntese de EGF pode ser devido à perda da capacidade de síntese das células do ramo ascendente espesso da alça de Henle e do túbulo distal causado pela lesão renal (isquemia ou nefrotoxicidade). No entanto, estas porções tubulares não são os locais mais atingidos nestes modelos, e, portanto, a diminuição do prepro-EGF não deve ser causada pela simples perda de células que produzem RNAm para prepro-EGF. Por outro lado, deve ser ressaltado que o número de EGF-Rec está aumentado no epitélio tubular na regeneração pós-IRA. Assim, como há diminuição da produção renal de EGF no local da lesão podem estar agindo o EGF de origem sistêmica ou o EGF liberado por células inflamatórias infiltrativas. Além disso, outras classes de fatores de crescimento poderiam estar interagindo com os EGF-Rec, induzindo proliferação celular.

A expressão renal de prepro-EGF também se encontra dramaticamente reduzida na doença renal policística do camundongo[110], situação na qual há aumento de EGF-Rec. Já na hipertrofia renal compensatória após nefrectomia subtotal em ratos, a expressão renal de EGF está aumentada[111].

Estudos realizados em diversas formas de doenças renais em humanos mostraram que ocorre aumento da expressão de EGF-Rec, principalmente na glomerulosclerose focal, na rejeição crônica e nos crescentes fibrocelulares, sugerindo que o EGF pode estar relacionado a distúrbio da produção de matriz extracelular, resultando em lesões escleróticas[112]. Em pacientes portadores de insuficiência renal crônica em hemodiálise os níveis de EGF estão significativamente elevados no plasma[113].

Ações biológicas do EGF

O EGF promove crescimento e diferenciação de diversos tipos celulares *in vitro*, particularmente de células epiteliais. É um potente mitógeno para fibroblastos, células epiteliais e células mesangiais e pode contribuir para o desenvolvimento de fibrose intersticial, glomerulosclerose e lesão vascular. Assim, o EGF é também considerado um fator de crescimento com atividades fibrogênicas, com possíveis papéis na lesão crônica (Quadro 8.4).

No rim, a administração de EGF intra-arterial em ratos diminui a FG e o FPR[114]. Em células mesangiais em cultura, o EGF induz o aumento da produção de prostaglandinas[115] e a contração de células mesangiais. O EGF aumenta o transporte de íons e de pequenas moléculas através da membrana plasmática. No ducto coletor, influencia o transporte de íons e, em células do túbulo proximal em cultura, aumenta a concentração de cálcio. Age como regulador da permeabilidade à água no ducto coletor, possivelmente por inibi-

Quadro 8.4 – Principais efeitos biológicos do EGF.

1. Efeito mitogênico – promove crescimento e diferenciação celular
   - estimula a proliferação de fibroblastos e células mesangiais
   - estimula a proliferação de células epiteliais
2. Fator renotrópico
   - aumenta a síntese de DNA em células tubulares
   - melhor recuperação funcional e histológica da IRA experimental
3. Efeito hemodinâmico
   - diminui a filtração glomerular
   - diminui o fluxo plasmático renal
   - induz a contração de células mesangiais
   - aumenta a produção de prostaglandinas
4. Efeitos tubulares
   - aumenta a concentração de cálcio em células tubulares
   - regulador da permeabilidade à água nas porções distais do néfron

ção do efeito hidrosmótico da vasopressina. Finalmente, o EGF parece exercer papel importante na nefrogênese normal, além de ter papel na formação de cistos[110].

Uso do EGF recombinante

Diversos estudos documentaram o uso de EGF recombinante no tratamento da IRA experimental, sugerindo potencial aplicação terapêutica deste fator de crescimento. A administração do EGF recombinante logo após o início da IRA acelera a recuperação renal em modelos experimentais de IRA por isquemia[116], cloreto de mercúrio[117] e gentamicina[118]. Além de atenuar o aumento da creatinina plasmática, o EGF diminui o tempo para a recuperação funcional. Após a administração de EGF recombinante, grande fração é retida pelo rim, saturando os seus receptores localizados na membrana basolateral do túbulo. Os efeitos do EGF são devidos principalmente à sua capacidade de aumentar a síntese de DNA. Por outro lado, existem relatos de que a administração de EGF recombinante mostrou poucos efeitos benéficos na recuperação da IRA[105]. Assim, novos estudos devem ser realizados, para que permitam uma melhor avaliação sobre o possível efeito benéfico deste fator de crescimento.

FATOR DE CRESCIMENTO HEPÁTICO (HGF – "Hepatocyte growth factor")

O fator de crescimento hepático (HGF) foi identificado pela primeira vez em soro de ratos hepatectomizados[119]. Posteriormente, foi reconhecido como o mais potente mitógeno para os hepatócitos maduros em cultura e parece ser o fator hepatotrófico capaz de induzir a regeneração hepática após hepatectomia parcial ou após lesão hepática. Estudos subseqüentes demonstraram que, além da função hepatotrófica, o HGF apresenta também ações mitogênicas extra-hepáticas, tendo como alvo principalmente células de origem epitelial. O HGF é atualmente considerado um fator humoral que promove a regeneração de vários tecidos e órgãos, inclusive o rim[120-122].

Estrutura e bioquímica do HGF

O HGF é uma glicoproteína heterodimérica composta por uma cadeia α com peso molecular de 69kd e uma cadeia β de 34kd, sintetizada a partir de um precursor de cadeia única com 728 aminoácidos.

Local de produção do HGF

A expressão de HGF foi identificada em células de origem mesenquimal, tais como fibroblastos, macrófagos, células endoteliais e da musculatura lisa dos vasos[123]. O HGF é sintetizado em grande quantidade pelo fígado, sendo secretado para o sangue. Outros órgãos, como rim e pulmão, também produzem HGF, uma vez que nestes tecidos foi detectado tanto RNAm para HGF como peptídeo-HGF[124]. O HGF é primeiramente sintetizado como peptídeo de cadeia única inativa e a produção de HGF biologicamente ativo ocorre sob a ação de um processo proteolítico, que pode ser desencadeado por lesão tecidual. O aumento da conversão para a forma heterodimérica ativa ocorre apenas nos órgãos lesados[125].

Zioncheck e cols[126] estudaram a farmacocinética do HGF administrado em ratos: primeiro há uma fase rápida de distribuição (de aproximadamente 3 minutos) e, logo após, uma fase lenta de eliminação (114 minutos). O HGF recombinante é rapidamente distribuído, sendo encontrado no fígado, rim, glândula supra-renal e baço. No fígado ocorre conversão da cadeia única de pró-HGF nas duas cadeias mitogeneticamente ativas, com aparecimento na bile e no sistema venoso em 20 a 35 minutos.

Os níveis sangüíneos de HGF estão aumentados em pacientes com doenças hepáticas[127] e também naqueles com insuficiência renal crônica em hemodiálise[128,129]. O aumento dos níveis de HGF nestes pacientes pode ser conseqüência do desenvolvimento da produção de HGF em resposta à lesão renal ou mesmo em resposta à redução da massa renal, como também pode ser decorrente da diminuição da depuração de HGF pelo rim.

Receptores para HGF

As múltiplas ações biológicas do HGF são mediadas por receptores específicos. O receptor para HGF, identificado como MET, é um produto c-met do proto-oncogene. O MET/HGF-Rec é uma molécula composta por uma cadeia α com peso molecular de 50kd e uma subunidade β com peso molecular de 145kd. Está expresso em muitos tecidos, predominantemente nas células de origem epitelial, incluindo rim e cérebro[130], como também em células endoteliais e da musculatura lisa dos vasos[123].

Efeitos biológicos do HGF

O HGF tem ações mitogênicas, regulando o crescimento celular. Promove ainda a motilidade de células epiteliais e a morfogênese de vários tipos celulares. O quadro 8.5 resume os principais efeitos biológicos do HGF.

Quadro 8.5 – Principais efeitos biológicos do HGF.

1. Ações mitogênicas
   - estimula a síntese de DNA
   - estimula a proliferação de células epiteliais
   - potente fator renotrófico para a regeneração renal
   - melhor recuperação funcional e histológica da IRA experimental
2. Ações morfogênicas e motogênicas
   - papel importante no desenvolvimento embrionário do rim
   - estimula a formação de estruturas tubulares
   - induz a formação de lúmen nas células tubulares

No rim, o HGF é produzido por células mesenquimais (células mesangiais e intersticiais)[131]. Células mesangiais em meio de cultura sintetizam HGF. Deve ser ressaltado que concentrações elevadas de glicose nesse meio induzem o aumento da produção deste fator[132]. O MET/HGF-Rec está expresso em células não-mesenquimais, ou seja, no epitélio tubular[133]. O fato de o HGF ser produzido por células mesenquimais e ter como alvo células epiteliais sugere que o HGF exerça seus efeitos biológicos através de mecanismo parácrino ou endócrino.

O rim é um órgão que tem origem mesenquimal/mesodérmica e que depois se converte para epitélio. O HGF tem um papel importante no desenvolvimento embrionário do rim, sendo um dos principais fatores com atividade morfogênica para as células epiteliais renais[134]. Em células MDCK ("Madin-Darby canine kidney"), o HGF estimula a formação de estruturas tubulares[135], inclusive com polaridade apical basolateral bem definida[136].

Além de estimular a síntese de DNA, o HGF aumenta a motilidade celular e induz *in vitro* a formação de lúmen em células epiteliais renais[137]. O HGF pode ainda ser considerado um mediador da gênese dos cistos renais. Horie e cols[138] mediram a concentração de HGF no líquido de cistos, em pacientes com doenças císticas renais e encontraram valores elevados no fluido de cistos proximais. Na parede dos cistos de pacientes com doença renal policística foi detectada a expressão de RNAm para HGF e para MET/HGF-Rec. O HGF é também um fator motogênico promovendo a mobilidade celular de vários tipos de células epiteliais, inclusive a MDCK.

O HGF estimula a proliferação de células epiteliais renais[139] e é considerado um potente fator renotrófico para a regeneração renal após IRA e também pós-nefrectomia unilateral, situação na qual ocorre hipertrofia compensatória[120,140]. Em condições normais, as células tubulares renais não proliferam, porém quando estas células são lesadas por toxinas ou por isquemia ocorre marcante regeneração. Nestes modelos experimentais foi demonstrada rápida indução de RNAm para HGF com aumento da síntese de DNA e da atividade de HGF após a agressão. As células responsáveis pela síntese de HGF são principalmente as endoteliais e os macrófagos. Por outro lado, foi observada diminuição da expressão de MET/HGF-Rec. Este fenômeno é provavelmente devido ao fato de que o HGF produzido liga-se ao receptor e o complexo é rapidamente internalizado.

Uso do HGF recombinante

O HGF pelas suas ações mitogênicas, motogênicas e morfogênicas em células epiteliais renais tem um papel importante no processo de reparação renal, sugerindo que a utilização de HGF tenha potencial terapêutico. A eficácia do uso de HGF recombinante humano na regeneração de células renais foi testada no modelo experimental de IRA induzida por cloreto de mercúrio em camundongos. O HGF recombinante estimulou a síntese de DNA de células tubulares e acelerou a recuperação da função renal[120]. Resultados semelhantes foram observados em outros modelos de IRA, tais como induzidos por cisplatina, CsA ou isquemia[121,122].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DELARCO JE, TODARO GL: Growth factors from murine sarcoma virus-transformed cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:4001-4005, 1978.

2. LIN HY, WANG XF, NG-EATON E, WEINBERG RA, LODISH HF: Expression cloning of the TGF-β type III receptor, a functional transmembrane serine/threonine kinase. *Cell* 68:775-785, 1992.
3. NORONHA IL, NIEMIR Z, STEIN H, WALDHERR R: Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 10:775-786, 1995.
4. WAKEFIELD LM, SMITH DM, BROZ S, JACKSON M, LEVINSON AD, SPORN MB: Recombinant TFG-β is synthesyzed as a two-component latent complex that shares some structural features with the native platelet latent TGF-β1 complex. *Growth Factors* 1:203-218, 1989.
5. ANDO T, OKUDA S, TAMAKI K, YOSHITOMI K, FUJISHIMA M: Localization of transforming growth factor-β and latent transforming growth factor-β binding protein in rat kidney. *Kidney Int* 47:733-739, 1995.
6. SPORN MB, ROBERTS AB, WAKEFIELD LM, CROMBRUGGHE B: Some recents advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. *J Cell Biol* 105:1039-1045, 1987.
7. ABBOUD HE, WOODRUFF KA, SNYDER SP, BONEWALD LF: Polypeptide growth factor regulate the production of latent transforming growth factor β in hyman mesangial cells. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 2:434, 1991.
8. ASSOIAN RK, FLEURDELYS BE, STEVENSON HC, MILLER PJ, MADTES DK, RAINES EW, ROSS R, SPORN MB: Expression and secretion of type β transforming growth factor by activated human macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:6020-6024, 1987.
9. MacKAY K, KONDAIAH P, DANIELPOUR D, AUSTIN III HA, BROWN PD: Expression of transforming growth factor-β1 and β2 in rat glomeruli. *Kidney Int* 38:1095-1100, 1990.
10. THOMPSON NL, FLANDERS KC, SMITH JM, ELLINGSWORTH LR, ROBERTS AB, SPORN MB: Expression of transforming growth factor-β in specific cells and tissues of adult and neonatal mice. *J Cell Biol* 108:661-669, 1989.
11. NIEMIR Z, STEIN H, NORONHA IL, KRUEGER C, ANDRASSY K, RITZ E, WALDHERR R: PDGF and TGF-β contribute to the natural course of human IgA glomerulonephritis. *Kidney Int* 48:1530-1541, 1995.
12. NORONHA IL, WEIS H, RAMBAUSEK M, RITZ E, WALDHERR R: Expression of IL-1β, PDGF, TGF β1 + β2, TGF-β3 and IFN-g receptor (IFN-gR) in IgA-glomerulonephritis (IgA-GN) and in acute renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 2:602, 1991.
13. NORONHA IL, WEIS H, HARTLEY B, WALLACH D, CAMERON JS, WALDHERR R: Expression of cytokines, growth factors and their receptors in renal allograft biopsies. *Transplant Proc* 25:917-918, 1993.
14. OKUDA S, LANGUINO LR, RUOSLAHTI E, BORDER WA: Elevated expression of transforming growth factor-β and proteoglycan production in experimental glomerulonephritis. *J Clin Invest* 86:453-462, 1990.
15. YAMAMOTO T, NOBLE NA, MILLER DE, BORDER WA: Sustained expression of TGF-β1 underlies development of progressive kidney fibrosis. *Kidney Int* 45:916-927, 1994.
16. COIMBRA T, WIGGINS R, NOH JW, MERRIT S, PHAN SH: Transforming growth factor-β production in anti-glomerular basement membrane disease in the rabbit. *Am J Pathol* 138:223-234, 1991.
17. JONES CL, BUCH S, POST M, MCCULLOCH L, LIU E, EDDY AA: Renal extracellular matrix accumulation in acute puromycin aminonucleoside nephrosis in rats. *Am J Pathol* 14:1381-1396, 1992.
18. KULKARNI AB, KARLSSON S: Transforming growth factor-β1 knockout mice. A mutation in one cytokine gene causes a dramatic inflammatory disease. *Am J Pathol* 143:3-9, 1993.
19. TUCKER RF, SHIPLEY GD, MOSES HL, HOLLEY RW: Growth inhibitor from BSC-1 cells is closely related to the platelet type β transforming growth factor. *Science* 226:705-707, 1984.
20. JAFFER F, SAUNDERS C, SCHULTZ P, THROCKMORTON D, WEINSHELL E, ABBOUD HE: Regulation of mesangial growth by polypeptide mitogens. Inhibitory role of transforming growth factor beta. *Am J Pathol* 135:261-269, 1989.
21. IGNOTZ RA, MASSAGUE J: Transforming growth factor beta stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracelular matrix. *J Biol Chem* 261:4337-4345, 1986.
22. BORDER WA, OKUDA S, LANGUINO LR, SPORN MB, RUOSLAHTI E: Transforming growth factor β regulates production of proteoglycans by mesangial cells. *Kidney Int* 37:689-695, 1990.
23. ROBERTS AB, SPORN MB, ASSOCIAN RK, SMITH JM, ROCHE NS, WAKEFIELD LM, UI H, LIOTTA LA, FALANGA V, KEHRL JH, FAUCI AS: Transforming growth factor type β. Rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:4167-4171, 1986.
24. WALDHERR R, NORONHA IL, NIEMIR Z, KRÜGER C, STEIN H, STUMM G: Expression of cytokines and growth factors in human glomerulonephritis. *Pediatr Nephrol* 71:471-478, 1993.
25. COFFMANN RL, LEBMAN DA, SHRADER B: Transforming growth factor β specifically enhances IgA production by lipopolysaccharide-stimulated murine B lymphocytes. *J Exp Med* 170:1039-1044, 1989.
26. SHIHAB FS, YAMAMOTO T, NAST CC, COHEN AH, NOBLE NA, GOLD LI, BORDER WA: Transforming growth factor-beta and matrix protein expression in acute and chronic rejection of human allografts. *J Am Soc Nephrol* 6:286-294, 1995.
27. YAMAMOTO T, NAKAMURA T, NOBLE NA, RUOSLAHTI E, BORDER WA: Expression of transforming growth factor beta is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:1814-1818, 1993.
28. ZIYADEH FN, SNIPES ER, WATANABE M, ALVAREZ RJ, GOLDFARB S, HAVERTY TP: High glucose induces cell hypertrophy and stimulates collagen gene transcription in proximal tubule. *Am J Physiol* 259:F704-F714, 1990.
29. ROCCO MV, CHEN Y, GOLDFARB S, ZIYADEH F: Elevated glucose stimulates TGF-β gene expression and bioactivity in proximal tubule. *Kidney Int* 41:107-114, 1992.
30. SHIHAB FS, ANDOH TF, TANNER AM, NOBLE NA, BORDER WA, FRANCESCHINI N, BENETT WM: Role of transforming growth factor-β in experimental chronic cyclosporine nephropathy. *Kidney Int* 49:1141-1151, 1996.
31. WOLF G, THAISS F, STAHL AK: Cyclosporine stimulates expression of transforming growth factor-β in renal cells. *Transplantation* 60:237-241, 1995.
32. AHUJA SS, SHRIVASTAV S, DANIELPOUR D, BALOW JE, BOUMPAS DT: Regulation of transforming growth factor-β1 and its receptor by cyclosporine in human T lymphocytes. *Transplantation* 60:718-723, 1995.
33. SHEHATA M, COPE GH, JOHNSON TS, RAFTERY AT, EL NAHAS AM: Cyclosporine enhances the expression of TGF-β in the juxtaglomerular cells of the rat kidney. *Kidney Int* 48:1487-1496, 1995.
34. WOLF G, MUELLER E, STAHL RAK, ZIYADEH FN: Angiotensin II-induced hypertrophy of cultures murine proximal tubular cell is mediated by endogenous transforming growth factor-β. *J Clin Invest* 92:1366-1372, 1993.
35. BURDMANN EA, ANDOH TF, NAST CC, EVAN A, CONNORS BA, COFFMAN TM, LINDSLEY J, BENNETT WM: Prevention of experimental cyclosporin-induced interstitial fibrosis by losartan and enalapril. *Am J Physiol* 38:F491-F499, 1995.

36. NOH JW, WIGGINS R, PHAN SH: Urine transforming growth factor-β activity is related to the degree of scarring in crescentic nephritis in the rabbit. *Nephron* 63:73-78, 1993.
37. DOMINGUEZ GCS, COSTA RS, DANTAS M, KIMACHI T, COIMBRA TM: Transforming growth factor beta (TGF β) activity in urine of patients with glomerulonephritis. *Braz J Med Biol Res* 28:1061-1064, 1995.
38. WANG T, GHEN YG, YE RG, MAI WY, ZHEN ZH, LI HQ: Enhanced expression of TGF-beta 1 by peritoneal macrophages in CAPD patients. *Adv Perit Dial* 11:11-14, 1995.
39. ISAKA Y, FUJIWARA Y, UEDA N, KANED Y, KAMADA T, IMAI E: Glomerulosclerosis induced by in vivo transfection of transforming growth factor-β or platelet-derived growth factor gene into rat kidney. *J Clin Invest* 92:2597-2601, 1993.
40. OKUDA S, NAKAMURA T, YAMAMOTO T, RUOSLAHTI E, BORDER WA: Dietary protein restriction rapidly reduces transforming growth factor β1 expression in experimental glomerulonephritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:9765-9769, 1991.
41. NARITA I, BORDER WA, KETTELER M, RUOSLAHTI E, NOBLE NA: L-arginine may mediate the therapeutic effects of low protein diets. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:4552-4556, 1995.
42. BORDER WA, OKUDA S, LANGUINO LR, SPRON NB, RUOSLAHTI E: Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor β1. *Nature* 346:371-374, 1990.
43. BORDER WA, NOBLE NA, YAMAMOTO T, HARPER JR, YAMAGUCHI Y, PIERSCHBACHER MD, RUOSLAHTI E: Natural inhibitor of transforming growth factor-β protects against scarring in experimental kidney disease. *Nature* 360:361-364, 1992.
44. ROSS R, RAINES EW, BOWEN-POPE DF: The biology of platelet-derived growth factor. *Cell* 46:155-169, 1986.
45. ANTONIADES HN: Human platelet-derived growth factor (PDGF): purification of PDGF-I and PDGF-II and separation of their reduced subunits. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:7314-7317, 1981.
46. HELDIN CH, WESTERMAR B, WASTESON A: Platelet derived growth factor: isolation by a large-scale procedure and analysis of subunit composition. *Biochem J* 193:907-913, 1981.
47. HAMMACHER A, HELLMAN U, JOHNSSON A, OSTMAN A, GUNNARSON A, WESTERMARK B, WASTESON A, HELDIN CH: A major part of platelet-derived growth factor purified from human platelets is a heterodimer of one A and one B chain. *J Biol Chem* 263:16493-16498, 1988.
48. SHINOKADO D, RAINES EW, MADTES DK, BARRET TB, BENDITT EP, ROSS R: A significant part of macrophage-derived growth factor consists of at least two forms of PDGF. *Cell* 43:277-286, 1995.
49. KELLY JD, RAINES EW, ROSS R, MURRAY MJ: The B chain of PDGF alone is sufficient for mitogenesis. *EMBO J* 4:3399-3405, 1985.
50. SEIFERT RA, HART CE, PHILLIPS PE, FORSTROM JW, ROSS R, MURRAY MJ, BOWEN-POPE DF: Two different subunits associate to create isoform-specific platelet-derived growth factor receptors. *J Biol Chem* 264:8771-8778, 1989.
51. HELDIN CH, BACHSTROM G, OSTMAN A, HAMMACHER A, ROONSTRAND L, RUBIN K, NISTÉR M, WESTERMARK B: Binding of different dimeric forms of PDGF to human fibroblasts: evidence for two separate receptor types. *EMBO J* 7:1387-1393, 1988.
52. IIDA H, SEIFERT R, ALPERS CE, GRONWALD RGK, PHILIPS PE, PRITZL P, GORDON K, GOWN AM, ROSS R, BOWEN-POPE DF, JOHNSON RJ: Platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF receptor are induced in mesangial proliferative nephritis in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:6560-6564, 1991.
53. GESUALDO L, PINZANI M, FLORIANO JJ, HASSAN MO, NAGY NU, SCHENA FP, EMANCIPATOR SN, ABBOUD HE: Platelet-derived growth factor expression in mesangial proliferative glomerulonephritis. *Lab Invest* 65:160-167, 1991.
54. NAKAMURA T, EBIHARA I, FUKUI M, OSADA S, NAGAOKA I, HORIKOSHI S, TOMINO Y, KOIDE H: Messenger RNA expression for growth factor in glomeruli from focal glomerular sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol* 66:33-42, 1993.
55. AKAI Y, IWANO M, KITAMURA Y, SHIIKI H, DOHI Y, DOHI K, MORIYAMA T, YONEMASU K: Intraglomerular expression of IL-1 alpha and platelet-derived growth factor (PDGF-B) mRNA in experimental immune complex-mediated glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* 95:29-34, 1994.
56. ZHANG G, EL NAHAS AM: Platelet-derived growth factor in experimental glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 10:787-795, 1995.
57. FLOEGE J, BURNS MW, ALPERS CE, YOSHIMURA A, PRITZL P, GORDON K, SEIFERT RA, BOWEN-POPE DF, COUSER WG, JOHNSON RJ: Glomerular cell proliferation and PDGF expression precede glomerulosclerosis in the remnant kidney model. *Kidney Int* 41:297-309, 1992.
58. OKAMURA M, KONISHI Y, NISHIMURA M, NEGORO N, UMETANI N, INOUE T, KANAYAMA Y, TAKEDA T: Platelet-derived growth factor gene expression in the kidney of malignant hypertension. *Blood Press Suppl* 3:17-21, 1992.
59. FUKUI M, NAKAMURA T, EBIHARA I, MAKITA Y, OSADA S, TOMINO Y, KOIDE H: Effects of enalapril on endothelin-1 and growth factor gene expression in diabetic rat glomeruli. *J Lab Clin Med* 123:763-768, 1994.
60. SHEHATA M, EL NAHAS AM, BARKWORTH E, COPE GH, RAFTERY AT: Increased platelet-derived growth factor in the kidneys of cyclosporin-treated rats. *Kidney Int* 46:726-732, 1994.
61. FRAMPTON G, HILDRETH G, HARTLEY B, CAMERON JS, HELDIN C-H, WASTESON A: Could platelet-derived growth factor have a role in the pathogenesis of lupus nephritis? (letter) *Lancet* 2:343, 1988.
62. FELLSTROM B, KLARESKOG L, HELDIN CH, LARSSON E, RONNSTRAND L, TERRACIO L, TUFVESON G, WAHLBERG J, RUBIN K: Platelet-derived growth factor receptors in the kidney-upregulated expression in inflammation. *Kidney Int* 36:1099-1102, 1989.
63. JOHNSON RJ, RAINES EW, FLOEGE J, YOSHIMURA A, PRITZL P, ALPERS C, ROSS R: Inhibition of mesangial cell proliferation and matrix expansion in glomerulonephritis in the rat by antibody to platelet-derived growth factor. *J Exp Med* 175:1413-1416, 1992.
64. FLOEGE J, ENG E, YOUNG BA, ALPERS CE, BARRET TB, BOWEN-POPE DF, JOHNSON RJ: Infusion of platelet-derived growth factor on basic fibroblast growth factor induces selective glomerular mesangial cell proliferation and matrix accumulation. *J Clin Invest* 92:2952-2062, 1993.
65. SAGER S, BOSCH RJ, PELAYO JC: Distinct modulatory action of platelet-derived growth factor (PDGF) B-chain on the rat renal microcirculation. *J Am Soc Nephrol* 2:526, 1991.
66. BINOUX M, ROGHANI M, HOSSENLLOP P, HARDOUIN S, GOURMELEN M: Molecular forms of human IGF binding proteins: physiological implications. *Acta Endocrinol* 124:41-47, 1991.
67. DAUGHADAY WH, ROTWEIN P: Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentration. *Endocr Rev* 10:68-91, 1989.
68. BORTZ JD, ROTWEIN P, DEVOL D, BECHTEL PJ, HANSEN VA, HAMMERMAN MR: Focal expression of insulin-like growth factor I in rat kidney collecting duct. *J Cell Biol* 107:811-819, 1988.

69. EVAN AP, HENRY DP, CONNORS BA, SUMMERLIN P, LEE WH: Analysis of insulin-like growth factors (IGF)-I, and II, type II receptor and IGF-binding protein-2 mRNA and peptide levels in normal and nephrectomized rat kidney. *Kidney Int* 48:1517-1529, 1995.
70. ARON DC, ROSENZWEIG JL, ABBOUD JE: Synthesis and binding of insulin-like growth factor I by human glomerular mesangial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 68:585-591, 1989.
71. CONTI FG, STRIKER LJ, ELLIOT SJ, ANDREANI D, STRIKER GE: Synthesis and release of insulin like growth factor I by mesangial cells in culture. *Am J Physiol* 255: F1214-F1219, 1988.
72. ANDERSSON G, JENNISCHE E: IGF-I immunoreactivity is expressed by regenerating renal tubular cells after ischaemic injury in the rat. *Acta Physiol Scand* 132:453-457, 1988.
73. FAGIN JA, MELMED S: Relative increase in insulin-like growth factor I messenger ribonucleic acid levels in compensatory renal hypertrophy. *Endocrinology* 120:718-724, 1987.
74. STILES AD, SOSENKO IRS, D'ERCOLE AJ, SMITH BT: Relation of kidney tissue somatomedin-C/insulin-like growth factor I to postnephrectomy renal growth in the rat. *Endocrinology* 117:2397-2401, 1985.
75. FLYVBERG A, THORLACIUS-USSING O, NAERAA R, INGERSLEV J, ORSKOV H: Kidney tissue somatomedin C and initial renal growth in diabetic and uninephrectomized rats. *Diabetologia* 31:310-314, 1988.
76. WERNER H, SHEN-ORR Z, STANNARD B, BURGUERA B, ROBERTS JR CT, LEROITH D: Experimental diabetes increases insulinlike growth factor I and II receptor concentration and gene expression in kidney. *Diabetes* 39:1490-1497, 1990.
77. SUGIMOTO H, SHIKATA K, MAKINO H, OTA K, OTA Z: Upregulation of insulin-like growth factor receptor gene in experimental diabetic rat glomeruli. *J Diabet Complications* 9:262-264, 1995.
78. DOI T, STRIKER LJ, GIBSON CC, AGODOA LYC, BRINSTER RL, STRIKER GE: Glomerular lesions in mice transgenic for growth hormone and insulinlike growth factor-1 relashionship between increased glomerular size and mesangial sclerosis. *Am J Pathol* 137:541-552, 1990.
79. MATEJKA GL, JENNISCHE E: IGF-I binding and IGF-I mRNA expression in the post-ischemic regenerating rat kidney. *Kidney Int* 42:1113-1123, 1992.
80. OPPENHEIMER MJ, SUNDQUIST K, BIERMAN EL: Downregulation of high-density lipoprotein receptor in human fibroblasts by insulin and IGF-I. *Diabetes* 38:117-122, 1989.
81. ARNQVIST HJ, BALLERMANN BJ, KING GL: Receptor for and effects of insulin and IGF-I in rat glomerular mesangial cells. *Am J Physiol* 254:C411-C416, 1988.
82. HAMMERMAN MR, ROGERS S: Distribution of IGF receptors in the plasma membrane of proximal tubular cells. *Am J Physiol* 22:F841-F847, 1987.
83. GIORDANO M, DEFRONZO RA: Acute effect of human recombinant insulin-like growth factor I on renal function in humans. *Nephron* 71:10-15, 1995.
84. HIRSCHBERG R, KOPPLE JD: Evidence that insulin-like growth factor I increases renal plasma flow and glomerular rate in fasted rats. *J Clin Invest* 83:326-330, 1989.
85. HIRSCHBERG R, KOPPLE JD, BLANTZ RC, TUCKER BJ: Effects of recombinant human insulin-like growth factor on glomerular dynamics in the rat. *J Clin Invest* 87:1200-1206, 1991.
86. HIRSCHBERG R, BRUNORI G, KOPPLE JD, GULER HP: Effects of insulin growth factor I on renal function in normal men. *Kidney Int* 43:387-397, 1993.
87. GULER HP, SCHMID C, ZAPF J, FROESCH ER: Effects of recombinant insulin-like growth factor I on insulin secretion and renal function in normal human subjects. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:2868-2872, 1989.
88. TSUKAHARA H, GORDIENKO DV, TONSHOFF B, GELATO MC, GOLIGORSKY MS: Direct demonstration of insulin-like growth factor-I-induced nitric oxide production by endothelial cells. *Kidney Int* 4:598-604, 1994.
89. HAYLOR J, SINGH I, EL NAHAS AM: Nitric oxide synthesis inhibitor prevents vasodilation by insulin-like growth factor I. *Kidney Int* 39:333-335, 1991.
90. KOPPLE JD, DING H, HIRSCHBERG R: Effects of recombinant human insulin-like growth factor 1 on renal handling of phosphorus, calcium, and sodium in normal humans. *Am J Kidney Dis* 26:818-824, 1995.
91. QUIGLEY R, BAUM M: Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on rabbit proximal convoluted tubule transport. *J Clin Invest* 88:368-374, 1991.
92. MILLER SB, MARTIN DR, KISSANE J, HAMMERMAN MR: Insulin-like growth factor I accelerates recovery from ischemic acute tubular necrosis in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:11876-11880, 1992.
93. NOGUCHI S, HASHIHARA Y, IKEGAM Y, MORIMOTO K, MIYAMOTO M, NAKAO K: Insulin-like growth factor-I ameliorates transient ischemia-induced acute renal failure in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 267:919-926, 1993.
94. DING H, KOPPLE JD, COHEN A, HIRSCHBERG R: Recombinant human insulin-like growth factor-I accelerates recovery and reduces catabolism in rats with ischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 91:2281-2287, 1993.
95. LIN JJ, CYBULSKY AV, GOODYER PR, KASKEL FJ, FINE RN: Insulin-like growth factor-I enhances epidermal growth factor receptor activation and renal tubular cell regeneration in post ischemic acute renal failure. *J Lab Clin Med* 125:724-733, 1995.
96. FRIEDLAENDER M, POPOVTZER MM, WEISS O, HEFESH I, KOPOLOVIC J, RAZ I: Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) enhances recovery from HgCl2-induced acute renal failure: the effects on renal IGF-1, IGF-1 receptor, and IGF-binding protein-1 mRNA. *J Am Soc Nephrol* 5:1782-1791, 1995.
97. FUCHS S, JAFFE R, BEERI R, HEYMAN SN, SHINA A, ROSEN S, BREZIS M: Failure of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) to improve radioconstrast nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 6:997, 1995.
98. O'SHEA MH, MILLER SB, HAMMERMAN MR: Effects of IGF-I on renal function in patients with chronic renal failure. *Am J Physiol* 264:F917-F922, 1993.
99. SHAHMIR E, PENG S, FOUQUE D, KOPPLER JD: Effect of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) on nitrogen balance in malnourished CAPD patients. *J Am Soc Nephrol* 6:587, 1995.
100. JORGENSEN PE, NEXO E, POULSEN SS: The membrane fraction of homogenized rat kidney contains an enzyme that releases epidermal growth factor from the kidney. *Biochem Biophys Acta* 1074:284-288, 1991.
101. CARPENTER G, ZENDEGUI JG: Epidermal growth factor, its receptor and related molecules. *Exp Cell Res* 164:1-10, 1986.
102. BREYER MD, REDHA R, BREYER JA: Segmental distribution of epidermal growth factor binding sites in rabbit nephron. *Am J Physiol* 259:F553-F558, 1990.
103. KIM DC, SUGIYAMA Y, KANAI Y, OHNUMA N, HANANO M: Localization of epidermal growth factor (EGF) binding sites on antiluminal plasma membrane of rat kidney: autoradiographic study using nonfiltering perfused rat kidney. *Pharmacol Res* 9:40-44, 1992.
104. RALL LB, SCOTT J, BELL GI: Mouse prepro-epidermal growth factor synthesis by the kidney and other tissues. *Nature* 313:228-231, 1985.
105. NOUWEN EJ, VERSTREPEN WA, De BROE ME: Epidermal growth factor in acute renal failure. *Ren Fail* 16:49-60, 1994.

106. VERSTREPEN WA, NOUVEN EJ, YUE XS, De BROE ME: Altered growth factor expression during toxic proximal tubular necrosis and regeneration. *Kidney Int* 43:1267, 1993.
107. SAFIRSTEIN R, ZELENT AZ, PRICE PM: Reduced renal prepro-epidermal growth factor mRNA and decreased EGF excretion in ARF. *Kidney Int* 36:810-815, 1989.
108. TAIRA T, YOSHIMURA A, KAZUHIDE I: Urinary epidermal growth factor levels in patients with acute renal failure. *Am J Kidney Dis* 22:656, 1993.
109. SAFIRSTEIN R, ZELENT AZ, PRICE PM: Changes in gene expression after temporary renal ischemia. *Kidney Int* 37:1515-1521, 1990.
110. KLINGEL R, DIPPOLD W, STORKEL S, MEYER ZUM BUSCHENFELDE KH, KOHLER H: Expression of differentiation antigens and growth-related genes in normal kidney, autossomal dominant polycistic kidney disease, and renal cell carcinoma. *Am J Kidney Dis* 19:22-30, 1992.
111. JENNISCHE E, ANDERSSON G, HANSSON HA: Epidermal growth factor is expressed by cells in the distal tubules during postnephrectomy renal growth. *Acta Physiol Scand* 129:449-450, 1987.
112. NAKOPOULOU L, STEFANAKI K, BOLETIS J, PAPADAKIS J, KOSTAKIS A, VOSNIDES G, ZEIS PM: Immunohistochemical study of epidermal growth factor receptor (EGFR) in various types of renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 9:764-769, 1994.
113. LEV-RAN A, HWANG DL, AHMAD B, BIXBY H: Immunoreactive epidermal growth factor in serum, plasma, platelets, and urine in patients on chronic dialysis. *Nephron* 57:164-166, 1991.
114. HARRIS RC, HOOVER RL, JACOBSON HR, BADR KF: Evidence for glomerular actions of epidermal growth factor in the rat. *J Clin Invest* 82:1028-1039, 1988.
115. MARGOLIS BL, BONVENTRE JV, KREMER SG, KUDLOW JE, SKORECKI KL: Epidermal growth factor is synergistic with phorbol esters and vasopressin in stimulating arachidonate release and prostaglandin production in renal glomerular mesangial cells. *Biochem J* 249:587-592, 1988.
116. HUMES HD, CIESLINSKI DA, COIMBRA TM, MESSANA JM, GALVAO C: Epidermal growth factor enhances renal tubule cell regneration and repair and accelerates the recovery of renal function in postischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 84:1757-1761, 1989.
117. COIMBRA TM, CIESLINSKI DA, HUMES HD: Epidermal growth factor accelerates renal repair in mercuric chloride nephrotoxicity. *Am J Physiol* 259:F438-F443, 1990.
118. MORIN NJ, LAURENT G, NONCLERCQ D, TOUBEAU G, HEUSON-STIENNON JA, BERGERON MG, BEAUCHAMP D: Epidermal growth factor accelerates renal tissue repair in a model of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am J Physiol* 263:F806-F811, 1992.
119. NAKAMURA T, NAWA K, ICHIBARA A: Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem Biophy Res Commun* 122:1450-1459, 1984.
120. IGAWA T, MATSUMOTO K, KANDA S, SAITO Y, NAKAMURA T: Hepatocyte growth factor may function as a renotropic factor for regeneration in rats with acute renal injury. *Am J Physiol* 265:F61-F69, 1993.
121. KAWAIDA K, MATSUMOTO K, SHIMAZU H, NAKAMURA T: Hepatocyte growth factor prevents acute renal failure and accelerates renal regeneration in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:4357, 1994.
122. MILLER SB, MARTIN DR, KISSANE J, HAMMERMAN MR: Hepatocyte growth factor accelerates recovery from acute ischemic renal injury in rats. *Am J Physiol* 266:F129-F234, 1994.
123. NAKAMURA Y, MORISHITA R, HIGAKI J, KIDA I, AOKI M, MORIGUCHI A, YAMADA K, HAYASHI S, YO Y, MATSUMOTO K: Expression of local hepatocyte growth factor system in vascular tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 215:483-488, 1995.
124. STOKER M, GHERARDI E, PERRYMAN M, GRAY J: Scatter factor is a fibroblast-derived modulator of epithelial cell mobility. *Nature* 327:239-242, 1987.
125. MIYAZAWA K, SHIMOMURA T, NAKA D, KITAMURA N: Proteolytic activation of hepacyte growth factor in response to tissue injury. *J. Biol Chem* 269:8966-8970, 1994.
126. ZIONCHECK TF, RICHARDSON L, DEGUZMAN GG, MODI NB, HANSEN SE, GODOWSKI PJ: The pharmacokinetics, tissue localization, and metabolic processing of recombinant human hepatocyte growth factor after intravenous administration in rats. *Endocrinology* 134:1879-1887, 1994.
127. TSUBOUCHI H, NIITANI Y, HIRONO S, NAKAYAMA H, GOHDA E, ARAKAKI N, SAKIYAMA O, TAKAHASHI K, KIMOTO M, KAWAKAMI S, SETOGUCHI M, TACHIKAWA T, SHIN S, ARIMA T, DAIKUHARA Y: Levels of human hepatocyte growth factor in serum of patients with various liver diseases determined by an enzime-linked immunosorbant assay. *Hepatology* 13:1-5, 1991.
128. CHANG H, NAGAO T, ICHIKAWA N, KAWAMOTO T, NAKAMURA T, KUROKAWA K, ASANO S, KATOH T: Blood hepatocyte growth factor levels in chronic renal failure patients. *Nephron* 67:497-498, 1994.
129. SUGIMURA K, KIM T, GOTO T, KASAI S, TAKEMOTO Y, MATSUDA J, YOSHIMOTO M, YAMAGAMI S, KISHMOTO T: Serum hepatocyte growth factor levels in patients with chronic renal failure. *Nephron* 70:324-328, 1995.
130. TAJIMA H, HIGUCHI O, MIZUNO K, NAKAMURA T: Tissue distribution of hepatocyte growth factor receptor and its exclusive down-regulation in regenerating organ after injury. *J Biochem* 111:401-406, 1992.
131. ISHIBASHI K, SASAKI S, SAKAMOTO H, NAKAMURA Y, HATA T, NAKAMURA T, MARUMO F: Hepatocyte growth factor is a paracrine factor for renal epithelial cells: stimulation of DNA synthesis and Na, K-ATPase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 182:960-965, 1992.
132. COUPER JJ, LITTLEFORS KD, COUPER RT, NAKAMURA T, FERRANTE A: High glucose and hyperosmolality stimulate hepatocyte growth factor secretion from cultured human mesangial cells. *Diabetologia* 37:533-535, 1994.
133. MATSUMOTO K, NAKAMURA T: Hepatocyte growth factor: molecular structure, roles in liver regeneration, and other biological functions. *Crit Rev Oncog* 3:27-54, 1992.
134. SANTOS OF, BARROS EJ, YANG XM, MATSUMOTO K, NAKAMURA T, PARK M, NIGAM SK: Involvement of hepatocyte growth factor in kidney development. *Dev Biol* 163:525-529, 1994.
135. MONTESANO R, SCHALLER G, ORCI L: Induction of epithelial tubular morphogenesis in vitro by fibroblast-derived soluble factors. *Cell* 66:697-711, 1991.
136. SANTOS OFP, MOURA LA, ROSEN EM, NIGAM SK: Modulation of HGF-induced tubulogenesis and branching by multiple phosphorylation mechanisms. *Dev Biol* 159:535-548, 1993.
137. TSARFATY I, RESAU JH, RULONG S, KEYDAR I, FALETTO DL, VANDE WOUDE GF: The Met proto-oncogene receptor and lumen formation. *Science* 257:1258-1261, 1992.
138. HORIE S, HIGASHIHARA E, NUTAHARA E, NUTAHARA K, MIKAMI Y, OKUBO A, KANO M, KAWABE K: Mediation of renal cyst formation by hepatocyte growth factor. *Lancet* 344:789-791, 1994.
139. IGAWA T, KANDA S, KANETAKE H, SAITOH Y, ICHIBARA A, TOMITA Y, NAKAMURA T: Hepatocyte growth factor is a potent mitogen for cultured rabbit renal tubular epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 174:831-838, 1991.
140. NAGAIKE M, HIRAO S, TAJIMA H, NOJI S, TANIGUCHI S, MATSUMOTO K, NAKAMURA T: Renotropic functions of hepatocyte growth factor in renal regeneration after unilateral nephrectomy. *J Biol Chem* 266:22781-22784, 1991.

9

PATOGÊNESE DAS GLOMERULOPATIAS PROGRESSIVAS

PAPEL DA HIPERTENSÃO E DA HIPERTROFIA GLOMERULARES

Roberto Zatz

INTRODUÇÃO

As glomerulopatias progressivas levam invariavelmente à hialinização e à fibrose completas do glomérulo, o qual acaba por se transformar em um tecido cicatricial, incapaz de filtrar o plasma. Acredita-se que esse processo, genericamente denominado *glomerulosclerose*, envolva a participação de uma série de fatores aparentemente desconexos, tais como hipertensão glomerular[1], hipertrofia glomerular[2], formação de microtrombos intracapilares[3], aumento da permeabilidade glomerular[4], deposição local de lípides[5-7], ativação de macrófagos[8], proliferação de células mesangiais e fibroblastos[9], produção exagerada de matriz mesangial[10-12] e outros. A operação desses fatores é provavelmente modulada pelos efeitos biológicos de mediadores tais como fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)[13], fator de crescimento transformador beta (TGF-β)[14], angiotensina II[15], endotelina[16] e óxido nítrico (NO)[17], entre outros.

Nesse emaranhado de fatores patogênicos, os assim chamados "fatores hemodinâmicos" de lesão glomerular ocupam um lugar de destaque e estiveram nos anos 80 no centro de um acalorado debate, cujos ecos persistem até os dias de hoje. O acúmulo de novos conhecimentos e a própria passagem do tempo permitem-nos hoje uma avaliação crítica mais serena dessa controvérsia.

TEORIA HEMODINÂMICA

No começo da década de 80, Hostetter e cols[18] demonstraram que a retirada de 5/6 do parênquima renal de ratos, um modelo já então estabelecido de glomerulopatia progressiva, caracterizava-se por uma elevação do ritmo de ultrafiltração glomerular e de dois de seus determinantes: o fluxo plasmático glomerular inicial e a diferença de pressão hidráulica transglomerular. A administração a esses animais de uma dieta pobre em proteínas reverteu essas anomalias hemodinâmicas e ao mesmo tempo preveniu quase totalmente as alterações estruturais glomerulares observadas nesse modelo. Quase ao mesmo tempo, esses investigadores demonstraram a presença de hiperfiltração, hiperfusão e hipertensão glomerulares também em ratos diabéticos[19]; poucos anos mais tarde, ficou patente que essas alterações hemodinâmicas correlacionavam-se, também neste caso, com o desenvolvimento ulterior de lesões glomerulares. Em outros estudos desenvolvidos pelo mesmo grupo, com o modelo DOCA-sal, obtiveram resultados bastante semelhantes[20]. Com base nesses achados e em conceitos originalmente enunciados por Addis nos anos 20, Brenner postulou a existência de uma relação causal entre anomalias hemodinâmicas e desenvolvimento de lesões glomerulares estruturais. De acordo com a formulação original dessa "teo-

ria hemodinâmica", a hiperfiltração, a hiperperfusão e a hipertensão glomerulares provocariam uma agressão mecânica à parede capilar, desencadeando um processo crônico e progressivo que culminaria com a completa destruição do tufo. A conseqüente exclusão de glomérulos imporia então uma sobrecarga adicional aos néfrons remanescentes, exacerbando a agressão hemodinâmica ao glomérulo e estabalecendo um círculo vicioso que levaria, ao final do processo, à completa destruição do parênquima renal[1].

Tornou-se desde logo evidente que a *hipertensão* glomerular era o fator físico mais consistentemente associado ao desenvolvimento subseqüente de lesão glomerular. Ratos submetidos à retirada de 5/6 do parênquima renal e tratados com enalapril, então um recém-desenvolvido inibidor da enzima conversora, tiveram normalizada sua pressão glomerular, mas não o fluxo plasmático glomerular ou a taxa de ultrafiltração. No entanto, o desenvolvimento de glomerulosclerose foi inteiramente prevenido pelo tratamento com a droga[21]. É interessante observar que a correção da hipertensão *sistêmica* nesse modelo não tem sobre o parênquima renal o mesmo efeito protetor obtido com inibidores da enzima conversora. Em um estudo correlato[22], o grupo de Brenner demonstrou que a administração de um tratamento tríplice com hidralazina, hidroclorotiazida e reserpina foi tão eficaz quanto a monoterapia com enalapril no sentido de normalizar a pressão arterial sistêmica, mas não foi capaz de reverter a hipertensão *glomerular* associada a esse modelo. Após várias semanas de observação, não havia diferença, em termos de lesão glomerular, entre os animais tratados com o esquema tríplice e os não-tratados, enquanto os que receberam enalapril apresentavam pouquíssimas alterações estruturais. Efeitos semelhantes foram demonstrados em ratos diabéticos: a glomerulosclerose é prevenida pelos inibidores da enzima conversora, que produzem hipotensão sistêmica e normalizam a pressão glomerular[23], mas não por drogas inativas com relação à hipertensão glomerular[24,25].

Embora os mecanismos exatos pelos quais a hipertensão glomerular pode causar lesão glomerular não tenham sido abordados quando de sua formulação, a "teoria hemodinâmica" representou um avanço significativo rumo à elucidação da patogênese das glomerulopatias progressivas. Ela lançou alguma luz sobre o que até então parecia um mistério inextricável, tal como a progressão inexorável das doenças renais crônicas mesmo depois de resolvida a lesão inicial. Mais importante, a teoria hemodinâmica inspirou a elaboração de esquemas terapêuticos mais racionais para retardar ou até mesmo prevenir as doenças renais progressivas utilizando a restrição à ingestão protéica e, em especial, os inibidores da enzima conversora. Uma série de estudos clínicos, iniciados ainda nos anos 80, veio confirmar as observações experimentais realizadas anteriormente, fornecendo uma base racional para a utilização de enzima conversora em pacientes com nefropatias progressivas, especialmente as associadas ao *Diabetes mellitus*[26-31].

TEORIA DA HIPERTROFIA E CONTESTAÇÃO A TEORIA HEMODINÂMICA

Apesar desses avanços, a "teoria hemodinâmica", como sói ocorrer às teorias científicas em geral, não explicava todos os aspectos envolvidos na patogênese das glomerulopatias progressivas. Por essa razão, vários investigadores, baseados em uma série de evidências aparentemente incompatíveis com a teoria, passaram a contestá-la, já a partir de meados da década de 80. Diversos estudos experimentais forneceram evidências de uma dissociação entre hipertensão glomerular e glomerulosclerose[2,32-35]. Em alguns desses estudos, demonstrou-se o desenvolvimento de glomerulosclerose na ausência de hipertensão glomerular, como por exemplo no rato Zucker obeso[35]. Em outros, não se observaram lesões glomerulares mesmo na presença de hipertensão glomerular, conforme relatado por Lax e cols em ratos com ablação renal tratados com bloqueadores dos canais de cálcio[33] e por Yoshida e cols[2] em um modelo com infarto parcial do rim esquerdo e derivação unilateral à direita. Vários dos estudos que contestavam o papel da hipertensão glomerular como fator patogênico também ressaltavam a associação entre glomerulosclerose e hipertrofia glomerular. Esses achados terminaram por levar à elaboração de uma teoria alternativa, segundo a qual a *hipertrofia*, e não a hipertensão glomerular, seria o principal fator de lesão glomerular nas glomerulopatias progressivas. Essa teoria, amplamente aceita na virada da década de 90, inseria-se no conceito mais amplo de "fatores não-hemodinâmicos de lesão glomerular", o qual aparecia como uma alternativa ao conceito de "fatores hemodinâmicos". Baseados nas evidências experimentais que continuavam a aparecer, vários investigadores chegaram a vaticinar a morte prematura da "teoria hemodinâmica".

Nesse ínterim, no entanto, outras evidências surgiam em favor da "teoria hemodinâmica" e contra a "teoria da hipertrofia glomerular". Alguns desses estudos demonstraram uma dissocia-

ção entre o volume glomerular e a intensidade da lesão glomerular, a qual se vinculava de modo mais consistente à pressão glomerular[24,25]. Em outros estudos, no entanto, a glomerulosclerose associou-se *diretamente* à hipertensão intracapilar e *inversamente* à hipertrofia do tufo, tal como demonstrado por Fujihara e cols[36] no rato analbuminêmico submetido à ablação renal de 5/6 e por Meyer e Rennke em ratos Münich-Wistar com ablação renal de 40%[37]. Evidências semelhantes foram obtidas em outros modelos experimentais, tais como o envelhecimento natural em ratos Münich-Wistar[38], o rato Fawn-Hooded, que desenvolve glomerulosclerose espontaneamente[39], o modelo DOCA-sal de hipertensão[10] e outros[41-43]. Fica claro assim que, apesar da impressão inicial, a teoria da hipertrofia glomerular explicava apenas uma parte das evidências experimentais e, portanto, não se revelava superior à teoria hemodinâmica. No entanto, a teoria da hipertrofia glomerular goza ainda de forte popularidade, talvez em decorrência de seu predomínio numérico na literatura. Com efeito, dentre os mais de 150 estudos publicados nessa área entre 1980 e 1995 nada menos de 71, ou 47% do total, mostraram algum tipo de correlação entre a presença de hipertrofia glomerular e o desenvolvimento subseqüente de glomerulopatia progressiva, enquanto apenas 32, ou 20%, apontaram para uma relação positiva entre hipertensão glomerular e glomerulosclerose. Longe de demonstrar um consenso da comunidade científica em favor da teoria da hipertrofia, no entanto, esse predomínio meramente aritmético reflete tão-somente o fato de que é infinitamente mais simples medir o volume glomerular (o que pode ser realizado inclusive em seres humanos) do que a pressão hidráulica glomerular, a qual pode ser determinada em um número restrito de laboratórios. Na verdade, quando se consideram apenas os estudos em que tanto a pressão quanto o volume glomerular foram medidos, o quadro se inverte, e encontra-se um número maior de estudos favorecendo a teoria da hipertensão glomerular.

NATUREZA MULTIFATORIAL DAS GLOMERULOPATIAS

Tendo em vista o que foi discutido acima, o exame da literatura não permite excluir qualquer das duas teorias, seja a "teoria hemodinâmica", seja a "teoria da hipertrofia". Não há qualquer razão, no entanto, para que essas duas teorias sejam mutuamente exclusivas. Na verdade, a natureza intrincada e multifatorial das glomerulopatias progressivas tem-se tornado cada vez mais evidente, sendo pouco provável que um único fator possa ser responsabilizado pelo desenvolvimento do processo. Assim, o emprego de uma lógica simplificada e linear (por exemplo, "ausência de glomerulosclerose na presença de hipertensão glomerular indica que esta última não tem um papel patogênico relevante") pode ser completamente inadequado à análise do problema. Um exame mais detalhado dos mecanismos de lesão glomerular progressiva atualmente propostos ajuda-nos a melhor compreender essa limitação. Consideremos inicialmente os mecanismos íntimos através dos quais a hipertensão intracapilar pode lesar o glomérulo (Fig. 9.1). Em primeiro lugar, uma elevação da pressão hidráulica glomerular aumenta a tensão mecânica à qual a parede glomerular está constantemente submetida, de acordo com a relação de Laplace, segundo a qual a tensão da parede, T, equivale ao produto da diferença de pressão hidráulica transcapilar, ΔP, e do raio do capilar, R. Sendo elevada a complacência mecânica do glomérulo, conforme recentemente demonstrado[44], pode ocorrer em conseqüência um estiramento considerável da parede capilar. Esse fenômeno pode por sua vez lesar as paredes glomerulares através de três mecanismos principais: 1. lesão de células endoteliais, que podem desgarrar-se da lâmina basal, desnudando-a, e levando à exposição de colágeno e conseqüente ativação de plaquetas, microtrombose e oclusão de alças capilares[3,36]; 2. estiramento e irritação de células mesangiais, alterando suas propriedades biológicas e fazendo-as proliferar em demasia e/ou produzir matriz extracelular em quantidades anômalas[45-47]; 3. lesão de podócitos: devido ao

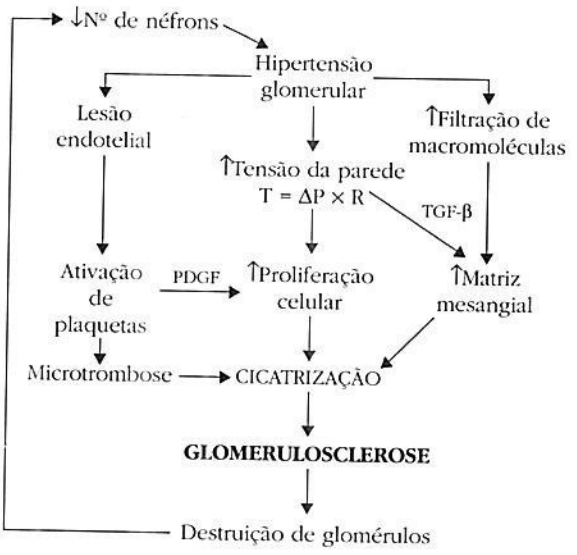


Figura 9.1 – Representação esquemática dos fatores mecânicos de lesão glomerular.

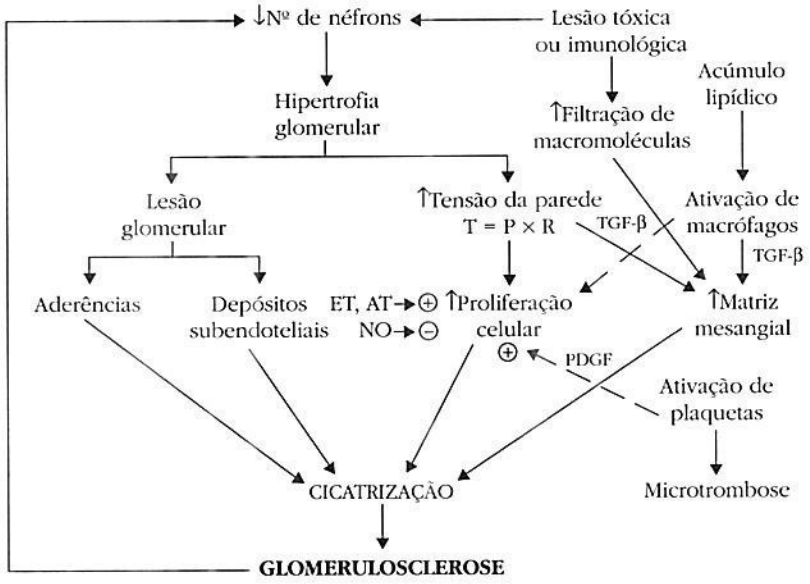


Figura 9.2 – Representação esquemática dos fatores não-hemodinâmicos de lesão glomerular.

alto grau de diferenciação dessas células, sua capacidade de proliferação é bastante reduzida. Em conseqüência, o epitélio visceral do glomérulo pode ser incapaz de se acomodar ao aumento de tamanho do tufo glomerular (resultante da alta complacência da parede glomerular e da elevada pressão hidráulica intracapilar), podendo sofrer ruptura ou mesmo necrose localizada, com descolamento da membrana basal e pelo menos duas conseqüências possíveis: a) deposição de material protéico na região subendotelial, conforme proposto por Fries e cols[48] e b) ruptura de podócitos devido à extrema dilatação das alças capilares, com conseqüente adesão ao folheto parietal da cápsula de Bowman, conforme proposto por Kriz e cols[49]. A hipertensão glomerular poderia ainda levar a uma inflamação mesangial devido ao aumento do transporte passivo de macromoléculas para a área mesangial, onde seu acúmulo promoveria um aumento da produção de matriz extracelular[50]. Sejam quais forem os mecanismos que em última análise conduzem à glomerulosclerose, a perda resultante de néfrons acaba por levar à sobrecarga hemodinâmica adicional às unidades remanescentes, fechando um ciclo vicioso que contribui para perpetuar o processo e que culmina com a destruição completa do parênquima renal.

Os mecanismos de lesão glomerular possivelmente associados à hipertrofia glomerular (Fig. 9.2) são essencialmente os mesmos atribuídos à hipertensão glomerular, o que ajuda a entender por que é por vezes tão difícil discernir os respectivos papéis de cada um desses fatores na patogênese da glomerulosclerose. Em primeiro lugar, e novamente em consonância com a lei de Laplace, um aumento do raio de um capilar deve aumentar a tensão imposta sobre sua parede, exatamente como faria uma hipertensão intracapilar. Assim, mesmo na ausência desta última, pode ocorrer aumento da proliferação celular e da produção de matriz extracelular, conforme discutido acima (não há registro de lesão endotelial atribuída à hipertrofia glomerular). Também, à semelhança da hipertensão glomerular, que pode distender a parede capilar[44], o aumento exagerado do tufo pode não ser acompanhado pelos podócitos, incapazes de se dividir, levando assim à ruptura localizada do epitélio visceral e à formação de aderências, inicialmente localizadas, ao folheto parietal da cápsula de Bowman[49] e/ou à formação de depósitos hialinos subendoteliais[48]. Tendo em vista o fato de que hipertrofia e hipertensão glomerulares compartilham tantos mecanismos patogênicos, não chega a ser surpreendente que a glomerulosclerose possa se desenvolver na ausência de uma ou de outra, nem tampouco o fato de que a associação entre os dois fatores possa acelerar o desenvolvimento do processo[51]. Talvez seja mais adequado, portanto, reunir os efeitos da hipertensão glomerular (um mecanismo "não-hemodinâmico") e da hipertrofia glomerular (um mecanismo "hemodinâmico") no conceito mais amplo de *agressão mecânica ao glomérulo.*

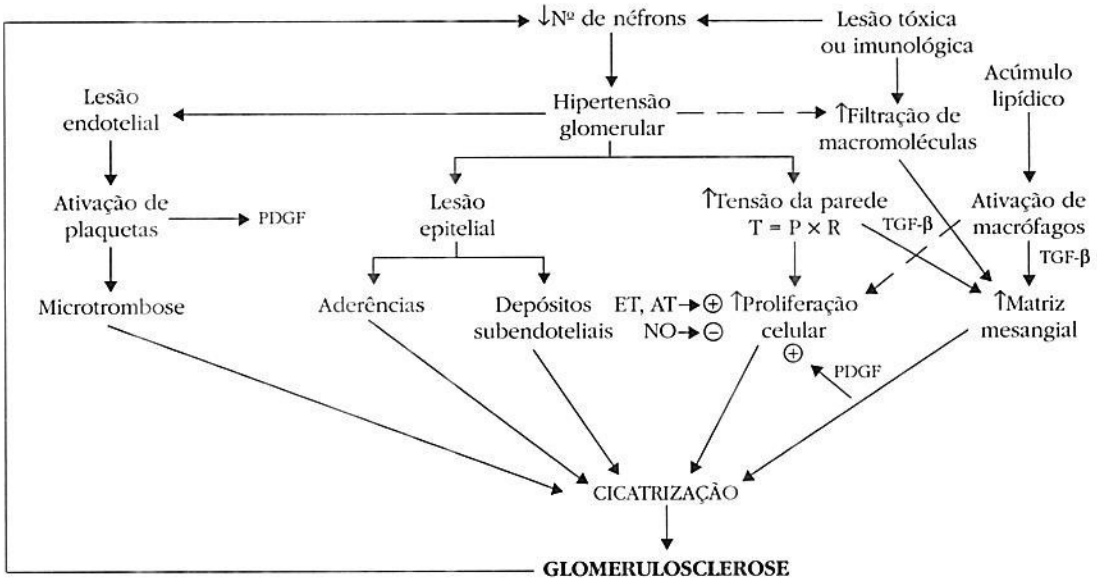


Figura 9.3 – Representação esquemática global dos fatores de lesão glomerular progressiva.

A patogênese extremamente complexa das glomerulopatias progressivas não se limita à interação entre hipertrofia e hipertensão glomerulares (ver Fig. 9.2). Outros mecanismos patogênicos de natureza não-hemodinâmica e independentes de agressão mecânica à parede glomerular podem também participar desse processo. Por exemplo, várias doenças glomerulares e modelos experimentais de doença renal podem comprometer a função de barreira do glomérulo, levando em conseqüência ao aparecimento de proteinúria grave, a qual pode exercer um efeito tóxico sobre as células do próprio glomérulo[4]. A ativação de macrófagos devido à presença de lipoproteínas ou em conseqüência de uma agressão tóxica ou imunológica é outro mecanismo possível de lesão glomerular, podendo levar à formação de células espumosas e à acumulação de lípides na região mesangial[8]. A ativação de mecanismos celulares por compostos vasoativos tais como a angiotensina II[15] e a endotelina[16], ou fatores de crescimento, tais como o TGF-β[14] e o PDGF[13], assim como sua modulação por radicais livres tais como o óxido nítrico[17], poderiam ser também definidos como mecanismos não-hemodinâmicos de lesão glomerular, embora possa ser difícil discernir entre os efeitos "hemodinâmicos" e os "não-hemodinâmicos" desses compostos. Tal como discutido em relação aos fatores hemodinâmicos, os mecanismos não-hemodinâmicos de lesão glomerular podem ter seus efeitos agravados pela perda de néfrons e conseqüente sobrecarga às unidades remanescentes, a qual pode agravar a hipertrofia e a hipertensão glomerulares.

A natureza intricada do processo que leva à esclerose glomerular pode ser mais bem avaliada ao reunirmos os fatores "hemodinâmicos" e "não-hemodinâmicos" em um único esquema (Fig. 9.3). Um exame superficial dessa figura, inevitavelmente complicada, é suficiente para concluirmos que a aplicação de uma lógica simples e linear a esse sistema pode levar a conclusões inteiramente equivocadas. Talvez fosse mais adequado classificar esses eventos em "proximais" e "distais", ao invés de "hemodinâmicos" e "não-hemodinâmicos" ou "mecânicos" e "não-mecânicos". Poderíamos designar como "proximais" aqueles fatores que, apesar de não diretamente relacionados ao processo de glomerulosclerose, podem deflagrar uma série de reações que terminam por levar à cicatrização do glomérulo. A hipertensão e a hipertrofia glomerulares constituem exemplos de fatores pertencentes a esse grupo, já que tudo indica serem capazes de deflagrar uma complexa seqüência de eventos adversos elevando a tensão da parede glomerular e promovendo lesão de células endoteliais e de podócitos. Por um raciocínio semelhante, os mecanismos capazes de promover proteinúria grave também poderiam ser encarados como "proximais". As agressões tóxicas ou imunológicas ao glomérulo poderiam também ser classificadas nessa categoria. Em contrapartida, os eventos mais diretamente ligados ao processo de esclerose propriamente dito, tais

como a deposição de colágeno e a proliferação de fibroblastos e outras células, poderiam ser classificados como "distais".

Vamos supor que queiramos testar a hipertensão glomerular (um evento "proximal", de acordo com nossa definição) enquanto fator de lesão glomerular. Vamos supor ainda que consigamos deter esse processo utilizando, digamos, um hipotético antagonista do TGF-β que bloqueie completamente a produção anômala de matriz mesangial. Nesse caso, teremos ainda hipertensão glomerular num contexto do qual a glomerulosclerose não mais faz parte. Seria correta a conclusão de que a hipertensão intracapilar nada tem a ver com o processo que leva à esclerose glomerular? Suponhamos agora uma outra situação na qual a lesão glomerular crônica tenha sido iniciada por um processo não-hemodinâmico tal como, por exemplo, a ativação de macrófagos por acúmulo local de lípides. Nesse caso, a esclerose glomerular ter-se-á desenvolvido na ausência de qualquer alteração da hemodinâmica glomerular ou de hipertrofia do tufo. Tal achado obviamente não implica que a hipertensão glomerular não participe do processo de lesão glomerular crônica, embora seja essa precisamente a conclusão a que se chegaria utilizando uma lógica simples e linear para a interpretação do problema.

NOVAS PERSPECTIVAS

Nossa crescente compreensão de que a glomerulosclerose progressiva é um processo complexo e multifacetado tem encorajado o surgimento de experimentos mais sofisticados, planejados para investigar a complexa interação entre os diversos fatores patogênicos ali envolvidos. Lee e cols[52] verificaram que, em ratos com ablação renal, nos quais a pressão hidráulica glomerular estava bastante elevada, as células endoteliais produziam grandes quantidades de TGF-β, angiotensinogênio, fibronectina e laminina várias semanas antes do aparecimento de glomerulosclerose, sugerindo uma conexão entre eventos mecânicos e alterações da biologia celular capazes de conduzir à cicatrização glomerular. Kriz e cols[53] administraram fator de crescimento de fibroblastos (FGF) a ratos durante 13 semanas e obtiveram, além de uma considerável hipertrofia glomerular, um aumento acentuado da atividade mitótica dos podócitos. Como, no entanto, os podócitos são células extremamente especializadas, sua capacidade de dividir-se é muito limitada, o que fazia com que o processo de divisão celular não chegasse a se consumar. Em conseqüência dessa limitação, formavam-se células binucleadas e frágeis, que muitas vezes terminavam por se desintegrar, levando à exposição da membrana basal e conseqüente formação de aderências à cápsula de Bowman, conforme descrito acima. Esses investigadores demonstraram a evolução do processo para estágios mais avançados, com formação de aderências cada vez mais extensas, chegando à esclerose global do tufo glomerular e demonstrando que a lesão do podócito, de natureza mecânica ou não, pode realmente desempenhar um papel-chave na patogênese das glomerulopatias progressivas.

Seguindo uma linha inteiramente diversa, Isaka e cols[54] realizaram experimentos de transfecção seletiva do tecido renal de ratos com plasmídeos contendo genes para o TGF-β e para o PDGF. Após uma semana, notaram que os ratos transfectados desenvolveram processos distintos de glomerulosclerose, cujas características morfológicas dependiam do gene que haviam recebido: os transfectados com o TGF-β exibiam acentuada expansão da matriz mesangial, enquanto aqueles que expressavam um excesso de PDGF eram caracterizados por acentuada proliferação de células mesangiais e por lobulação do tufo glomerular. É possível que ambos os processos, expansão matricial e proliferação celular, coexistam na glomerulosclerose humana, e que as características morfológicas, biológicas e clínicas características desta última sejam ditadas, em última análise, pela expressão relativa de cada um desses fatores. Poderíamos interpretar esses achados como indicativos de que o processo de glomerulosclerose pode ser desencadeado por ativação direta de mecanismos "distais", como a proliferação celular e a expansão desordenada da matriz mesangial.

Outra via de investigação nesse sentido foi aberta recentemente com a descoberta de que células mesangiais em cultura são sensíveis a estímulos mecânicos. Harris e cols[45,46] demonstraram que a aplicação a essas células de um estiramento cíclico estimula sua proliferação, medida pela contagem celular, pela produção de DNA e pela indução de protoncogenes, bem como sua atividade metabólica, avaliada pela biossíntese de prostaglandinas. Em um estudo semelhante, Riser e cols[47] verificaram que o estiramento cíclico de células mesangiais cultivadas elevava sua produção de colágeno, fibronectina e laminina, componentes tipicamente associados à matriz mesangial. Em uma verdadeira contrapartida *in vivo* desses experimentos, Shankland e cols demonstraram que a elevação aguda da pressão intraglomerular leva a um aumento acentuado da produção de TGF-β e de PDGF pelo glomérulo[55]. Esses achados deixam claro que, independente das evi-

dências obtidas *in vivo* e das controvérsias a elas associadas, a agressão mecânica à parede glomerular, tal como a promovida pela hipertensão glomerular, pode, sim, iniciar a cascata de eventos que culmina na cicatrização do glomérulo. Para isso é necessária a ativação de uma série de etapas intermediárias, tais como a proliferação de células glomerulares e a produção exagerada de matriz extracelular, possivelmente com a participação de citocinas e fatores de crescimento tais como o PDGF e o TGF-β.

Em resumo, uma série de evidências indica que a agressão mecânica ao glomérulo, desencadeada pela hipertensão glomerular e, ao que tudo indica, também pela hipertrofia glomerular, desempenha um papel fundamental na patogênese das glomerulopatias progressivas. Outras evidências, no entanto, sugerem que as glomerulopatias progressivas constituem o resultado final de uma série complexa de eventos inter-relacionados, a qual pode ser deflagrada de várias maneiras e com diferentes intensidades. Já sabemos, pelo menos em certas circunstâncias, como interromper ou pelo menos retardar esse processo intervindo em determinados pontos dessa complicada cadeia de eventos. É de se esperar que uma melhor compreensão sobre a natureza desses eventos e sobre a maneira como se relacionam venha a nos oferecer mais pontos onde intervir e, num futuro ainda distante, a capacidade de prevenir com eficácia essa complexa doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRENNER BM: Nephron adaptation to renal injury or ablation. *Am J Physiol* 249:F324-F337, 1985.
2. YOSHIDA Y, FOGO A, ICHIKAWA I: Glomerular hemodynamic changes vs. hypertrophy in experimental glomerular sclerosis. *Kidney Int* 35:654-660, 1989.
3. OLSON JL, De URDANETA AG, HEPTINSTALL RH: Glomerular hyalinosis and its relation to hyperfiltration. *Lab Invest* 52:387-398, 1985.
4. BENIGNI A, ZOJA C, REMUZZI G: The renal toxicity of sustained glomerular protein traffic. *Lab Invest* 73:461-468, 1995.
5. JOLES JA, VANGOOR H, VANDERHORST MLC, VANTOL A, ELEMA JD, KOOMANS HA: High lipid levels in very low density lipoprotein and intermediate density lipoprotein may cause proteinuria and glomerulosclerosis in aging female analbuminemic rats. *Lab Invest* 73:912-921, 1995.
6. SCHLONDORFF D: Cellular mechanisms of lipid injury in the glomerulus. *Am J Kidney Dis* 22:72-82, 1993.
7. SCHMITZ PG, O'DONNELL MP, KASISKE BL, KATZ SA, KEANE WF: Renal injury in obese Zucker rats: glomerular hemodynamic alterations and effects of enalapril. *Am J Physiol* 263:F496-F502, 1992.
8. DIAMOND JR, DING G, FRYE J, DIAMOND IP: Glomerular macrophages and the mesangial proliferative response in the experimental nephrotic syndrome. *Am J Pathol* 141:887-894, 1992.
9. FLOEGE J, BURNS MW, ALPERS CE, YOSHIMURA A, PRITZ P, GORDON K, SEIFERT RA, BOWEN-POPE DF, COUSER WG, JOHNSON RJ: Glomerular cell proliferation and PDFG expression precede glomerulosclerosis in the remmant kidney model. *Kidney Int* 41:297-309, 1992.
10. STEFFES MW, OSTERBY R, CHAVERS B, MAUER SM: Mesangial expansion as a central mechanism for loss of kidney function in diabetic patients. *Diabetes* 38:1077-1081, 1989.
11. KAGAMI S, BORDER WA, MILLER DE, NOBLE NA: Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor-beta expression in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* 93:2431-2437, 1994.
12. MAKINO H, YAMASAKI Y, HIRONAKA K, OTA Z: Glomerular extracellular matrices in rat diabetic glomerulopathy by scanning electron microscopy. *Virch Arch B Cell Pathol* 62:19-24, 1992.
13. ABBOUD HE: Role of platelet-derived growth factor in renal injury. *Annu Rev Physiol* 57:297-309, 1995.
14. YANG CW, HATTORI M, VLASSARA H, HE CJ, CAROME MA, YAMATO E, ELLIOT S, STRIKER GE, STRIKER LJ: Overexpression of transforming growth factor-beta 1 mRNA is associated with up-regulation of glomerular tenascin and laminin gene expression in nonobese diabetic mice. *J Am Soc Nephrol* 5:1610-1617, 1995.
15. JOHNSON RJ, ALPERS CE, YOSHIMURA A, LOMBARDI D, PRITZL P, FLOEGE J, SCHWARTZ SM: Renal injury from angiotensin II-mediated hypertension. *Hypertension* 19:464-474, 1992.
16. BENIGNI A, ZOJA C, CORNA D, ORISIO S, LONGARETTI L, BERTANI T, REMUZZI G: A specific endothelin subtype A receptor antagonist protects against injury in renal disease progression. *Kidney Int* 44:440-444, 1993.
17. FUJIHARA CK, DE NUCCI G, ZATZ R: Chronic nitric oxide inhibition aggravates glomerular injury in rats with subtotal nephrectomy. *J Am Soc Nephrol* 5:1498-1507, 1995.
18. HOSTETTER TH, OLSON JL, RENNKE HG, VENKATACHALAM MA, BRENNER BM: Hyperfiltration of remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 241:F85-F93, 1981.
19. HOSTETTER TH, TROY JL, BRENNER BM: Glomerular hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int* 19:410-415, 1981.
20. DWORKIN LD, HOSTETTER TH, RENNKE HG, BRENNER BM: Hemodynamic basis for glomerular injury in rats with desoxycorticosterone-salt hypertension. *J Clin Invest* 73:1448-1461, 1984.
21. ANDERSON S, MEYER TW, RENNKE HG, BRENNER BM: Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest* 76:612-619, 1985.
22. ANDERSON S, RENNKE HG, BRENNER BM: Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat. *J Clin Invest* 77:1993-2000, 1986.
23. ZATZ R, DUNN BR, MEYER TW, ANDERSON S, RENNKE HG, BRENNER BM: Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 77:1925-1930, 1986.
24. FUJIHARA CK, PADILHA RM, ZATZ R: Glomerular abnormalities in long-term experimental diabetes: Role of hemodynamic and nonhemodynamic factors and effects of antihypertensive therapy. *Diabetes* 41:286-293, 1992.
25. ANDERSON S, RENNKE HG, GARCIA DL, BRENNER BM: Short and long term effects of antihypertensive therapy in the diabetic rat. *Kidney Int* 36:526-536, 1989.
26. LEWIS EJ, HUNSICKER LG, BAIN RP, ROHDE RD: The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group [see comments *N Engl J Med* 330(2):152, 1993] *N Engl J Med* 329(20:1456-1462, 1993.

27. HANNEDOUCHE T, LANDAIS P, GOLDFARB B, EI ESPER N, FOURNIER A, GODIN M, DURAND D, CHANARD J, MIGNON F, SUC JM, GRÜNFELD JP: Randomised controlled trial of enalapril and β blockers in non-diabetic chronic renal failure. *BMJ* 309:833-837, 1994.
28. VIBERTI G, MOGENSEN CE, GROOP LC, PAULS JF: Effect of captopril on progression to clinical proteinuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and microalbuminuria. European Microalbuminuria Captopril Study Group [see comments]. *JAMA* 271:275-279, 1994.
29. LAFFEL LMB, McGILL JB, GANS DJ: The beneficial effect of angiotensin-converting enzyme inhibition with captopril on diabetic nephropathy in normotensive IDDM patients with microalbuminuria. *Am J Med* 99:497-504, 1995.
30. CLOSE CF, COLLINS A, GREGORY W, HILL C, JARRETT RJ, JONES SL, KEEN H, SCOTT GS, VIBERTI G, VORA H, YIP J, GRENFELL A, MACKIE A, SAMPSON MJ, WATKINS PJ, FISHWICK C, GATLING W, HILL RD, THOMSON M, MARSHALL SM, COATES P, OWENS DR, PETERS JR, VORA B, WARREN S: Intensive therapy and progression to clinical albuminuria in patients with insulin dependent diabetes mellitus and microalbuminuria. *BMJ* 311:973-977, 1995.
31. KLAHR S, LEVEY AS, BECK GJ, CAGGIULA AW, HUNSICKER L, KUSEK JW, STRIKER G, BUCKALEW V, BURKART J, FURBERG C, FELTS J, MOORE M, ROCCO H, DOLECEK T, WARREN S, BEARDEN B, STARKEY C, HARVEY J, POOLE D, DAHLQUIST S, DOROSHENKO L, BRADHAM K, WEST D, AGOSTINO J, COLE L, BAKER B, HAIRSTON K, BURGOYNE S, LAZARUS J, STEINMAN T, SEIFTER J, DESMOND M, FIORENZO M, CHIAVACCI A, METALIDES T, KORZECRAMIREZ D, GOULD S, PICKETT V, PORUSH J, FAUBERT P, SPITALEWITZ S, FAUBERT J, ZIMMER G, SAUM D, BLOCK M, WOEL J, ROSE M, DENNIS V, SCHWAB S & cols.: The effects of dietary protein restriction and blood-pressure control on the progression of chronic renal disease. *N Engl J Med* 330:877-884, 1994.
32. BROWN SA, WALTON CL, CRAWFORD P, BAKRIS GL: Long-term effects of antihypertensive regimens on renal hemodynamics and proteinuria. *Kidney Int* 43:1210-1218, 1993.
33. LAX DS, BENSTEIN JA, TOLBERT E, DWORKIN LD: Effects of salt restriction on renal growth and glomerular injury in rats with remnant kidneys. *Kidney Int* 41:1527-1534, 1992.
34. DANIELS BS, HOSTETTER TH: Adverse effects of growth in the glomerular microcirculation. *Am J Physiol* 258:F1409-F1416, 1990.
35. O'DONNELL MP, KASISKE BL, CLEARY MP, KEANE WF: Effects of genetic obesity on renal structure and function in the Zucker rat. II. Micropuncture studies. *J Lab Clin Med* 106:605-610, 1985.
36. FUJIHARA CK, LIMONGI DMZP, FALZONE R, GRAUDENZ MS, ZATZ R: Pathogenesis of glomerular sclerosis in subtotally nephrectomized analbuminemic rats. *Am J Physiol* 261:F256-F264, 1991.
37. MEYER TW, RENNKE HG: Progressive glomerular injury after limited renal infarction in the rat. *Am J Physiol* 254:F856-F862, 1988.
38. ANDERSON S, RENNKE HG, ZATZ R: Glomerular adaptations with normal aging and with long-term converting enzyme inhibition in rats. *Am J Physiol* 267:F35-F43, 1994.
39. SIMONS JL, PROVOOST AP, ANDERSON S, RENNKE HG, TROY JL, BRENNER BM: Modulation of glomerular hypertension defines susceptibility to progressive glomerular injury. *Kidney Int* 46:396-404, 1994.
40. LAFFERTY HM, GARCIA DL, RENNKE HG, TROY JL, ANDERSON S, BRENNER BM: Anemia ameliorates progressive renal injury in experimental DOCA-salt hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1:1180-1185, 1991.
41. ANDERSON S, RENNKE HG, BRENNER BM: Nifedipine versus fosinopril in uninephrectomized diabetic rats. *Kidney Int* 41:891-897, 1992.
42. KIMURA K, TOJO A, HIRATA Y, MATSUOKA H, SUGIMOTO T: Morphometric analysis of renal arterioles in subtotally nephrectomized rats. *J Lab Clin Med* 122:273-283, 1993.
43. FALK SA, BURIC V, HAMMOND WS, CONGER JD: Serial glomerular and tubular dynamics in thyroidectomized rats remnant kidneys. *Am J Kidney Dis* 17:218-227, 1991.
44. CORTES P, ZHAO XY, RISER BL, NARINS RG: Regulation of glomerular volume in normal and partially nephrectomized rats. *Am J Physiol* 39:F356-F370, 1996.
45. HARRIS RC, HARALSON MA, BADR KF: Continuous stretch-relaxation in culture alters rat mesangial cell morphology, growth characteristics, and metabolic activity [see comments]. *Lab Invest* 66:548-554, 1992.
46. AKAI Y, HOMMA T, BURNS KD, YASUDA T, BADR KF, HARRIS RC: Mechanical stretch/relaxation of cultured rat mesangial cells induces protooncogenes and cyclooxygenase. *Am J Physiol* 267:C482-C490, 1994.
47. RISER BL, CORTES P, ZHAO X, BERNSTEIN J, DUMLER F, NARINS RG: Intraglomerular pressure and mesangial stretching stimulate extracellular matrix formation in the rat. *J Clin Invest* 90:1932-1943, 1992.
48. FRIES JWU, SANDSTROM DJ, MEYER TW, RENNKE HG: Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. *Lab Invest* 60:205-218, 1989.
49. NAGATA M, KRIZ W: Glomerular damage after uninephrectomy in young rats. II. Mechanical stress on podocytes as a pathway to sclerosis. *Kidney Int* 42:148-160, 1992.
50. GROND J, BEUKERS JY, SCHILTHUIS MS, WEENING JJ, ELEMA JD: Analysis of renal structural and functional features in two rat strains with a different susceptibility to glomerular sclerosis. *Lab Invest* 54:77-83, 1986.
51. MILLER PL, RENNKE HG, MEYER TW: Glomerular hypertrophy accelerates hypertensive glomerular injury in rats. *Am J Physiol* 261:F459-F465, 1991.
52. LEE LK, MEYER TW, POLLOCK AS, LOVETT DH: Endothelial cell injury initiates glomerular sclerosis in the rat remnant kidney. *J Clin Invest* 96:953-964, 1995.
53. FLOEGE J, KRIZ W, SCHULZE M, SUSANI M, KERJASCHKI D, MOONEY A, COUSER WG, KOCH KM: Basic fibroblast growth factor augments podocyte injury and induces glomerulosclerosis in rats with experimental membranous nephropathy. *J Clin Invest* 96:2809-2819, 1995.
54. ISAKA Y, FUJIWARA Y, UEDA N, KANEDA Y, KAMADA T, IMAI E: Glomerulosclerosis induced by in vivo transfection of transforming growth factor-beta or platelet-derived growth factor gene into the rat kidney. *J Clin Invest* 92:2597-2601, 1993.
55. SHANKLAND SJ, LY H, THAI K, SCHOLEY JW: Increased glomerular capillary pressure alters glomerular cytokine expression. *Circ Res* 75:844-853, 1994.

10

GLOMERULONEFRITE MEMBRANOPROLIFERATIVA IDIOPÁTICA

Maria Fernanda C. Carvalho
Marcello Fabiano de Franco
Vitor A. Soares

◆

INTRODUÇÃO

A glomerulonefrite membranoproliferativa (GNMP) foi reconhecida como entidade isolada a partir dos trabalhos de West e cols (1965)[1] e Gotoff e cols (1965)[2]. Esta se caracteriza por hipercelularidade do tufo capilar, principalmente à custa da proliferação de células mesangiais e espessamento difuso da membrana basal glomerular[3-13]. O espessamento pode ser decorrente da presença de depósitos subendoteliais e interposição de células mesangiais entre a membrana basal glomerular e o endotélio (GNMP tipo I)[3-6,9-13] ou devido à deposição de material elétron-denso no interior da membrana basal glomerular (GNMP tipo II)[4,5,8,11,14-19]. Outras variantes da GNMP tipo I têm sido descritas[20-25].

Vários outros nomes, tais como glomerulonefrite hipocomplementêmica, glomerulonefrite lobular, glomerulonefrite mesangial crônica, glomerulonefrite parietoproliferativa, glomerulonefrite mesangiocapilar, têm sido propostos para designar essa entidade. Atualmente, os termos mais utilizados são: GNMP ou glomerulonefrite mesangiocapilar.

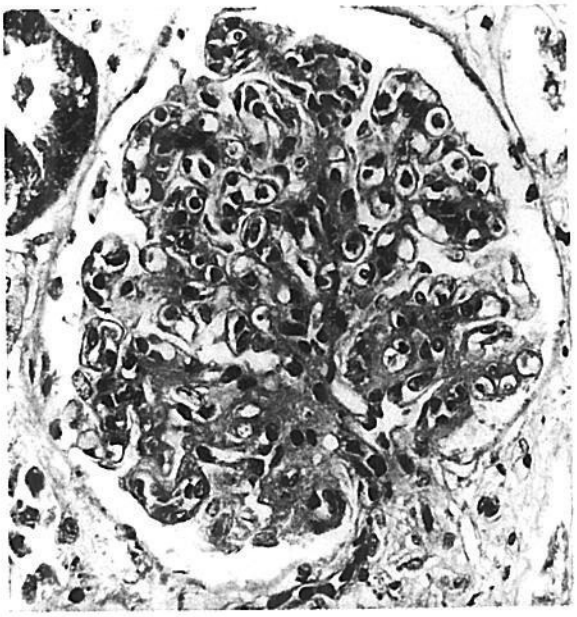


Figura 10.1 – Acentuação da lobulação glomerular, aumento de celularidade e espessamento de membrana basal glomerular em paciente com glomerulonefrite membranoproliferativa (microscopia óptica, aumento original 400×).

ANATOMIA PATOLÓGICA

GLOMERULONEFRITE MEMBRANOPROLIFERATIVA TIPO I

Microscopia óptica

Este tipo se caracteriza, à microscopia óptica, pela presença de hipercelularidade glomerular, expansão da matriz mesangial e duplicação da membrana basal glomerular, que pode ser focal ou difusa[3-6,9-11,13] (Fig. 10.1). A hipercelularidade é devido, principalmente, à proliferação mesangial, porém, em alguns casos, existe também um processo exsudativo glomerular[4,5,11]. Quando a proliferação celular e a expansão da matriz mesangial são muito intensas, ocorre acentuação do caráter lobular dos glomérulos[9,26,27].

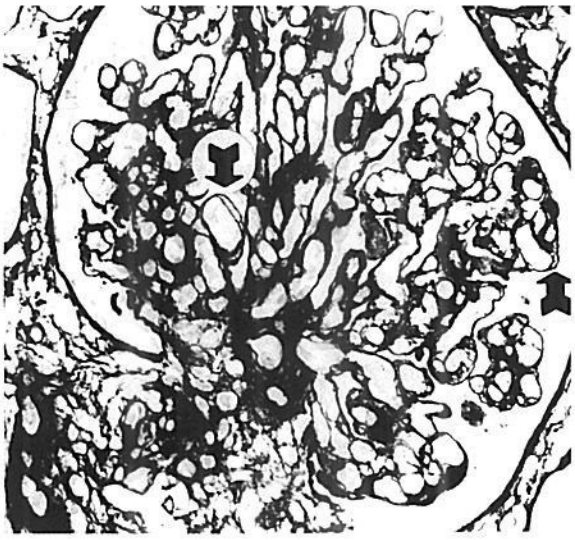


Figura 10.2 – Focos de duplicação da membrana basal glomerular (ver setas) em paciente portador de glomerulonefrite membranoproliferativa tipo I (microscopia óptica, aumento original 400×).

Figura 10.3 – Interposição de célula mesangial (M), duplicação de membrana basal e depósitos subendoteliais (seta) em paciente portador de glomerulonefrite membranoproliferativa tipo I (microscopia eletrônica, aumento original 8.000×).

Quando se utiliza a coloração por sais de prata, observa-se que a membrana basal glomerular apresenta-se como duas linhas pretas, separadas por uma zona clara, o que dá um aspecto de duplicação. Esta duplicação geralmente é focal e freqüentemente envolve apenas segmentos das alças capilares[4,5,11,23,27,28] (Fig. 10.2). O seu achado, embora sugestivo do diagnóstico, não é patognomônico, uma vez que a duplicação tem sido descrita em outras doenças renais[29] e até mesmo em glomérulos normais[30].

Crescentes pequenos podem ser vistos com certa freqüência, circulares podem ser vistos em torno de 10 a 20% dos casos[4,5,11,26].

Microscopia eletrônica

As lesões do capilar glomerular são mais bem definidas com o uso do microscópio eletrônico. A imagem de duplicação da membrana basal glomerular, vista à microscopia óptica, é decorrente da existência de membrana basal glomerular normal e de uma nova membrana basal formada imediatamente abaixo das células endoteliais. Entre essas duas membranas existem prolongamentos da célula mesangial, citoplasma da célula endotelial e depósitos densos (Fig. 10.3).

Os depósitos elétron-densos geralmente são pequenos ou intermediários e se localizam no espaço subendotelial, mais precisamente no prolongamento da célula mesangial. Pequenos depósitos mesangiais são também vistos principalmente na fase inicial da doença. Outras alterações observadas são presença de expansão da matriz mesangial e aumento da celularidade principalmente à custa de células mesangiais[3-6,9-11,13].

Em 1970, Burkholder e cols[20] descreveram 11 pacientes que apresentavam, além das alterações típicas de GNMP tipo I, espículas da membrana basal glomerular à microscopia óptica e depósitos subepiteliais à microscopia eletrônica, aspecto esse semelhante ao observado na glomerulonefrite membranosa. Este tipo de glomerulonefrite foi denominado como "mixed membranous and proliferative glomerulonephritis".

Em alguns pacientes com GNMP tipo I observaram-se também ruptura e replicação da lâmina densa e presença de grandes depósitos ocupando toda a membrana basal. Este tipo de alteração foi denominado GNMP tipo III[21-25].

Microscopia de imunofluorescência

A deposição de imunoglobulinas e complemento localiza-se na membrana basal glomerular e no mesângio, tem intensidade variável e padrão fino ou grosseiramente granular[4,5,11] (Fig. 10.4).

A maioria dos pacientes apresenta deposição de complemento e imunoglobulinas, principalmente IgG e IgM. IgA tem sido encontrada menos freqüentemente[9,31-33], enquanto uma pequena parte dos pacientes apresenta apenas deposição

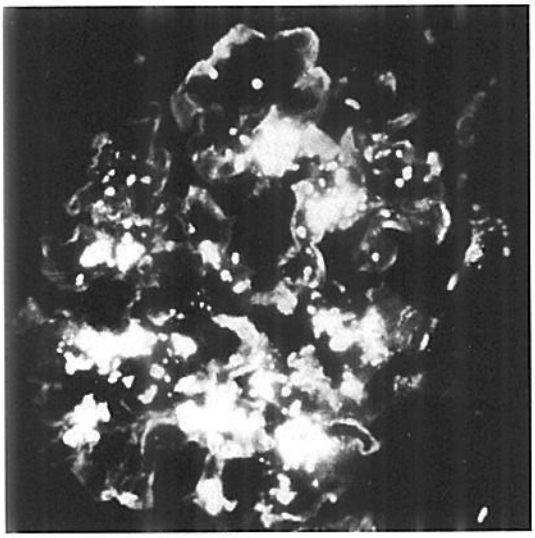


Figura 10.4 – Deposição granular de IgG ao longo da membrana basal glomerular e na região mesangial em paciente portador de glomerulonefrite membranoproliferativa (microscopia de imunofluorescência, aumento original 400×).

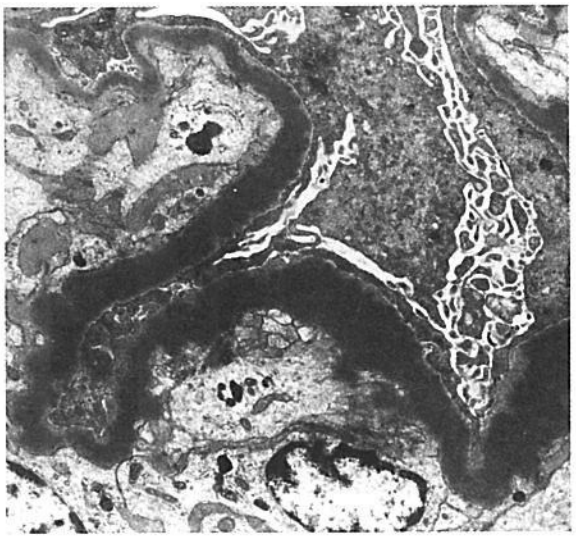


Figura 10.5 – Deposição linear de material elétron-denso ao longo da membrana basal glomerular em paciente portador de glomerulonefrite membranoproliferativa tipo II (microscopia eletrônica, aumento original 10.000×).

de complemento[31,32,34]. Em relação aos diferentes componentes do sistema complemento, o C3 é encontrado em praticamente 100% dos pacientes, enquanto C1q e C4, em torno de 60 a 100% das biopsias[31,34,35].

GLOMERULONEFRITE MEMBRANOPROLIFERATIVA TIPO II

Microscopia óptica

As lesões observadas na GNMP tipo II são muito semelhantes às observadas nas do tipo I, porém, a duplicação de membrana basal glomerular é mais rara, e crescentes circunferenciais podem ser observados mais freqüentemente[4,5,8,11].

Microscopia eletrônica

O aspecto da microscopia eletrônica característico desta lesão é a deposição linear, na lâmina densa, de uma substância com grande afinidade pelo chumbo e pelos sais de uranila, o que lhe confere elétron-densidade várias vezes maior que os componentes normais da membrana basal glomerular (Fig. 10.5). Algumas vezes, a maior parte da lâmina densa pode estar envolvida, outras vezes existe alternância de segmentos normais com segmentos alterados[4,5,8,11,14,15]. Depósitos idênticos têm sido vistos tanto na cápsula de Bowman como na membrana basal tubular[4,5,8,11,18,19,36].

Depósitos finamente granulares, ao invés de lineares, foram descritos por King e cols[37], que propuseram que essa lesão pudesse ser uma variação da GNMP tipo II.

Além dos depósitos, a expansão da matriz mesangial e a hipercelularidade também estão presentes[4,5,11].

Microscopia de imunofluorescência

A deposição de complemento ocorre em praticamente 100% dos casos e a de imunoglobulinas, menos freqüentemente, tanto na membrana basal glomerular como no mesângio. Na membrana basal, os padrões dessa deposição têm sido descritos como granular, linear, pseudolinear, rugoso e nodular. No mesângio ocorre deposição sob a forma de grânulos esparsos que podem ou não ser confluentes[4-6,8,11,17,18].

Dentre as imunoglobulinas, a IgM é a mais encontrada, variando entre 25 e 80%[12,17,18,33] das biopsias; a IgG freqüentemente está ausente[17,33], porém, alguns autores relataram encontrar deposição dessa imunoglobulina em até 80% dos casos[12,18].

Depósitos de C3 ocorrem em praticamente 100% das biopsias, o mesmo acontecendo com a properdina[8,12,17,18,33]. Os componentes iniciais do sistema complemento (C1q e C4) raramente estão presentes[8,12,17,18,35].

Kim e cols[39] demonstraram que o complemento se localiza na periferia do depósito elétron-denso, o que determina o aspecto peculiar da GNMP tipo II. Os depósitos da membrana basal, quando analisados em grande aumento, têm a aparência de duas linhas paralelas, semelhantes à linha de trem; os mesangiais são positivos apenas na borda externa, o que lhes confere um aspecto de anel.

INCIDÊNCIA, IDADE E SEXO

Dentre 65 biopsias renais de pacientes portadores de glomerulonefrite, atendidos no período de 1970 a 1977 em nosso Serviço, a GNMP esteve presente em 10 pacientes (15%)[40]. A freqüência desta doença varia entre 3 e 16% dentre as nefropatias[7,41-43]. Recentemente, tem sido proposto que a sua freqüência esteja diminuindo[44,45]. Belgiojoso e cols[44] relataram que a freqüência desta doença na Itália, no período compreendido entre 1972 e 1975, foi de 21%, no de 1976 e 1979, de 14% e em 1980 e 1983, de 6%; esta redução, no entanto, não parece ser universal[46].

Dentre os diferentes tipos de GNMP, o tipo I é o mais freqüente, variando entre 60 e 90% das GNMP[9,26,28,33]. Na Escócia, entretanto, Swainson e cols[12] relataram maior freqüência do tipo II (57,5%).

A glomerulonefrite membranoproliferativa é predominantemente uma doença de indivíduos jovens, podendo ocorrer, no entanto, em qualquer faixa etária[1,2,9,12,26,27,33,47-49,51-54]. Em nossa casuística, de 22 pacientes adultos, a idade variou entre 12 e 51 anos; 68% apresentavam idade inferior a 30 anos[47]. Pacientes com GNMP tipo II geralmente são mais jovens[33].

Em relação ao sexo, a maioria dos autores tem relatado discreto predomínio do sexo feminino (52 a 58%)[3,8,10,12,26,27,33,52], porém, discreta preponderância do sexo masculino também tem sido relatada[47,49].

QUADRO CLÍNICO E HISTÓRIA NATURAL

A presença de infecções de vias aéreas superiores antecedendo o aparecimento da GNMP tem sido relatada em torno de 40%[3,9,26,27,33,49,53]. A importância deste achado é difícil de se avaliar, uma vez que este tipo de infecção apresenta alta prevalência na população geral e nenhum dos autores comparou os seus achados aos da população geral. Swainson e cols[12] relataram que 37% dos pacientes por eles estudados tinham sido submetidos a apendicectomia, valores estes significativamente mais elevados do que os encontrados na população geral. Essa observação nunca foi confirmada ou negada por outros autores.

A apresentação clínica destes pacientes é bastante variável (Tabela 10.1). Síndrome nefrótica na primeira consulta ocorre entre 42 e 72% dos pacientes; em torno de 20% apresentam síndrome nefrítica aguda; hematúria e proteinúria assintomática é outro modo de apresentação desta nefropatia, variando entre 17 e 27% dos casos. Entre 5 e 10% dos pacientes procuram atendimento médico à hematúria macroscópica recorrente[3,6,8,9,12,19,26,27,33,47,48,49,52,54,55]. Segundo Cameron e cols[33], a síndrome nefrítica aguda ocorre com maior freqüência em pacientes mais jovens.

Tabela 10.1 – Apresentação clínica dos pacientes portadores de glomerulonefrite membranoproliferativa.

Apresentação clínica	%
Síndrome nefrótica	42-72
Síndrome nefrítica aguda	15-20
Hematúria e proteinúria assintomática	15-30
Hematúria macroscópica recorrente	5-10

A presença de hipertensão arterial varia entre 40 e 75%[3,12,26,27,33,48], porém, os diferentes autores têm definido hipertensão arterial como pressão arterial diastólica superior a 95mmHg[33,48] ou a 100mmHg[12,26]. Como a hipertensão arterial presente nesta nefropatia geralmente é leve, a sua freqüência provavelmente está subestimada. Quando se define hipertensão arterial como pressão arterial diastólica maior que 90mmHg, como preconizado[55], observa-se que 95% dos pacientes estudados são hipertensos[47]. A análise da casuística de Mandalenakis e cols[27] e de Swainson e cols[12] demonstra que em torno de 95% dos pacientes estudados por esses autores apresentavam pressão arterial diastólica superior a 90mmHg.

Diminuição da filtração glomerular na primeira consulta ocorre entre 40 e 60% dos pacientes[12,26,27,33,47,48,51], sendo que entre 10 e 25% apresentam depuração da creatinina endógena inferior a 40ml/min[12,52], ou creatinina sérica superior a 5mg/dl[27,47]. Pacientes com insuficiência renal grave na primeira consulta devem ser estudados no sentido de se excluir outras causas que não a lesão glomerular como responsável pela queda da depuração endógena de creatinina. Soares e cols[56] relataram que, de quatro casos que apresentavam creatinina sérica superior a 5mg/dl na primeira consulta, dois tinham também necrose tubular aguda. Esses dois pacientes recuperaram a função renal, e um deles 15 anos após apresen-

ta-se com função renal normal, o outro foi a óbito por causa não renal com creatinina sérica inferior a 1,5mg/dl.

A insuficiência renal na primeira consulta ocorre mais freqüentemente em pacientes com idade superior a 15 anos[33], associa-se à hipertensão arterial[51,52] e não tem relação com a presença de síndrome nefrótica[47] ou com o tipo da GNMP[12,33,48].

Apesar de a maior alteração histológica ocorrer nos glomérulos, não existe correlação entre a intensidade da lesão glomerular total e a queda de filtração glomerular[57]. Quando, no entanto, se analisa apenas a reação inflamatória glomerular, avaliada pelo índice de Austin[58], observa-se que esta apresenta correlação com a queda de função renal. Além da reação inflamatória glomerular, outros índices que apresentam correlação com a função renal são a intensidade da lesão tubulointersticial[47,51,59,60] e o volume do interstício cortical[4].

Uma das características mais importantes dessa lesão é a presença de hipocomplementemia, principalmente devido à queda de C3[1,2,28,33,49,53,61]. A freqüência com que isto ocorre é variável de acordo com o tipo histológico. Quando se analisa a GNMP como um todo, observa-se queda do C3 sérico em torno de 40 a 60% dos casos[12,26,27,33,47,48,61]. Na GNMP tipo II, hipocomplementemia ocorre em torno de 70 a 90% dos casos[8,12,15,17,18,19,33,49]. Este achado é importante para o diagnóstico, porque as outras doenças que cursam com síndrome nefrótica geralmente apresentam nível sérico de C3 normal.

A história natural dessa doença é variável, porém, na maioria dos pacientes apresenta queda progressiva da função renal[12,26,33,43,48,49,50,51,52,54,62,63]. Remissão completa da síndrome nefrótica tem sido relatada entre 2 e 10% dos casos[12,33,51] e remissão parcial e transitória em torno de um terço dos pacientes[47].

A sobrevida renal cinco anos após o diagnóstico tem variado entre 51 e 75% e em 10 anos entre 36 e 65%[8,9,12,26,33,51,52]. Em crianças, Mc Enery[50] observou sobrevida renal de 80% após 10 anos de seguimento. Este melhor prognóstico para crianças, no entanto, não tem sido confirmado por outros autores[33,63].

A presença de insuficiência renal na primeira consulta tem sido apontada pela maioria dos autores como sinal de mau prognóstico[9,12,26,48,51,62].

Síndrome nefrótica na primeira consulta, ou durante o seguimento, tem-se associado à evolução para insuficiência renal terminal[12,26,33]. Recentemente, Schmitt e cols[51] relataram que pacientes com síndrome nefrótica apresentam pior prognóstico apenas nos primeiros anos de seguimento, porém, após um seguimento médio de 12 anos o prognóstico é semelhante, quer o paciente apresente quer não síndrome nefrótica.

Hipertensão arterial na primeira consulta tem sido apontada como sinal de pior prognóstico nos pacientes com GNMP tipos I e II[26,48,51,62]. Cameron e cols[33], no entanto, relataram que a presença de hipertensão arterial foi importante índice prognóstico apenas na GNMP tipo I.

A atividade da doença, assim como a evolução do paciente para insuficiência renal, não é influenciada pela presença de hipocomplementemia[26,28,33,48,54,62,64,65].

Diferentes estudos têm sido realizados no sentido de se determinar quais as alterações histológicas que se correlacionam com a evolução desta nefropatia. Dentre as alterações dos glomérulos, a única que se correlaciona nitidamente com pior prognóstico é a presença de crescentes no espaço de Bowman[9,26,33,51,63], a intensidade da lobulação glomerular como indicador de prognóstico é ainda discutível[9,26,27,51].

Na maioria dos trabalhos observou-se que não existe diferença do prognóstico entre indivíduos portadores de GNMP tipo I quando comparado com a do tipo II[12,26,33,48]. Habib e cols[8] relataram que pacientes com GNMP tipo II apresentavam pior prognóstico, porém, na casuística estudada por eles, os pacientes com GNMP tipo II apresentavam maior freqüência de crescentes celulares, fato este que sabidamente se associa com pior prognóstico.

A duplicação de membrana basal glomerular observada na GNMP pode ser difusa ou focal. A duplicação difusa quando observada em pacientes com GNMP tipo I parece se associar com pior prognóstico[13].

SISTEMA COMPLEMENTO E GNMP

A revisão detalhada do sistema complemento escapa dos objetivos do presente capítulo. Várias revisões que tratam destes assuntos têm sido publicadas[66,67,68].

O sistema complemento participa da defesa do hospedeiro contra infecções e tem papel importante na mediação da lesão induzida pelo sistema imune. Esse sistema é composto por aproximadamente 30 proteínas, que são componentes do sistema propriamente dito ou proteínas reguladoras. A sua ativação se dá em cascata, semelhante ao observado no sistema de coagulação; o resultado desta ativação é a lise celular e/ou bacteriana e intensificação da reação inflamatória[68].

A ativação pode ocorrer por duas vias diferentes: a clássica e a alternativa. A primeira é ativada principalmente por imunoglobulinas, imu-

nocomplexos compostos por IgG ou IgM, ou por certas endotoxinas, e a via alternativa por lipopolissacárides e polissacárides de origem vegetal, bacteriana ou fúngica.

As proteínas da via clássica são: C1q, C1r, C1s, C2, C3 e C4. Os três primeiros componentes mantêm-se unidos entre si formando o complexo C1. Esta via é ativada pela ligação da porção Fc das imunoglobulinas à subunidade C1q, o que provoca a ativação de C1r e C1s que vão cindir o C4 em C4a e C4b e o C2 em C2a e C2b, levando à formação de C4aC2b (C3 convertase), que vai agir em C3 gerando C3b com conseqüente ativação dos componentes finais do sistema, dando origem ao C5b9, o chamado *complexo de ataque à membrana*.

A ativação da via alternativa utiliza C3, fator B, fator D, proteína I, proteína H e properdina. A clivagem de C3 dá origem à fração C3b, essa fração se liga ao fator B, originando o C3B,b. Este, sob ação do fator D, vai formar o C3b,Bb (C3 convertase da via alternativa), que vai cindir novamente o C3, dando origem a C3b fechando o ciclo. O C3b,Bb apresenta meia-vida curta, que é aumentada por sua ligação com a properdina. Parte do C3b gerado se liga ao fator H e é inativado pelo fator inativador de C3b (fator I)[66,67,68] (Fig. 10.6).

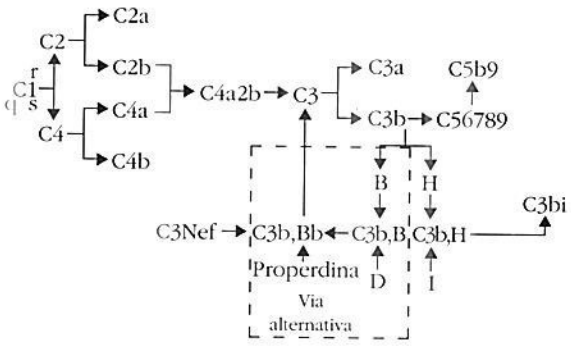


Figura 10.6 – Esquema simplificado das diferentes vias de ativação do sistema complemento.

Uma das características da GNMP é a presença de hipocomplementemia, que pode ser contínua ou alternar com períodos de normocomplementemia[1,2,28,53,61,69]. Nos pacientes com GNMP tipo II, esta hipocomplementemia é mais freqüente[15,18,19,33,48], sendo conseqüência principalmente da ativação da via alternativa, pois tem sido observada diminuição de C3 e fator B[70], com níveis normais de C1q e C4[71,72,73,74]. Pacientes portadores de GNMP tipo II apresentam auto-anticorpos circulantes, que podem ser tanto da classe IgG[75] como da IgM[76], dirigidos contra a C3b,Bb (C3 convertase da via alternativa) que foram denominados fator nefrítico-C3. Esses auto-anticorpos se ligam a C3b,Bb promovendo a sua estabilização e dando início à ativação da via alternativa[77,78,79,81]. O fator nefrítico-C3 é sintetizado por células mononucleares periféricas, tanto de indivíduos normais adultos ou recém-nascidos, como de pacientes portadores de GNMP[76,80,81]. A sua presença tem sido demonstrada também em pacientes portadores de GNMP sem hipocomplementemia[83] e em pacientes sem nefropatia[82,84].

Várias evidências sugerem que, na verdade, existam diferentes fatores nefríticos além das imunoglobulinas[85,86]. Recentemente, foi demonstrada a existência de outro fator nefrítico que apresenta propriedades semelhantes à properdina[87]. Meri e cols[88] demonstraram que pacientes portadores de GNMP podem apresentar no soro uma cadeia leve monoclonal, tipo lambda, que, ao interagir com o fator H da via alternativa, promove a ativação do sistema complemento.

Em pacientes com GNMP tipo I, a hipocomplementemia é transitória. Além da redução de C3, geralmente existe diminuição de C1q e C4. O fator nefrítico está presente em menos de um terço deles, o que sugere que neste tipo a ativação do complemento se faz pela via clássica[9,12,33,79].

Outros fatores, tais como aumento do catabolismo[89] e redução da síntese da proteínas do sistema complemento[73,90,91], têm sido lembrados como contribuintes da hipocomplementemia.

A importância destas alterações na gênese e na evolução da nefropatia não está ainda definida. As observações de que não existe relação entre a hipocomplementemia e a atividade ou prognóstico da nefropatia[26,28,33,48,52,54,62,64], de que a nefrectomia bilateral não altera os níveis séricos dos componentes do sistema complemento[92] e de que alguns pacientes apresentam fator nefrítico-C3 e hipocomplementemia sem apresentar nefropatia[79,82,84] sugerem não existir relação direta entre as alterações do sistema complemento e a GNMP. Além disso, tem sido demonstrado experimentalmente que a ativação do sistema complemento não promove nefropatia[93,94].

O sistema complemento participa da defesa do organismo contra infecções, e também é importante na solubilização e no clareamento de imunocomplexos circulantes[95-99]. Assim, outra possibilidade é a de que pacientes hipocomplementêmicos apresentem maior freqüência de infecções ou maior dificuldade de clareamento de imunocomplexos ou ambos, o que facilitaria o desenvolvimento da GNMP. A descrição de que pacientes deficientes em C1q[100], C2[101,102,103], C3[104], C6[105] e de inibidor de C1[106] apresentam maior fre-

qüência de GNMP e de que carneiros deficientes de C3 apresentam uma nefropatia semelhante a GNMP tipo I[107] reforçam esta hipótese.

PATOGENIA

A patogenia da GNMP ainda é obscura, principalmente da GNMP tipo II.

A presença de depósitos de imunoglobulinas e complemento no espaço subendotelial e no mesângio, as alterações do sistema complemento e a observação de que pacientes portadores de infecções crônicas[108-115], neoplasias[116,117] e colagenoses[118,119] apresentam lesão histológica semelhante sugerem que a GNMP tipo I poderia ser mediada pelo sistema imune, provavelmente pela deposição renal de imunocomplexos circulantes. Essa hipótese é reforçada pela demonstração de que coelhos tratados com inoculações repetidas de ovoalbumina, quando produzem anticorpos antiovoalbumina precipitantes e de alta afinidade, desenvolvem este tipo de nefrite[120].

No entanto, na GNMP tipo II, a participação do sistema imune na sua gênese é bastante controvertida. Os depósitos observados neste tipo têm aspecto peculiar, o que não é observado em outras glomerulopatias humanas aceitas como mediadas pelo sistema imune. Experimentalmente, não se conseguiu até hoje reproduzir este tipo de depósito com diferentes manipulações do sistema imune.

A natureza destes depósitos ainda não está esclarecida. Diferentes estudos têm demonstrado que os depósitos elétron-densos não reagem com anti-soros dirigidos contra antígenos de Goodpasture[121], imunoglobulinas, complemento, colágeno ou contra antimembrana basal glomerular com esses depósitos densos[122].

Sob o ponto de vista bioquímico, foi demonstrado que a composição da membrana basal contendo depósitos densos é semelhante à da membrana basal glomerular normal, a não ser por aumento do conteúdo de ácido siálico e diminuição de cisteína[112,113]. Baseados nestes achados foi proposto que estes depósitos podem representar acúmulo de uma glicoproteína normal da membrana basal glomerular, modificada quimicamente. A presença de N-acetilglicosamina[125] ou lipoproteínas[126] nestes depósitos tem sido sugerida. Os depósitos são corados pela tioflavina T[127], que reage com substância amilóide, porém, eles não reagem com anticorpo anti-substância amilóide[122].

Se os depósitos densos não são típicos de imunocomplexos e, portanto, argumentam contra a participação do sistema imune na gênese da GNMP tipo II, a deposição de imunoglobulinas e complemento no parênquima renal, além das alterações do sistema complemento, sugere a participação do sistema imune nesta nefropatia. Uma possibilidade é de que os depósitos densos seriam imunocomplexos, modificados por alguma resposta do hospedeiro.

TRATAMENTO

Vários têm sido os esquemas propostos para o tratamento da GNMP, porém, a maioria dos estudos tem sido retrospectiva, sem grupo controle, o que torna difícil a análise dos resultados. Segundo os trabalhos do grupo de Cincinnati[50,128,129,130], o uso de corticosteróides em dias alternados tem levado ao aumento da sobrevida de crianças portadoras de GNMP, principalmente da GNMP tipo I. O efeito benéfico dos corticosteróides, no entanto, não tem sido observado por outros autores[33,48,51,52]. No único estudo controlado em que se avaliou a ação da corticoterapia sobre a história natural da GNMP tipo I não se observaram diferenças entre o grupo que recebeu placebo e o grupo tratado[131].

Na década de 70, Kincaid-Smith e cols[62] propuseram o uso da associação heparina, corticosteróides, ciclofosfamida e dipiridamol. Os resultados iniciais, quando comparados a um grupo controle histórico, demonstraram maior sobrevida e menor queda de filtração glomerular do grupo tratado. Estes resultados, no entanto, são difíceis de ser analisados porque o grupo controle era constituído por pacientes atendidos antes de 1967, e o grupo tratado por pacientes atendidos no período entre 1967 e 1971. Assim, a possibilidade de que o aumento da sobrevida tenha sido conseqüência da melhora do tratamento inespecífico, tal como controle da pressão arterial, de infecções intercorrentes, etc., não pode ser descartada. Posteriormente, Cattran e cols[132], em estudo controlado, demonstraram que esse esquema terapêutico, além de não alterar a evolução natural dessa doença, ainda apresentou grande número de efeitos colaterais, que obrigaram a suspensão do tratamento.

Estudos prospectivos controlados têm demonstrado que o uso de dipiridamol associado a anticoagulantes orais ou aspirina diminuía a velocidade de queda da filtração glomerular, sem alterar a proteinúria[133,134]. No entanto, a reavaliação de pacientes tratados com aspirina e dipiridamol após 10 anos de seguimento mostrou que o uso desta associação não alterou a história natural da nefropatia[135].

Outro enfoque terapêutico que vem sendo utilizado é o uso de antiinflamatórios não-hormonais, que em estudos não controlados tem sido demonstrado diminuir a proteinúria e estabilizar a função renal[135,136]. A plasmaférese tem sido tentada com algum sucesso em pacientes GNMP

com grande quantidade de crescentes. A validade desta terapia nestes casos, no entanto, é discutível devido ao pequeno número de casos relatados e à ausência de grupo controle[137,138].

Atualmente a nossa conduta tem sido tratar os pacientes portadores de GNMP com aspirina e dipiridamol. O uso de antiinflamatórios não-hormonais pode ser tentado em pacientes com síndrome nefrótica persistente.

TRANSPLANTE RENAL E GNMP

A incidência de recorrência na GNMP é alta, sendo de 20 a 30% na do tipo I[139-142], e maior que 70% na do tipo II[17,139-146], tanto em pacientes tratados com ou sem ciclosporina[147]. A recorrência da GNMP tipo I é muitas vezes difícil de ser distinguida da glomerulopatia do transplante, pela sua semelhança à microscopia óptica, sendo indispensável a análise pela microscopia de imunofluorescência e eletrônica para o correto diagnóstico[148].

O diagnóstico da recorrência é feito em média 10 a 30 meses após o transplante na GNMP tipo I[139,140,141,146,147,149], porém, há descrições de recorrência imediata[150]. Na GNMP tipo II a recorrência é imediata do ponto de vista histológico, sendo que o desenvolvimento de síndrome nefrótica ocorre em 1/3 a 2/3 dos casos[15,17,140].

A concentração do nível sérico de complemento pré-transplante não parece predizer a recorrência[141], enquanto a evolução rapidamente progressiva da glomerulopatia nos rins nativos, com presença de extensas crescentes à histologia, tem sido considerada como um fator de risco para a recorrência[141].

A freqüência de perda devida à recorrência varia de 10 a 40% na GNMP tipo[139-143,146] e de 10 a 20% na GNMP tipo II[139,141]. A maior freqüência de perda relacionada à recorrência da GNMP tipo I talvez seja decorrente do fato de que nesses casos, quando o diagnóstico é feito, os pacientes apresentam proteinúria e/ou déficit de função do enxerto, enquanto na GNMP tipo II, freqüentemente, o diagnóstico é feito apenas pela histologia, na ausência de sinais clínicos compatíveis com recorrência. A presença de síndrome nefrótica é considerada um sinal de mau prognóstico[139,150,151] para ambos os tipos de GNMP. No tipo II, observou-se que a rápida evolução da glomerulonefrite nos rins primitivos associou-se à maior freqüência de perda do enxerto[151]. O tempo decorrido até a perda varia de 12 a 48 e de 8 a 45 meses pós-diagnóstico, respectivamente na GNMP tipos I[139,146,149,150] e II[140,144,146,149].

Finalmente, os dois tipos de GNMP não têm sido considerados contra-indicados para a realização de transplante renal[141].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WEST CD, McADAMS AJ, McCONVILL JM, DAVIS NC, HOLLAND MH: Hypocomplementemic and normocomplementemic persistent (chronic) glomerulonephritis, clinical and pathologic characteristics. *J. Pediatr* 67:1089-1112, 1965.
2. GOTOFF SP, FELLERS FX, VAWTER GF, JANEWAY CA, ROSEN FS: The β_1C globulin in childhood nephrotic syndrome: laboratory diagnosis of progressive glomerulonephritis. *N Engl J Med* 273:524-529, 1965.
3. BOHLE A, GARTNER HV, FISCHBACH H, BOCK KD, EDEL HH, FROTSCHER U, KLUTHE R, MÖNINGHOFF W, SCHELER F: The morphological and clinical features of membranoproliferative glomerulonephritis in adults. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 363:213-224, 1974.
4. BOHLE A, GARTNER HV, LABERKE HG, KRUCK F: Membranoproliferative glomerulonephritis, in: *The Kidney-Structure and Function*, edited by Bohle A, Gartner HV, Laberke HG, Kruck F, Schattauer, New York, 1989, pp 163-187.
5. CHURG J, SOBIN LU: Diffuse mesangiocapillary glomerulonephritis type 1 and 3 and dense deposit glomerulonephritis, in *Renal Disease-Classification and Atlas of Glomerular Diseases*, edited by Churg J, Sobin LH, Tokyo, Igaku Shoin, 1982, pp 67-82.
6. DAVIS AE, SCHNEEBERGER EE, GRUPE WE, McCLUSKEY RT: Membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN type 1) and dense deposit disease (DDD) in children. *Clin Nephrol* 9:184-193, 1978.
7. HABIB R: Classification of glomerulonephritis based on morphology, in *Glomerulonephritis: Morphology, Natural History and Treatment*, edited by Kincaid-Smith P, Mathew TH, Becker EL, New York, John Willey & Sons, 1972, pp 17-42.
8. HABIB R, GUBLER MC, LOIRAT CH, MAIZ HB, LEVY M: Dense deposit disease: a variant of membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 7:204-215, 1975.
9. HABIB R, KLEINKNECHT C, GUBLER MC, LEVY M: Idiopathic membranoproliferative glomerulonephritis in children. Report of 105 cases. *Clin Nephrol* 1:194-214, 1973.
10. HABIB R, KLEINKNECHT C, GUBLER MC, MAIZ HB: Idiopathic membranoproliferative glomerulonephritis: morphology and natural history, in *Glomerulonephritis: Morphology, Natural History and Treatment*, edited by Kincaid-Smith P, Mathew TH, Becker EL, New York, John Willey & Sons, 1972, pp 491-514.
11. HOLLEY KE, DONADIO JV: Membranoproliferative glomerulonephritis, in *Renal Pathology. With Clinical and Functional Correlations*, (1st ed), edited by Tisher CC, Brenner BM, Philadelphia, JB Lippincott, 1989, pp 228-264.
12. SWAINSON CP, ROBSON JS, THOMSON D, MACDONALD MK: Mesangiocapillary glomerulonephritis: a long-term study of 40 cases. *J Pathol* 141:1449-468, 1983.
13. WATSON AR, POUCELL S, THORNER P, ARBUS GS, RANCE CP, BAUMAL R: Membranoproliferative type I in children: correlation of clinical features with pathologic subtypes. *Am J Kidney Dis* 4:141-146, 1984.
14. BERGER J, GALLE P: Depots denses au sein des membranes basales du rein: étude en microscopies optique et électronique. *Press Méd* 71:2351-2351, 1963.
15. DROZ D, ZANETTI M, NOËL LH, LEBOWITCH J: Dense deposits disease. *Nephron* 19:1-11, 1977.
16. JENIS EM, SANDLER P, HILL GS, KNIESER MR, JENSEN GE, ROSKES SD: Glomerulonephritis with basement membrane dense deposits. *Arch Pathol* 97:84-91, 1974.
17. LAMB V, TISHER, CC, McCOY RC, ROBINSON RR: Membranoproliferative glomerulonephritis with dense intramembranous alterations. A clinocopathologic study. *Lab Invest* 36:607-617, 1977.

18. MAZZUCCO G, BELGIOJOSO GB, CONFALONIERI R, COPPO R, MONGA G: Glomerulonephritis with dense deposits: a variant of membranoproliferative glomerulonephritis or a separate morphological entily? *Virchows Arch (Pathol Anat)* 387:17-29, 1980.
19. VARGAS RA, THOMPSON KJ, WILSON D, CAMERON JS, TURNER DR, GILL D, CHANTLER C, OGG CS: Mesangiocapillary glomerulonephritis with dense "deposits" in the basement membranes of the kidney. *Clin Nephrol* 5:78-82, 1976.
20. BURKHOLDER PM, MARCHAND A, KRUEGER RP: Mixed membranous and proliferative glomerulonephritis. A correlative light, immunofluorescence, and electronmicroscopic study. *Lab Invest* 33:459-479, 1970.
21. ANDERS D, THOENES W: Basement membrane changes in membranoproliferative glomerulonephritis: A light and electron microscopic study. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 369:87-109, 1975.
22. ANDERS D, AGRICOLA B, SIPPEL M, THOENES W: Basement membrane changes in membranoproliferative. II. Characterization of a third type silver impregnation of ultra thin sections. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 376:1-19, 1977.
23. JACKSON EC, McADAMS J, STRIFE F, FORRISTAL J, WELCH TR, WEST CD: Differences between membranoproliferative glomerulonephritis types I and III in clinical presentation, glomerular morphology, and complement perturbation. *Am J Kidney Dis* 9:115-120, 1987.
24. STRIFE CF, McENERY PT, McADAMS AJ, WEST CD: Membranoproliferative glomerulonephritis with disruption of the glomerular basement membrane. *Clin Nephrol* 7:65-72, 1977.
25. STRIFE CF, JACKSON EC, McADAMS AJ: Type III membranoproliferative glomerulonephritis: long-term clinical and evaluation. *Clin Nephrol* 21:323-334, 1984.
26. BELGIOJOSO GB, TARANTINO A, COLASANTI G, BAZZI C, GUERRA L, DURANTE A: The prognostic value of some clinical and histological paremeters in membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN). *Nephron* 19:250-258, 1977.
27. MANDALENAKIS N, MENDOZA N, PIRANI CL, POLLAK VE: Lobular glomerulonephritis and membranoproliferative glomerulonephritis. *Medicine* 50:319-355, 1971.
28. WEST CD, McADAMS AJ: Serum β_1C globulin levels in persistent glomerulonephritis with low serum complement: variability unrelated to clinical course. *Nephron* 7:193-202, 1970.
29. KATZ SM: Reduplication of the glomerular basement membrane: a study of 110 cases. *Arch Pathol Lab Med* 105:67-70, 1981.
30. ARAKAWA M, KIMMESTIEL P: Circunferential mesangial interposition. *Lab Invest* 21:276-284, 1969.
31. BELGIOJOSO GB, TARANTINO A, BAZZI C, COLASANTI G, GUERRA L, DURANTE A: Immunofluorescence patterns in chronic membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN). *Clin Nephrol* 6:303-310, 1976.
32. ZUCCHELLI P, SASDELLI M, CAGNOLI L, DONINI U, CASANOVA S, ROVINETTI C: Membranoproliferative glomerulonephritis. Correlations between immunological and histological findings. *Nephron* 17:449-460, 1976.
33. CAMERON JS, TURNER DR, HEATON J, WILLIAMS G, OGG CS, CHANTLER C, HAYCOCK GB, HICKS J: Idiopathic mesangiocapillary glomerulonephritis. *Am J Med* 74:175-191, 1983.
34. LEVY M, GUBLER MC, SICH M, BEZIAU A, HABIB R: Immunopathology of membranoproliferative glomerulonephritis with subendothelial deposits (type I MPGN). *Clin Immunol Immunopathol* 10:477-492, 1978.
35. DAVIS BK, CAVALLO T: Membranoproliferative glomerulonephritis. Localization of early components of complement in glomerular deposits. *Am J Pathol* 84:283-298, 1976.
36. CAMPBELL-BOSWELL MV, LINDER D, NAYLOR BR, BROOKS RE: Kidney tubule basement membrane alterations in type II membranoproliferative glomerulonephritis. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 382:49-61, 1979.
37. KING JT, VALENZUELA T, McCORMACK LJ, OSBORNE DG: Granular dense deposit disease. *Lab Invest* 39:591-596, 1978.
38. SIBLEY RK, KIM Y: Dense intramembranous deposit disease: new pathologic features. *Kidney Int* 25:660-670, 1984.
39. KIM Y, VERNIER RL, FISH AJ, MICHAEL AF: Immunofluorescence studies of dense deposit disease. The presence of railroad tracks and mesangial rings. *Lab Invest* 40:474-480, 1979.
40. SOARES VA, FRANCO RJS, MONTEIRO FILHO RC, UGINO A, VIERO RM, ALMEIDA DB: Estudo do quadro clínico de 121 pacientes portadores de glomerulopatias. 1) Estudo geral. *J Bras Nefrol* 4:73-78, 1983.
41. CRUZ HM, PENNA DC, SALDANHA LB, CRUZ J, MARCONDES M: Histopathological study of primary glomerular diseases: a retrospective analysis of 197 biopsies (1985-1987). *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 44:94-99, 1989.
42. HAMBURGER J, HINGLAIS N, DE MONTERA H: Renal biopsy in 1000 cases of chronic glomerular disease, in *Cornell Seminars Nephrology*, edited by Becker EL, Heinemann HO, Shermann KL, Baltimore, Williams & Wilkins, 1971, pp 63-70.
43. MORGAN AG, SHAH DJ, WILLIAMS W, FORRESTER TE: Proteinuria and glomerular diseases in Jamaica. *Clin Nephrol* 21:205-209, 1984.
44. BELGIOJOSO GB, BARONI M, PAGLIARI B, LAVAGNI MG, PORRI MT, BANFI G, COLASANTI G, CONFALONIERI R: Is membranoproliferative glomerulonephritis really decreasing? *Nephron* 40:380-381, 1985.
45. Study Group of the Spanish Society of Nephrology: Decreasing incidence of membranoproliferative glomerulonephritis in Spanish children. *Pediatr Nephrol* 3:266-267, 1990.
46. YALCINKAYA F, TUMER N, CAKAR N, EKIM M: Paediatric membranoproliferative glomerulonephritis is not decreasing in Turkey! [letter] *Pediatr. Nephrol* 8:131-132, 1994.
47. CHENG SC, BALBI AL, VIERO RM, THEREZO ALS, SOARES VA: Glomerulonefrite membranoproliferativa: estudo anatomoclínico e evolutivo de 22 pacientes. *J Bras Nefrol* 2:122-130, 1989.
48. DONADIO Jr JV, SDACK TK, HOLLEY KE, ILSTRUP DM: Idiopathic membranoproliferative (mesangiocapillary) glomerulonephritis. A clinicopathologic study. *Mayo Clin Proc* 54:141-150, 1979.
49. HERDMAN RC, PICKERING RJ, MICHAEL AF, VERNIER RL, FISH AJ, GEWURZ H, GOOD RA: Chronic glomerulonephritis associated with low serum complement activity (chronic hypocomplementemic glomerulonephritis). *Medicine* 49:207-226, 1970.
50. McENERY PT: Membranoproliferative glomerulonephritis: the Cincinnati experience-cumulative renal survival from 1957 to 1989. *J Pediatr* 116:S109-114, 1990.
51. SCHMITT H, BOHLE A, REINEKE T, MAYER-EICHBERGER D, VOGL W: Long-term prognosis of membranoproliferative glomerulonephritis type I. Significance of clinical and morphological parameters: an investigation of 220 cases. *Nephron* 55:242-250, 1990.
52. CAMERON JS, GLASSGOW EF, OGG CS, WHITE RHR: Membranoproliferative glomerulonephritis and persistent hypocomplementaemia. *Brit Med J* 4:7-14, 1970.
53. OOI YM, VALLOTA EH, WEST CD: Classical complement pathway activation in membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 9:46-53, 1976.

54. CAMERON JS, OGG CS, WHITE RHR, GLASGOW EF: The clinical features and prognosis of patients with normocomplementemic mesangiocapillary glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 1:8-13, 1973.
55. Joint National Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. The fifth report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNCV). *Arch Intern Med* 153:154-183, 1993.
56. SOARES VA, VIERO RM, HABBERMANN F, FRANCO RJS, FRANCO MF, ALMEIDA DB: Necrose tubular aguda associada a glomerulonefrite membranoproliferativa. *J Bras Nefrol* 7:84-86, 1985.
57. MACKENSEN-HAEN S, GRUND KE, SCHIRMEISTER J, BOHLE A: Impairment of the glomerular filtration rate by glomerular and interstitial factors in membranoproliferative glomerulonephritis with normal serum creatinine concentration. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 382:11-19, 1979.
58. AUSTIN HA, MUENZ LR, JOYCE KM, ANTONOVYCH TA, KULLICK ME, KLIPEL JH, DECKER JL, BALOW JE: Prognostic factors in lupus nephritis. Contributions of renal histologic data. *Am J Med* 75:382-391, 1983.
59. HATTORI M, KIM Y, STEFFES MW, MAUER SM: Structural functional relationships in type I mesangiocapillary glomerulonephritis. *Kidney Int* 43:381-386, 1993.
60. MAUER SM, LANE P, HATRORI M, FIORETTO P, STEFFES MW: Renal structure and function in insulin-dependent diabetes mellitus and type I membranoproliferative glomerulonephritis in humans. *J Am Soc Nephrol* 2(Suppl 10):S181-S184, 1992.
61. HOLLAND NH, BENNETT NM: Hypocomplementemic (membranoproliferative) glomerulonephritis. *Am J Dis Child* 123:439-445, 1972.
62. KINCAID-SMITH P: The natural history and treatment of mesangiocapillary glomerulonephritis, in *Glomerulonephritis: Morphology, Natural History and Treatment*, ed by Kincaid-Smith P, Mathew TH, Becker EL, New York, John Willey & Sons, 1972, pp 591-610.
63. MAGIL AB, PRICE JDE, BOWER G, RANCE CP, HUBER J, CHASE WH: Membranoproliferative glomerulonephritis type I: comparison of natural history in children and adults. *Clin Nephrol* 11:239-244, 1979.
64. WEST CD: Membranoproliferative hipocomplementemic glomerulonephritis. *Nephron* 11:134-146, 1973.
65. NORTHWAY JD, McADAMS AJ, FORRISTAL J, WEST CD: A silent phase of hypocomplementemic persistent nephritis detectable by reduced serum β_{1c}-globulin levels. *J Pediat* 74:28-38, 1969.
66. PRADO EBA, CAVALCANTI FCB: Sistema complemento e glomerulonefrites, em *Atualidades em Nefrologia 3*, (3ª ed), editado por Cruz J, Barros RT, Sesso RCC, David Neto E, Suassuna JHR, Heilberg IP, Gouvea Filho WL, São Paulo, Sarvier Editora de Livros Médicos, 1994, pp 27-32.
67. SCHREIBER SD, MÜLLER-EBERHARD J: Complement and renal disease, in *Immunologic Mechanisms of Renal Disease*, edited by Wilson CB, Brenner BM, Stein JN, New York, Churchill Livingstone, 1978, pp 67-105.
68. MÜLLER-EBERHARD HJ: Molecular organization and function of the complement system. *Annu Rev Biochem* 57:321-347, 1988.
69. OGG CS, CAMERON JS, WHITE HR: The C3 component of complement (β_1C-globulin) in patients with heavy proteinuria. *Lancet* 2:78-81, 1968.
70. WESTBERG NG, NAFF GB, BOYER JT, MICHAEL AF: Glomerular deposition of properdin in acute and chronic glomerulonephritis with hypocomplemmentemia. *J Clin Invest* 50:642-649, 1971.
71. BERTHOUX FC, CARPENTER CB, FREYRIA AM, TRAEGER J, MERRILL JP: Human glomerulonephritis and the C3 nephritic factor (C3Nef). *Clin Nephrol* 5:93-100, 1976.
72. HOLLAND NH, DE BRACCO ME, CHRISTIAN CL: P thways of complement activation in glomerulonephrit *Kidney Int* 1:106-114, 1972.
73. PETERS DK, MARTIN A, WENSTEIN A, CAMERON J BARRATT TM, OGG CS, LACHMANN PJ: Complement st dies in membranoproliferative glomerulonephritis. *Cl Exp Immunol* 11:311-320, 1972.
74. GERWZ JR, PICKERING SC, MERGENHAGEN SE, GOOI RA: The complement profile in acute glomerulonephrit systemic lupus erythematosus and hypocomplementem chronic glomerulonephritis. Contrast and experiment correlations. *Int Arch Allergy* 34:556-570, 1968.
75. SPITZER RE, VALLOTA EH, FORRISTAL NJ, SUDORA SPITZEL A, DAVIS NC, WEST CD: Serum C3 lytic syste in patients with glomerulonephritis. *Science* 164:436-4 1969.
76. SPITZER RE, STITZEL AE, TSOKOS GC: Production of Ig and IgM autoantibody to the alternative pathway C3 co vertase in normal individuals and patients with membi noproliferative glomerulonephritis. *Clin Immunol Imm nopathol* 57:10-18, 1990.
77. DAHA MR, AUSTEN KF, FEARON DT: Heterogeneity, p lypeptide chain composition and antigenic reactivity of nephritic factor. *J Immunol* 120:1387-1394, 1978.
78. SCOTT DM, AMOS N, SISSONS JGP, LACHMANN PJ, P TERS DK: The immunoglobulin nature of nephritic fact (NeF). *Clin Exp Immunol* 32:12-24, 1978.
79. WILLIAMS DG, PETERS DK, FALLOWS J, PETRIE A, KO RILSKY O, MOREL-MAROGER L, CAMERON JS: Studies serum complement in the hypocomplementaemic neph tides. *Clin Exp Immunol* 18:391-405, 1974.
80. SPITZER RE, STITZEL AE, TSOKOS G: On the origin of nephritic factor (antibody to the alternative pathway convertase): evidence for the Adam and Eve concept autoantibody production. *Clin Immunol Immunopath* 64:177-183, 1992.
81. SPITZER RE, STITZEL AE, TSOKOS GC: Evidence th production of autoantibody to the alternative pathway convertase is a normal physiologic event. *J Pedi* 116:S103-118, 1990.
82. SISSONS JGP, WEST PRJ, FALLOWS J, WILLIAMS D BOUCHER BJ, AMOS N, PETERS DK: The compleme abnormalities of lipodystrophy. *N Engl J Med* 294:461-4 1976.
83. OHI H, WATANABE S, FUJITA T, YASUGI T: Significan of C3 nephritic factor (C3NeF) in non-hypocomplemen emic serum with membranoproliferative glomerulor phritis (MPGN). *Clin Exp Immunol* 89:479-484, 1992.
84. KIM Y, SHVIL Y, MICHAEL AF: Hypocomplementemia a newborn infant caused by placental transfer of C3 r phritic factor. *J Pediatr* 98:88, 1977.
85. VALLOTA EH, GÖTZE O, SPIEGELBERGER HL, FORR TAL J, WEST CD, MÜLLER-EBERHARD HJ: A serum fact in chronic hypocomplementemic nephritis distinct fr immunoglobulin and activating the alternate pathway complement. *J Exp Med* 139:1249-1261, 1974.
86. BARLOW BG, ROBERTS JL, LEWIS EJ: Non immunog bulin C3 activating factor in membranoproliferative g merulonephritis. *Kidney Int* 15:294-302, 1979.
87. TANUMA Y, OHI H, HATANO M: Two types of C3 neph tic factor: properdin-dependent C3NeF and properdin- dependent C3NeF. *Clin Immunol Immunopathol* 56:2 238, 1990.
88. MERI S, KOISTINEN V, MIETTINEN A, TÖRNROTH SEPPÄLÄ IJT: Activation of the alternative pathway complement by monoclonal λ light chains in membrar proliferative glomerulonephritis. *J Exp Med* 175:939-9 1992.
89. CHARLESWORTH JA, WILLIAMS DG, SHERINGTON LACHMANN PJ, PETERS DK: Metabolic studies of the th

component of complement and glycine-rich beta glycoprotein in patients with hypocomplementemia. *J Clin Invest* 53:1578-1587, 1974.
90. RUDDY SC, CARPENTER CB, CHIN KW, KNOSTMAN JN, SOTER NA, GÖTZE O, MÜLLER-EBERHARD HJ, AUSTEN KF: Human complement metabolism an analysis of 144 studies. *Medicine* 54:165-178, 1975.
91. ALPER CA, ROSEN FS, WATSON L: Studies of the in vivo behavior of human C'3 in normal subjects and patients. *J Clin Invest* 46:2021-2034, 1967.
92. VALLOTTA EH, FLORRISTAL J, SPITZER RE, DAVIS NC, WEST CD: Continuing C3 breakdown after bilateral nephrectomy in patients with membranoproliferative glomerulonephritis. *J Clin Invest* 50:552-558, 1971.
93. SIMPSON IJ, MORAN J, EVANS DJ, PETERS DK: Prolonged complement activation in mice. *Kidney Int* 13:467-471, 1978.
94. VERROUST PJ, WILSON CB, DIXON FJ: Lack of nephritogenecitiy of systemic activation of the alternate pathway. *Kidney Int* 6:157-169, 1974.
95. MILLER GW, NUSSENZWEIG V: A new complement function solubilization of antigen-antibody aggregates. *Proc Natl Acad Sci USA* 72:418-422, 1975.
96. TAKAHASHI M, CZOP J, FERREIRA A, NUSSENZWEIG V: Mechanism of solubilization of immune aggregates by complement. Implications for immunopathology. *Transplant Rev* 32:121-139, 1976.
97. TAKAHASHI M, TACK BF, NUSSENZWEIG V: Requirements for the solubilization of immune aggregates by complement. Assembly of a factor B-dependent C3-convertase on the immune complexes. *J Exp Med* 145:86-100, 1977.
98. TAKAHASHI M, TAKAHASHI S, BRADE V, NUSSENZWEIG V: Requirements for the solubilization of immune aggregates by complement. The role of the classical pathway. *J Clin Invest* 62:349-358, 1978.
99. BARTOLOTTI SR, PETERS DK: Complement fixation in acute serum sickness: assembly of glomerular-bound C3-convertase. *Clin Exp Immunol* 37:391-398, 1979.
100. BERKEL, AI, LOOS M, SANAL Ö, MAUFF G, GÜNGEN Y, ÖRS Ü, ERSOY F, YEGIN O: Clinical and immunological studies in a case of selective complete C1q deficiency. *Clin Exp Immunol* 38:52-63, 1979.
101. KIM Y, FRIEND PS, DRESNER IG, YUNIS EJ, MICHAEL AF: Inherited deficiency of the second component of complement (C2) with membranoproliferative glomerulonephritis. *Am J Med* 62:765-771, 1977.
102. SOBEL AT, MOISY M, HIRBREC G, TOURNESAC A, BERRY JP, MANNONI P, PELTIER AP, LAGRUE G: Hereditary C2 deficiency associated with non-systemic glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 12:132-136, 1979.
103. LOIRAT C, LEVY M, PELTIER AP, BROVER M, CHECOURY A, MATHIEN M: Deficiency of the second component of complement. Its occurrence with membranoproliferative glomerulonephritis. *Arch Pathol Lab Med* 104:467-472, 1980.
104. PUSSELL BA, BOURKE E, NAYEF M, MORRIS S, PETERS DK: Complement deficiency and nephritis. A report of a family. *Lancet* 1:675-681, 1980.
105. COLEMAN TH, FORRISTAL J, KOSAKA T, WEST CD: Inherited complement component deficiency in membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 24:681-690, 1983.
106. PICKERING RJ, MICHAEL AF, HERDMAN RC, GOOD RA, GEWURZ H: The complement system in chronic glomerulonephritis: Three newly associated aberrations. *J Pediatr* 78:30-43, 1971.
107. ANGUS KW, GARDINER AC, MORGAN KT, GRAY EW: Mesangiocapillary glomerulonephritis in lambs. II. Pathological findings and electron microscopy of the renal lesions. *J Comp Pathol* 84:319-330, 1974.
108. ABENSUR H, NUSSENZVEIG I, SALDANHA LB, PESTALOZZI MS, BARROS MT, MARCONDES M, BARROS RT: Nephrotic syndrome associated with hepatointestinal schistosomiasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo,* 34:273-276, 1992.
109. ANDRADE ZA, ROCHA H: Schistosomal glomerulopathy. *Kidney Int* 16:23-29, 1979.
110. UFF JS, EVANS DJ: Mesangio-capillary glomerulonephritis associated with Q-fever endocarditis. *Histopathology* 1:463-472, 1977.
111. PERTSCHUK LP, WODA BA, VULETIN JC, BRIGATI DJ, SORIANO CB, NICASTRI AD: Glomerulonephritis due to *Staphylococcus aureus* antigen. *Am J Clin Pathol,* 65:301-307, 1976.
112. WHITE RHR: Quartan malarial nephrotic syndrome. *Nephron* 11:147-162, 1973.
113. BRZOSKO WJ, KRAWCZYNSKI K, NAZAREWICZ T, MORZYCKA M, NOWOSLAWSKI A: Glomerulonephritis associated with hepatitis B surface antigen immune complexes in children. *Lancet* 2:477-481, 1974.
114. MYERS BD, GRIFFEI B, NAVEH D, JANKIELOWITZ T, KLAJMAN A: Membranoproliferative glomerulonephritis associated with persistent viral hepatitis. *Am J Clin Pathol* 60:222-228, 1973.
115. JACKSON RJ, GRETCH DR, YAMABE H, HART J, BACCHI CE, HARTWELL P, COUSER WG, COREY L, WENER MH, ALPERS CE, WILSON R: Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 328:465-470, 1993.
116. EAGEN JW, LEWIS EJ: Glomerulopathies of neoplasia. *Kidney Int* 11:297-306, 1977.
117. RANDALL RE, WILLIAMSON WC, MULLINAN E, TUNG MY, STILL WJS: Manifestations of systemic light chain deposition. *Am J Med* 60:293-299, 1976.
118. HILL GS, HINGLAIS N, TRON F, BACH JF: Systemic lupus erythematosus: morphologic correlations with immunologic and clinical data at the time of biopsy. *Am J Med* 64:61-79, 1978.
119. MOUTSOPOULOS HM, BALOW JE, LAWLEY TJ, STAHL NJ, ANTONOVYCH TT, CHUSED TM: Immunecomplex glomerulonephritis in Sicca syndrome. *Am J Med* 64:955-960, 1978.
120. KURIYAMA R: Chronic glomerulonephrits induced by prolonged immunization in the rabbit. *Lab Invest* 28:224-235, 1973.
121. SCHIFFER MS, MICHAEL AF, KIM Y, FISH AJ: Distribution of glomerular basement membrane antigens in diseased human kidney. *Lab Invest* 44:234-240, 1981.
122. KIM Y, MICHALE AF, FISH AF: Idiopathic membranoproliferative glomerulonephritis, in Brenner BM, Stein JH. *Nephrotic Syndrome.* New York, Churchill Livingstone, 1982, pp 237-258.
123. GALLE P, MAHIEU P: Electron dense alteration of kidney basement membranes. *Am J Med* 58:749-764, 1975.
124. MAHIEU PH: Biochemical structure of glomerular basement membrane in chronic glomerulonephritis. I. Lobular and membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 1:115-123, 1972.
125. NEVIS TE: Lectin binding in membranoproliferative glomerulonephritis. Evidence for N-acetylglucosamine in dense intramembranous deposits. *Am J Pathol* 118:325-330, 1985.
126. MUDA AO, BARSOTTI P, MARINOZZI V: Ultrastructural histochemical investigation of "dense deposits disease". Pathogenetic approach to a special type of mesangiocapillary glomerulonephritis. *Virchows Arch (A)* 413:529-537, 1988.
127. CHURG J, DUFFY JL, BERNSTEIN J: Identification of dense deposit disease. *Arch Pathol Lab Med* 103:67-72, 1979.
128. McADAMS AJ, McENERY PT, WEST CD: Mesangiocapillary glomerulonephritis: changes in glomerular morphology

with long-term alternate-day prednisone therapy. *J Pediat* 86:23-31, 1975.
129. McENERY PT, McADAMS AJ, WEST CD: Membranoproliferative glomerulonephritis: improved survival with alternate day prednisone therapy. *Clin Nephrol* 13:117-124, 1980.
130. WEST CD: Pathogenesis and approaches to therapy of membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 9:1-7, 1976.
131. Report of International Study of Kidney Diseases in Children. Alternate days steroid therapy in membranoproliferative glomerulonephritis: A randomized controlled clinical trial. (abstract) *Kidney Int* 21:150, 1982.
132. CATTRAN DC, CARDELLA CJ, ROSCOE JM, CHARRON RC, RITCHIE SM, COREY PN: Results of controlled drug trial in membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 27:436-441, 1985.
133. ZIMMERMAN SW, MOORTHY AV, DREHER WH, FRIEDMAN A, VARANASI U: Prospective trial of warfarin and dypiridamole in patients with membranoproliferative glomerulonephritis. *Am J Med* 75:920-927, 1983.
134. DONADIO Jr JV, ANDERSON CF, MITCHELL JC, HOLLEY KE, ILSTRUP DM, FUSTER V, CHESEBRO JH: Membranoproliferative glomerulonephritis. A clinical trial of platelet inhibitor therapy. *N Engl J Med* 310:1421-1426, 1984.
135. DONADIO Jr JV, OFFORD KP: Reassesment of treatment results in membranoproliferative glomerulonephritis on life table analysis. *Am J Kidney Dis* 14:445-451, 1989.
136. MICHIELSEN P, VAN DEMME B, DOTREMONT G, VERBERCKMOES R, OEI LS, VERMYLEN J: Indomethacin treatment of membranoproliferative and lobular glomerulonephritis, in *Glomerulonephritis: Morphology, Natural History and Treatment*, edited by Kincaid-Smith P, Mathew TH, Becker EL, New York, John Willey & Sons, 1972, pp 611-632.
137. MONTELIU J, BERGADA E, ARRIZABALAGA P, REVERT L: Acute renal failure in dense deposit disease. Recovery after plasmapheresis. *Br Med J* 284:940, 1982.
138. McGINLEY E, WATKINS R, McLAY A, BOULTON JONES JM: Plasma exchange in treatment of mesangiocapillary glomerulonephritis. *Nephron* 40:385-390, 1985.
139. RAMOS EL, TISHER C: Recurrent diseases in kidney transplant. *Am J Kidney Dis* 24:142-154, 1994.
140. VANGELISTA A, FRASCÀ GM, MARTELLA D, BONOMINI V: Glomerulonephritis in renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* (Suppl 1):42-46, 1990.
141. CAMERON JS: Glomerulonephritis in renal transplantation: *Transplantation* 34:237-245, 1982.
142. PARDO-MINDÁN FJ, SALINAS-MADRIGAL L, IDOATE M, GAROLA R, SOLA I, FRENCH M: Pathology of renal transplantation *Semin Diagn Pathol* 9:185-199, 1992.
143. CAMERON JS: Recurrent primary disease and de novo nephritis following renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 5:412-421, 1991.
144. MORZYCKA M, CROKER Jr BP, SEIGLER HF, TISHER CC: Evaluation of recurrent glomerulonephritis in kidney allografts. *Am J Med* 72:588-598, 1982.
145. FREI U: Glomerular disease of transplanted kidneys. *Clin Investig* 71:840-842, 1993.
146. HABIB R, ANTIGNAC C, HINGLAIS N, GAGNADOUX MF, BROYER M: Glomerular lesions in the transplanted kidney in children. *Am J Kidney Dis* 10:198-207, 1987.
147. SCHWARTZ A, KRAUSE PH, OFFERRMANN G, KELLER F: Recurrent and de novo disease after kidney transplantation with or without cyclosporine A. *Am J Kidney Dis* 17:524-531, 1991.
148. HABIB R, BROYER M: Clinical significance of allograft glomerulopathy. *Kidney Int* 44(Suppl 43):S95-S98, 1993.
149. O'MEARA Y, CARMODY AGM, DONOHOE J, CAMPBELL E, BROWNE O, WALSHE J: Recurrent glomerulonephritis in renal transplants: fourteen year experience. *Nephrol Dial Transplant* 4:730-734, 1989.
150. CHEIGHT JS, MOURADIAN J, SUSIN M, STUBENBORD WT, TAPIA L, RIGGIO RR, STENZEL KH, RUBIN AL: Kidney transplant nephrotic syndrome: Relationship between allograft histopathology and natural course. *Kidney Int* 18:358-365, 1980.
151. EDDY A, SIBLEY R, MAUER SM, KIM Y: Renal allograft failure due to recurrent dense intramembranous deposit disease. *Clin Nephrol* 21:305-313, 1984.

11

ASPECTOS MOLECULARES DAS DOENÇAS AUTO-IMUNES

Carlos Alberto Balda
Alvaro Pacheco Silva

INTRODUÇÃO

Pode-se dividir a resposta imune em dois grupos efetores: o celular e o humoral.

A resposta celular, de um modo simplificado, inicia-se com uma célula apresentadora de antígenos (APC), com o seu complexo maior de histocompatibilidade (MHC), que se liga e é reconhecido pelo receptor de antígeno dos linfócitos T (TCR).

O antígeno a ser apresentado é processado pela célula apresentadora e apenas uma parte dele é ligada ao MHC que irá ser expresso na porção externa da célula. O conjunto MHC e antígeno será reconhecido pelo linfócito T através de seu receptor. Uma vez que ocorra a ligação MHC/antígeno com TCR ocorre a ativação desta célula. Tal processo acarreta a liberação de glicoproteínas denominadas citocinas, que são ativadoras e amplificadoras de resposta inflamatória, e o recrutamento e a ativação de neutrófilos, linfócitos e monóticos. Além da participação de células, ocorre também aumento da expressão de moléculas de adesão tanto intercelular quanto célula-endotélio e, assim, as células em circulação sofrem o processo de marginação e migração para o local onde ocorre o processo inflamatório[1] (Fig. 11.1).

Os linfócitos T são divididos em dois grupos, de acordo com sua atividade predominante, sendo que também podem ser distinguidos por uma proteína de superfície. O primeiro grupo é formado por linfócitos que expressam a proteína CD4 denominados T "helper" ou auxiliar e o segundo, por linfócitos que expressam a proteína CD8 e são denominados T citotóxicos. O linfócito CD4+ reconhece e liga-se preferencialmente ao MHC

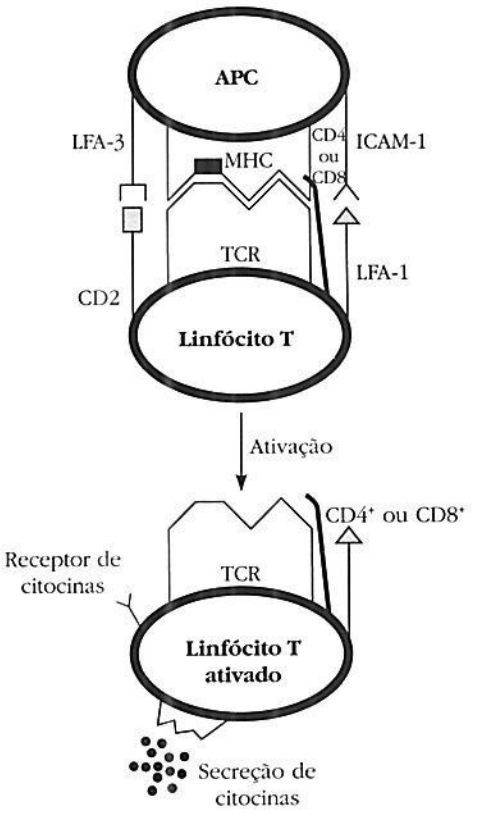


Figura 11.1 – A célula apresentadora leva à ativação do linfócito: a célula apresentadora de antígeno, normalmente um macrófago, apresenta o antígeno ligado ao seu complexo maior de histocompatibilidade (MHC) para o linfócito T. Se houver complementariedade entre os dois ligantes haverá ativação do linfócito. Há necessidade da presença de outras moléculas, ditas acessórias, para a perfeita ligação e ativação da célula T. Exemplo desta classe de moléculas são LFA-1/ICAM-1. Após sua ativação o linfócito muda de fenótipo adquirindo novos receptores, por exemplo para IL-2, e secretando interleucinas.

classe II, enquanto o linfócito CD8+ liga-se ao MHC classe I. Normalmente, o linfócito T citotóxico CD8+ gera a lise da célula que apresenta o antígeno, através da liberação de proteínas citolíticas como a perforina e as granzimas.

No caso da resposta humoral, o linfócito participante é o do tipo B que, após ligar-se ao antígeno e receber estímulo adicional do linfócito T CD4+ ("helper"), torna-se ativado proliferando e diferenciando-se em plasmócitos que irão produzir anticorpos, que são os principais efetores da imunidade humoral[2].

Doenças auto-imunes são moléstias mediadas pelo sistema imune nas quais a resposta é dirigida contra algum antígeno próprio, elas podem ocorrer por agressão humoral (anticorpos), celular (linfócitos T) ou ambas.

A quebra do mecanismo de tolerância que determina a não responsividade contra antígenos próprios é a causa destes processos de auto-agressão.

MECANISMO DE TOLERÂNCIA IMUNOLÓGICA

A tolerância é específica para determinado antígeno e é mais facilmente induzida em linfócitos imaturos, porém também pode ser induzida em linfócitos maduros.

A participação de linfócitos T na auto-imunidade é comprovada pela sua presença no tecido lesado, o isolamento de linfócitos T específicos contra determinados antígenos e a possibilidade de se desencadear a doença auto-imune em outro animal através da transferência de linfócitos retirados de animais doentes.

Células precursoras do linfócito T desenvolvem-se na medula óssea e migram para o timo, onde maturam e são selecionadas.

A expressão do TCR parece ser necessária para o processo de seleção do linfócito. Na grande maioria dos linfócitos T, tal receptor é constituído por duas cadeias peptídicas (alfa e beta), sendo que cada uma destas possui regiões constantes e variáveis. As porções variáveis determinam a especificidade do receptor para determinado antígeno e são responsáveis por sua ligação e reconhecimento pelo linfótico T.

Um precursor de linfócito T que entra no timo origina vários clones de linfócitos T, com diferentes especificidades, devido a rearranjos que ocorrem nas porções dos genes que codificam a região variável dos TCR.

Inicialmente, os linfócitos expressam, ao mesmo tempo, as duas proteínas CD4 e CD8, as quais, após a maturação e seleção, definirão duas populações diferentes de linfócitos T que são CD4+/CD8– e CD8+/CD4–, os quais têm funções diferentes, auxiliar ou "helper" e citotóxico, respectivamente.

Após o rearranjo dos genes da região variável das cadeias alfa e beta do TCR e a sua expressão, o linfócito T é selecionado no timo através de interação com a célula epitelial tímica e seu MHC. Os linfócitos T são inicialmente programados para morrer e só sobreviverão e serão liberados para a periferia se o seu TCR interagir com o MHC da célula tímica. Os linfócitos que não tiverem capacidade de se ligar ao MHC prosseguirão na sua morte programada (95% das células que entram no timo), uma vez que na periferia seriam inúteis, já que os antígenos são apresentados ligados à molécula do MHC. Por outro lado, as células que reconhecem e se ligam ao MHC próprio expresso pelas células tímicas com alta afinidade são potencialmente auto-reativas, sofrem seleção negativa e são destruídas. O mecanismo de destruição dos linfócitos auto-reativos ocorre através do processo de apoptose, sendo denominado deleção clonal[3]. Somente prosseguirão na maturação e serão liberados para a periferia linfócitos que tenham uma interação com afinidade intermediária entre seu TCR e o MHC da célula tímica (Fig. 11.2).

Resumindo, a seleção tímica do linfócito T pode ser de dois tipos:

- Seleção positiva, quando a ligação entre TCR e MHC é de média afinidade e faz com que o linfócito sobreviva[4].
- Seleção negativa, quando ocorre alta afinidade entre TCR e MHC ou estes não interagem (deleção clonal)[5,6].

Atualmente, existem várias evidências experimentais que comprovam os mecanismos de seleção tímica, porém eles não explicam a tolerância para antígenos órgão-específicos não expressos por células do timo (por exemplo antígenos das células beta do pâncreas).

Como um grande número de linfócitos T deixa o timo sem ter tido contato com antígenos periféricos que não têm representação tímica, haveria a possibilidade de auto-agressão contra órgãos e células que possuam tais antígenos. Algumas das teorias que explicam a inexistência de auto-agressão contra tais antígenos são:

- Anergia, que pode ser explicada pela ausência de um segundo sinal durante a interação entre linfócito T e MHC associado ao antígeno. No homem, parece que a associação dos receptores LFA-1 e CD2 do linfócito T, com os receptores ICAM-1 e LFA-3 da APC, respectivamente, além da interação TCR com a molécula do HLA e o antígeno, é necessária para a ativação completa da célula T, funcionando neste caso como

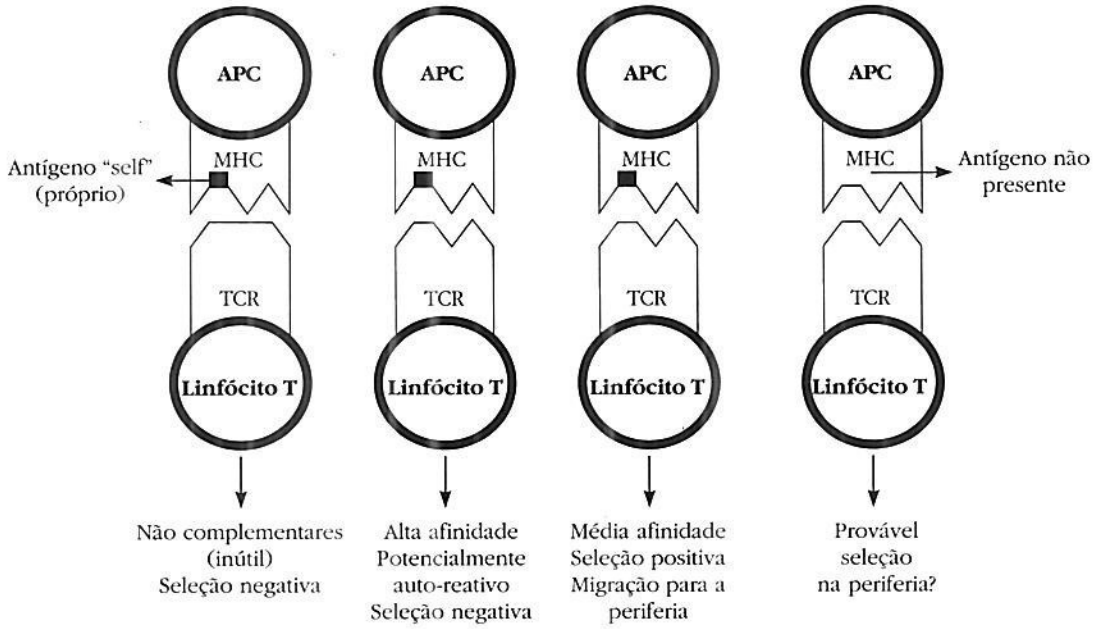


Figura 11.2 – Seleção tímica do linfócito T: a célula tímica (APC – "antigen presenting cell"), através de seu MHC (complexo maior de histocompatibilidade), liga-se ao TCR (receptor de célula T) e apresenta o antígeno próprio "self" para o linfócito T. Caso a afinidade entre o MHC, o antígeno e o TCR seja alta, haverá seleção negativa deste linfócito devido à possibilidade de este tornar-se auto-reativo. Caso a afinidade TCR/MHC seja baixa, também ocorre apoptose, pois tal linfócito seria inútil, não teria capacidade de ligar-se ao MHC e portanto não poderia apresentar antígenos na periferia. Somente haverá seleção positiva se a afinidade entre o MHC, o antígeno e o TCR for de média intensidade. No caso do antígeno não estar representado no timo, acredita-se que deva ocorrer uma seleção na periferia.

o segundo sinal. A falta de citocinas estimulatórias no local da interação MHC e TCR também poderia promover anergia. A anergia induzida, dessa forma, pode ser revertida por administração exógena da IL-2[7].

- Antígeno seqüestrado, onde o antígeno ficaria invisível para os linfócitos sem representação na face externa da membrana celular.
- Ausência da célula apresentadora ou MHC específico.
- Células supressoras, as quais impediriam a auto-agressão.
- Seleção adicional, de linfócitos, na periferia.

Experimentos com animais transgênicos vêm sendo desenvolvidos na tentativa de se compreender melhor os mecanismos de seleção do repertório de linfócitos T. Num destes modelos, uma proteína alogênica (não-própria) é ligada ao "promoter" para insulina, e, embora a proteína seja expressa apenas na superfície das células beta das ilhotas pancreáticas, não há resposta imune contra tais células. O mais intrigante é que *in vitro* os mesmos linfócitos reagem contra as células que expressam estas proteínas[8]; o mecanismo protetor contra tal resposta ainda é desconhecido.

Parece que o processo de tolerância depende de diversos fatores tais como maturidade do linfócito T, tipo da célula apresentadora, avidez da interação entre os receptores, presença de co-estímulos (T "helper"), secreção de citocinas, etc.

Tanto a existência de linfócito T supressor como seu papel na manutenção da tolerância ainda é bastante controverso. Geralmente, o linfócito T supressor é do subtipo CD8+ e tem como principal função diminuir ou bloquear respostas de linfócito T e linfócito B contra determinado antígeno[9].

O mecanismo usado para a supressão não é conhecido, porém, postula-se que ocorra através da secreção de citocinas tais como TGF-β (fator transformador de crescimento beta), que é um potente inibidor de linfócitos T e B. Outra possibilidade é a de secreção de receptores de células T, os quais competiriam pelo antígeno[10].

Linfócitos B são originários de uma célula-tronco na medula óssea e mesmo antes de ter capacidade de produzir imunoglobulinas já estão comissionados como linfócitos B. O linfócito pré-B, localizado somente em tecido hematopoiético e no fígado fetal, é a célula que tem IgM em seu citoplasma, porém não possui imunoglobulina de superfície. O estágio posterior é o de célula B

imatura, no qual já está presente a IgM de superfície. Neste estágio, o linfócito parece já poder ser selecionado, participar de processos de tolerância e pode ser encontrado na periferia.

A partir do estágio de célula B madura, quando estão presentes IgM e IgD na sua superfície, a célula torna-se antígeno-responsiva, podendo progredir para os estágios de célula B ativada e dar origem ao plasmócito, célula esta capaz de secretar grande quantidade de anticorpos.

O linfócito B sofre seu processo de seleção através de seus receptores de superfície que são imunoglobulinas antígeno-específicas. Vários são os possíveis mecanismos envolvidos no processo de tolerância do linfócito B. Entre estes estariam os de deleção, anergia e o de "receptor editing"[11].

Para ocorrer deleção, o linfócito B provavelmente encontra antígeno ainda em estágio imaturo, quando existe somente a IgM de superfície; esta deleção parece afetar os clones de alta afinidade. Atualmente, acredita-se que o mecanismo de deleção do linfócito B, em nível medular, seja o mais importante e talvez a deleção em nível periférico seja um local complementar.

A tolerância do linfócito B parece ser dependente do mecanismo de apoptose (morte celular programada), que parece ser regido por um conjunto de genes.

Em modelos experimentais várias mutações em genes que participam do processo de apoptose têm sido estudadas. Um exemplo é o camundongo MRL-*lpr*, que é um modelo animal de lúpus eritematoso sistêmico (LES), no qual ocorre uma mutação que torna nulo o gene *Fas*. Este último é importante no desencadeamento da apoptose, sendo que a mutação que o torna inerte predispõe à permanência de linfócitos auto-reativos.

No caso do gene *bcl2*, sua expressão anômala leva a um quadro semelhante ao do lúpus humano, assim como no modelo do gene *lpr*[12].

Há linfócitos B com capacidade de auto-agressão que estão quiescentes ou anérgicos. A anergia pode ocorrer por perda de receptor ou bloqueio da sua resposta e parece necessitar de exposição contínua ao antígeno e da ausência de citocinas estimulatórias produzidas normalmente pelo T "helper". Esta indução de anergia corresponde ao modelo de falta do segundo sinal para a ativação celular.

"Receptor editing" é uma modificação no receptor IgM de superfície, que levaria à diminuição da afinidade deste pelo auto-antígeno. Trabalhos recentes comprovaram a ocorrência de tal mecanismo, inclusive com detecção, por PCR, do aumento dos níveis de RAG1 e de RAG2 ("recombinase activador gene")[13,14,15].

Devido à possibilidade dos modelos animais expostos previamente, os estudos da participação dos defeitos na tolerância dos linfócitos B nos processos auto-imunes têm-se intensificado.

Outros mecanismos que podem estar envolvidos no processo de tolerância são:

- **Idiotipo/antiidiotipo**: o idiotipo distingue um clone de linfócito que produz um anticorpo específico contra determinado antígeno. Neste caso ocorre a produção de anticorpos contra a estrutura que determina a especificidade do anticorpo bloqueando a atividade deste anticorpo (antiidiotipo)[16].
- **Citocinas**: o balanço entre citocinas estimulatórias e inibitórias pode participar do desenvolvimento de anergia ou resposta imune. Entre as estimulatórias estão o interferon-gama, a IL-1, a IL-2 e o TNF. Entre as inibitórias podemos citar o TGF-β e a IL-10.

Dados experimentais e estudos clínicos recentes indicam a existência de duas subpopulações de linfócitos T auxiliares ("helper"), isto é, T "helper" 1 e T "helper" 2[17].

Cada subpopulação parece secretar determinados tipos de citocinas, sendo o T "helper" 1 caracteristicamente produtor de citocinas estimulatórias da resposta imune como IL-2 e interferon-gama.

O padrão de citocinas do T "helper" 2 com a secreção de IL-4, IL-10 e TGF-β é inibitório para a imunidade celular e estimulador da resposta humoral.

QUEBRA DA TOLERÂNCIA

A quebra da tolerância contra antígenos próprios é responsável pelo aparecimento das doenças auto-imunes[18].

As principais teorias de como ocorre a quebra do mecanismo de tolerância são:

Auto-atígenos – pode parecer um paradoxo mas um auto-antígeno geralmente não é auto-específico. Geralmente eles contêm epítopos (determinantes antígenos) que se conservaram durante a evolução filogenética e portanto espécies diferentes podem ter em sua constituição antigênica alguns determinantes iguais. Um estudo que evidenciou tal reatividade cruzada contra um epítopo conservado foi a observação da formação de auto-anticorpos contra antígenos da célula beta pancreática derivados da resposta imune contra o resíduo 17 da albumina do leite da vaca. Crianças portadoras de *Diabetes mellitus* insulino-dependente são freqüentemente portadoras de tais anticorpos que também reagem contra uma proteína

p69 presente na superfície da célula beta do pâncreas. Tal fenônemo é chamado de mimetismo molecular[19]. Alguns agentes infecciosos parecem desencadear doenças auto-imunes através deste processo.

Expressão aberrante do MHC II – a incapacidade de várias células de apresentar um auto-antígeno ligado ao MHC classe II é uma das formas para evitar-se a auto-imunidade. O aumento da expressão do MHC classe II poderia desencadear uma resposta auto-imune. Tal elevação poderia ocorrer, por exemplo, devido a uma maior produção local de citocinas como interferon-gama. Em alguns modelos animais, o bloqueio da apresentação de determinado antígeno, pelo MHC classe II, pode prevenir o desenvolvimento de doenças auto-imunes[20].

Ativação policlonal do linfócito B pode ocorrer devido a um perfil anômalo de citocinas ou a processos infecciosos. Além disso, casos em que ocorre falta do mecanismo protetor contra o acúmulo de linfócitos B, isto é, a apoptose, poderiam também levar a doenças auto-imunes[21].

Ativação policlonal da célula T – pacientes tratados com altas doses de IL-2 para algumas doenças neoplásicas, às vezes, desenvolvem doenças auto-imunes, sugerindo que a estimulação policlonal das células T pode ser responsável por doenças auto-imunes[22].

Disfunção de células supressoras – dados experimentais com ratos timectomizados e irradiados evidenciaram que eles podem desenvolver tireoidites, o que sugere que neste modelo ocorra destruição ou inativação de células supressoras e, conseqüentemente, o desencadeamento de processo auto-imune[23].

Rede idiotipo/antiidiotipo – aqui é importante salientarmos que anticorpos com diversas especificidades contra vários antígenos podem ter um mesmo determinante antigênico (idiotípico). Assim, o ataque antiidiotípico poderia levar à doença auto-imune de duas formas: uma não inibindo o mecanismo efetor de auto-agressão, seja ele linfócito T seja B, outra mimetizando o antígeno próprio, levando assim ao estímulo de ataque contra constituintes próprios.

Agentes infecciosos – vários trabalhos ainda tentam correlacionar fatores ambientais, como infecções, com as doenças auto-imunes. Diversos mecanismos são propostos, como, por exemplo, o efeito citopático devido ao antígeno ficar "plantado" no tecido, imunocomplexos, mimetismo entre o agente infeccioso e proteínas próprias, redes idiotipo/antiidiotipo, ativação policlonal, etc. Alguns exemplos de associação são o HTLV-I com lúpus e doença de Sjögren, diabetes insulino-dependente e o vírus coxsackie, estreptococcias com quadros de cardites, etc.[24]

Auto-imunidade induzida por drogas – a hidralazina e a procainamida são exemplos de drogas que podem induzir quadro de lúpus. Tais quadros aparecem somente na vigência da droga e tendem a desaparecer após sua descontinuação. Acredita-se que apareça nos casos de acetiladores lentos (acetiltransferase hepática). Parece que nestes casos a droga funciona como um hapteno, ligando-se a constituintes do organismo[25].

A tendência desproporcional de quadros auto-imunes em mulheres sugere uma influência hormonal nas doenças auto-imunes. Em quadros de lúpus, o uso de pílula anticoncepcional leva a um agravo clínico na doença na maior parte das vezes. Tal efeito parece dever-se tanto à ação hormonal sobre os macrófagos quanto sobre os linfócitos[26].

A teoria do antígeno seqüestrado tem sido utilizada para se explicar doenças auto-imunes contra órgãos específicos, como é o caso do diabetes. A falta de exposição prévia ao sistema de defesa poderia ser explicada pelo fato da possibilidade de existir uma barreira física entre o sistema imune e o determinante antigênico. Esta barreira pode ser o endotélio vascular, as membranas basais do endotélio e da célula ou até mesmo a própria conformação estrutural das moléculas peptídicas, permitindo que o determinante antigênico fique "escondido" do sistema imune. Trauma físico ou algum agente infeccioso permitiria a exposição deste antígeno para um sistema imune que o reconheceria como estranho devido à falta de contato prévio[27].

Auto-reatividade do sistema imune existe de maneira fisiológica e não se expressa com efeitos clínicos porque está de certa forma controlada e provavelmente falhas neste controle podem explicar o mecanismo fisiopatológico da maioria das doenças auto-imunes.

PAPEL DOS GENES DO MHC NA AUTO-IMUNIDADE

O conhecimento do sistema HLA (antígeno leucocitário humano) ou MHC (complexo maior de histocompatibilidade) levou ao reconhecimento de alelos que ocorrem com maior freqüência em determinadas doenças auto-imunes e em determinadas populações. Um exemplo importante é o que ocorre entre a espondilite anquilosante e o alelo HLA classe I B27. Indivíduos que possuem tal alelo têm de 90 a 100 vezes mais chance de desenvolver

tal doença. Outras associações do MHC com doenças auto-imunes são o DR4 com a artrite reumatóide, DR3/DR4 e DQw8/DQw2 com diabetes insulino-dependente, DR3 com doença de Sjögren, hepatite crônica ativa, doença celíaca e outras.

O MHC teria um papel importante nas doenças imunes, visto que seu sítio de ligação é responsável pela apresentação do antígeno para as células T e sua ativação.

Vários mecanismos são propostos para correlacionar o MHC com as doenças auto-imunes, sendo os principais:

1. As estruturas moleculares do MHC podem determinar quais clones de linfócitos T são deletados. Assim, se no timo o MHC não apresentar um antígeno próprio de forma suficientemente forte para a deleção, tal linfócito não sofrerá deleção, podendo responder a auto-antígeno. Porém, uma pergunta ainda não respondida é de como tal MHC conseguiria apresentar o mesmo antígeno durante a doença.
2. O MHC pode interferir na ativação de células imunorregulatórias que têm como função normal inibir auto-imunidade (supressor).
3. O gene ou genes associados com tais doenças podem estar relacionados a determinados MHC, como já citado. Genes para duas citocinas, fator de necrose tumoral (TNF-α) e linfotoxina estão localizados dentro do complexo MHC. A existência de genes que seriam herdados ligados aos genes do MHC e que causariam as doenças tem sido aventada. Isto seria um desequilíbrio de ligação, "linkage disequilibrium".
4. Similaridade entre os antígenos de agentes infecciosos e o MHC próprio pode desencadear doença por mimetismo molecular[28].

Outros genes não MHC

Genes não pertencentes ao sistema MHC podem interferir em doenças imunes. Deficiências genéticas de duas proteínas do complemento, C2 e C4, freqüentemente se associam a quadros auto-imunes semelhantes ao lúpus[29].

Devido a tudo que foi exposto fica clara a importância dos estudos para o conhecimento de todo o genoma humano, a fim de podermos correlacionar tais genes às doenças auto-imunes.

DOENÇA AUTO-IMUNE

A grande maioria dos pesquisadores concorda que as doenças auto-imunes têm caráter multifatorial. O quadro genético juntamente com fatores ambientais diversos devem propiciar o aparecimento de tais doenças.

Mesmo com os estudos mais recentes das doenças mediadas pelo sistema imune ainda é difícil determinar, nas diversas doenças, qual o principal mecanismo de ataque imunológico responsável por determinada doença. A disponibilidade de modelos experimentais das doenças vem ampliando o conhecimento a respeito das características imunológicas de tais doenças.

Quaisquer dos mecanismos citados no item "quebra da tolerância", isolado ou conjuntamente, podem ser responsáveis pelo fenômeno do ataque a antígenos que deveriam ser considerados como próprios e por isso poupados da destruição pelo processo de inflamação. A via final é a ativação de componentes do sistema de defesa, que são os macrófagos, o sistema complemento, as células inflamatórias e suas substâncias secretadas e as imunoglobulinas.

O quadro clínico da doença irá depender do tipo de resposta imune envolvida e da localização e das características do antígeno envolvido (Quadro 11.1).

Quadro 11.1 – Classificação dos tipos de resposta imune.

	Hipersensibilidade	Mecanismo
Tipo I	Imediata	IgE/mastócitos
Tipo II	Mediada por anticorpos	Anticorpo/antígeno plantado
		Ativa o sistema complemento
		Recruta células ativadas (neutrófilo/macrófago)
Tipo III	Imunocomplexo	Ativa o sistema complemento e leucócitos
Tipo IV	Mediada por célula	CD4+/CD8+ macrófago/"natural killer"

DOENÇAS CAUSADAS POR CÉLULAS T

As células T que causam dano tecidual podem ser auto-reativas ou atacar proteínas estranhas ligadas ou presentes dentro de suas próprias células, como no caso de infecções virais.

Podem ocorrer basicamente dois tipos de respostas celulares que levam a dano tecidual:

1. Células T que secretem citocinas ativando macrófagos e levando a uma reação dita celular tardia, que é mediada basicamente pela liberação de proteases e radicais livres.
2. Linfócitos T citotóxicos (CTL), que são capazes de atacar células com MHC classe I presente, associado a antígeno estranho ao sistema imunológico. Tal sistema normalmente visa à destruição de células infectadas por vírus e células neoplásicas, provocando a lise da célula atacada,

agindo diferentemente do "natural killer" (NK), que necessita de contato prévio com o antígeno e ser estimulado por citocinas liberadas no local.

Diversas citocinas estão sendo implicadas na fisiopatologia das doenças auto-imunes mediadas por células, entre elas destacada importância é dada ao interferon-gama. O interferon-gama tem a capacidade de estimular a expressão do MHC II até em células onde ela não ocorre constitutivamente. Provavelmente esta expressão leve a uma maior ativação das células CD4 que se ligam ao MHC II.

O NK é uma célula encontrada no sangue periférico e tecido linfóide. Tem uma função parecida com o linfócito T CD8+ citotóxico, porém não necessita de contato prévio com o antígeno. Aparentemente, sua ligação com o MHC leva a sua inativação. O NK tem a capacidade de lisar células cobertas por anticorpos, infectadas por vírus e também células neoplásicas. A estrutura de reconhecimento, na superfície celular, pelo NK ainda não está definida. O processo de morte da célula atacada parece envolver indução de apoptose desta, secreção de proteínas capazes de danificar a parede da célula (perforinas) e outras citotoxinas. O NK parece ter a capacidade de ligar-se à porção Fc de uma IgG contida na superfície da célula atacada.

Uma observação interessante é a de que após estímulo por citocinas, entre estas o interferon-gama, o túbulo renal tem a capacidade de expressar o MHC II e portanto apresentar um antígeno pelo sistema MHC II/CD4+ (auxiliar) e desencadear uma resposta imune[30].

DOENÇAS CAUSADAS POR ANTICORPOS

Podem ocorrer por dois mecanismos: imunocomplexos formados na circulação ou ataque de anticorpos contra um antígeno fixo em tecido. Neste último caso, o antígeno pode ser uma proteína própria ("self"), um antígeno estranho plantado no tecido ou célula circulante e também pode ser um constituinte normal da célula que seja parecido com um antígeno estranho que esteja sendo atacado.

Os mecanismos de lesão tecidual podem ser devidos aos seguintes mecanismos:

- Lise celular através da ativação do sistema complemento: é importante lembrar que o sistema complemento, no caso da formação de imunocomplexos, só pode ser ativado quando estes se depositam em tecido e não em circulação.
- Recrutamento de células inflamatórias ativadas.
- Opsonização pelos imunocomplexos ou através de componentes do complemento com posterior fagocitose.
- Lise celular pelo NK de células cobertas de anticorpos.

CLÍNICA E MODELOS EXPERIMENTAIS DAS PRINCIPAIS DOENÇAS AUTO-IMUNES

Artrite reumatóide (AR)

É uma doença sistêmica que acomete principalmente articulações, com caráter destrutivo. Tal doença é progressiva, geralmente iniciando por pequenas articulações e posteriormente acometendo as grandes articulações. Ocorre grave processo inflamatório na sinóvia e, até o presente momento, não é claro se ocorre maior participação do mecanismo celular ou humoral. Nos estudos da membrana sinovial encontra-se tanto células linfocíticas CD4+ quanto linfócitos B e plasmócitos ativados.

No líquido sinovial encontram-se diversas citocinas como IL-1, IL-8, TNF-α e interferon-gama. A ativação local do processo inflamatório com a liberação de proteases e radicais livres nas articulações é a fisiopatologia aceita para tal doença.

As complicações sistêmicas da AR parecem ser devidas a imunocomplexos. Nos quadros que acometem adultos encontra-se freqüentemente o fator reumatóide, que é uma IgM ou IgG contra a porção Fc da IgG própria ("self").

Há ligação de suscetibilidade entre a AR e o alelo HLA classe II-DR4.

Os principais modelos experimentais são:

- Camundongos MRL/*lpr*: que desenvolvem o quadro de artrite com altos níveis de fator reumatóide. O mecanismo imune ainda não está elucidado, mas parece haver maior participação humoral[31].
- Cepas de camundongos suscetíveis imunizadas com colágeno tipo II desenvolvem quadro de artrite, onde ocorre a participação maior de mecanismos humorais[32].
- Artrite do adjuvante: há maior mediação celular. Neste modelo o rato da cepa Lewis é exposto a micobactérias em meio oleoso e ocorre formação de granuloma nas articulações do animal. As células T deste rato transferidas para rato singenético causam a mesma doença[33].

Conforme os dados experimentais expostos, tanto mecanismos humorais como celulares podem participar da fisiopatogenia da AR.

Diabetes mellitus insulino-dependente (DMID)

É decorrente de uma destruição das células beta das ilhotas pancreáticas por um processo inflamatório denominado insulite. O processo leva a

uma ausência de insulina, ocorrendo graves alterações metabólicas e óbito caso a insulina não seja administrada de forma exógena. Por mecanismos ainda não bem elucidados, alterações de micro e macrovasculatura, neurais e renais ocorrem na evolução de tal doença.

A insulite caracteriza-se por um infiltrado constituído basicamente de células mononucleares, principalmente linfócitos T CD8+ e CD4+. O principal mecanismo imunológico envolvido é o da imunidade celular. Ocorre também uma expressão anômala do MHC II pelas ilhotas pancreáticas devido, provavelmente, à liberação de interferon-gama local.

Apesar do quadro descrito acima, vários autores vêm pesquisando anticorpos específicos contra antígenos das ilhotas pancreáticas e alguns estudos detectaram a presença destes anticorpos precedendo o início da doença.

Recentemente foi identificado um peptídeo, a descarboxilase do ácido glutâmico (GAD), o qual participa da síntese do ácido gama-aminobutírico, contra o qual ocorre anticorpos em pacientes portadores de DMID. Um fato interessante é que em crianças suscetíveis que ainda não desenvolveram diabetes (como parentes de diabéticos) e que têm tais anticorpos existe uma chance elevada de desenvolvimento da doença[34].

Existem alguns modelos animais de DMID. Um bom exemplo é o dos ratos BB ("bio-breeding") que desenvolvem insulite e anticorpos contra o GAD, porém, o infiltrado aqui também é constituído de linfócitos e o tratamento com timectomia e anticorpos antilinfócito T previnem a doença neste modelo. Talvez, a fisiopatologia de agressão auto-imune neste modelo seja uma deficiência no sistema supressor[35].

Camundongos NOD ("non-obese diabetes") também desenvolvem uma insulite dependente de células T. Tal processo pode inclusive ser reproduzido em outro animal através da transferência de linfócitos T provindos de animal diabético.

Em um estudo com camundongos NOD que apresentam DMID constitutivamente, e são considerados um bom modelo experimental da doença humana, conseguiu-se promover tolerância ao GAD, injetando esta proteína no timo de animais pré-diabéticos, que não desenvolveram diabetes[36].

Os fatores genéticos têm um papel importante no desenvolvimento da doença, porém, a concordância entre gêmeos idênticos é de somente 50%, portanto deve existir fatores ambientais envolvidos como, por exemplo, um fator infeccioso, visto a existência de trabalhos avaliando a correlação entre o vírus coxsackie e o diabetes.

Lúpus eritematoso sistêmico

Tem características clínicas muito polimórficas, pode acometer diversos órgãos e geralmente evolui em surtos.

O quadro geralmente aparece em mulheres na idade reprodutiva e pode acometer vários órgãos e sistemas.

Na pele geralmente ocorre fotossensibilidade, sendo mais comum no paciente que apresenta o chamado "rash" malar. Um quadro localizado que pode evoluir para o lúpus disseminado é o lúpus discóide.

O lúpus também pode acometer o sistema nervoso central, acarretando quadros de psicose, convulsões e alterações de comportamento devido a vasculites centrais. Serosites, quadros articulares com artrites, miocardite, vegetação em válvula cardíaca (Liebman-Sacks) e pericardites apresentam-se em nível cardíaco.

Ao nível de trato gastrintestinal podemos observar quadros de hepatite auto-imune e também pancreatite. No setor hematológico temos manifestações como trombocitopenia, anemia hemolítica, etc.

O acometimento renal nesta doença é um dos mais temidos, freqüentemente levando o paciente à insuficiência renal terminal e necessidade de tratamento dialítico.

Nesta doença, com freqüência, é possível detectar-se anticorpos contra vários constituintes celulares. Entre estes estão anticorpo anti-DNA dupla hélice (bastante específico), anticorpos contra ribonucleoproteínas, histonas e antígenos nucleolares, assim como anticorpos contra hemácias e plaquetas.

O estudo da importância de fatores genéticos no lúpus evidenciou uma concordância de apenas 25% entre gêmeos univitelinos, assim, torna-se claro também a contribuição de fatores ambientais para a doença.

O camundongo NZB (New Zeland Black) é um modelo animal de lúpus, produz níveis baixos de anticorpos contra DNA geralmente com quadro de anemia hemolítica. No cruzamento de NZB × NZW (New Zeland Black × New Zeland White) os descendentes desenvolvem um quadro florido muito semelhante ao lúpus humano. Parece que ocorre ataque ao DNA por anticorpo IgG fixador de complemento. Os linfócitos destes animais são hiper-responsivos a estímulos diversos quando *in vitro*[31].

Outro modelo animal de lúpus é o camundongo MRL-*lpr/lpr* ("lymphoproliferative"), que produz diversos auto-anticorpos, inclusive crioglobulinas, e apresenta vasculites por imunocomplexos. Neste modelo uma característica importante é que a ti-

mectomia precoce previne o desenvolvimento da doença, sugerindo que o sistema celular possa ser o responsável pela doença. O número de linfócitos T aumenta quando vai-se iniciar o quadro e *in vitro* leva ao estímulo de linfócitos B. Trata-se de um exemplo onde o sistema celular foi somente um estimulador do sistema humoral.

Linfócitos T isolados do parênquima renal de camundongos *lpr* são auto-reativos e proliferam quando estimulados por células tubulares renais. Além disso, estas células quando injetadas no espaço subcapsular renal levam a um aumento da expressão do MHC classe II pelas células tubulares renais. Estas células *in vitro* têm a capacidade de produzir IL-4, TNF-α e interferon-gama[37].

Quanto ao sistema humoral, uma ativação policlonal de linfócitos B seria o mais esperado para explicar esta doença devido aos múltiplos anticorpos encontrados.

O gene *lpr* presente em linhagem de camundongos que desenvolvem lúpus é uma mutação do gene *fas* que participa do processo de apoptose celular. Assim, uma falha no mecanismo de apoptose pode explicar o acúmulo de células auto-reativas.

Há risco relativo maior de duas a três vezes para os indivíduos HLA-DR2 e DR3 de desenvolverem lúpus.

Deficiência de fatores do complemento é encontrada em aproximadamente 10% dos indivíduos com quadro de lúpus e até o momento não se sabe a causa da ocorrência deste fato.

Glomerulonefrites

Pouco se sabe até o presente momento a respeito dos fatores que dão início aos quadros de glomerulonefrites. A presença de antígenos circulantes que se depositam no glomérulo, antígenos que formam imunocomplexos com anticorpos para depois sofrerem a deposição glomerular e mesmo o ataque contra determinantes antigênicos constitutivos glomerulares são os principais mecanismos propostos. A lesão através do sistema celular mediada por linfócitos e citocinas também parece ter participação.

Os processos que lesam o glomérulo podem ser divididos em dois grupos: não-inflamatórios, onde há pouca ou nenhuma infiltração glomerular por células inflamatórias, ou inflamatórios, onde há infiltração evidente de células inflamatórias quando examinado à microscopia óptica[38].

No grupo de mecanismo não-inflamatório, entram os quadros de glomerulonefrite por lesão mínima (GNLM), de glomerulosclerose segmentar e focal (GESF) e o de glomerulonefrite membranosa (GNM)[39,40].

No caso da GNLM e da GESF há atualmente evidências de que fatores circulantes que aumentam a permeabilidade glomerular às proteínas estejam presentes. Tais fatores trata-se, provavelmente, de citocinas[41].

No caso da GNM existe uma deposição significante de anticorpos e componentes do sistema do complemento no espaço subepitelial glomerular. A proteinúria correlaciona-se de modo importante com fatores do complemento, principalmente com o complexo C5b-9, isto é, o complexo de ataque à membrana. Não está claro até o momento se estes fatores lesam diretamente o glomérulo ou se a proteinúria ocorre por fatores indiretos, liberados após a ativação do complemento. A pouca infiltração celular inflamatória neste tipo de lesão glomerular é explicada pelo fato de o complemento estar depositado no compartimento subepitelial, não havendo possibilidade de contato e ativação das células no compartimento sangüíneo.

Quadros que são incluídos no grupo inflamatório, como a glomerulonefrite pós-infecciosa (GNDA), nefrite lúpica, nefropatia por IgA, glomerulonefrite rapidamente progressiva e glomerulonefrite membranoproliferativa são exemplos de intensa infiltração glomerular por células. Estudos recentes determinam que tanto células circulantes quanto constituintes do glomérulo podem determinar lesões através da liberação de radicais livres, proteases e outras substâncias com poder quimiotáxico que determinam maior infiltrado celular. Plaquetas, neutrófilos, macrófagos[42] e a própria célula mesangial são tidos como participantes no processo de agressão ao glomérulo.

A liberação de citocinas por células que infiltram o glomérulo vem sendo investigada. Acredita-se que estas citocinas possam determinar parte do processo de proliferação celular e lesão glomerular, como o PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas), e também participar do processo de esclerose glomerular e perda de função renal, como é o caso do TGF-β (fator transformador de crescimento beta).

Alguns grupos vêm conseguindo inibir quadros de glomerulonefrites experimentais através da inibição do TGF-β utilizando anticorpos contra tal citocina[43].

A participação das moléculas de adesão nos processos infiltrativos glomerulares é um ponto bastante pesquisado no momento. A expressão de moléculas como o ICAM-1 e VCAM-1, por estímulo da IL-1 e do TNF, pode ser responsável pela adesão dos leucócitos aos constituintes do glomérulo e permitir assim o processo inflamatório local[44].

Principais modelos experimentais

Nefrite de Heymann – o antígeno Fx1A provém da célula tubular proximal de rim homólogo, é uma glicoproteína de 330kd (gp 330) utilizada para imunizar e produzir anticorpos. O anticorpo produzido é infundido no animal em estudo reproduzindo um modelo de formação de imunocomplexo *in situ*. O antígeno está presente no glomérulo, mais precisamente na célula epitelial glomerular, e este é o local onde o anticorpo se liga; ocorre também ativação do complemento. Em cinco dias o animal desenvolve proteinúria sem ocorrer processo inflamatório glomerular. Tal modelo é um exemplo do grupo não-inflamatório e, neste caso, sugere que a proteinúria é dependente da ativação do complemento[45].

Doença antimembrana basal – carneiro imunizado com constituintes de membrana basal de glomérulos humanos junto com adjuvante de Freund desenvolve deposições lineares de anticorpos, principalmente IgG, em sua membrana basal glomerular. Há também depósito de complemento e uma glomerulonefrite caracterizada por grande proliferação celular, inclusive com formação de crescentes. O antígeno responsável por esta forma de glomerulonefrite é um constituinte do colágeno de tipo IV (cadeia alfa-3). O modelo representa a doença de Goodpasture[46].

Nefrite soronefrotóxica (fase autóloga) – anticorpos heterólogos antimembrana basal glomerular são injetados em animal permanecendo quiescentes por uma semana. Após 7 a 10 dias, anticorpos contra tais proteínas heterólogas "plantadas", que funcionam como antígeno, começam a se depositar no glomérulo. Neste modelo, provavelmente, as células monocitárias que infiltram o local são as que causam a lesão glomerular[46].

Doença do soro aguda – proteínas heterólogas injetadas em coelhos produzem glomerulonefrite proliferativa que corresponde a uma doença por imunocomplexo circulante. O quadro experimental assemelha-se muito ao de uma glomerulonefrite pós-estreptocócica e neste caso também há participação de complemento e monócitos na lesão glomerular[46].

Doença do soro crônica – neste modelo há administração de soro heterólogo de forma repetida e por um período mais longo do que no modelo agudo, ocorrendo quadro glomerular de proliferação e/ou glomerulonefrite com padrão membranoso[46].

Animais transgênicos, que apresentam expressão aumentada de fatores de crescimento como o TGF-β, têm sido usados para se estudar o comportamento do glomérulo diante de tais peptídeos.

Estimulação da imunidade celular mediada pelos linfócitos T através de tratamento do animal com éter vinilmaléico, que estimula a atividade antitumoral mediada por linfócitos e principalmente por monócitos, causa proteinúria. Tal modelo serve para estudarmos a participação da imunidade celular no mecanismo de lesão glomerular.

PERSPECTIVAS

A biologia molecular vem auxiliando de forma importante o entendimento do funcionamento do sistema imune e por conseqüência as doenças auto-imunes.

Um dos campos de maior interesse é o da comunicação intracelular após a ativação de receptores celulares. Em trabalho recente comprovou-se que um mesmo receptor de célula T pode responder de diversas formas, dependendo das características de seu ligante, provavelmente através de diferentes padrões de fosforilação dos constituintes do receptor da célula T. Talvez uma possível explicação de porque uma célula possa ser ativada por um ligante ou ser inativada (anergizada) por outro esteja na diversidade de comunicação intracelular[47], com a possibilidade de se bloquear uma resposta auto-imune, utilizando-se antígenos que não ativem totalmente o linfócito T e levem à anergia de células auto-reativas.

Outro assunto de grande interesse no estudo da imunidade é o processo de apoptose. A apoptose, uma forma de morte celular com características peculiares, é o principal mecanismo pelo qual ocorre a deleção de células potencialmente auto-reativas. Genes envolvidos no controle do processo que culmina na ativação de endonucleases com fragmentação do conteúdo nuclear estão sendo identificados. Entre eles, o *fas* é o mais estudado, sendo provavelmente um dos principais reguladores da apoptose. Mutações do *fas* em camundongos determinam defeitos no processo de apoptose e culminam com a permanência de células com poder auto-agressivo[48]. Já existem relatos de quadros auto-imunes em humanos determinados por mutações do gene que codifica o *fas*[49].

A velocidade com que novos conhecimentos são somados ao entendimento do sistema imune é enorme, abrindo novos caminhos para intervenções sobre diversas doenças, sejam auto-imunes sejam neoplásicas, etc.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBAS AK, LICHTMAN AH, POBER JS: Antigen processing and presentation to T lymphocytes, in *Celular and Molecular Immunology* (2nd ed), edited by Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, Philadelphia, WB Saunders, 1994, pp 115-135.

2. ABBAS AK, LICHTMAN AH, POBER JS: B cell activation and antibody production, in *Celular and Molecular Immunology* (2nd ed), edited by Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, Philadelphia, WB Saunders, 1994, pp 188-204.
3. MACDONALD HR, LEES RK: Programmed death of autoreactive thymocytes. *Nature* 343:642-644, 1993.
4. BLACKMAN M, KAPPLER JW, MARRACK P: The role of the T cell receptor in positive and negative selection of developing T cells. *Science* 248:1335-1341, 1990.
5. KAPPLER JW, ROEHM N, MARRACK P: T cell tolerance by clonal elimination in the thymus. *Cell* 49:273-280, 1987.
6. HENGARTNER H, ODERMATT B, SCHNEIDER R, SCHREYER M, WÄLLE G, MACDONALD HR, ZINKERNAGEL RM: Delection of self-reactive T cells before entry into the thymus medulla. *Nature* 336:388-390, 1988.
7. BEVERLY B, KANG SM, LEONARDO MJ, SCHWARTZ RH: Reversal of in vitro T cell clonal anergy by IL-2 stimulation. *Int Immunol* 4:661-671, 1992.
8. OHASHI PS, OEHEN S, BUERKI K: Ablation of "tolerance" and induction of diabetes by virus infection in viral antigen transgenic mice. *Cell* 65:305-317, 1991.
9. GREEN DR, FLOOD PM, GERSHON RK: Immunoregulatory T cell pathways. *Annu Rev Immunol* 1:439-463, 1983.
10. BLOOM BR, SALGAME P, DIAMOND B: Revisting and revising supressor T cells. *Immunol Today* 13:131-136, 1992.
11. NEMAZEE D: Promotion and prevention of autoimmunity by B lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 5:865-869, 1993.
12. THOMPSON CB: Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 267:1456-1462, 1995.
13. TIEGS SL, RUSSEL DM, NEMAZEE D: Receptor editing in self-reactive bone marrow B-cells. *J Exp Med* 177:1009-1020, 1993.
14. GAY D, SAUNDERS T, CAMPER S, WEIGERT M: Receptor editing: an approach by auto-reactive B cells to escape tolerance. *J Exp Med* 177:999-1008, 1993.
15. RADIC MZ, ERIKSON J, LITWIN S, WEIGERT MB: Lymphocytes may escape tolerance by revising their receptors. *J Exp Med* 177:1165-1173, 1993.
16. VANDERBARK A, HASHIM G, OFFNER H: Immunization with a synthetic T cell receptor v-region peptide protects against EAE. *Nature* 341:541-544, 1989.
17. O'GARRA A, MURPHY K: T cells subsets in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 15:880-886, 1993.
18. SCHWARTZ RS, PAUL WE: Autoimmunity and autoimmune disease. *Fundamental Immunology* (3rd ed), edited by Schwartz RS, Paul WE, New York, Raven Press, 1993, pp 1033-1097.
19. KARJALAINEM J, DOSCH HM: Bovine albumin peptide as a possible trigger of IDDM. *N Engl J Med* 327:302-307, 1992.
20. HURTENBACH U, LIER E, ADORINI L, NAGY ZA: Prevention of autoimmune diabettes in non-obese diabettes mice by treatment with class II MHC blocking peptide. *J Exp Med* 177:1499-1504, 1993.
21. STRASSER A, WHITTINGHAM S, VAUX DL, BATH ML, ADAMS J, CORY S, HARRIS AW: Enforced *Bcl2* expression in B-lymphoid cells prolongs antibody responses and elicits autoimmune disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8661-8665, 1991.
22. SAUTER NP, ATKINS MB, MIER JW, LECHAN RM: Transient thyrotoxicosis and persistent hypothyroidism due to acute autoimmune thyroiditis after IL-2 and interferon gama therapy for metastatic carcinoma (case report). *Am J Med* 92:441-444, 1992.
23. PENHALE WJ, AHMED SA: Autoimmune thyroiditis in rats induced by thymectomy and irradiation. *Am J Pathol* 106:300-302, 1982.
24. FUJINAMI RS: Viruses and autoimmunity. *Immunochem Viruses* 11:75, 1990.
25. HESS E: Drug-related lupus. *N Engl J Med* 318:1460-1462, 1988.
26. JUNGERS P, NAHOUL, K, PLISSIER C: Influence of oral contraceptive therapy on the activity of sistemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25:618-623, 1982.
27. THEOFILOPOULOS AN: The basis of autoimmunity: part I. Mechanisms of aberrant self-recognition. *Immunol Today* 16:90-98, 1995.
28. CAMPBELL RD, MILNER CM: MHC genes in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 5:887-893, 1993.
29. GARCHON HJ: Non-MHC-linked genes in autoimmune diseases. *Curr Opin Immunol* 5:894-899, 1993.
30. KELLEY VR, JEUNIKAR AM: Antigen presentation by renal tubular epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 2:13-16, 1991.
31. THEOFILOPOULOS AN, DIXON FJ: Murine models of systemic lupus erythematosus. *Adv Immunol* 37:269-390, 1985.
32. HOLMDAHL R, ANDERSSON M, GOLDSCHMIDT TJ, GUSTAFSSON K, JANSSON L, MO JA: Type II collagen autoimmunity in animals and provocations leading to arthritis. *Immunol Rev* 118:193-232, 1990.
33. TAUROG JD, SANDBERG GP, MAHOWALD ML: The celular basis of adjuvant arthritis. *Cell Immunol* 75:271-282, 1983.
34. KAUFMAN DL, SALZTER MC, LEHMANN P: Spontaneous loss of T cell tolerance to glutamic acid descarboxilase in murine insulin-dependent diabettes. *Nature* 355:69-72, 1993.
35. CRISÁ L, MORDES JP, ROSSINI AA: Autoimmune diabetes mellitus in the BB Rat. *Diabetes Metab Rev* 8:4-37, 1992.
36. TISCH R, MCDEVITT HO: Immune response to GAD correlates with insulitis in NOD mice. *Nature* 355:72-75, 1993.
37. GALLO CD, JEVNIKAR AM, BRENNAN DC, FLORQUIN S, PACHECO-SILVA AP, KELLEY VR: Autoreactive kidney-infiltrating T-cell clones in murine lupus nephritis. *Kidney Int* 42:851-858, 1992.
38. MAKKER SP: Mediators of immune glomerular injury. *Am J Nephrol* 13:324-336, 1993.
39. COUSER WG: Mediation of immune glomerular injury. *Clin Investig* 71:808-811, 1993.
40. SAVIN VJ: Mechanisms of proteinuria in noninflammatory glomerular diseases. *Am J Kidney Dis* 21:347-362, 1993.
41. SCHWARTZ MM, KORBET SM: Primary focal segmental glomerulosclerosis: histological variants and pathogenesis. *Am J Kidney Dis* 22:874-883, 1993.
42. CATTELL V: Macrophages in acute glomerular inflammation. (editorial review) *Kidney Int* 45:945-952, 1994.
43. BORDER WA, OKUDA S, LANGUINO LR, SPORN MB, RUOSLAHI E: Suppression of experimental glomerulonephritis by anti-serum against transforming growth factor beta 1. *Nature* 346:371-374, 1990.
44. BRADY HR: Leukocyte adhesion molecules and kidney diseases. (editorial review) *Kidney Int* 45:1285-1300, 1994.
45. KERJASCHKI D, FARQUHAR MG: Immunocytochemical localization of the Heymann antigen (gp 330) in glomerular epithelial cells of normal Lewis rats. *J Exp Med* 157:667-686, 1983.
46. EDDY AA, MICHAEL AF: Immunopathogenetic mechanisms of glomerular injury, in *Renal Pathology with Clinical and Functional Correlations* (vol 1), edited by Tisher CC, Brenner BM, Philadelphia, JB Lippincott Co, 1989, pp 111-155.
47. MADRENAS J, WANGE RL, WANG JL, ISAKOV N, SAMELSON LE, GERMAIN RN: ζ phosphorylation without ZAP-70 activation induced by TCR antagonists or parcial Agonists. *Science* 267:515-518, 1995.
48. NAGATA S, GOLSTEIN P: The *fas* death factor. *Science* 267:1449-1456, 1995.
49. RIEUX-LAUCAT F, LE DEIST F, HIVROZ C, ROBERTS IAG, DEBATIN KM, FISCHER A, DE VILLARTAY JP: Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity. *Science* 268:1347-1349, 1995.

12

MECANISMOS IMUNOLÓGICOS DA NEFROPATIA DA IgA

PAPEL DOS RECEPTORES CELULARES

Renato Costa Monteiro Filho

◆

INTRODUÇÃO

A nefropatia da IgA (N-IgA), descrita por Jean Berger e Nicole Hinglais no hospital Necker em 1968[1,2], é uma glomerunefrite (GN) que se caracteriza pela deposição das imunoglobulinas A (IgA) no mesângio causando hematúria (e eventualmente proteinúria) que, na maioria dos casos, é microscópica e assintomática[3]. Esta nefropatia é atualmente a mais freqüente das GN primitivas na França, representando cerca de 30% das GN[4]. Esta freqüência é semelhante em muitos países da Europa[5], podendo variar em outros lugares como na América do Sul e do Norte, onde representa 5-10% das GN, e no Japão 40%[6-8]. Estudos epidemiológicos realizados na região da Bretanha (França) revelaram que a prevalência das GN primitivas é de 5,7 por 1.000, enquanto a N-IgA representa 1,9 por 1.000[4]. Fatores genéticos parecem estar envolvidos no desenvolvimento da N-IgA, pois são freqüentes os casos familiares[9,10]. A gravidade da N-IgA é considerável, pois cerca de 25% dos casos evoluem para insuficiência renal terminal[5,11], apesar de que alguns casos evoluem para remissão espontaneamente[12]. Na França, esta nefropatia é responsável por 40% dos pacientes com insuficiência renal terminal, ou seja, 400 casos novos em diálise ou transplante por ano[13,14]. Graças aos progressos consideráveis na área de imunologia, bioquímica e biologia molecular, os mecanismos patogênicos envolvidos na N-IgA estão começando a se esclarecer.

Os mecanismos patogênicos básicos implicados na N-IgA podem ser divididos em três tipos: 1. anomalias estruturais das moléculas de IgA; 2. anomalia de expressão e glicosilação do receptor das IgA – RFcαI (CD89) – das células fagocitárias sangüíneas: fatores responsáveis por um retardo na eliminação das IgA plasmáticas; 3. deposição de IgA anormais (e complexos) no mesângio, via indução de receptores de baixa afinidade pelas IgA (RFcαII) em células mesangiais.

1. Anomalias estruturais das moléculas de IgA

A existência dos depósitos mesangiais de IgA e a capacidade de recidiva destes depósitos depois do transplante renal[13] são elementos básicos para formular a hipótese de uma anomalia intrínseca das IgA circulantes como principal fator responsável pela formação de depósitos mesangiais[15].

No homem, as IgA séricas são essencialmente produzidas na medula óssea e se dividem em duas subclasses[16,17]: IgA_1 e IgA_2. A maioria das IgA séricas são IgA_1 e apresentam-se sob forma monomérica com uma minoria de formas poliméricas na circulação (10%). Por outro lado, nas secreções exócrinas, cerca de 50% das IgA são do tipo IgA_2 e, diferentemente das IgA plasmáticas, tais IgA são produzidas essencialmente sob forma dimérica e localmente na submucosa por linfócitos B provenientes das placas de Peyer. Durante o transporte para o lúmen pelas células epiteliais, estas IgA diméricas se associam ao componente secretório, parte do receptor poli-Ig (ver próximo item), formando assim as IgA secretórias[18]. O componente secretório confere às IgA uma resistência às enzimas bacterianas[19].

Estudos imunoquímicos realizados na década de 80 revelaram que os depósitos mesangiais na N-IgA são compostos principais por IgA_1[20] sob forma polimérica e que a forma monomérica representa 40% dos depósitos[21]. As IgA poliméricas mesangiais não contêm o componente secretório, sugerindo uma origem plasmática e não das mucosas[21]. Na circulação, a forma molecular das IgA é sobretudo monomérica (90%), com uma relação entre IgA monomérica/polimérica dentro da faixa normal[22]. Apesar da importância do tamanho molecular das IgA no depósito mesangial ter sido claramente demonstrada experimentalmente[23,24], IgA monoméricas no mesângio associadas a uma ausência de atividade anticórpica das IgA sugerem presença de alterações estruturais destas imunoglobulinas.

Estudos da carga elétrica das IgA mesangiais e séricas revelaram a presença de IgA anormalmente ácidas, sugerindo anomalias de grupos carboidratos das moléculas de IgA[21,25,26]. As IgA são glicoproteínas relativamente únicas no soro devido à composição em carboidratos de ligação O na região charneira[27]. Estes carboidratos permitem a ligação quase que exclusiva das IgA do soro à jacalina purificada, uma lectina descoberta no Brasil que é proveniente da semente da fruta jaca[28]. Na N-IgA, André e cols[29] demonstraram que a ligação das IgA à jacalina estava diminuída. Como esta ligação é dependente de grupamentos carboidratos de ligação O ($\beta_{1,3}$-galNAc glicanos), a diminuição da ligação IgA-jacalina indica alteração destes grupamentos das IgA em pacientes com N-IgA. Recentemente, estudos imunoquímicos revelaram uma glicosilação defeituosa das IgA, com deficiência em galactose (Fig. 12.1)[30]. Os autores postulam que este defeito é conseqüência de uma deficiência, genética ou adquirida, em $\beta_{1,3}$-galactosiltransferase, porém o gene desta enzima ainda não foi isolado.

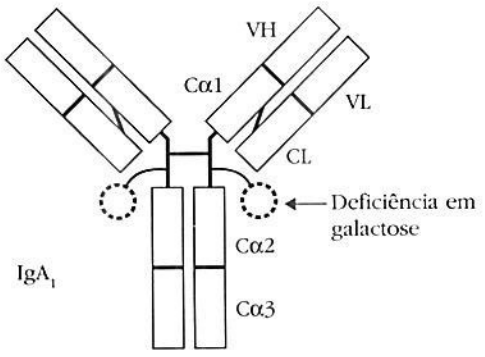


Figura 12.1 – Representação esquemática das IgA_1 deficientes em galactose na nefropatia da IgA (N-IgA).

2. Anomalia de expressão e glicosilação do receptor das IgA – RFcαI (CD89) – das células fagocitárias sangüíneas: Fatores responsáveis por um retardo na eliminação das IgA plasmáticas

Na N-IgA o aumento dos níveis séricos das IgA é de duas a três vezes o nível normal[22,25,31]. Complexos imunes à IgA_1 (CI-IgA) estão presentes no plasma de pacientes com N-IgA, cirrose alcoólica, AIDS, púrpura de Henoch-Schönlein e *dermatitis herpetiformis*[25,31-39]. A maioria destas doenças se caracteriza pela presença de depósitos de IgA nos tecidos, como mesângio, espaços sinusoidais do fígado e/ou na pele. As diferenças entre os mecanismos de depósitos implicados em cada uma destas doenças ainda não estão esclarecidos. Por exemplo, na AIDS, apesar da presença de níveis séricos aumentados de IgA_1 e CI-IgA_1, o depósito mesangial das IgA não é freqüente[40]. O aumento plasmático das IgA e CI-IgA pode, teoricamente, ser conseqüência de uma síntese aumentada e/ou de um catabolismo defeituoso. A primeira hipótese parece menos provável, pois em nossa experiência, em estudos parcialmente publicados, linfócitos B circulantes de pacientes com N-IgA (n = 30), quando colocados em cultura, não produzem espontaneamente mais IgA que aqueles dos grupos controles mesmo após estimulação com mitógenos como o Pokeweed[15]. Por outro lado, estudo recente com injeção *in vivo* de CI-IgA radiomarcado em pacientes com N-IgA indica a existência de uma eliminação ("clearance") retardada destes CI-IgA[41]. Estes resultados sugerem assim a existência de uma anomalia de um dos receptores celulares das IgA responsáveis pela diminuição do catabolismo das IgA na N-IgA.

Três receptores celulares específicos das IgA, descobertos nos últimos anos, poderiam teoricamente participar do catabolismo das IgA plasmáticas. O primeiro receptor descrito, receptor poli-Ig, efetua o transporte das Ig poliméricas (IgA e IgM) em nível das células epiteliais das mucosas para formar as Ig secretórias[42,43]. O segundo receptor, receptor das asialoglicoproteínas, é expresso pelos hepatócitos que também se ligam nas IgA através dos oligossacárides de ligação O[44]. O terceiro receptor é específico do fragmento Fc das IgA, fragmento Fcα (nomeado RF-cαI)[45,46]. Como o compartimento das IgA plasmáticas é completamente independente do compartimento das IgA secretórias[47], o receptor poli-Ig fica excluído de um papel primário no seu catabolismo. Roccatello e cols demonstraram que a eliminação das asialoglicoproteínas é normal em

pacientes com N-IgA, o que exclui anormalidades intrínsecas ao receptor das asialoglicoproteínas[41]. Por outro lado, estes mesmos autores demonstraram que a eliminação de CI-IgA estava retardada, sugerindo assim anomalias no receptor do fragmento Fc das IgA, o RFcαI.

O RFcαI é expresso na superfície de células hematopoiéticas como monócitos, neutrófilos e eosinófilos[45,48], e nos macrófagos alveolares[49]. Este receptor é caracterizado como proteínas altamente glicosiladas com peso molecular variando de 55 a 100kd (proteína rica em carboidratos N e O, com vários resíduos de ácidos siálicos) e um núcleo protéico de 32kd[45,48]. As moléculas RFcαI se ligam à forma monomérica e polimérica das IgA, em IgA de ambas subclasses IgA_1 e IgA_2 e necessitam da região Cα2 (ver Fig. 12.1) das IgA para a ligação[45]. Um gene codificante para o RFcαI foi localizado no cromossomo 19, com uma organização exon/íntron semelhante aos genes da família de receptores Fc das IgG e IgE[46,50,51]. Análise da seqüência prediz uma proteína de 32kd com dois domínios extracelulares semelhantes ao das Ig com seis sítios potenciais para a glicosilação de ligação N, uma região transmembranosa e um domínio intracitoplasmático de 41 resíduos[46]. Cinco anticorpos monoclonais (My43, A3, A59, A62 e A77) produzidos em camundongos foram fundamentais para caracterizar o RFcαI (natural ou recombinante), levando assim à definição recente de um novo CD ("cluster differentiation") – o CD89 – durante o último congresso internacional sobre antígenos humanos de diferenciação leucocitária (Leucocyte Typing V)[52-54]. A definição deste receptor, o RFcαI, permitiu a ligação importante entre células fagocitárias do sangue e os anticorpos de classe IgA. A função do RFcαI expresso nas células fagocitárias tem sido assim amplamente avaliada *in vitro* através da ativação do RFcαI usando CI-IgA ou anticorpos monoclonais anti-RFcαI. O RFcαI medeia uma variedade de respostas, incluindo produção de íons superóxidos, liberação de mediadores de inflamação, fagocitose, endocitose e atividade citotóxica de vários microrganismos patogênicos[55-58].

Um estudo do RFcαI das células fagocitárias do sangue de pacientes com N-IgA está atualmente em progresso em nosso laboratório no hospital Necker para analisar a estrutura e a função deste receptor na tentativa de explicar o defeito de catabolismo das IgA observado nos estudos *in vivo*[41]. Uma diminuição importante do número de receptores celulares RFcαI foi observada na superfície e no citoplasma dos monócitos desses pacientes, e de modo menos intenso nos neutrófilos. Estudos bioquímicos das moléculas RFcαI revelaram, de maneira surpreendente, uma anomalia de glicosilação com menos ácidos siálicos, sugerindo anomalia dos carboidratos de ligação O. Dessa forma, este defeito de expressão parece ser conseqüência de uma anomalia pós-transcrita do RFcαI. Por analogia à anomalia das IgA descrita no item 1, uma deficiência genética em $\beta_{1,3}$-galactosiltransferase (ou outras enzimas envolvidas na glicosilação O) poderia causar este defeito. Estudos recentes do nosso laboratório demonstraram que outras doenças associadas a aumento das IgA plasmáticas como a cirrose alcoólica e a AIDS também apresentavam anomalias de glicosilação do RFcαI[57,59]. Porém, aparentemente, os mecanismos patogênicos divergem entre estas doenças. Enquanto na cirrose a anomalia é induzida por altos níveis de interferon-gama circulante[57], na AIDS parece existir um bloqueio do RFcαI em nível do aparelho de Golgi, provavelmente induzido por proteínas do vírus HIV. A figura 12.2 representa esquematicamente a situação do RFcαI nos monócitos circulantes na N-IgA.

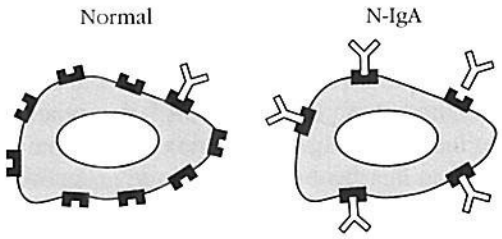


Figura 12.2 – Representação esquemática da diminuição do número de receptores das IgA (RFcαI; CD89) nos monócitos de pacientes com N-IgA e saturação destes receptores pelas IgA plasmáticas.

A anomalia de expressão do RFcαI conduz também a uma saturação dos RFcαI nas IgA plasmáticas[60]. Esta saturação do RFcαI poderia ser conseqüência da diminuição do número de RFcαI na superfície dos monócitos, ou então da alteração dos grupamentos carboidratos do receptor levando a um aumento da afinidade receptor-ligante, ou finalmente de ambos os mecanismos. Estas anomalias do RFcαI trariam várias conseqüências funcionais, como retardo da endocitose das IgA e dos CI-IgA[60] e um desbalanço na produção de citocinas pelos monócitos.

Na N-IgA, entretanto, o retardo da endocitose das IgA é bem menos acentuado que na cirrose alcoólica, onde os RFcαI anormalmente glicosilados conduzem não somente à diminuição considerável da endocitose mas também à reciclagem

anormal dos RFcαI para a superfície das células sem degradarem as IgA[57]. Em condições fisiológicas normais, a ativação destes receptores pelas IgA ou CI-IgA levam a uma produção de citocinas importantes na resposta imune, como por exemplo o fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α) e a interleucina-6 (IL-6)[58]. Por outro lado, altos níveis plasmáticos de IL-6 e TNF-α foram detectados em pacientes com N-IgA[61]. Enquanto a IL-6 estimula células B a produzirem IgA[62], o TNF-α é importante na reação inflamatória[63].

Em resumo, o defeito de expressão dos RFcαI levaria à saturação dos receptores pelas IgA plasmáticas induzindo uma produção aumentada de IL-6 pelos monócitos que conseqüentemente elevaria a produção de IgA anormais e nefritogênicas. Além disso, estes defeitos explicariam o retardo na eliminação das IgA observado *in vivo* nos pacientes com N-IgA[41]. A figura 12.3 representa esquematicamente as conseqüências funcionais da saturação do RFcαI pelas IgA nos monócitos de pacientes com N-IgA.

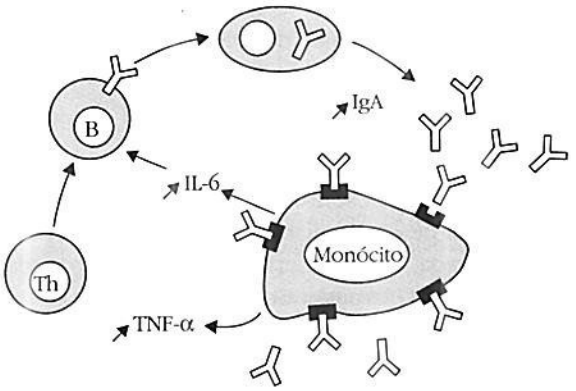


Figura 12.3 – Conseqüências funcionais da saturação dos receptores de monócitos (RFcαI; CD89) pelas IgA e sua importância potencial na produção de citocinas que atuam na síntese das IgA pelos linfócitos B de pacientes com N-IgA.

3. Deposição das IgA anormais (e complexos) no mesângio via indução de receptores de baixa afinidade para IgA (RFcαII) em células mesangiais

Nós, em resultados em vias de publicação, e vários autores demonstramos recentemente a existência de regiões de ligação específicas das IgA em células mesangiais normais colocadas em cultura[64,65]. Gómez-Guerrero e cols[5] postulam que o RFcαI seria expresso por células mesangiais humanas[64]. Entretanto, os resultados deste estudo não foram confirmados pelo nosso grupo, dados em publicações, e também pelo grupo de J. Mestecky usando anticorpos monoclonais anti-RFcαI e "primers" específicos do RFcαI por PCR ("polymerase chain reaction")[66]. Assim, embora haja controvérsia, tem-se considerado que o RFcαI não é expresso por células mesangiais normais nem nas células de pacientes com N-IgA.

Os resultados do nosso estudo, ainda em andamento, mostram a existência de uma nova proteína diferente do RFcαI que se liga com baixa afinidade às IgA. Para caracterizar este novo receptor das IgA, nomeado RFcαII, um anticorpo monoclonal anti-RFcαII foi produzido no camundongo. O RFcαII parece reconhecer os carboidratos das IgA.

Estudos imuno-histoquímicos com este anticorpo monoclonal indicam que a expressão mesangial de RFcαII é quase ausente no indivíduo normal e está aumentada em pacientes com N-IgA. A expressão deste receptor, o RFcαII, é induzida em células mesangiais normais em cultura, estando na dependência do grau de proliferação das células mesangiais.

Recentemente, dois grupos demonstraram que as IgA agregadas são capazes de induzir a produção de IL-6 e a proliferação das células mesangiais em cultura[65,67]. Além da IL-6, estes autores revelaram que as células mesangiais estimuladas com IgA agregadas também secretam TNF-α, sugerindo que esta citocina possa ter importância no mecanismo inflamatório, freqüentemente levando à hematúria nestes pacientes. Os surtos de hematúria macroscópica, que são associados a infecções virais do trato respiratório, poderiam ser atribuídos a uma estimulação aumentada por CI-IgA contendo o vírus. IgA com atividade anticórpica antiviral e com capacidade de deposição mesangial tem sido demonstrada experimentalmente[68].

Em estudo recente, Mestecky e cols demonstraram, em camundongos, que IgA_1 deficientes em galactose, purificadas a partir do plasma de pacientes com N-IgA, ligam-se mais às células mesangiais em cultura que as IgA de indivíduos normais, e migram preferencialmente para os rins de camundongos ao invés de serem catabolizadas pelo fígado[69]. Estes autores também demonstraram que as IgA_1 normais tratadas com galactosidases se comportam como as IgA dos pacientes com N-IgA. Dessa forma, a expressão de RFcαII, pelas células mesangiais, parece estar na dependência da presença na circulação de altos níveis de IgA anormalmente ácidas e deficientes em galactose. A perpetuação deste ciclo levaria à proliferação mesangial crônica e depósitos de IgA nos pacientes com N-IgA.

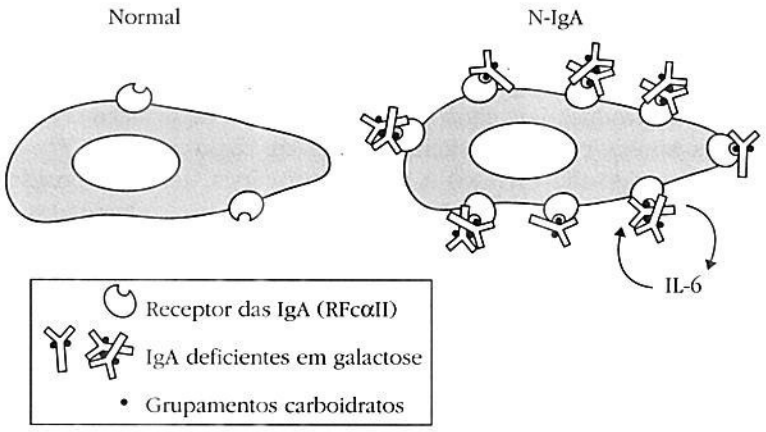


Figura 12.4 – Representação esquemática da indução de receptores de baixa afinidade pelas IgA (RFcαII) nas células mesangiais pelas IgA deficientes em galactose de pacientes com N-IgA e seu ciclo autócrino (expressão-proliferação) mediado pelas citocinas, como por exemplo a IL-6.

Atualmente, está em andamento em nosso laboratório um estudo da estrutura e glicosilação do RFcαII, tendo como finalidade analisar o papel deste receptor no mecanismo descrito acima. A figura 12.4 representa nossa hipótese de trabalho atual, ou seja, as IgA deficientes em galactose presentes no plasma de pacientes com N-IgA têm maior afinidade pelo RFcαII e induzem à expressão de novas moléculas RFcαII na superfície em conseqüência de citocinas secretadas durante a ligação receptor-IgA, como por exemplo a IL-6, de maneira autócrina. Por outro lado, altos níveis de citocinas circulantes, como a IL-6 (ver item 2), poderiam também induzir a expressão do RFcαII nas células mesangiais.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A análise dos mecanismos patogênicos implicados na N-IgA nos levam a formular a hipótese de deficiência de uma ($\beta_{1,3}$-galactosiltransferase?) ou várias enzimas intracelulares que participam na glicosilação das proteínas em nível do aparelho de Golgi. Essa deficiência enzimática levaria à diminuição da quantidade de galactose nas moléculas de IgA e RFcα (provavelmente também de outras proteínas ricas em carboidratos O). Em nível das IgA circulantes esta deficiência enzimática geraria IgA deficientes em galactose com capacidade de se depositarem no mesângio, como foi demonstrado experimentalmente. Como as IgA são glicosiladas heterogeneamente, esta deficiência criaria subpopulações de IgA com diferentes graus de galactose e entre elas as nefritogênicas.

A deficiência enzimática levaria também à glicosilação anormal de subpopulações do RFcαI condicionando diminuição do número de receptores na superfície celular, explicando potencialmente a diminuição do catabolismo das IgA observado na N-IgA.

Finalmente, o mecanismo de depósito das IgA no mesângio estaria na dependência da indução de um novo receptor para as IgA, o RFcαII, que teria baixa afinidade por IgA normais mas que se ligam preferencialmente às IgA deficientes em galactose observadas no plasma daqueles pacientes.

A causa desta deficiência enzimática pode ser de origem genética, devido aos múltiplos casos familiares descritos[9,10], ou adquirida. Uma causa viral nesta doença ainda não foi claramente demonstrada, mas poderia teoricamente ser responsável por anomalias de glicosilação, como observado nas moléculas CD43 e CD89 em pacientes com AIDS[59,70].

Os progressos na área da biologia molecular, com a clonagem dos genes que codificam estas enzimas, serão cruciais no entendimento dos mecanismos básicos envolvidos na N-IgA, determinando assim sua eventual origem genética, o que seria importante no planejamento de uma futura terapia gênica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERGER J, HINGLAIS N: Les dépôts intercapillaires d'IgA-IgG. *J Urol Néphol* (Paris) 74:694-695, 1968.
2. BERGER J: IgA glomerular deposits in renal disease. *Transplant Proc* 1:939-944, 1969.
3. CLARKSON AR, SEYMOUR AE, THOMPSON AJ, HAYNES WDG, CHAN YL, JACKSON B: IgA nephropathy: a syndrome of uniform morphology, diverse clinical features and uncertain prognosis. *Clin Nephrol* 8:459-471, 1977.
4. SIMON P, RAMEE MP, AUTULY V, LARUELLE E, CHARASSE C, CAM G, ANG KS: Epidemiology of primary glomerular diseases in a French region. Variations according to period and age. *Kidney Int* 46:1192-1198, 1994.

5. D'AMICO G, IMBASCIATI E, BARBANO DI BELGIOIOSO G, BERTOLI S, FOGASSI G, FERRARIO F, FELIN G, RAGNI A, COLASANTI G, MINETTI L, PONTICELLI C: Idiopathic IgA mesangial nephropathy: Clinical and histological study of 374 patients. *Medicine* (Baltimore) 64:49-60, 1985.
6. NUSSENZVEIG I, SALDANHA LB, MARCONDES M: Primary mesangial IgA nephropathy in São Paulo, Brazil. *Nephron* 52:198-199, 1989.
7. ZIMMERMAN SW, BURKHOLDER PM: Immunoglobulin A nephropathy. *Arch Intern Med* 135:1217-1223, 1975.
8. NAKAMOTO Y, ASANO Y, DOHI K, FUJIOKA M, IIDA H, KIDA H, KIBE Y, HATTORI N, TAKEUCHI J: Primary IgA glomerulonephritis and Schönlein-Henoch purpura nephritis: clinicopathological and immunohistological characteristics. *Q J Med* 47:495-516, 1978.
9. JULIAN BA, QUIGGINS PA, THOMPSON JS, WOODFORD SY, GLEASON K, WYATT RJ: Familial IgA nephropathy. Evidence of an inherited mechanism of disease. *N Engl J Med* 312:202-208, 1985.
10. LEVY M: Multiplex families in IgA nephropathy. *Contrib Nephrol* 104:46-53, 1993.
11. DROZ D: Natural history of primary glomerulonephritis with mesangial deposits of IgA. *Contrib Nephrol* 2:150-157, 1976.
12. COSTA RS, DROZ D, NOEL LH: Long-standing clinical remission and glomerular improvement in primary IgA nephropathy (Berger's disease). *Am J Nephrol* 7:440-444, 1987.
13. BERGER J, YANEVA H, NABARRA B, BARBANEL C: Reccurence of mesangial deposition of IgA after renal transplantation. *Kidney Int* 7:232-241, 1975.
14. SIMON P, RAMEE MP, AUTULY V, LARUELLE E, CHARASSE C, CAM G, ANG KS: Epidémiologie des glomérulopathies primitives dans une région française: variations en fonction des périodes et de l'âge des sujets. *Nephrologie* 16:191-201, 1995.
15. MONTEIRO RC, NOEL LH, CHEVAILLER A, HALBWACHS-MECARELLI L, LESAVRE P: Immune regulation in IgA nephropathy. *Nephrologie* 10:147-150, 1989.
16. MESTECKY J, McGHEE JR: Immunoglobulin A (IgA): Molecular and cellular interactions involved in IgA biosynthesis and immune response. *Adv Immunol* 40:153-245, 1987.
17. SCHAFFER FM, MONTEIRO RC, VOLANAKIS JE, COOPER MD: IgA deficiency. *Immunodefic Rev* 3:15-44, 1991.
18. MOSTOV KE, BLOBEL G: A transmembrane precursor of secretory component: the receptor for transcellular transport of polymeric immunoglobulins. *J Biol Chem* 257:11816-11821, 1982.
19. PLAUT AG: The IgA1 proteases of pathogenic bacteria. *Annu Rev Microbiol* 37:603-622, 1983.
20. CONLEY ME, COOPER MD, MICHAEL AF: Selective deposition of immunoglobulin A1 in immunoglobulin A nephropathy, anaphylactoid purpura nephritis, and systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 66:1432-1436, 1980.
21. MONTEIRO RC, HALBWACHS-MECARELLI L, ROQUE-BARREIRA MC, NOEL LH, BERGER J, LESAVRE P: Charge and size of mesangial IgA in IgA nephropathy. *Kidney Int* 28:666-671, 1985.
22. DELACROIX DL, ELKOM KB, GEUBEL AP, HODGSON HF, DIVE C, VAERMAN JP: Changes in size, subclass, and metabolic properties of serum immunoglobulin A in liver diseases and in other diseases with high serum immunoglobulin A. *J Clin Invest* 71:358-368, 1983.
23. CHEN A, WONG SS, RIFAI A: Glomerular immune deposits in experimental IgA nephropathy: A continuum of circulating and in situ formed immune complexes. *Am J Pathol* 130:216-222, 1988.
24. RIFAI A: Immunopathogenesis of experimental IgA nephropathy. *Springer Semin Immunopathol* 16:81-95, 1994.
25. MONTEIRO RC, CHEVAILLER A, NOEL LH, LESAVRE P: Serum IgA preferentially binds to cationic polypeptides in IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol* 73:300-306, 1988.
26. HARADA T, HOBBY P, COURTEAU M, KNIGHT JF, WILLIAMS DG: Charge distribution of plasma IgA in IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol* 77:211-214, 1989.
27. BAENZIGER J, KORNFELD S: Structure of the carbohydrate units of IgA1 immunoglobulin. II. Structure of the 0-glycosidically linked oligosaccharide units. *J Biol Chem* 249:7270-7281, 1974.
28. ROQUE-BARREIRA MC, CAMPOS-NETO A: Jacalin: an IgA-binding lectin. *J Immunol* 134:1740-1743, 1985.
29. ANDRÉ PM, LE POGAMP P, CHEVET P: Impairement of jacalin binding to serum IgA in IgA nephropathy. *J Clin Lab Anal* 4:115-119, 1990.
30. MESTECKY J, TOMANA M, CROWLEY-NOWICK PA, MOLDOVEANU Z, JULIAN BA, JACKSON S: Defective galactosylation and clearance of IgA1 molecules as a possible etiopathogenic factor in IgA nephropathy. *Contrib Nephrol* 104:172-182, 1993.
31. CZERKINSKY C, KOOPMAN WJ, JACKSON S, COLLINS JE, CRAGO SS, SCHROHENLOHER RE, JULIAN BA, GALLA JH, MESTECKY J: Circulating immune complexes and immunoglobulin A rheumatoid factor in patients with mesangial immunoglobulin A nephropathies. *J Clin Invest* 77:1931-1938, 1986.
32. SINICO RA, FORNASIERI A, ORENI N, BENUZZI S, D'AMICO G: Polymeric IgA rheumatoid factor in idiopathic IgA mesangial nephropathy (Berger's disease). *J Immunol* 137:536-541, 1986.
33. SANCHO J, EGIDO J, SANCHEZ CRESPO M, BLASCO R: Detection of monomeric and polymeric IgA containing immune complexes in serum and kidney from patients with alcoholic liver disease. *Clin Exp Immunol* 47:327-335, 1981.
34. van der WIEL A, SEIFERT WF, van der LINDEN, JA, GMELIG-MEYLING FH, KATER L, SCHUURMAN HJ: Spontaneous IgA synthesis by blood mononuclear cells in alcoholic liver disease. *Scand J Immunol* 25:181-187, 1987.
35. LIGHTFOOTE MM, FOLKS TM, REDFIELD R, GOLD J, SELL KW: Circulating IgA immune complexes in AIDS. *Immunol Invest* 14:341-345, 1985.
36. JACKSON S, TARKOWSKI A, COLLINS JE, DAWSON LM, SCHROHENLOHER RE, KOTLER DP, KOOPMAN WJ: Occurence of polymeric IgA1 rheumatoid factor in the acquired immuno deficiency syndrome. *J Clin Immunol* 8:390-396, 1988.
37. HALL RP, LAWLEY TJ, HECK JA, KATZ SI: IgA containing circulating immune complexes in dermatitis herpetiformis, Henoch-Schönlein purpura, systemic lupus erythematosus and other diseases. *Clin Exp Immunol* 40:431-437, 1980.
38. KAUFFMANN RH, HERRMANN WA, MEYER CJLM, DAHA MR, van ES LA: Circulating IgA immune complexes in Henoch-Schönlein purpura. A longitudinal study of their relationship to disease activity and vascular deposits of IgA. *Am J Med* 69:859-866, 1980.
39. ZONE JJ, La SALLE BA, PROVOST TT: Circulating immune complexes of IgA type in dermatitis herpetiformis. *J Invest Dermatol* 75:152-155, 1980.
40. BENE MC, CANTON P, AMIEL C, MAY T, FAURE G: Absence of mesangial IgA in AIDS: A postmortem study. (letter) *Nephron* 58:240-241, 1991.
41. ROCCATELLO D, PICCIOTTO G, TORCHIO M, ROPOLO R, FERRO M, FRANCESCHINI R, QUATTROCCHIO G, CACACE G, COPPO R, SENA LM, DEFILIPPI PG, PICCOLI G: Removal systems of immunoglobulin a and immunoglobulin A containing complexes in IgA nephropathy and cirrhosis patients – the role of asialoglycoprotein receptors. *Lab Invest* 69:714-723, 1993.

42. MOSTOV KE, FRIEDLANDER M, BLOBEL G: The receptor for transepithelial transport of IgA and IgM contains multiple immunoglobulin-like domains. *Nature* 308:37-43, 1984.
43. KRAJCI P, KVALE D, TASKÉN K, BRANDTZAEG P: Molecular cloning and exon-intron mapping of the gene encoding human transmembrane secretory component (the poly-Ig receptor). *Eur J Immunol* 22:2309-2315, 1992.
44. STOCKERT RJ, KRESSNER MS, COLLINS JC, STERNLIEB I, MORELL AG: IgA interaction with the asialoglycoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:6229-6231, 1982.
45. MONTEIRO RC, KUBAGAWA H, COOPER MD: Cellular distribution, regulation, and biochemical natural of an Fc-α receptor in humans. *J Exp Med* 171:597-613, 1990.
46. MALISZEWSKI CR, MARCH CJ, SCHOENBORN MA, GIMPEL S, SHEN L: Expression cloning of a human Fc receptor for IgA. *J Exp Med* 172:1665-1672, 1990.
47. CONLEY ME, DELACROIX DL: Intravascular and mucosal immunoglobulin A: Two separate but related systems of immune defense? *Ann Int Med* 106:892-899, 1987.
48. MONTEIRO RC, HOSTOFFER RW, COOPER MD, BONNER JR, GARTLAND GL, KUBAGAWA H: Definition of Immunoglobulin-A receptors on eosinophils and their enhanced expression in allergic individuals. *J Clin Invest* 92:1681-1685, 1993.
49. SIBILLE Y, CHATELAIN B, STAQUET P, MERRILL WW, DELACROIX DL, VAERMAN JP: Surface IgA and Fc-α receptors on human alveolar macrophages from normal subjects and from patients with sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 139:740-747, 1989.
50. De WIT TPM, MORTON HC, CAPEL PJA, van de WINKEL JGJ: Structure of the gene for the human myeloid IgA Fc receptor (CD89). *J Immunol* 155:1203-1209, 1995.
51. RAVETCH JV, KINET JP: Fc receptors. *Annu Rev Immunol* 9:457-492, 1991.
52. MONTEIRO RC, COOPER MD, KUBAGAWA H: Molecular heterogeneity of Fc-α receptors detected by receptor-specific monoclonal antibodies. *J Immunol* 148:1764-1770, 1992.
53. MALISZEWSKI CR, VANDENBOS T, SHEN L, SHOENBORN MA, KUBAGAWA H, BECKMANN MP, MONTEIRO RC: Recombinant soluble IgA Fc receptor – generation, biochemical characterization, and functional analysis of the recombinant protein. *J Leukoc Biol* 53:223-232, 1993.
54. SHEN L, MONTEIRO RC, DAHA M, KUBAGAWA H, COOPER MD: Summary of FcαR cluster report, in *Leucocyte Typing: White Cell Differentiation Antigens, vol 5*, edited by Schlossman SF, Ritz J, Shaw S, Silverstein R, Springer T, Tedder TF, Todd RF, Oxford, Oxford University Press, 1995, pp 962-965.
55. KERR MA: The structure and function of human IgA. *Biochem J* 271:285-296, 1990.
56. SHEN L: Receptors for IgA on phagocytic cells. *Immunol Res* 11:273-282, 1992.
57. SILVAIN C, PATRY C, LAUNAY P, LEHUEN A, MONTEIRO RC: Altered expression of monocyte IgA Fc receptors is associated with defective endocytosis in patients with alcoholic cirrhosis – potential role for IFN-gamma. *J Immunol* 155:1606-1618, 1995.
58. PATRY C, HERBELIN A, LEHUEN A, BACH JF, MONTEIRO RC: Fc-α receptors mediate release of TNF-α and IL-6 by human monocytes following receptor aggregation. *Immunology* 86:1-5, 1995.
59. GROSSETÊTE B, VIARD JP, LEHUEN A, BACH JF, MONTEIRO RC: Impaired Fc α receptor expression is linked to increased immunoglobulin a levels and disease progression in HIV-1-infected patients. *AIDS* 9:229-234, 1995.
60. MONTEIRO RC, GROSSETÊTE B, NGUYEN AT, JUNGERS P, LEHUEN A: Dysfunctions of Fc alfa receptors by blood phagocytic cells in IgA nephropathy. *Contrib Nephrol* 111:116-122, 1995.
61. De CAESTECKER MP, BOTTOMLEY M, TELFER BA, HUTCHINSON IV, VOSE BM, BALLARDIE FW: Detection of abnormal peripheral blood mononuclear cell cytokine networks in human IgA nephropathy. *Kidney Int* 44:1298-1308, 1993.
62. RAMSAY AJ, HUSBAND AJ, RAMSHAW IA, BAO SS, MATTHAEI KI, KOEHLER G, KOPF M: The role of interleukin-6 in mucosal IgA antibody responses in vivo. *Science* 264:561-563, 1994.
63. BEUTLER B, CERAMI A: The biology of cachectin/TNF-α primary mediator of host response. *Annu Rev Immunol* 7:625-655, 1989.
64. GÓMEZ-GUERRERO C, GONZÁLEZ E, EGIDO J: Evidence for a specific IgA receptor in rat and human mesangial cells. *J Immunol* 151:7172-7181, 1993.
65. van den DOBBELSTEEN MEA, van der WOUDE FJ, SCHROEIJERS WEM, van den WALLBAKE AWL, van ES LA, DAHA MR: Binding of dimeric and polymeric IgA to rat renal mesangial cells enhances the release of interleukin 6. *Kidney Int* 46:512-519, 1994.
66. MONTEIRO RC, KUBAGAWA H, COOPER MD: Human Fc-α receptor, in *Pathogenesis of IgA Nephropathy*, edited by Sakai H, Sakai O, Nomoto Y: Tokyo, Harcourt Brace Jovanovich Japan, 1990, pp 37-42.
67. GÓMEZ-GUERRERO C, LÓPEZ-ARMADA MJ, GONZÁLEZ E, EGIDO J: Soluble IgA and IgG aggregates are catabolized by cultured rat mesangial cells and induce production of TNF-α and IL-6, and proliferation. *J Immunol* 153:5247-5255, 1994.
68. JESSEN RH, EMANCIPATOR SN, JACOBS GH, NEDRUD JG: Experimental IgA-IgG nephropathy induced by a viral respiratory pathogen: Dependence on antigen form and immune status. *Lab Invest* 67:379-386, 1992.
69. MESTECKY J, HASHIM OH, TOMANA M: Alterations in the IgA carbohydrate chains influence the cellular distribution of IgA1. *Contrib Nephrol* 111:66-72, 1995.
70. LEFEBVRE JC, GIORDANENGO V, LIMOUSE M, DOGLIO A, CUCCHIARINI M, MONPOUX F, MARIANI R, PEYRON JF: Altered glycosylation of leukosialin, CD43, in HIV-1-infected cells of the CEM line. *J Exp Med* 180:1609-1617, 1994.

Agradecimentos

Às Dras. M.C. Leite-de-Morais e V. Jorgetti pelas correções e sugestões enviadas durante a redação deste Capítulo.

13

GLOMERULONEFRITE MESANGIAL DA IgA

Priscilla Kincaid-Smith
(Tradução Jenner Cruz)

◆

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista global, a glomerulonefrite mesangial da IgA é uma das doenças renais mais freqüentes, sendo em muitos países, onde são realizados registros acurados, a causa mais comum de insuficiência renal terminal, devendo receber de nefrologistas e pesquisadores atenção priorizada.

Embora a sua causa seja desconhecida, a doença representa uma reação anormal a infecções, particularmente infecções do trato respiratório superior, onde uma quantidade excessiva de imunoglobulina A é produzida, sendo algumas depositadas no rim, iniciando uma inflamação, principalmente glomerular, mas também no interstício.

APRESENTAÇÃO

O quadro clássico é de hematúria macroscópica recorrente, que incide tipicamente junto com infecção do trato respiratório superior, em crianças e em adultos jovens, sendo rara após a idade de 30 anos. A maioria dos casos são descobertos através de exame de urina para pesquisa de hematúria microscópica e proteinúria, especialmente em países como o Japão, onde anormalidades urinárias são pesquisadas rotineiramente em crianças, indicando que muitos pacientes, por não terem hematúria macroscópica, não são reconhecidos. Os pacientes também podem se apresentar com hipertensão ou diminuição da função renal.

PATOLOGIA

A patologia da glomerulonefrite mesangial da IgA tem criado alguma confusão devido à grande variedade de termos, que têm sido aplicados às diferentes formas patológicas que podem ocorrer.

O quadro anátomo-patológico pode ser simplificado quando o padrão básico, que descreve as lesões vistas em todos os glomérulos, for descrito como uma "glomerulonefrite proliferativa mesangial difusa" e as outras lesões encaradas como lesões superpostas.

As lesões superpostas podem ser lesões ativas:

1. Presença de polimorfos e macrófagos nos glomérulos, que podem ser distribuídos difusamente ou em áreas segmentares.
2. Fibrina, que pode existir como trombos intracapilares ou estar no espaço de Bowman.
3. Formação de crescentes, que usualmente aparecem muito rapidamente quando a fibrina está no espaço de Bowman.

Estas lesões ativas são somadas ao padrão básico (primeira categoria), caracterizando uma lesão superposta denominada "glomerulonefrite proliferativa segmentar e focal" (segunda categoria).

A terceira categoria histológica da glomerulonefrite mesangial da IgA baseia-se em lesões histológicas indicativas antes de cronicidade que de atividade. Essencialmente, são lesões de um tipo: "esclerose e hialinose segmentar e focal".

Portanto, existem apenas três tipos de glomerulonefrite mesangial:

1. Glomerulonefrite proliferativa mesangial difusa (GPMD).
2. Glomerulonefrite proliferativa segmentar e focal (GPSF), que tem como padrão básico uma lesão proliferativa mesangial difusa.
3. Esclerose e hialinose segmentar e focal (EHSF), que tem como padrão básico uma lesão proliferativa mesangial difusa.

A doença renal é de grande importância por poder predizer o curso da glomerulonefrite mesangial da IgA, sendo um guia para o tratamento, mas ela deve ser avaliada em conjunto com os dados clínicos.

Em termos gerais, uma lesão que é classificada como GPMD tem um bom prognóstico e não progride, desde que as lesões histológicas não se alterem, mas ela pode mudar durante a noite para EHSF, com aparecimento de fibrina e crescentes e assim cair numa categoria que pode progredir rápida ou lentamente. Por outro lado, as lesões podem reverter para uma lesão GPMD, com desaparecimento das lesões ativas.

Esclerose e hialinose segmentar e focal é uma lesão tardia que inclui o pior prognóstico, porque, uma vez que as lesões progrediram até esta categoria, elas não desaparecem mais, nem revertem para o primeiro tipo (GPMD).

Felizmente, estas categorias histológicas de glomerulonefrite mesangial da IgA têm manifestações clínicas características que nos permite monitorizar o curso e prognosticar alterações nas características histológicas, sem necessidade de se realizar biopsias renais repetidas.

A tabela 13.1 resume as manifestações clínicas características destas três categorias histológicas.

Tabela 13.1 – Manifestações clínicas das categorias histológicas.

Categoria histológica	Função renal	Achados urinários
GMPD	Normal	Proteinúria discreta ou ausente Menos de 100.000 eritrócitos por ml Cilindros hialinos ou granulares, menos de 500 por ml
GPSF	Variável	Proteinúria maior que 0,5g por 24 horas Mais de 500.000 eritrócitos por ml, pode haver hematúria macroscópica Acima de 2.000 cilindros por ml, pode haver cilindros eritrocitários
EHSF	Diminuída	Proteinúria superior a 2g por 24 horas Contagem de eritrócitos variável na urina Cilindros gordurosos Contagem superior a 2.000 por ml

Pela tabela 13.1 torna-se claro que se o sedimento urinário e a proteinúria forem monitorizados, poder-se-iam prever as alterações histológicas. Se houver hematúria macroscópica, ou se a contagem de eritrócitos for superior a um milhão por ml, a biopsia renal "sempre" mostrará crescentes e se a proteinúria for maior que 2g em 24 horas, quase sempre mostrará EHSF.

Hematúria macroscópica pode ser de curta duração e, após o episódio, a contagem de eritrócitos pode cair a menos de 100.000 por ml. Se a contagem não cai, persistindo grande eliminação de eritrócitos, reflete atividade contínua, com fibrina e crescentes. Contagem urinária alta contínua é o melhor profetizador de má evolução em glomerulonefrite mesangial da IgA, ocasionando um risco relativo de progressão de 5,4. Outro grande profetizador de progressão e de insuficiência renal terminal é a proteinúria maciça, que quase sempre indica uma lesão subjacente de EHSF.

ASPECTOS PATOLÓGICOS QUE PREDIZEM UM RESULTADO POBRE

Os achados de biopsia renal proporcionam um guia importante para o prognóstico, embora o tipo de lesão possa se alterar, mas essa alteração pode, quase sempre, ser vaticinada por alterações nos achados urinários.

Embora não tivéssemos, em centenas de biopsias repetidas, encontrado evidência de que a lesão da glomerulonefrite mesangial da IgA possa desaparecer integralmente, se resta apenas uma lesão proliferativa mesangial difusa, sem lesões segmentares superimpostas, esta não mais progride. Em 30 anos vimos duas biopsias, sem evidência de progressão, em um paciente no qual, durante todo este período, apresentou hematúria microscópica, com baixa contagem de eritrócitos urinários (10.000 a 50.000 por ml).

Em contraste, um paciente que apresenta proliferação mesangial difusa na biopsia renal pode, em curto espaço de tempo, desenvolver hematúria macroscópica e apresentar crescentes na biopsia renal, lesão que acompanha esta manifestação clínica. Crescentes em biopsia predizem, sem surpresa, um mau prognóstico.

Se a hematúria macroscópica desaparece e a contagem de eritrócitos cai abaixo de 100.000 por ml, a lesão pode reverter para a forma benigna GMPD, embora com persistência de alguns glomérulos esclerosados, como conseqüência das lesões crescênticas ativas. Porém, se contagens altas de eritrócitos urinários persistem, uma biopsia repetida evidenciará a continuidade de crescentes superimpostos e outras lesões de GPSF, ocorrendo perda de glomérulos e eventual piora da função renal.

A progressão de GMPD para EHSF, outra lesão segmentar que acarreta mau prognóstico, é mais gradual e provavelmente sempre passa por uma fase ativa, onde sucedem GPSF e crescentes ocasionando perda glomerular. A meu ver, lesão tipo esclerose e hialinose segmentar e focal estabelecida é igual a uma lesão avançada de qual-

quer doença renal (por exemplo a nefropatia de refluxo) e reflete perda glomerular e desenvolvimento da assim chamada "esclerose focal", através dos mesmos mecanismos aplicados no modelo animal do rim remanescente. Havendo evolução para a forma EHSF a progressão é inevitável, a menos que o nível de proteinúria seja reduzido, por exemplo, pelo uso de inibidores da enzima conversora da angiotensina. Certamente, a presença de EHSF em biopsia renal, com a proteinúria maciça característica que a acompanha, é a categoria de pior prognóstico, além de um pequeno grupo de casos rapidamente progressivos.

Uma lesão patológica remanescente, que tem sido identificada como sinal de mau prognóstico, é outra forma de cronicidade constituída pela presença de mais de 10 glomérulos esclerosados em biopsia renal.

ASPECTOS CLÍNICOS QUE PREDIZEM MAU PROGNÓSTICO

Os aspectos clínicos que predizem mau prognóstico são: função renal diminuída, hipertensão, proteinúria e elevação contínua da contagem de eritrócitos na urina.

Alguns, como elevação da creatinina sérica, são evidentes por si próprios, pois refletem doença avançada.

Hipertensão também é associada com doença de longa duração, embora seja vista ocasionalmente como uma manifestação aguda, particularmente no grupo de casos rapidamente progressivos.

Proteinúria pode refletir doença ativa ou avançada. Proteinúria em nível **nefrótico** é associada com um risco relativamente alto, particular, de progressão, mas ainda, na maioria dos casos, a lesão patológica associada é uma EHSF, que é uma manifestação de doença avançada.

A manifestação clínica que oferece a maior esperança de reversão, com preservação de boa função renal, é uma **contagem eritrocitária urinária** continuamente alta. Esta tem um risco relativo de progressão de 5,3 e é a única manifestação clínica incapaz de vaticinar uma progressão não associada com doença avançada.

CURSO CLÍNICO DA GLOMERULONEFRITE MESANGIAL DA IgA

A glomerulonefrite mesangial da IgA tem sido encarada, geralmente, como uma condição benigna que progride apenas numa minoria de casos, não sendo raro os nefrologistas acalmarem os pacientes, quando o diagnóstico é feito através de uma biopsia renal, informando que eles não necessitam de qualquer tratamento ou seguimento. Desse modo, os pacientes ficam muito desiludidos quando apresentam, alguns anos após, uma elevação da creatinina sérica e ficam sabendo que uma progressão para insuficiência renal terminal é inevitável. O curso da doença é de fato muito variável; alguns pacientes seguidos por 30 ou mais anos não apresentaram nenhuma progressão, enquanto poucos outros apresentaram evolução rápida para insuficiência renal terminal.

Glomerulonefrite mesangial da IgA rapidamente progressiva

Um pequeno número de casos apresenta evolução rápida para insuficiência renal num período de cinco anos ou menos.

Estes pacientes podem se acompanhar de **hipertensão maligna** que condiciona um prognóstico muito pobre e também apresentam alta contagem de eritrócitos urinários (acima de 500.000 por ml) e freqüentemente têm proteinúria maciça. A creatinina sérica pode estar elevada desde a primeira consulta.

Biopsias renais mostrarão crescentes, bem como numerosos glomérulos esclerosados e lesões de esclerose e hialinose segmentar.

As lesões vasculares de hipertensão maligna podem dar uma contribuição importante para a diminuição da função renal.

Progressão lenta para insuficiência renal terminal

Em diferentes séries, cerca de 20 a 30% dos pacientes progridem para insuficiência renal terminal, num período de 15 a 20 anos desde o início. Porém, como a glomerulonefrite mesangial da IgA foi descrita há apenas 30 anos, é possível que futuros seguimentos demonstrem maior porcentagem de progressão.

A presença dos fatores de risco já descrita identifica os prováveis candidatos à progressão. Os fatores de risco para a progressão não estão sempre presentes desde o início, podendo aparecer durante o seguimento e a razão mais premente para se acompanhar a evolução da glomerulonefrite mesangial da IgA é detectar os aspectos clínicos adversos, à medida que forem aparecendo, e tratá-los quando possível.

ACOMPANHAMENTO DA GLOMERULONEFRITE MESANGIAL DA IgA

Todos os pacientes com este diagnóstico devem ser vistos intercaladamente, mesmo se no início não apresentarem nenhum fator de risco para a progressão. Quando os fatores de risco aparecerem, o tratamento é praticável, podendo reverter a maioria deles, o que deve provavelmente reduzir ou talvez remover o risco de progressão destes fatores.

TRATAMENTO

Tratamento da hipertensão – embora não haja consenso sobre o tratamento dos aspectos clínicos que refletem a atividade da lesão glomerular, todos os nefrologistas estão de acordo sobre a necessidade de tratar a hipertensão. Não há evidência nítida de que o tratamento da hipertensão diminuirá a progressão da glomerulonefrite, mas há evidência inequívoca de que o tratamento da hipertensão protegerá o paciente dos eventos vasculares cardíacos e cerebrais.

Estão aparecendo dados que sugerem que o tratamento da hipertensão possa retardar a progressão da doença glomerular desta e de outras formas de glomerulonefrite.

O efeito de reduzir a progressão é diretamente proporcional à redução da proteinúria, e o grupo de agentes hipotensores que reduzem a proteinúria mais efetivamente são os inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA).

Em todos hipertensos, bem como nos diabéticos, a presença de proteinúria ocasiona maior risco de mortalidade de todas as causas.

Tratamento da proteinúria – como a proteinúria é um dos maiores vaticinadores de progressão em glomerulonefrite mesangial da IgA, sua redução deve ser encarada como desejável, de forma a reduzir seus riscos de progressão.

Há boa evidência de que os IECA reduzem a proteinúria na glomerulonefrite da IgA. Há também boa evidência de que o seu efeito em retardar a progressão para a doença renal é proporcional à redução conseguida da proteinúria.

Há menos segurança que outros meios de reduzir a proteinúria atrasem a progressão, mas proteinúrias iguais ou superiores a 2g/24 horas estão associadas a um risco maior que proteinúrias inferiores a 0,5g/24 horas. Provavelmente, reduzir a proteinúria pelo valor total deverá também diminuir o risco de progressão.

Outras formas de tratamento, como os esteróides, dipiridamol e antioxidantes, também podem tornar menor a proteinúria, e o seu mecanismo de ação em retardar a progressão deve estar relacionado, em parte, com a redução da proteinúria.

Tratamento da hematúria microscópica – um dos melhores traços que predizem a progressão da glomerulonefrite mesangial da IgA é a presença de eritrócitos continuamente altos na urina. Contagens superiores a 100.000 por ml acarretam um risco relativo de progressão de 5,3.

Em testes controlados, muitos agentes terapêuticos têm demonstrado capacidade em reduzir a contagem de eritrócitos na urina. Estes incluem doxiciclina, esteróides e fenitoína. Os antioxidantes também podem reduzir a hematúria microscópica.

Outras terapias aprovadas em testes controlados

Ácido eicosopentanóico (AEP) – uma das mais excitantes revelações, em testes recentes da glomerulonefrite da IgA, é a demonstração de Donadio e cols que o AEP reduz a progressão, confirmando a observação feita, há 10 anos, por um grupo de japoneses, que relatou diminuição significativa da progressão, num pequeno grupo de pacientes, com doença avançada. Fizemos um teste controlado que não demonstrou benefício significante, mas os nossos pacientes tinham doença menos avançada. Baseados em estudos cuidadosos, num pequeno grupo de pacientes, ficamos convencidos de que o AEP é efetivo nesta doença, o que também foi confirmado, num grande estudo por Donadio.

Ciclofosfamida, dipiridamol e warfarina – ambos, nós e o grupo de Woo e cols na Singapura, testamos esta combinação de drogas na glomerulonefrite mesangial da IgA. Demonstrou-se benefício significante em reduzir a proteinúria em nosso estudo e redução da proteinúria e retardo da progressão para insuficiência renal terminal por Woo e cols. Estes também demonstraram redução significante em aspectos de atividade, como presença de crescentes em biopsias repetidas após o tratamento.

Dipiridamol e warfarina – em estudo de seguimento, após o anterior, Woo demonstrou benefício significativo, em retardar a progressão, com a combinação de dipiridamol e warfarina.

CONCLUSÃO

Glumerulonefrite mesangial da IgA é uma das causas mais comuns de insuficiência renal terminal e, em muitos países, uma das formas mais freqüentes de glomerulonefrite.

O seu curso clínico, os seus fatores de risco para a progressão e a sua patologia têm sido bem definidos.

Muitas formas de tratamento têm-se mostrado capazes de reduzir os fatores de risco ou retardar a progressão para a insuficiência renal.

Os pacientes devem ser monitorizados e o tratamento da hipertensão ou de outros fatores de risco, que profetizam progressão, contribuem para a redução significativa desta doença para uma insuficiência renal terminal.

14

GLOMERULOPATIA ASSOCIADA AOS VÍRUS DAS HEPATITES B E C

Lucila Maria Valente Lopes
Edmundo Pessoa de Almeida Lopes
Ricardo de Castro Cintra Sesso

INTRODUÇÃO

Tanto o vírus da hepatite B (HBV) como, mais recentemente, o vírus da hepatite C (HCV) têm atraído crescente interesse dos nefrologistas nos últimos anos. Ambos podem ser encontrados em pacientes com doença renal terminal, sob tratamento dialítico, em virtude das constantes transfusões ou por "contaminação ambiental"[1,2]. Devido à maior ocorrência de infecção em tais pacientes, este aspecto se torna relevante por ocasião do transplante renal ou, mais adiante, com o aparecimento de manifestações de doença hepática no transplantado[1,2]. Convém ainda lembrar que a infecção também pode se dar durante o transplante, quer pelas transfusões quer pelo próprio órgão enxertado, devendo-se selecionar e excluir criteriosamente doadores infectados[3]. Finalmente, o HBV e o HCV vêm sendo descritos em associação com doença glomerular, sobretudo a glomerulonefrite membranosa (GNM) e a glomerulonefrite membranoproliferativa (GNMP)[4,5].

A associação entre infecção pelo HBV e a doença glomerular foi descrita, inicialmente, por Combes e cols, em 1971[6]. De maneira semelhante, Pascual e cols, em 1990, pesquisando o anticorpo contra o vírus da hepatite C (anti-HCV), em 10 casos de crioglobulinemia do tipo II, encontraram positividade em três pacientes, sendo que um também apresentava GNMP[7]. Estudos recentes, a respeito da prevalência de marcadores do HBV e do HCV nas glomerulonefrites, vêm sendo publicados com taxas ora reduzidas, ora mais elevadas, em decorrência de peculiaridades epidemiológicas.

O objetivo deste capítulo é o de fazer revisão acerca dos recentes conhecimentos relacionados ao HBV e ao HCV associados à glomerulopatia. Convém salientar, entretanto, que não é intenção emitir conceitos definitivos sobre assunto ainda em evidente expansão, com aspectos que permanecem mal definidos e, como tal, sujeitos a melhores esclarecimentos.

GLOMERULONEFRITE E VÍRUS DA HEPATITE B

Este tópico inclui atualização dos conhecimentos adquiridos no estudo da patogenia do HBV, à luz dos avanços da biologia molecular, além de considerações epidemiológicas sobre a glomerulonefrite associada ao vírus B; serão analisados também os resultados da terapia da doença glomerular associada ao HBV. Como os conhecimentos a respeito deste agente progrediram sobretudo a partir de estudos na doença hepática, em certas ocasiões, alguns comentários ou explicações serão trazidos de análises da enfermidade no fígado.

Biologia e patogenia do vírus da hepatite B

O HBV, o primeiro vírus hepatológico a ser reconhecido, é do tipo DNA, constituído por um envelope e uma estrutura central, que correspondem aos antígenos de superfície (HBsAg) e ao antígeno core (HBcAg), respectivamente[8]. Ao contrário do HBsAg, o HBcAg não pode ser detectado livre no soro, mas o produto de sua degradação origina o antígeno "e", que pode ser en-

contrado em nível sérico[8]. O HBeAg correlaciona-se com replicação viral e, com freqüência, está associado à viremia (HBV-DNA sérico) e à expressão do HBcAg na membrana do hepatócito, aumentando, sobremaneira, a infectividade do paciente[8]. A presença destes antígenos induz, evidentemente, resposta imunológica tanto celular quanto humoral, com produção e secreção dos respectivos anticorpos[8,9]. A formação de anticorpos, por sua vez, pode proporcionar o desenvolvimento de imunocomplexos antígeno-anticorpo.

Indícios, cada vez mais fortes, sugerem que, no homem, o HBV não é diretamente citopático, ocorrendo agressão ao hepatócito por mecanismo imunomediado[9,10]. Esta suposição está alicerçada, basicamente, em três evidências práticas: a) ausência de doenças mais intensa em pacientes imunocomprometidos, como renais crônicos e aidéticos; b) encontro predominante de linfócitos citotóxicos em torno da necrose de hepatócitos; c) aumento do processo necrótico, quando o sistema imune é estimulado (levamisol) ou "disreprimido" pela abrupta suspensão de corticoterapia[9]. Em vista deste último achado, contra-indica-se o emprego de imunossupressores nos casos de glomerulonefrite associada ao HBV, tendo em conta que seu uso, além de propiciar replicação do agente viral, pode, na suspensão, desencadear extensa necrose de hepatócitos[11]. Na prática clínica, este achado sugere que, nos casos de glomerulonefrite, a pesquisa de marcadores virais deva ser realizada antes do início do emprego de imunomoduladores.

Ainda não se conhece, por completo, como seria a lesão do hepatócito, mas acredita-se que os três principais antígenos do HBV constituam o alvo da resposta imunológica[8,9]. Admite-se que o HBcAg, especificamente, tenha fundamental contribuição na estimulação da agressão hepática. Estudos imuno-histoquímicos demonstram que a expressão do HBcAg, no citoplasma dos hepatócitos (replicação), encontra-se relacionada à atividade de doença, refletida em nível sérico pela positividade do HBeAg e aumento das transaminases (TGP)[9,10].

A "doença" no fígado, portanto, resultaria da constante agressão aos hepatócitos infectados pelos linfócitos T citotóxicos em pacientes com replicação viral, desencadeando necrose, regeneração, fibrose e cirrotização do parênquima hepático[10]. A soroconversão do sistema "e" (HBeAg → anti-HBe), espontânea ou induzida por droga, é seguida por diminuição da atividade inflamatória no fígado, que se traduz pela redução dos níveis séricos enzimáticos[12]. Após a soroconversão do sistema "e" muitas vezes também ocorre a soroconversão do sistema "s", determinando o fim da infecção[13].

Epidemiologia da glomerulonefrite associada ao vírus da hepatite B

Admite-se que a infecção pelo HBV represente uma das principais viroses da espécie humana por comprometer aproximadamente 300 milhões de indivíduos, cerca de 5% da população mundial, encontrando-se 90% dos casos nos continentes asiático e africano[14]. Vale lembrar que, como outras enfermidades infectoparasitárias, o mapa de distribuição da infecção pelo HBV correlaciona-se com o nível sócio-econômico das regiões, observando-se maior prevalência, evidentemente, nas áreas menos favorecidas.

Observa-se que a associação do HBV com doença glomerular, em certas regiões, é meramente acidental ou coincidente, mas, em outras, a prevalência de marcadores virais é maior nos casos de glomerulonefrite do que na população sadia (Fig. 14.1). Pesquisa realizada na Coréia do Sul, envolvendo 732 pacientes com glomerulonefrite, demonstrou prevalência do HBsAg em 12% dos casos, taxa semelhante à observada na população sadia[15]. Por outro lado, trabalho desenvolvido em Hong Kong, zona também endêmica, revelou que a prevalência do HBV era de 64% nos casos de GNM, 42% nos de GNMP e de 17% nos de nefropatia por IgA, contra apenas 9,5% na população controle[16]. Convém acrescentar que na Índia, país considerado de alta endemicidade para o HBV, observa-se variação da associação do HBV com glomerulonefrite, conforme a região analisada[17,18]. Em Nova Delhi, estudo realizado em crianças com glomerulonefrite não revelou associação com o HBV, no entanto, ficou constatada maior prevalência da infecção pelo vírus B entre as crianças com glomerulonefrite da região de Madras[17,18].

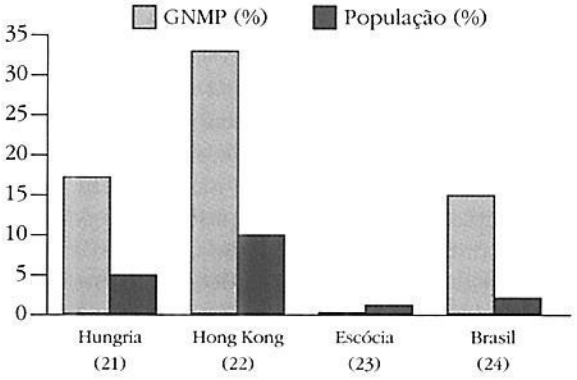


Figura 14.1 – Prevalência do HBsAg em pacientes com glomerulonefrite membranoproliferativa e na população sadia de alguns países. Os números abaixo do nome dos países correspondem às referências bibliográficas.

A prevalência do HBV em casos de glomerulonefrites, portanto, varia de região para região, de acordo com a prevalência da infecção na população local, sobretudo entre as crianças, onde a correlação é mais expressiva[19,20]. Na figura 14.1 vê-se a prevalência do HBsAg em casos de glomerulonefrite do tipo membranosa e na população local, constatando-se aumento da porcentagem paralelo ao aumento da prevalência da infecção na população geral da região. Cabe acrescentar que, em estudo realizado em Paris, cidade tida como cosmopolita, os dois casos de GNM identificados (2,6%) ocorreram em imigrantes provenientes de regiões de grande endemicidade, como a Ásia e a África[23].

No Brasil, ainda não se dispõe de estudos populacionais amplos, mas, adiante dos dados disponíveis, verifica-se que ocorre aumento da prevalência do HBsAg em doadores de sangue no sentido da região Sul para a Norte. As regiões Nordeste e Centro-Oeste podem ser consideradas de intermediária prevalência, devendo-se lembrar a alta endemicidade da infecção na região amazônica[25].

Na Bahia, encontrou-se positividade do HBsAg em 20% dos 20 casos de GNMP analisados, sendo que 12 pacientes também apresentavam esquistossomose mansônica[26]. Em São Paulo, observou-se positividade desse marcador em 16% dos 61 pacientes com glomerulonefrite primária, acompanhados na Disciplina de Nefrologia da Escola Paulista de Medicina[24]. Estas cifras são mais elevadas do que as encontradas na população de doadores de sangue destes dois estados, que devem oscilar abaixo de 2%[25]. Ainda não se encontram dados disponíveis, na literatura, a respeito da prevalência do HBsAg em pacientes com glomerulopatias, em estados da região Norte, mas supõe-se que devam ser elevados.

Patogenia da glomerulonefrite associada ao vírus da hepatite B

O mecanismo pelo qual determinados pacientes infectados pelo HBV desenvolvem glomerulonefrite ainda não está claramente definido. Aceita-se, no entanto, que os três principais antígenos virais estejam envolvidos, visto que já foram identificados, por imunofluorescência ou por imunoperoxidase, na parede do capilar glomerular[4]. Além da presença destes antígenos, verifica-se também a deposição de imunoglobulinas e complemento, que, na GNM, ocorre na região subepitelial, e na GNMP (tipo I) situa-se na região subendotelial e no mesângio. Este depósito também pode ser encontrado, ao mesmo tempo, na região subepitelial, na subendotelial e no mesângio, caracterizando a GNMP tipo III. A GNM seguida pela GNMP são as lesões histológicas mais comumente observadas em associação com o HBV[4,16,19]. Saliente-se que estudos realizados no Extremo Oriente demonstraram maior relação do HBV com a GNMP do que com a GNM[27,28]. Vale lembrar que outras formas de glomerulonefrites associadas ao HBV já foram descritas, como a GNMP e a nefropatia por depósito de IgA[29,30,31].

Algumas teorias têm sido propostas para explicar a lesão glomerular desencadeada pelo HBV. Entre as mais aceitas, discute-se a deposição de antígenos com a formação de imunocomplexos (localmente), ao nível da parede capilar glomerular, ou a deposição de imunocomplexos circulantes já formados. Acredita-se que as duas formas de deposição possam ocorrer, o que irá determinar o tipo histológico da lesão glomerular, ou seja, GNM ou GNMP[4,19,30].

Ao contrário do que ocorre na doença hepática pelo HBV, onde o HBcAg desempenha importante papel, na glomerulonefrite o HBeAg é que aparenta ter maior importância[4,10,12]. Em virtude de seu tamanho (peso molecular) e carga iônica, o HBeAg seria a única partícula com possibilidade de ultrapassar a membrana basal do capilar glomerular[4]. Com efeito, este antígeno está estreitamente relacionado com atividade de doença renal e sua ausência só é percebida nas biopsias realizadas após longo período de doença. Na GNM, portanto, o HBeAg atingiria a região subepitelial e induziria a formação (local) de complexos imunes, enquanto na GNMP haveria a deposição, na região subendotelial, do próprio imunocomplexo circulante[4].

Outros autores, no entanto, admitem que a patogenia da glomerulonefrite associada ao HBV não esteja relacionada com a presença de imunocomplexos. Suspeita-se que o HBV proporcionaria fenômenos auto-imunes, com a formação de auto-anticorpos contra "antígenos" das células epiteliais dos glomérulos[4]. Cabe lembrar que tais fenômenos podem ser decorrentes de "mimetismo molecular", de desbalanço na relação reatividade/supressão do sistema imunológico ou de modificação de auto-antígenos"[32].

Outra teoria, por fim, suspeita que a patogenia da glomerulonefrite "associada" ao HBV não tenha qualquer relação com o agente viral, mas que as duas enfermidades, a hepática e a renal, ocorreriam em indivíduos geneticamente predispostos. Assim, da mesma forma que haveria a cronificação da infecção viral, por falhas da resposta imunológica, estas mesmas "falhas" propiciariam o aparecimento da doença glomerular[4].

Em resumo, mais estudos serão necessários para que se possa definir o mecanismo de lesão glomerular desencadeado pelo HBV, tanto para impedir seu aparecimento quanto para evitar sua evolução.

Tratamento da glomerulonefrite associada ao vírus da hepatite B

O interferon-alfa (IFN-α), até o momento, vem sendo considerado a melhor droga para a terapia da hepatite crônica, quer pelo HBV quer pelo HCV[33]. Trata-se de citocina que apresenta atividade antiviral, antineoplásica e imunomoduladora[34].

No tratamento da hepatite crônica pelo HBV, aceita-se que ocorra maior participação do efeito imunomodulador do que do antiviral, em virtude do perfil de resposta ao tratamento, refletida pela curva das transaminases[33]. Observa-se, precedendo a soroconversão do sistema "e", aumento dos níveis séricos destas enzimas, que deve representar necrose de hepatócitos em decorrência da agressão (estimulação) dos linfócitos. Verifica-se, assim, que os melhores resultados terapêuticos são obtidos em pacientes que cursam com certo grau de replicação (HBeAg positivo), além de atividade histológica e, conseqüentemente, enzimática (elevação de transaminase glutâmico-pirúvica – TGP)[33]. O IFN vai ser, dessa forma, mais eficaz nestes pacientes que já apresentam "atividade" do sistema imunológico, amplificando ou modulando a resposta que já vem ocorrendo.

Há cerca de 10 anos, com a produção de IFN em larga escala (recombinante), passaram a ser descritos os primeiros sucessos da droga no tratamento de pacientes com glomerulonefrites associadas ao HBV[35,36,37]. Convém salientar, no entanto, que a taxa de remissão espontânea da GNM associada ao HBV, em crianças, é relativamente elevada, em contraste com aquela observada entre os adultos. Em análise retrospectiva de seis estudos, envolvendo 82 crianças, Lai e cols verificaram remissão espontânea da síndrome nefrótica em 60% dos casos um ano após o diagnóstico[20]. Mais recentemente, contudo, foram publicados dois estudos, um com pacientes pediátricos e outro com adultos, que revelaram resultados mais consistentes[38,39].

Um estudo envolveu 40 crianças com proteinúria, HBsAg e HBeAg séricos positivos e biopsia demonstrando GNM, que foram "randomizadas" em dois grupos iguais[38]. O primeiro recebeu, de acordo com o peso, entre 5 e 8 milhões de U de IFN-α 2b, por via subcutânea, três vezes por semana, durante 12 meses. O segundo grupo, também acompanhado pelo mesmo período, recebeu apenas medicamentos de suporte, não tendo sido administrado corticosteróides ou imunossupressores. Ao final de um ano, todas as 20 crianças do grupo IFN e somente 2 (10%) do grupo controle estavam sem proteinúria. Após 24 meses, no grupo IFN, 16 casos (80%) havia soroconvertido o sistema "e" e, em 11 (55%), também havia ocorrido a soroconversão do sistema "s", determinando cura da infecção; no grupo controle todos os casos permaneciam HBsAg e HBeAg positivos. Os autores concluíram que o IFN foi efetivo na resolução da proteinúria e na cura da infecção em mais da metade das crianças com glomerulonefrite membranosa associada ao HBV[38]. Cabe salientar, entretanto, que a dose de IFN, empregada neste protocolo, foi proporcionalmente (dose/kg) mais elevada e por período mais prolongado que a empregada na terapia da hepatite.

O outro estudo, que já havia sido parcialmente publicado, envolveu 15 adultos, HBsAg e HBeAg positivos, com doença glomerular (proteinúria) e hepática[39,40]. Os pacientes receberam 5 milhões de U de IFN-α 2b, por via subcutânea, diariamente, durante 16 semanas. Durante seguimento médio de 1 a 7 anos, após a terapia, 8 (53%) pacientes apresentaram soroconversão do sistema "e" e normalização da TGP, sendo que 7 deles também demonstraram marcada melhora da proteinúria e 5 soroconversão do sistema "s"[39]. Vale salientar que os 8 que responderam ao tratamento apresentavam GNM, enquanto 4 dos 7 que não responderam eram portadores de GNMP. Os autores concluíram que o IFN foi eficaz na resolução tanto da doença hepática quanto da renal em mais da metade dos pacientes que apresentavam glomerulonefrite "membranosa" associada ao HBV.

É ainda necessária a realização de estudos clínicos controlados, com maior número de pacientes, para melhor avaliação da efetividade do IFN sobre a evolução tanto da GNMP quanto da GNM.

GLOMERULONEFRITE E VÍRUS DA HEPATITE C

Neste tópico, serão feitas considerações sobre a biologia do HCV, bem como sobre a epidemiologia e o diagnóstico da infecção. Em seguida, serão citadas as manifestações extra-hepáticas do HCV, entre as quais a crioglobulinemia e a glomerulonefrite, esta última com maiores detalhes acerca da patogenia e do tratamento.

Biologia e diagnóstico do vírus da hepatite C

Em 1989, o HCV foi clonado e, desde então, vem-se constatando que é o principal responsável pelas hepatites, anteriormente tidas como não A-não B[41,42]. Trata-se de vírus RNA, com aproximadamente 50 a 60nm de diâmetro, circundado por envelope lipídico e composto por cerca de 9.400 nucleotídeos, que correspondem a 3 mil aminoácidos[41,42]. Em vista destas características, assemelha-se aos flavivírus e aos pestivírus, devendo compor a família Flaviviridae[42,43].

Conforme se observa na figura 14.2, a arquitetura genômica do HCV pode ser dividida em duas regiões, uma estrutural e outra não-estrutural[42,43]. A região estrutural, por sua vez, pode ser subdividida em três sub-regiões, a core ou do capsídeo (C) e duas regiões do envelope (E_1 e E_2). Da mesma maneira, a região não-estrutural pode ser subdividida em cinco sub-regiões (NS1 a NS5)[42,43]. Cada sub-região corresponde a determinada seqüência de nucleotídeos, que é utilizada como antígeno na elaboração de testes diagnósticos da infecção pelo HCV[41,42,43].

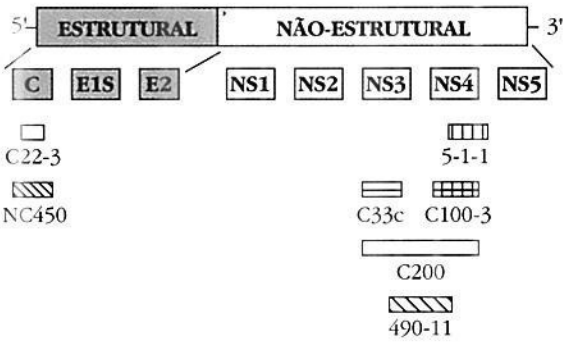


Figura 14.2 – Arquitetura genômica do vírus da hepatite C e regiões empregadas como antígenos nos testes de detecção do anti-HCV.

Foram empregados inicialmente, em ensaios imunoenzimáticos (EIE), antígenos não-estruturais do HCV (Fig. 14.2); mas, verificou-se que apresentavam pouca acurácia e novos ensaios foram elaborados, introduzindo-se outros antígenos. Os testes ditos de segunda e terceira geração empregam tanto antígenos da região estrutural (core), quanto antígenos não-estruturais (NS3-NS5)[42,43]. Cabe ressaltar que a introdução do core aumentou, sobremaneira, a sensibilidade e a especificidade dos testes, reduzindo, conseqüentemente, os "falsos resultados"[42,43].

O simples achado de positividade do anti-HCV, mesmo nos testes de segunda geração, nem sempre representa infecção "ativa", podendo corresponder, como qualquer outro anticorpo, à cicatriz sorológica de contato pregresso com o vírus[42,43]. Nestas situações, as avaliações clínica e bioquímica, além do comportamento evolutivo do caso, serão de grande importância. A detecção sérica do RNA viral (HCV-RNA), através de reação em cadeia de polimerase (PCR), todavia, deve firmar o diagnóstico de "infecção ativa", caracterizando viremia pelo HCV[42,43].

O seqüenciamento nucleotídico do genoma do HCV, particularmente da região NS5, permitiu a identificação de pequenas variações de aminoácidos, constituindo genótipos do vírus. Os genótipos do HCV apresentam características geográficas e biológicas e podem estar relacionados ao grau de agressividade viral, assim como com distintos padrões de resposta (resistência) ao tratamento com IFN-α[44]. Com efeito, o tipo 1b da classificação de Simonds (II de Okamoto) vem sendo encontrado tanto no ocidente quanto no oriente, enquanto o subtipo 2a (III de Okamoto) é mais observado no Japão[44]. O subtipo 1b apresenta maiores níveis virêmicos, ocorre nas hepatites com evolução mais grave e responde menos à terapia, diferentemente do que se observa, sobretudo, com o tipo 2a[44]. Assim, à medida que forem sendo identificados novos subtipos, poder-se-á melhor compreender o comportamento deste agente, não apenas na doença hepática, mas também nas manifestações extra-hepáticas do HCV.

Epidemiologia do vírus da hepatite C

Como ocorre com o HBV, o mapa de prevalência do HCV demonstra variações geográficas, notando-se tendência para se encontrar cifras mais elevadas nos países subdesenvolvidos ou em vias de desenvolvimento[42,43]. A prevalência do vírus C, em doadores de sangue, é da ordem de 0,7%, nos EUA, e de 2%, no Brasil, alcançando taxas mais elevadas em países africanos[5,42,45]. História de exposição parenteral (transfusões, drogas) representa o principal fator no estudo da transmissão do HCV, embora em metade dos pacientes não se consiga identificar a forma de contaminação[42,43]. Os grupos de risco, portanto, apresentam elevadas taxas de prevalência, que variam de 50 a 90% entre os hemofílicos e usuários de drogas (EV) e de 10 a 60% entre os renais crônicos sob diálise[1,2,42,43].

Após a contaminação, a infecção pelo HCV evolui para a cronicidade em 50 a 70% das vezes, o que pode levar à cirrose e ao hepatocarcinoma[42,43]. A evolução da hepatite crônica pelo HCV, nas fases iniciais, é clinicamente pouco expressiva, mas apresenta característica flutuação dos níveis da TGP[42,43]. Esta oscilação enzimática coinci-

de com os níveis virêmicos (HCV-RNA), durante o curso da infecção, valendo ressaltar que a negatividade da pesquisa do RNA, em determinado momento, não necessariamente reflete cura da doença. Diferentemente do HBV, acredita-se que o HCV, no fígado, seja diretamente citopático, embora não se saiba, ao certo, como ocorreria a lesão do hepatócito[42,43].

Durante o curso da infecção pelo vírus C podem-se, entretanto, surpreender eventuais manifestações extra-hepáticas, tais como distúrbios vasculares secundários a crioglobulinemia, dermatológicos, tireoidianos e glomerulares, entre outros[42]. Convém salientar que tais manifestações são mais comuns, na infecção pelo HCV, do que as que ocorrem durante a infecção pelo HBV[46].

Epidemiologia da glomerulonefrite associada ao vírus da hepatite C

A positividade do anti-HCV em pacientes que apresentam crioglobulinemia mista, até então tida como "essencial" ou "primária", tem sido assinalada em taxas que variam de 42 a 98%, quando se emprega ensaio imunoabsorvente ligado a enzima (EIE) de segunda geração[47,48]. Estas cifras passam para 84 e 81%, respectivamente, quando se utiliza a PCR na pesquisa de viremia, revelando a presença de casos falso-negativos por EIE na primeira série. Esta baixa sensibilidade poderia ser resultante do consumo de anticorpos, em virtude da formação de imunocomplexos, que são detectados no crioprecipitado[47]. Já foi constatado que a concentração de HCV-RNA no crioprecipitado é, pelo menos, 100 vezes maior do que a encontrada no soro[47,48].

Analisando-se sob outro prisma, a partir de pacientes com hepatite C, observa-se que cerca de 30% dos casos apresentam crioglobulinemia mista, dos tipos II e III[46,49]. Supõe-se que o HCV, cronicamente infectando linfócitos B, poderia estimular a produção poli (tipo III) ou monoclonal (tipo II) de imunoglobulinas alteradas, que passariam a atuar contra outros anticorpos, originando a crioglobulina[50]. Já se observou que os pacientes infectados pelo HCV, que possuíam crioglobulinemia, significantemente, demonstravam maior duração de doença, lesão hepática mais avançada (cirrose) e, mais freqüentemente, o genótipo 1b[50,51]. É possível que todos estes achados possam estar relacionados com uma maior "carga virêmica", o que deverá ser comprovado em futuros estudos que envolvam a quantificação da viremia. Caracterizando a estreita correlação do HCV com a crioglobulina, enfim, verifica-se redução ou desaparecimento da crioglobulina com o tratamento da infecção viral[47,48].

Investigando-se pacientes que apresentam crioglobulinas, observa-se que cerca de 15% apresenta glomerulonefrite do tipo membranoproliferativa[52]. Sugere-se que a glomerulonefrite seja a expressão, em nível renal, da crioglobulinemia mista, assim como, eventualmente, poderia haver comprometimento vascular ou articular[53]. Acredita-se, então, que o HCV, assim como o HBV, poderia induzir à formação de imunocomplexos, proporcionando o aparecimento de crioglobulinas e de doença glomerular[47,54,55].

Supôs-se, inicialmente, como ocorreu na glomerulonefrite associada ao HBV, que a associação entre a glomerulonefrite e o HCV fosse meramente acidental; porém, estudos mais recentes têm demonstrado elevada prevalência do anti-HCV, ao menos nos casos de GNMP. Na figura 14.3 pode ser vista a prevalência do HCV em diversas casuísticas de glomerulonefrites em geral e de GNMP em particular, constatando-se ampla variação[56,57,58,59].

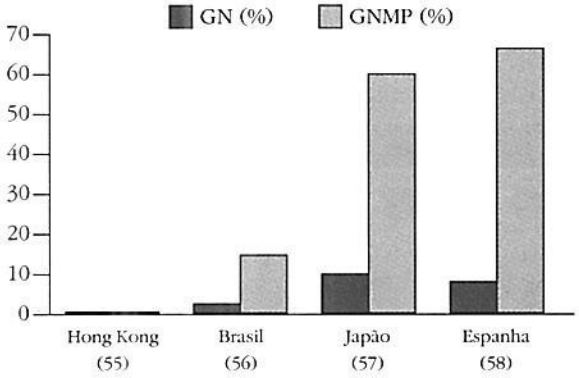


Figura 14.3 – Prevalência do anti-HCV em pacientes com diversas formas de glomerulonefrites e em casos de glomerulonefrite do tipo membranoproliferativa em alguns países. Os números abaixo do nome dos países correspondem às referências bibliográficas.

Como se observa com o HBV, acredita-se que também haja variação geográfica na ocorrência dos casos de glomerulonefrite associados ao HCV, de acordo com a prevalência do anti-HCV na população local. É interessante notar que a ausência do anti-HCV na casuística de Hong Kong (Fig. 14.3), região considerada endêmica para o HBV, pode ser decorrente da baixa prevalência do HCV naquela população, em torno de 0,6%[56]. Note-se também que a elevada taxa de prevalência do HCV nos pacientes espanhóis com GNMP pode ter sido distorcida, em virtude do reduzido número de casos analisados[59].

No Hospital São Paulo (EPM), encontrou-se positividade do anti-HCV em 2 dos 75 pacientes (2,6%) tidos, até então, como portadores de do-

ença glomerular "primária", ambos apresentavam viremia (HCV-RNA), crioglobulinemia do tipo II e GNMP[57]. Esta taxa de prevalência está próxima da encontrada em população semelhante de doadores de sangue, que oscila em torno de 2%[45]. Admite-se, de acordo com estes resultados, que o HCV tenha participação (2/17) na patogenia da glomerulonefrite especificamente do tipo membranoproliferativa (Fig. 14.3).

Patogenia da glomerulonefrite associada ao vírus da hepatite C

Da mesma forma como ocorre na patogênese da glomerulonefrite associada ao HBV, ainda não se conhece, inteiramente, como se dá a lesão glomerular associada ao HCV. Teorias, porém, são propostas, baseadas sobretudo nos conhecimentos adquiridos através de estudos da doença glomerular associada ao HBV. Suspeita-se que possa ocorrer a deposição ou a formação de imunocomplexos na parede do capilar glomerular ou que o HCV possa desencadear fenômenos autoimunes contra o rim[5].

Como a forma histológica mais comumente observada na glomerulonefrite associada ao HCV é a membranoproliferativa, a teoria da deposição de imunocomplexos circulantes ou sua formação no próprio glomérulo adquire grande importância[5]. O encontro de antígenos do HCV no tecido renal, no entanto, não tem sido demonstrado, com exceção de um trabalho que identificou estruturas semelhantes às partículas virais no glomérulo[5,60]. A teoria da indução de auto-anticorpos pelos HCV, portanto, deve ser levada em consideração. Acredita-se, como ocorre contra outras estruturas (tireóide), que o HCV propicie o aparecimento de anticorpos contra antígenos nativos do rim[5,46].

Com a descrição de diferentes genótipos do HCV, suspeitou-se, inicialmente, que poderia haver variantes mais relacionadas com a indução de certas manifestações extra-hepáticas. Com efeito, interessante estudo francês descreveu significante associação do genótipo 1b com crioglobulinemia, mas, até o momento, as pesquisas não têm demonstrado qualquer relação de genótipo específico do HCV com glomerulonefrite[5,51].

Além da GNMP do tipo I, também são descritos casos de GNMP do tipo III associados ao HCV, que, em relação ao local de deposição, poderiam ser considerados do tipo misto[54,55]. Por outro lado, nos casos em que a GNMP está associada à crioglobulinemia, à microscopia eletrônica observam-se característicos depósitos no lúmen capilar e espessamento da membrana basal, além de infiltração de monócitos no mesângio[50,61]. Alguns autores procuram designar esta forma de GNMP como "glomerulonefrite crioglobulinêmica"[50,61]. Contudo, em cerca de 30 a 40% dos pacientes infectados pelo HCV, que apresentam doença glomerular, não se detectam crioglobulinas, evidenciando a ocorrência de outras formas de glomerulonefrite, além da "crioglobulinêmica". Já foram assinalados casos de glomerulonefrite membranosa, glomerulosclerose segmentar focal e de nefropatia por depósito de IgA, associados ao HCV[62,63,64,65,66].

Tratamento da glomerulonefrite associada ao vírus da hepatite C

Dispõe-se, até o momento, de poucos dados a respeito da história natural e, conseqüentemente, da utilidade do tratamento da glomerulonefrite associada ao HCV. Diferentemente do que se observa com o HBV, ainda não foi descrita remissão espontânea da doença renal associada ao HCV, sugerindo a necessidade de interrupção da evolução da enfermidade[5].

Na literatura, no entanto, não se encontram estudos prospectivos e controlados que analisem o emprego de droga contra placebo, sendo observado apenas o relato de terapia de casos isolados ou de pequenas casuísticas[54,63,66,67].

Em vista dos resultados do tratamento de pacientes com crioglobulinemia associada ao HCV e da melhora das alterações urinárias em alguns destes casos, tem-se empregado o IFN-α na terapia da glomerulonefrite associada ao HCV[54,63,68]. Durante o emprego desta citocina, observa-se, paralelamente à negativação do HCV-RNA, redução ou desaparecimento da crioglobulinemia, além da regressão da proteinúria e da hematúria. Após a suspensão do medicamento, contudo, verifica-se retorno da viremia associada à piora das alterações glomerulares[54,66]. Questiona-se, nestes casos, se o efeito do IFN resultaria de sua ação imunomoduladora ou de sua atividade antiviral[50]. Corroborando o efeito imunomediado, recentemente foi descrita melhora de um paciente com glomerulonefrite associada ao HCV, durante o emprego de ciclofosfamida[67]. Por outro lado, também foi relatado caso de negativação do HCV-RNA, associada à redução da crioglobulinemia e da proteinúria, durante o emprego da ribavirina, droga de ação antiviral[69].

Enfim, mais estudos são fundamentais para que se possa definir qual a melhor forma de tratamento da doença glomerular associada ao HCV. O IFN-α demonstra certa eficácia, mas elevada taxa de recidiva, sugerindo que os resultados, provavelmente, possam ser melhorados associando-se agentes imunossupressores ou antivirais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ROTH D: Hepatitis C virus: The nephrologist's view. *Am J Kidney Dis* 25:3-16, 1995.
2. GARCIA-VALDECASAS J, BERNAL C, GARCIA F, CEREZO S, UMANA WO, ALBERTINI B, KIMMEL PL: Epidemiology of hepatitis C virus infection in patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 5:186-192, 1995.
3. PEREIRA BJG, WRIGHT TL, SCHMID C, LEVEY AS: A controlled study of hepatitis C transmission by organ transplantation. *Lancet* 345:484-487, 1995.
4. JOHNSON RJ, COUSER WG: Hepatitis B infection and renal disease: clinical, immunopathogenetic and therapeutic considerations. *Kidney Int* 37:663-676, 1990.
5. JOHNSON RJ, WILLSON R, YAMABE H, ALPERS CE, WENER MH, DAVIS C, GRETCH DR: Renal manifestations of hepatitis C virus infection. *Kidney Int* 46:1255-1263, 1994.
6. COMBES B, STASTNY P, SHOREY J, EIGENBRODT EH, BARRERA A, HULL AR, CARTER NW: Glomerulonephritis with deposition of Australia antigen-antibody complexes in glomerular basement membrane. *Lancet* ii:234-237, 1971.
7. PASCUAL M, PERRIN L, GIOSTRA E, SCHIFFERLI JA: Hepatitis C virus in patients with cryoglobulinemia type II. (letter) *J Infect Dis* 162:569, 1990.
8. GERLICH W. Hepatitis B virus. Structure and molecular virology, in *Viral Hepatitis. Scientific Basis and Clinical Management*, edited by Zuckerman AJ, Thomas HC, London, Churchill Livingstone, 1993, pp 83-113.
9. LAU LYN, WRIGHT T: Molecular virology and pathogenesis of hepatitis B. *Lancet* 342:1335-1340, 1993.
10. ALEXANDER GJM: Immunology of hepatitis B virus infection. *Br Med Bull* 46:354-67, 1990.
11. LAI NK, TAM JS, LIN HJ, LAI FM-M. The therapeutic dilemma of the usage of corticosteroid in patients with membranous nephropathy and persistent hepatitis virus B surface antigenaemia. *Nephron* 54:12-17, 1990.
12. JACYNA MR, THOMAS HC: Pathogenesis and treatment of chronic infection, in *Viral Hepatitis. Scientific Basis and Clinical Management*, edited by Zuckerman AJ, Thomas HC, London, Churchill Livingstone, 1993, pp 185-205.
13. KORENMAN J, BAKER B, WAGGONER J et al: Long-term remission of chronic hepatitis B after alpha-interferon therapy. *Ann Intern Med* 114:629-634, 1991.
14. MARGOLIS HS, ALTER MJ, HADLER SC: Hepatitis B: evolving epidemiology and implications for control. *Semin Liver Dis* 11:84-92, 1991.
15. LEE HS, CHOI Y, YU SH, KOH HI, KIM MJ, KO KW: A renal biopsy study of hepatitis B virus-associated nephropathy in Korea. *Kidney Int* 34:537-543, 1988.
16. LAI KN, LAI FM-M, CHAN KW, CHOW CB, TONG KL, VALLANCE-OWEN J: The clinico-pathologic features of hepatitis B virus-associated glomerulo-nephritis. *Q J Med* 240:323-333, 1987.
17. SRIVASTA RN: Pediatric renal problems in India: *Pediatr Nephrol* 1:238-244, 1987.
18. THYAGARAJAN SP, THIRUNALASUNDARI T, SUBRAMANIANS, PANCHANADAM M, NAMMALWAR BR, PRABHAT V, VIJAYAKATUMAR, JAYARAMAN M: Serum and tissue positive for hepatitis B markers in histopathologically proven glomerulonephritis. *J Med Microbiol* 29:243-249, 1989.
19. LEVY M, CHEN N: Worldwide perspective of hepatitis B associated glomerulonephritis in the 80s. *Kidney Int* (Suppl 35):S24-S33, 1991.
20. LAI KN, LI PKT, LUI SF, AU TK, TAM JSL, TONG KL, LAI FM-M: Membranous nephropathy related to hepatitis B virus in adults. *N Engl J Med* 324:1457-1463, 1991.
21. NAGY J, BATJAI G, BRASCH H, SÜLE T, AMBRUS M, DEAK G, HAMORI A: A role of hepatitis B surface antigen in pathogenesis of glomerulopathies. *Clin Nephrol* 12:109-116, 1979.
22. SHAM MK, PUN KK, YEUNG CK, NG WL, CHANG WK, CHAN MK: Hepatitis B induced glomerulonephritis, fact or fiction? *Aust NZ J Med* 15:356-358, 1985.
23. CHEN N, LESAVRE P, NÖEL L-H, MATTLINGER B, SIMON P, RAMÉ M-P, MENAULT M, LÉVY M: How frequent are hepatitis B virus markers adult patients with glomerular diseases in low a endemic country? *Nephron* 63:400-403, 1993.
24. LOPES LMV, LOPES EPA, SILVA AEB, KIRSZTAJN GM, AJZEN H, FERRAZ ML, SESSO R: Prevalence of viral hepatitis markers in primary glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 5:354, 1994.
25. CARRILHO FJ, SILVA LC: Epidemiologia, in *Hepatites Agudas e Crônicas*, edited by Silva LC, São Paulo, Sarvier, 1986, pp 47-69.
26. MARTINELLI R, NOBLAT ACB, BRITO E, ROCHA H: Schistosoma mansoni-induced mesangiocapillary glomerulonephitis: Influence of therapy. *Kidney Int* 35:1227-1233, 1989.
27. IIDA H, IZUMINO K, ASAKA M, KAMEYAMA T, TAKATA M, MIZUMURA Y, SASAYMA S: Membranoproliferative glomerulonephritis associated with chronic hepatitis B in adults: pathogenic role of HBsAg. *Am J Nephrol* 7:319-324, 1987.
28. LEE HS, CHOI Y, YU SH, KOH HI, KIM MJ, KO KW: A renal biopsy of hepatitis B virus-associated nephropaty in Korea. *Kidney Int* 34:537-543, 1988.
29. LAI KN, LAI FM, TAM JS, OWEN JV: Strong association between IgA nephropathy and hepatitis B surface antigenemia in edemic areas. *Clin Nephrol* 29:229-234, 1988.
30. VENKATASESHAN VS, LIEBERMAN K, KIM DU, THUN SN, DIKMAN S, D'AGATI V, SUSIN M, VALDERRAMA E, GAUTIER B, PRAKASH A, CHURG J: Hepatitis B associated glomerulonephritis: pathology, pathogenesis, and clinical course. *Medicine* 69:201-216, 1990.
31. IIDA H, IZUMINO K, ASAKA M, FUJITA M, TAKATA M, SASAYMA S: IgA nephropathy and hepatitis B virus. *Nephron* 54:18-20, 1990.
32. MCFARLANE IG: Autoimmunity and hepatotropic viruses. *Semin Liver Dis* 11:223-233, 1991.
33. SHERLOCK S: Management of acute and chronic hepatitis due to hepatitis B virus or hepatitis C virus. *Curr Opinion Gastroenterol* 11:188-194, 1995.
34. DIANZANI F, ANTONELLI G: Physiological mechanisms of production and action of interferon in response to viral infection. *Adv Exp Med Biol* 257:47-60, 1989.
35. GARCIA G, SCULLARD G, SMITH C, WEISSBERG J, ALEXANDER S, ROBINSON WS, GREGORY P, MERIGAN TC: Preliminary observation of hepatitis B-associated membranous glomerulonephritis treated with leukocyte interferon. *Hepatology* 5:317-320, 1985.
36. MIZUSHIMA N, KANAI K, MATSUDA H, MATSUMOTO M, TAMAKOSHI K, ISHII H, NAKAJIMA Y, YOSHIMI T, KIMURA M, NAGASE M: Improvement of proteinuria in a case of hepatitis B associated glomerulonephritis after with interferon. *Gastroenterology* 92:524-526, 1987.
37. MAN RA, SCHALM SW, HEIDJEN AJ, KATE FWJ, WOLFF ED, HEIJTINK RA: Improvement of hepatitis B associated glomerulonephritis after antiviral therapy. *J Hepatol* 8:367-372, 1989.
38. LIN C-Y: Treatment of hepatitis B virus-associated membranous nephropathy with recombinant alpha-interferon. *Kidney Int* 47:225-230,1995.
39. CONJEEVARAM HS, HOOFNAGLE JH, AUSTIN HA, PARK Y, FRIED MW, BISCEGLI AM: Long-term outcome of hepatitis B virus related glomerulonephritis after therapy with interferon alpha. *Gastroenterology* 109:540-546, 1995.
40. LISKER-MELMAN M, WEBB D, DI BISCEGLI AM, KASSIANIDES C, MARTIN P, RUSTGI V, WAGGONER JG, PARK Y, HOOFNAGLE J: Glomerulonephritis caused by chronic he-

patitis B virus infection: treatment with recombinant human alpha-interferon. *Ann Intern Med* 111:479-483, 1989.
41. CHOO Q-L, KUO G, WEINER AM, OVERBY LR, BRADLEY DW, HOUGHTON M: Isolation of cDNA clone derived from a blood borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244:359-362, 1989.
42. SHERLOCK S: Chronic hepatitis C. *Dis Month* XL: 122-196, 1994.
43. BRADLEY DW: Virology, molecular biology, and serology of hepatitis C virus. *Transfus Med Rev* 6:93-102, 1992.
44. SIMONDS P: Variability of hepatitis C. *Hepatology* 21:570-583, 1995.
45. BORDIN JO, CASTELO A, SILVA AEB, DI BISCEGLIE A, CARREIRA OJ, MARLIERE E: Impact of surrogate markers, ELISA anti-HCV and HCV-RNA detected by PCR blood screening in Brazil. *Rev Paul Med* 110:TTD-38, 1992.
46. PAWLOTSKY J-M, YAHIA MB, ANDRE C, VOISIN M-C, INTRATOR L, THORAVAL FR, DEFORGES L, DUVOUX C, ZAFRANI E, DUVAL J, DHUMEAUX D: Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study. *Hepatology* 19:841-848, 1994.
47. AGNELLO V, CHUNG RT, KAPLAN LM: A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 327:1490-1495, 1992.
48. MISIANI R, BELLAVITA P, FENILI D, VICARI O, MARCHESI D, SIRONI PL, ZILIO P, VERNOCCHI A, MASSAZZA M, VENDRAMINI G, TANZI E, ZANETTI A: Interferon alpha-2a therapy in cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus. *N Engl J Med* 330:751-756, 1994.
49. LUNEL F, MUSSET L, CACOUB P, FRANGEUL L, CRESTA P, PERRIN M, GRIPPON P, HOANG C, PIETTE JC, HURAUX J-M, OPOLON P: Cryoglobulinemia in chronic liver diseases: role of hepatitis C virus and liver damage. *Gastroenterology* 106:1291-1300, 1994.
50. D'AMICO G, FORNASIERI A: Cryoglobulinemic glomerulonephritis: A membranoproliferative glomerulonephritis induced by hepatitis C virus. *Am J Kiney Dis* 25:361-369, 1995.
51. LUNEL F: Hépatite C et anomalies immunologiques. *Gastroenterol Clin Biol* 18:829-838, 1994.
52. HARLÉ J-R, DISDIER P, DUSSOL B, BOLLA G, CASANOVA P, WEILLER P-J: Membranoproliferative glomerulonephritis and hepatitis C infection. (letter) *Lancet* 341:904, 1993.
53. D'AMICO G, FERRARI F: Mesangiocapillary glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2:159S-166S, 1992.
54. JOHNSON RJ, GRETCH DR, YAMABE H, HART J, BACCHI CE, HARTWELL P, COUSER WG, COREY L, WENER MH, ALPERS CE, WILLSON R: Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 328:465-471, 1993.
55. LAI FM, TAM JSL, LIEW CT, IP M, LAI KN: Low prevalence of hepatitis C virus antibodies with primary membranous nephropathy and membranoproliferative glomerulonephritis in Hong Kong. *Nephron* 70:367-368, 1995.
56. LOPES LV, LOPES EP, SILVA AE, KIRSZTAJN G, SESSO R, PEREIRA AB, FERRAZ ML, AJZEN H: Prevalência do anti-HCV em glomerulonefrites. *GED* 14:149, 1995.
57. YAMABE H, JOHNSON RJ, GRETCH DR, FUKUSHI K, OSAWA H, MIYATA M, INUMA H, SASAKI T, KAIZUKA M, TAMURA N, TSUNODA S, FUJITA Y, ONODERA K: Hepatitis C virus infection and membranoproliferative glomerulonephritis in Japan. *J Am Soc Nephrol* 6:220-223, 1995.
58. ESTEBAN J, ARMADA E, OTERO A, CRISTAL CH: Incidence of hepatitis C virus antibodies (HCV-Abs) in glomerular pathology. (abstract) *Kidney Int* 48:276, 1995.
59. HORIKOSHI S, OKADA T, SHIRATO I, INOKUCHI S, OHMURO H, TOMINO Y, KOIDE H: Diffuse proliferative glomerulonephritis with hepatitis C virus-like particles in paramesangial dense deposits in a patient with chronic hepatitis C virus. *Nephron* 64:462-464, 1993.
60. APPEL GB: Immune-complex glomerulonephritis deposits plus interest. *N Engl J Med* 328:505-506, 1993.
61. PASQUARIELLO A, FERRI C, MORICONI L, CIVITA L, LONGOMBARDO G, LOMBARDINI F, GRECO F, ZIGNEGO AL: Cryoglobulinemic membrano-proliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus. *Am J Nephrol* 13:300-304, 1993.
62. ROLLINO C, ROCCATELLO D, GIACHINO O, BASOLO B, PICCOLI G: Hepatitis C virus infection and membranous glomerulonephritis. *Nephron* 59:319-320, 1991.
63. GONZALO A, NAVARRO J, BÁRCENA R,QUEREDA C, ORTUÑO, J: IgA nephropathy associated with hepatitis C virus infection. (letter) *Nephron* 69:354, 1995.
64. MARTÍNEZ-ARA J, MIGUEL JL, PICAZO ML, MARTÍNEZ-ZAPICO, JIMÉNEZ-MARTÍN, RIÑÓN C: Prevalence of infection by hepatitis C virus (HCV) in patients with primary glomerulonephritis. Association with focal and segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 48:276-277, 1995.
65. ROMAS E, POWER DA, MACHET D, POWELL H, D'APICE AJF: Membranous glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection in an adolescent. *Pathology* 26:399-402, 1994.
66. STEHMAN-BREEN C, ALPERS CE, COUSER WG, WILLSON R, JOHNSON RJ: Hepatitis C virus associated membranous glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 44:141-147, 1995.
67. QUIGG R, BRATHWAITE M, GARDNER D, GRETCH DR, RUDDY S: Successful cyclophosphamide treatment of cryoglobulinemic membrano-proliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *Am J Kidney Dis* 25:798-800, 1995.
68. JOHNSON RJ, GRETCH DR, COUSER WG, ALPERS CE, WILSON J, CHUNG M, HART J, WILLSON R: Hepatitis C virus-associated glomerulonephritis. Effect of α-interferon therapy. *Kidney Int* 46:1700-1704, 1994.
69. LOPES EP, LOPES LV, PEREIRA AB, SILVA AE, FERRAZ ML: Crioglobulinemia e glomerulonefrite pelo vírus da hepatite C (HCV): resposta ao tratamento com ribavirina. *GED* 14:176, 1995.

15

TRATAMENTO IMUNOSSUPRESSOR DA NEFRITE LÚPICA

Rui Toledo Barros

INTRODUÇÃO

O prognóstico do envolvimento renal no lúpus eritematoso sistêmico (LES) tem mostrado importante melhora ao longo dos últimos anos, em decorrência dos esquemas imunossupressores mais eficientes e do melhor tratamento de suporte das complicações, tais como a hipertensão, as infecções e a insuficiência renal.

A patogênese da nefrite lúpica não é totalmente conhecida. Sabe-se que no LES ocorre ativação excessiva dos linfócitos B, devido tanto a defeito intrínseco destas células, como por alterações nas funções reguladoras dos linfócitos T, com a produção excessiva de auto-anticorpos e subseqüente formação de imunocomplexos. A maior parte destes auto-anticorpos não é específica para tecidos ou células, interagindo com um variado espectro de antígenos subcelulares, que incluem: DNA de hélice dupla, DNA de hélice simples, ribonucleoproteínas, e outras proteínas nucleares e citoplasmáticas[1]. A deposição crônica de imunocomplexos pré-formados e a sua formação *in situ* constituem os principais mecanismos da formação dos depósitos imunes glomerulares mesangiais e subendoteliais, bem como dos depósitos vasculares e tubulointersticiais[2]. A resposta inflamatória tecidual irá depender da quantidade e da localização dos imunocomplexos, associados ao seu potencial de ativação do complemento. Esta importante fase da agressão imunológica se traduz pela expressão de moléculas de adesão, pela ativação de mediadores da permeabilidade vascular, da cascata de coagualção e da síntese aumentada de matriz extracelular[3].

Os fenômenos acima descritos ocorrem de modo predominante na glomerulonefrite proliferativa difusa (classe IV da Organização Mundial de Saúde – OMS) e na glomerulonefrite segmentar e focal grave (classe III – OMS), que constituem as principais causas de envolvimento renal no LES, merecendo, portanto, maior atenção na conduta terapêutica.

Pacientes com glomerulonefrite membranosa (classe V – OMS) têm como principal característica a formação *in situ* de depósitos imunes em região subepitelial do capilar glomerular, com pouquíssima reação inflamatória e grande componente de alteração na permeabilidade local às macromoléculas, provavelmente pela formação do complexo de ataque à membrana (C5b-C9), sem a atração de células residentes ou infiltrantes[4].

Outros fatores patogênicos, além de formação de imunocomplexos, podem ser participantes na agressão glomerular do LES. Microtromboses dos capilares e dos pequenos vasos renais têm sido observadas, tanto em associação com os depósitos imunes, como com a síndrome hemolítico-urêmica. Nesta última situação, podem ser detectados anticorpos antifosfolípides, que teriam a capacidade de agredir o endotélio vascular, alterar a produção de prostaciclinas e promover a agregação plaquetária[5].

As ações terapêuticas na nefrite lúpica, portanto, devem estar direcionadas para medidas de supressão da formação dos anticorpos, de inibição da reação inflamatória e do bloqueio da produção de matriz extracelular, causas maiores da fibrogênese renal.

No tratamento da nefrite lúpica sabe-se que uma pequena parcela de pacientes portadores da classe IV – OMS podem responder ao uso isolado de corticosteróides; a maioria dos estudos, no entanto, sugere fortemente que a sobrevida renal se amplia com a introdução de drogas citotáticas, tais como a ciclofosfamida[6-8]. A análise conjunta

de vários estudos controlados tem mostrado que a adição de ciclofosfamida ou azatioprina reduz em 40% a ocorrência de insuficiência renal crônica terminal, quando comparada à corticoterapia isolada[6].

AÇÕES BIOLÓGICAS DA CICLOFOSFAMIDA

Os agentes alquilantes (ciclofosfamida, clorambucil, mostarda nitrogenada) exercem sua atividade biológica através de sua capacidade de se ligar de modo covalente e cruzado com uma série de macromoléculas, tais como DNA, RNA e proteínas. A ligação cruzada com o DNA ("crosslinking") é a mais bem estudada e, provavelmente, representa a mais importante ação biológica destas drogas. Este tipo de ligação com o DNA resulta em bloqueio de sua replicação e da transcrição, levando à morte ou à alteração da função celular.

A ciclofosfamida (CF) é uma substância que intrinsecamente não possui atividade citotóxica. Sua ativação *in vivo* leva à formação de 4-hidroxiciclofosfamida, a qual, após uma série de reações, produz os metabólitos mostarda fosforamida e acroleína, de alta reatividade polar. A ativação da ciclofosfamida ocorre primariamente por metabolismo oxidativo hepático, através do sistema citocromoxidase P450.

Outros sistemas enzimáticos oxidativos têm sido descritos como geradores de 4-hidroxiciclofosfamida, tais como o da peroxidase e o da sintetase de prostaglandina H[9]. A ativação da CF por este último sistema pode ser reduzida com o uso de inibidores da cicloxigenase. Por outro lado, a possível ativação da CF por enzimas alternativas extrahepáticas pode constituir-se em importante mecanismo de geração de metabólitos tóxicos em tecidos-alvo, tais como o pulmão e a mucosa vesical.

O efeito linfopênico dose-dependente da CF é bem conhecido, tanto em humanos, como em animais. As alterações nas subpopulações de linfócitos costumam ser heterogêneas, na dependência das vias de administração, da dose total e das doenças subjacentes (neoplasias ou doenças auto-imunes). Pacientes com LES, após uso endovenoso de CF, têm redução das contagens de linfócitos B, de linfócitos T CD4+ e CD8+, com recuperação mais rápida da contagem de células B ao término do tratamento[10]. A análise das alterações das subpopulações linfocitárias no homem costuma estar limitada ao compartimento sangüíneo periférico, o que provavelmente não reflete o real efeito da CF sobre os tecidos linfóides. Nos camundongos NZB/NZW, que desenvolvem uma síndrome lúpus-símile, o número de linfócitos T reduz-se anormalmente com a idade, acompanhando-se de elevação dos linfócitos B circulantes. A administração semanal da CF nestes animais atenua a depleção de células T e faz reduzir a população de células B, praticamente eliminando a mortalidade pela glomerulonefrite[11]. Este efeito também ocorre em outros modelos de nefrite lúpica experimental, nos quais é relevante a participação da hiperatividade de linfócitos B associada à inadequada regulação funcional das células T, como fatores de progressão da doença auto-imune[12].

Em pacientes com LES, o efeito de CF como agente imunossupressor não se resume apenas à sua ação citopênica. Pacientes tratados com CF endovenosa, sob forma de pulsos mensais, mostram redução dos títulos séricos de anti-DNA e da resposta proliferativa ao anticorpo anti-CD2[13]. A 4-hidroxiciclofosfamida suprime *in vitro* a resposta proliferativa de linfócitos T estimulados pelo mitógeno PHA (fito-hemaglutinina)[13].

Um suposto efeito antiinflamatório tem sido atribuído à CF, sem haver, entretanto, comprovação definitiva. Em estudo recente foi demonstrado que a CF modula a transcrição gênica durante a ativação de células da reação inflamatória[14]. Evidências conclusivas deste efeito terapêutico da CF não foram ainda demonstradas.

O clorambucil é outro agente alquilante, derivado da mostarda nitrogenada utilizado no tratamento do LES, de vasculites, da síndrome nefrótica idiopática e de neoplasias. Suas ações imunológicas não têm sido tão investigadas como a CF. Estudo recente sugere que, em pacientes com esclerose múltipla, o clorambucil reduz preferencialmente a contagem de linfócitos B periféricos, com menor ação sobre a subpopulação CD4+[13]. Se isto também ocorre no LES, é possível que a administração mensal de clorambucil possa reduzir a produção de auto-anticorpos, sem grande comprometimento dos mecanismos de defesa contra infecções oportunistas, que requerem número adequado de linfócitos CD4+.

EFEITOS BIOLÓGICOS DOS ANTIMETABÓLITOS

Os agentes antimetabólicos interferem com a síntese protéica através de mecanismos de competição e bloqueio de receptores específicos. Este grupo inclui os antagonistas das purinas (azatioprina e 6-mercaptopurina), antagonistas das pirimidinas (5-fluoracil) e antagonistas do ácido fólico (metotrexato). A azatioprina é o antimetabólito mais usado no tratamento da nefrite lúpica e será desta forma mais bem analisado quanto à sua ação imunossupressora.

Uma série de tecidos, dentre os quais a linhagem linfóide, tem a capacidade de metabolizar a azatioprina, transformando-a em 6-mercaptopurina e, subseqüentemente, em ácido 6-tioinosínico, ambos compostos agindo como antagonistas das purinas. A azatioprina e seus metabólitos exercem suas ações citotóxicas através da inibição da síntese do DNA e, em menor escala, na síntese de RNA e proteínas[15].

O efeito imunossupressor da azatioprina e da 6-mercaptopurina está na dependência do momento em que estes agentes são administrados em relação ao estímulo antigênico, ou seja, logo após este último, pode-se obter o máximo efeito. A resposta de expansão clonal de células T auxiliadoras geralmente está inibida e, desta forma, a produção de anticorpos, a rejeição ao enxerto e a indução de auto-imunidade podem estar suprimidas. O efeito inibitório da azatioprina na produção de anticorpos aparentemente se correlaciona com a preservação da função renal no modelo murino de nefrite lúpica NZB/NZW, no qual se pode observar redução da IgG sérica e da IgG ligada ao tecido renal, após o uso deste agente[16].

O estado de imunossupressão clinicamente relevante e as alterações dos parâmetros imunológicos ocorrem muito mais lentamente com a azatioprina do que com a CF. A linfopenia de instalação precoce não costuma ser observada, exceto com doses muito elevadas; linfopenia leve pode ocorrer após seis meses de tratamento de doenças auto-imunes com azatioprina, com reduções equivalentes das várias subpopulações linfocitárias[17].

Vários relatos da literatura têm também sugerido que a azatioprina possa ter uma ação antiinflamatória, distinta de suas propriedades imunossupressoras[18,19]. Assim, inibição da síntese de prostaglandinas e da resposta quimiotática de monócitos e redução do tráfico de neutrófilos têm sido relatadas em modelos experimentais de inflamação[18,19]. Estas observações preliminares devem ser confirmadas; um possível efeito antiinflamatório, entretanto, parece ser importante para o efeito imunossupressor da azatioprina.

AÇÃO IMUNOSSUPRESSORA DA CICLOSPORINA

A ciclosporina (CsA) é um potente imunossupressor largamente utilizado em transplante de órgãos e, ultimamente, tem sido usada no tratamento de doenças auto-imunes, tais como LES, síndrome de Behçet e artrite reumatóide.

O local primário da ação imunossupressora da CsA é o bloqueio do gene ativador do linfócito T, especialmente no que se refere à transcrição dos genes que regulam a produção de citocinas[20]. Com o bloqueio da geração de interleucina-2 (IL-2), a cascata de ativação de linfócitos se interrompe logo no início do ciclo de divisão celular, particularmente em relação à subpopulação CD4+. Tendo em vista tais ações, pode-se questionar sobre a racionalidade do uso da CsA no LES, uma vez que uma inadequada função reguladora das células T tem sido relacionada com a produção exagerada de auto-anticorpos nesta doença. De qualquer forma, a CsA vem sendo utilizada de modo não extensivo na nefrite lúpica humana, com resultados poucos satisfatórios. No modelo murino de doença auto-imune (NZB/NZW), a CsA administrada em fases bem precoces previne as manifestações de auto-imunidade e a progressão da doença renal[21].

TOXICIDADE DOS AGENTES IMUNOSSUPRESSORES

A ação tóxica dos agentes imunossupressores é, basicamente, dose e tempo-dependente; as complicações podem advir tanto do efeito imunossupressor (infecções oportunistas), como do efeito farmacológico (cistite hemorrágica, fibrose pulmonar) ou de ambos.

Os agentes alquilantes são os mais importantes causadores de efeitos colaterais, que incluem: depressão da hematopoiese, toxicidade gonadal, maior suscetibilidade às infecções, lesão do epitélio urovesical e carcinogênese. Em recente relato do National Institutes of Health (Estados Unidos), foram avaliados 158 pacientes após uso de ciclofosfamida oral, em média por oito anos, como terapêutica da granulomatose de Wegener[22]. As principais complicações foram: amenorréia (57%), cistite (43%), câncer vesical (2,8%), mielodisplasia (2%) e linfoma (0,7%).

O efeito tóxico mais comum, tanto com os alquilantes, como com os antimetabólitos, é a depressão da hematopoiese normal. Em estudos clínicos com a azatioprina, a citopenia pode ocorrer no prazo de 7 a 14 dias após a administração da droga, sendo dose-dependente e reversível com a suspensão da droga. Pacientes tratados com pulsos endovenosos de CF podem desenvolver leucopenia também no período de 7 a 14 dias, com recuperação ao redor de 21 dias. Com o uso diário de clorambucil, por outro lado, pode ocorrer neutropenia grave de caráter idiossincrásico[23], o que representa uma desvantagem desta droga em relação à CF.

O segundo efeito colateral mais freqüente é a maior suscetibilidade às infecções, devido tanto à depressão da medula óssea, quanto às interferên-

cias na função imunorreguladora. Vários tipos de infecções podem ocorrer: bacterianas (pneumonias, sinusites, infecções urinárias, abscessos, septicemias), infecções oportunistas (por fungos, pneumócitos, *Nocardia*) e reativação de infecções quiescentes (herpes zoster, *Mycobacterium tuberculosis*, papilomavírus). O risco de infecção é muito maior em presença de neutropenia e concomitante uso de doses elevadas de corticosteróides. Deve-se ressaltar, entretanto, que a neutropenia não é condição necessária para a ocorrência de infecções; em pacientes com nefrite lúpica e doença de Wegener, infecções bacterianas e fúngicas ocorreram em até 17% dos casos não-neutropênicos[22,24].

Os agentes alquilantes exercem efeitos tóxicos bem conhecidos sobre o tecido reprodutor. Suas principais ações incluem a redução das células germinativas testiculares, com preservação das células de Sertoli, e ausência dos folículos ovarianos primordiais. Estes efeitos são dose-dependentes e, no caso da oligoespermia, a dose cumulativa máxima para a ocorrência desta complicação se situa aproximadamente entre 150 e 250mg/kg/peso corpóreo de CF. A amenorréia e a falência ovariana costumam ser definitivas, especialmente no grupo de mulheres acima dos 30 anos de idade. Em relação aos homens, freqüentemente ocorre redução da contagem de espermatozóides, que pode ser reversível com a suspensão da medicação citostática. Como medidas de prevenção da toxicidade gonadal pelos alquilantes, são importantes a limitação da dose total e, se possível, o uso alternativo da azatioprina na fase de manutenção da remissão do LES, a longo prazo.

A toxicidade uroepitelial é típica da ciclofosfamida e de seus análogos, podendo ocorrer desde cistite leve, até hemorragias maciças, ou mesmo evolução para lesão neoplásica. A acroleína, que é um metabólito não citostático, parece ser a responsável pela cistite induzida pela ciclofosfamida. A incidência e a gravidade desta complicação podem ser reduzidas com hidratação adequada e micções freqüentes, o que evita principalmente o contato do metabólito tóxico com o epitélio vesical.

Em relação ao efeito carcinogênico, existem poucos estudos que avaliam esta complicação durante o uso de imunossupressores em nefrite lúpica, exceto para a ocorrência de carcinoma vesical, quando se utiliza a CF por via oral[22]. Deve-se ressaltar que pacientes portadores de artrite reumatóide, LES e outras doenças auto-imunes têm maior risco de desenvolvimento de linfomas, independentemente da forma de tratamento. A administração de agentes alquilantes parece aumentar este risco, extensivo também a leucemias e carcinomas de pele. A duração total do esquema terapêutico é um dos mais importantes fatores de risco para a carcinogênese relacionada aos agentes alquilantes, uma vez que sua incidência é nitidamente maior nos pacientes tratados por mais de dois ou três anos[25].

TERAPÊUTICA IMUNOSSUPRESSORA NA NEFRITE LÚPICA

Nos últimos 10 anos, a utilização de imunossupressores em nefrite lúpica tem-se tornado uma prática bastante disseminada em vários centros mundiais. A partir do estudo de metanálise realizado por Nelson & Anderson[26], ficou aparentemente demonstrada a superioridade da CF e da azatioprina nas formas proliferativas de envolvimento renal no LES, quando comparada ao emprego isolado dos corticosteróides. As séries originárias do National Institutes of Health, dos Estados Unidos, vieram reforçar a indicação da CF em esquemas de longa duração e por via endovenosa, com o objetivo de se evitar efeitos colaterais importantes[24].

A conduta atual em nosso Serviço é a da indicação da ciclofosfamida na nefrite lúpica pertencente à classe IV da OMS, sob forma de pulsos endovenosos mensais na dose de 0,5-0,75g/m^2 de área corpórea, ajustada para uma adequada contagem leucocitária. O uso de corticosteróides na fase de indução terapêutica é muito importante, devido ao efeito antiinflamatório potente. Dessa forma, utilizamos a metilprednisolona (MP) 1g por via endovenosa durante três dias, particularmente se o quadro histológico for grave e/ou se houver redução da função renal. Após o uso de MP, introduzimos a prednisona na dose de 1mg/kg/dia durante seis a oito semanas, com redução lenta e progressiva. Quanto ao primeiro pulso de CF, habitualmente iniciamos entre o 1º e o 10º dias após a introdução da MP, no sentido de minimizar a linfocitopenia, que é comum quando se associam ambas as drogas.

A azatioprina pode constituir-se em esquema alternativo na nefrite lúpica, estando mais bem indicada na fase de manutenção da remissão da atividade. Neste caso, na fase de indução dos três meses, não se poderá dispensar o uso de corticosteróides e CF, a nosso ver, mais eficazes no controle da nefrite lúpica proliferativa.

O uso de CsA na nefrite lúpica tem sido relatado em estudos não controlados e com pequeno número de pacientes. Resultados mais promissores foram observados recentemente em pacientes com síndrome nefrótica por nefropatia membra-

nosa (classe V – OMS), nos quais ocorre importante redução da atividade sistêmica e da proteinúria[27]. O uso de CsA na nefrite lúpica deverá ser mais bem avaliado em estudos controlados; possíveis indicações de CsA na nefrite lúpica poderiam incluir as situações de doença refratária aos esquemas convencionais, ou quando ocorresse intolerância aos agentes citotóxicos.

Apesar dos esquemas imunossupressores mais agressivos e prolongados, importante contingente de pacientes, ao redor de 20% nas várias séries, continua progredindo para a insuficiência renal crônica terminal, sem sinais evidentes de atividade imunológica. Fatores hemodinâmicos e metabólicos certamente contribuem para esta progressão, com destaques para a hipertensão, para as dislipidemias e para os distúrbios da microcirculação renal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FOURNIE GJ, DRUE P: Towards understanding the pathogenesis of SLE. *Nephrol Dial Transplant* 11:10-12, 1996.
2. FOSTER MH, CIZMAN B, MADAIO MP: Nephritogenic autoantibodies in SLE: immunochemical properties, mechanisms of immune deposition, and genetic origins. *Lab Invest* 63:494-507, 1993.
3. YOKOYAMA H, TAKABATAKET, TAKEDA M: Up-regulated MHC – class II expression and IFN and soluble IL-2R in lupus nephritis. *Kidney Int* 42:755-761, 1992.
4. DONADIO JV, PURGESS JH, HOLLEY KE: Membranous lupus nephropathy: a clinicopathologic study. *Medicine* (Baltimore) 56:527-536, 1977.
5. McNEIL HP, HUNT JE, KRILIS SA: Antiphospholipid antibodies – new insights into their specifity and clinical importance. *Scand J Immunol* 36:647-652, 1992.
6. STEINBERG AD: The treatment of lupus nephritis. *Kidney Int* 30:769-780, 1986.
7. PONTICELLI C, ZUCHELLI P, MORONI G, BANFI G, PASQUALI S: Long-term prognosis of diffuse lupus nephritis. *Clin Nephrol* 28:263-271, 1987.
8. APPEL GB, VALERI A: The course and treatment of lupus nephritis. *Annu Rev Med* 45:525-537, 1994.
9. SMITH RD, KEHRER JP: Cooxidation of cyclophosphamide as an alternative pathway for its biactivation. *Cancer Res* 51:542-548, 1993.
10. McCUNE WJ, GOLBUS J, ZELDES W, BOHLKE P, DUNNE R, FOX DA: Clinical and immunologic effects of monthly administration of intravenous cyclophosphamide in severe systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 318:1423-1431, 1988.
11. ANACLERIO A, CONTI G, GOGGI G: Effect of cytotoxic agents on supressor cells in mice. *J Cancer* 15:53-58, 1979.
12. CUPPS TR, EDGAR LC, FAUCI AS: Suppression of human B lymphocyte function by cyclophosphamide. *J Immunol* 128:2453-2457, 1982.
13. GEREIS M, BURFORD-MASON AP, WATKINS SM: Suppression of in vitro peripheral blood lymphocyte mitogenesis by cytotoxic drugs. *Agents Actions* 22:324-329, 1987.
14. MONATZ JD, MUSHINSKI JF, SMITH HR: Modulation of C-myb transcription in autoimmune disease by cyclophosphamide. *J Immunol* 135:2417-2422, 1985.
15. MALAMUD D, GONZALES EM, CHIU H: Inhibition of cell proliferation by azathioprine. *Cancer Res* 30:1226-1229, 1972.
16. CAVALLO T, GRANHOLM NA, GRAVES K: Immunoreactants in murine lupus nephritis: effects of azathioprine. *J Clin Lab Immunol* 13:117-121, 1984.
17. ELIOW GB: Immunossupressive agents. *Transplant Proc* 9:757-979, 1977.
18. MURTHY SN, ANANIA T, CLEARFIELD HR: Azathioprine reduces extravasation and neutrophil trafficking immune complex mediated inflamation. *Agents Actions* 34:244-246, 1991.
19. HOMO-DELARCHE F, BACH JF, DARDENNE M: In vitro inhibition of prostaglandin production by azathioprine and 6-mercaptopurine. *Prostaglandins* 35:479-491, 1988.
20. SCHREIBER SL, CRABTREE GR: The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today* 13:136-142, 1992.
21. BLANK M, BEN-BASSAT M, SHOENFELD Y: The effect of cyclosporin A on early and late stages of experimental lupus. *Arthritis Rheum* 35:1350-1355, 1992.
22. HOFFMAN GS, KERR GS, LEAVITT RY, HALLAHAN CW, LEBOVICS RS, TRAVIS WD, ROTTEN M, FAUCI AS: Wegener's granulomatosis: an analisys of 158 patients. *Ann Intern Med* 116:488-498, 1992.
23. SABBOUR MS, OSMAN LM: Comparison of chlorambucil, azathioprine or cyclophosphamide combined with corticosteroids in the treatment of lupus nephritis. *Br J Dermatol* 100:1113-1251, 1979.
24. AUSTIN HA, KLIPPEL JH, BALOW JE, LARICHE NGH, STRINBERG AD, DECKER JL: Therapy of lupus nephritis: controlled trial of prednisone and citotoxic drugs. *N Engl J Med* 314:614-619, 1986.
25. RADIS CD, KAHL LE, BAKER GL: Effects of cyclophosphamide on the development of malignancy and on long-term survival on patients with rheumatoid arthrits: a follow-up study. *Arthritis Rheum* 38:1120-1125, 1995.
26. NELSON DT, ANDERSON J: Evidence for the superiority of immunosuppresive drugs and prednisone over prednisone alone in lupus nephritis. *N Engl J Med* 311:1528-1533, 1984.
27. RADHAKRISHNAN J, KUNIS CL, D'AGATI V, APPEL GB: Cyclosporine treatment of lupus membranous nephropathy. *Clin Nephrol* 42:147-154, 1994.

16

AMILOIDOSE RENAL

Marcos Roberto de Assis Pinto
Euthymia Brandão de Almeida Prado

INTRODUÇÃO

O termo amilóide, do grego *amilon* = amido, foi introduzido por Rudolf Virchow[1], em 1854, para designar os depósitos teciduais de característica córea e eosinofílica, descritos anteriormente por Rokitansky[(apud 2)], em 1842. Estes depósitos receberam esta denominação por serem corados, assim como a celulose, pelo iodo e pelo ácido sulfúrico. Apesar de ser de natureza protéica, o termo amilóide não foi abandonado e a doença associada foi chamada de amiloidose.

A amiloidose é, assim, uma doença caracterizada pela deposição extracelular, sistêmica ou localizada, de material protéico autólogo originário do metabolismo inadequado de determinadas proteínas séricas. Estas apresentam em comum a capacidade de formar fibrilas β-pregueadas características, à microscopia eletrônica. Do ponto de vista tintorial, ligam-se ao vermelho-congo, dando uma coloração verde-maçã quando submetidas à luz polarizada, e uma intensa fluorescência verde-amarela após ligação a tioflavina-T[3]. Pode ser primária ou secundária e está associada a várias situações clínicas, como doenças inflamatórias e infecciosas crônicas, neoplasias e envelhecimento. Há ainda uma forma mais rara, familiar, e um outro tipo de amiloidose, que ocorre em pacientes hemodialisados crônicos, com deposição predominante em tecido sinovial. O rim é acometido em quase todas as formas de amiloidose, o que leva freqüentemente à sua insuficiência.

FISIOPATOLOGIA

Virchow, em 1871, postulou a existência de um precursor plasmático, que atravessaria as paredes vasculares como um "gel", depositando-se nos tecidos adjacentes[4]. Após esta interpretação inicial, Smetana, em 1927, sugeriu que a amiloidose seria depositada próximo ao seu local de síntese correlacionando os depósitos com o sistema retículo-endotelial[5].

Teilum[6] descreveu o desenvolvimento experimental de uma forma de amiloidose que se instala de maneira bifásica; a primeira fase era caracterizada pela proliferação de células retículo-endoteliais pironinofílicas e plasmócitos devido a algum estímulo do sistema imune, sendo acompanhada de elevação de gama-globulinas séricas; a segunda fase ou fase amilóide seria subseqüente à alteração funcional da síntese protéica destas células, com o aparecimento de substância PAS positiva em seus citoplasmas. Desse modo, as fibrilas seriam depositadas próximo ao seu local de síntese, através de secreção celular.

Mais recentemente, a amiloidogênese tem sido vista como um processo onde um determinado estímulo provoca alterações na concentração e/ou na estrutura primária de uma proteína sérica; esta, por sua vez, sofre uma clivagem proteolítica anômala, levando à sua polimerização[7]. Este polímero, de forma fibrilar, pode então se depositar em vários órgãos dos diversos aparelhos.

As fibrilas das formas familiar (AF) e relacionada à hemodiálise (AH) apresentam-se, porém, como proteínas intactas, sem significante redução molecular quando comparadas com suas precursoras séricas, a pré-albumina e a β_2-microglobulina, respectivamente. A característica amiloidótica da variante pré-albumina se deve a uma mudança na sua conformação molecular, resultante da substituição de algum aminoácido em sua estrutura, o que limita sua proteólise[8,9]. Todas as formas de amiloidose, incluindo os depósitos cerebrovasculares da doença de Alzheimer e demência senil, apresentam uma glicoproteína associada às fibrilas, chamada

componente P (AP). O componente P (AP) é idêntico a seu precursor, o componente amilóide sérico P (SAP), e seu papel na amiloidose é desconhecido. É possível que sua presença seja um epifenômeno, refletindo a presença de "ligante" que o prende às fibrilas, ou que possa contribuir para sua deposição através de ligação SAP-precursor. É possível ainda que o componente P (AP) contribua protegendo as fibrilas de sua degradação, como inibidor enzimático, ou impedindo a estimulação de células fagocitárias[10]. Foi descrita a utilização da cintilografia com ^{123}I-SAP na detecção de depósitos de amilóide em pacientes[11].

A membrana basal glomerular normalmente apresenta proteína que se liga a anticorpos anti-AP específicos; esta proteína, chamada AP tecidual, poderia contribuir para a localização dos depósitos amilóides no rim[12].

Os glicosaminoglicanos sulfatados são um achado constante nos depósitos de diferentes formas de amiloidose[13], sendo aparentemente sintetizados pelas células dos órgãos envolvidos[14]. Há aumento de sua síntese durante a inflamação, e esta faz ligação com outras proteínas envolvidas na amiloidogênese como SAP, β-proteína, SAA e β_2-microglobulina[15,16].

McCubbin e cols demonstraram que os glicosaminoglicanos induzem a proteína SAA de camundongos a adquirir a configuração β_2-pregueada[17], o que lhe confere maior resistência a enzimas. É provável que os glicosaminoglicanos desempenhem importante papel na manutenção da estrutura fibrilar através da eletronegatividade dos grupos sulfatados[18].

A ubiquitina é uma enzima responsável pela degradação de proteínas anormais e normais de vida curta, através de mecanismos lisossomais e não-lisossomais. Recentemente, demonstrou-se a participação da ubiquitina na transformação intralisossomal de SAA em AA[19].

Outra substância implicada no mecanismo de formação e deposição de fibrilas é o "amyloid enhancing factor" (AEF). Este fator é uma glicoproteína de peso molecular médio, presente no baço de camundongos, capaz de acelerar a indução experimental da amiloidose[20]. Seu envolvimento na gênese da amiloidose inclui, provavelmente, o estímulo à atividade da ubiquitina[19], interferência na ativação de macrófago[21] e aumento da síntese de glicosaminoglicanos[15].

A glicolisação foi encontrada em 9 de 15 (60%) das cadeias leves amiloidogênicas; como somente 15% das cadeias leves circulantes são ligadas a oligossacárides, sugeriu-se que a glicosilação pode predispor as cadeias leves a formar fibrilas amilóides[22].

Em suma, apesar de várias etapas e fatores implicados na amiloidogênese não serem ainda bem compreendidos, parece claro que, independente da causa ou da proteína sérica precursora, a amiloidose é conseqüência de um metabolismo inadequado, que leva à deposição tecidual de material protéico autólogo.

CLASSIFICAÇÃO DA AMILOIDOSE

A fim de classificar as várias formas de amiloidose tentamos correlacionar a causa, a apresentação clínica e a proteína sérica precursora. Geralmente, a terminologia usada para representar a amiloidose consta de duas ou mais letras, sendo a primeira "A", de amilóide, e as restantes referentes à sua natureza bioquímica ou à clínica[23] (Quadro 16.1).

HISTOPATOLOGIA

A substância amilóide é rósea quando corada pela hematoxilina-eosina, e é fracamente positiva ao ácido periódico de Schiff. Cora-se metacromaticamente com cristal ou metilvioleta e apresenta birrefringência verde com vermelho-congo. Esta birrefringência desaparece após o tratamento com permanganato de potássio nas formas secundária e relacionada à hemodiálise, servindo assim como um método diferencial entre as formas de amiloidose[24].

No rim, os depósitos geralmente se iniciam no mesângio, focal e segmentariamente, de modo irregular e progressivo, comprimindo e obstruindo a luz capilar glomerular. Entretanto, a deposição pode-se iniciar nas alças capilares, sendo os depósitos mesangiais menos significativos. A proliferação celular é rara e discreta, e apenas eventualmente há formação de crescentes. O túbulo pode estar acometido nos estágios mais avançados, na maioria das vezes sem repercussões clínicas; podem, porém, ser detectados distúrbios hidroeletrolíticos, acidobásicos, glicosúria, aminoacidúria e *Diabetes insipidus* nefrogênico.

Shiiki e cols[25] relacionaram, em 61 casos de amiloidose renal, padrão histológico, forma e apresentação clínica. A deposição glomerular de amilóide foi dividida em quatro padrões: 1. nodular mesangial, com depósitos mesangiais nodulares e esparso envolvimento da parede capilar (25 casos); 2. mesangiocapilar, com depósitos difusos no mesângio e junto a ambos os lados da membrana basal glomerular (19 casos); 3. perimembranoso, que envolvia principalmente o lado subepitelial da membrana basal com a formação de espículas (6 casos); 4. hilar, que atingia quase que exclusivamente as arteríolas hilares.

Quadro 16.1 – Classificação das várias formas de amiloidose.

Proteína amilóide	Proteína precursora	Síndrome clínica
AL	Cadeia leve de Ig	Discrasia de células plasmáticas (mieloma múltiplo e amiloidose sistêmica primária)
AH	Cadeia pesada de Ig	Amiloidose sistêmica
AA	SAA	Amiloidose secundária, febre familiar do Mediterrâneo e síndrome de Muckle-Wells
ATTR	Transtirretina	Polineuropatia ou cardiomiopatia familiar, amiloidose vítrea localizada e senil sistêmica
AGel	Gelsolina	Familiar tipo finlandês
AApoAI	Apolipoproteína	Polineuropatia familiar tipo Iowa
ACis	Cistatina C	Hemorragia cerebral hereditária, familiar tipo islandês
AL	β-proteína	Doença de Alzheimer, síndrome de Down, hemorragia cerebral hereditária, familiar tipo alemão
$A\beta_2M$	β_2-microglobulina	Relacionada à diálise
ACal	Calcitonina	Carcinoma medular de tireóide
AIAPP	Polipeptídeo amilóide da ilhota de Langerhans	Insulinoma e *Diabetes mellitus* tipo II
AANF	Fator atrial natriurético	Relacionada ao átrio
AScr	Proteína *Scrapie*	Doença de Creutzfeldt-Jakob e síndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker
AD	Queratina-derivado	Relacionada à derme

O padrão nodular mesangial demonstrou proteína amilóide AA em 24 casos (96%), enquanto os padrões perimembranoso e mesangiocapilar estavam associados com depósito da proteína amilóide AL em 15 casos deste último (79%) e em 6 casos do primeiro (100%). Síndrome nefrótica foi mais freqüentemente encontrada em pacientes com amiloidose AL e insuficiência renal crônica ocorreu mais comumente no padrão nodular mesangial. Hipertensão arterial esteve presente em 32% dos casos e não houve diferença significativa entre os grupos. Foi demonstrada também correlação positiva entre aumento dos níveis séricos de creatinina, grau de comprometimento vascular e de fibrose intersticial. Interessante o relato feito por Casanova e cols[26], em que descreveram seis casos de glomerulonefrite também caracterizados por depósitos fibrilares que coraram intensamente com anticorpos contra IgG, C3, e cadeias leves κ e λ. Estas fibrilas, porém, não apresentaram coloração positiva com anticorpos contra proteína amilóide e nem com vermelho-congo. Desse modo, este estudo mostrou a existência de uma glomerulopatia fibrilar, antigenicamente distinta da amiloidose, e que contém material derivado de imunoglobulinas. Os casos descritos de amiloidose que não se coravam por vermelho-congo, antes do advento da imunofluorescência, eram provavelmente relacionados a essa doença.

ALGUMAS FORMAS DE AMILOIDOSE

Amiloidose primária

A amiloidose é considerada primária quando não está associada a qualquer outra enfermidade ou relacionada a outros fatores como a hemodiálise e o envelhecimento. A forma primária e sua fibrila recebem a terminologia AL; porém, cabe dizer que a amiloidose associada ao mieloma múltiplo possui em comum a origem da fibrila (cadeias leves de imunoglobulinas) e sua terminologia (AL).

A amiloidose primária é mais freqüente em homens (66%) que em mulheres, a idade média é de 61 anos e 97% dos pacientes possuem 40 anos ou mais quando feito o diagnóstico[27].

O envolvimento renal é freqüente e responsável, em grande parte, pela apresentação clínica. A proteinúria está presente em 80% dos casos, sendo em níveis nefróticos em 1/3 destes, e insuficiência renal em mais de metade dos casos. Os

rins usualmente estão aumentados de tamanho na amiloidose, porém podem ocasionalmente se apresentar normais ou contraídos. Hematúria macroscópica é rara, e seu surgimento leva à suspeita de envolvimento vesical. *Diabetes insipidus* nefrogênico, síndrome de Fanconi, priapismo e, raramente, trombose de veia renal têm sido relatados em paciente com AL[28].

O diagnóstico de AL deve ser considerado em paciente com síndrome nefrótica que apresenta proteína monoclonal no soro ou na urina. Sinais de insuficiência cardíaca e neuropatia periférica podem estar associados. Assim, para qualquer paciente com mais de 30 anos de idade, que apresente síndrome nefrótica ou insuficiência renal de causa não definida, deve-se solicitar eletroforese e imunoeletroforese de proteínas no soro e na urina. A detecção de proteína monoclonal no soro é possível em cerca de 2/3 dos pacientes com AL e em quase 20% se detectam cadeias leves monoclonais livres (proteinemia de Bence-Jones). Cadeias leves do tipo λ (65%) são mais comuns que do tipo κ (35%); e o inverso ocorre no mieloma múltiplo. Na eletroforese de urina encontramos um pico de albumina em 3/4 dos pacientes, e em 2/3 a imunoeletroforese revela a presença de cadeias leves. A concomitância de cadeias leves no soro e na urina é positiva em 80% dos pacientes com amiloidose primária. Plasmocitose moderada é comum em biopsia de medula óssea; lesões ósseas líticas, porém, são raras naqueles pacientes com AL sem mieloma[19]. Os depósitos teciduais podem ser detectados por reatividade com anticorpos anticadeia leve λ, sendo o subgrupo $V_{\lambda VI}$ o mais freqüente[29]. Além do rim, a forma primária afeta também coração, fígado, língua, nervos periféricos, vasos sangüíneos e trato digestivo.

Amiloidose secundária

A amiloidose secundária (AA) ocorre principalmente associada a doenças inflamatórias ou infecciosas crônicas, além de neoplasias. Há ainda amiloidose AA associada a doenças hereditárias como a febre familiar do Mediterrâneo, que é caracterizada por febre e polisserosite recorrente, e a síndrome de Muckle-Wells, que se caracteriza por surdez, febre, urticária e síndrome nefrótica (Quadro 16.2).

A proteína AA tem sido demonstrada como um polipeptídeo com 76 aminoácidos e peso molecular de 8.500d, que possui um componente sérico antigenicamente relacionado à proteína sérica amilóide A (SAA); esta se apresenta de forma solúvel, ligada à subclasse de lipoproteína HDL3, com peso molecular aproximado de 12.500d e exibe terminal NH_2 homólogo à proteína AA[23].

Quadro 16.2 – Doenças associadas a amiloidose AA.

Infecciosas	**Inflamatórias crônicas**
Tuberculose	Artrite reumatóide
Bronquiectasia	Espondilite anquilosante
Fibrose cística	Artrite psoriática
Osteomielite	Síndrome de Reiter
Hanseníase	Lúpus sistêmico
Escaras de decúbito	Doença de Crohn
Leishmaniose	Síndrome de Sjögren
	Polimiosite
	Colite ulcerativa
	Síndrome de Behçet
	Esclerodermia
Neoplásicas	**Outras**
Carcinoma de células renais	Queimaduras extensas
Linfoma de Hodgkin	Doença de Whipple
Macroglobulinemia de Waldenström	Febre familiar do Mediterrâneo
Carcinomas sólidos	Síndrome de Muckle-Wells

A proteína SAA, sintetizada no fígado, eleva-se ao nível de mil vezes o seu valor basal em resposta a determinado estímulo inflamatório agudo ou necrose tecidual[30]. Experimentalmente, esta forma de amiloidose tem sido induzida com os mais variados agentes, mas o modo mais empregado é a injeção subcutânea de caseína em solução, de forma crônica, em linhagens suscetíveis de camundongo[31,32]. A regulação da síntese da SAA é altamente complexa, estando envolvidos, sob certas circunstâncias, interleucina-6, interleucina-1, fator de necrose tumoral e corticosteróides em várias combinações[33]. É possível que a proteína SAA esteja envolvida no mecanismo de regulação da febre[34], no metabolismo do colesterol[35] e na síntese da colagenase[23].

Gertz & Kyle[36], analisando um grupo de 64 pacientes com amiloidose secundária sistêmica, encontraram positividade para depósitos amilóides em biopsias variando de acordo com o local pesquisado, sendo 100% para a renal, 94% para a gástrica, 82% para a retal e 58% e 46% para o tecido adiposo subcutâneo e a medula óssea, respectivamente. A sobrevida média dos pacientes neste mesmo grupo foi de 24,5 meses; um fator relacionado com maior sobrevida foi o valor de creatinina sérica; naqueles pacientes com valor superior a 2mg/dl, a sobrevida média foi de 11,2 meses, enquanto naqueles com creatinina inferior a 2mg/dl a sobrevida foi de 56,9 meses.

Além dos órgãos já citados, a forma secundária afeta também o baço, o fígado e menos comumente o coração.

Amiloidose AH

Recentemente, uma nova forma de amiloidose foi relatada em pacientes hemodialisados cronicamente e, por este motivo, foi chamada de amiloidose relacionada à hemodiálise ou AH[37,38]. O principal constituinte da fibrila da amiloidose AH é a β_2-microglobulina, que aparece normalmente no soro como uma cadeia simples polipeptídica, e é sintetizada e expressa por todas as células que expressam antígenos do complexo principal de histocompatibilidade classe I em suas superfícies. Seu catabolismo ocorre principalmente nos rins, e sua deposição tecidual ocorre provavelmente devido à sua alta concentração plasmática. A deposição da substância amilóide faz-se predominantemente em ossos e articulações desses pacientes. Quando a sinóvia carpiana é acometida, os pacientes apresentam sinais de compressão nervosa local (síndrome do túnel carpiano); quando grandes articulações como do joelho, coxofemoral e cotovelo são acometidas, a principal queixa é de dor local, que pode limitar o movimento articular. Podem-se encontrar também lesões ósseas císticas na cabeça do fêmur e em vértebras.

A incidência de síndrome do túnel carpiano (STC) é de aproximadamente 30% nos pacientes após 7 anos em hemodiálise e 50% após 10 anos. Sabe-se que os filtros de poliacrilonitrila e polissulfona permitem um melhor clareamento de β_2-microglobulina, havendo evidências clínicas de que tal síndrome é mais freqüente em pacientes dialisados com cuprofano[39]. Têm sido encontrados níveis séricos de β_2-microglobulina pós-diálise significativamente maiores que pré-diálise com o uso de membrana de cuprofano. Tal fato tem sido atribuído ao contato entre o sangue e a membrana de cuprofano, levando a aumento da produção ou da liberação de β_2-microglobulina das membranas celulares[40].

Os pacientes em programa de diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD) apresentam valores similares de β_2-microglobulina no soro, porém, há maior incidência de STC; uma explicação para tal fato seria o menor tempo em programa dialítico ou outro fator[41,42]. Aumento sérico de ubiquitina é mais acentuado nos pacientes com STC[43]. O diagnóstico pode ser feito através de radiografia da região acometida, que mostrará lesões ósseas líticas ou císticas, seguida de exame histopatológico dos cistos ou fragmentos sinoviais, demonstrando a presença de fibrila amilóide.

TRATAMENTO E PROGNÓSTICO

O tratamento do paciente com amiloidose tem quatro objetivos principais: 1. amenizar os sintomas da doença; 2. dar suporte à eventual insuficiência do órgão acometido; 3. tratar as condições clínicas associadas, como os processos inflamatórios, evitando a formação de precursores da fibrila amilóide; 4. tentar remover os depósitos amilóides já existentes.

As principais drogas utilizadas no tratamento da amiloidose são o melfalam, o dimetilsulfóxido (DMSO), a colchicina e os corticosteróides, geralmente de maneira associada uma com as outras.

O melfalam, um agente alquilante do grupo das mostardas nitrogenadas, tem como propriedade formar ligações covalentes (alquilação) com componentes do DNA. Desse modo, com o uso de melfalam deseja-se uma redução no número de células linfóides da medula óssea, reduzindo a síntese de cadeias leves monoclonais que levariam à formação de fibrilas AL. Um possível efeito sobre a formação ou na mobilização das fibrilas ainda não foi confirmado.

Em pacientes com diagnóstico de amiloidose primária foi avaliada a resposta a este agente alquilante, com o seguinte esquema: melfalam 0,15mg/kg/dia, dividido em duas doses, por 7 dias, associado a prednisona 0,8mg/kg/dia, dividido em quatro doses, por 7 dias, repetindo o ciclo a cada 6 semanas por pelo menos 12 meses, e até 36 meses. Os resultados obtidos com tal esquema foi de um grupo respondedor de 18% (27 pacientes do total de 153); se analisados apenas os pacientes com síndrome nefrótica, creatinina sérica normal, sem evidência ecocardiográfica de amiloidose cardíaca, a taxa de resposta eleva-se para 39% (12 de 31); consideram-se respondedores aqueles que apresentaram evidente melhora clínica, sem necessariamente indicar uma regressão histológica. A sobrevida média dos respondedores foi de 89,4 meses e a dos não-respondedores, de 14,7 meses[44].

O DMSO é um solvente orgânico que possui propriedades antiinflamatórias, cujo modo de ação inclui a estabilização das membranas lisossomais[45]. O DMSO poderia também reduzir o estímulo para produção de SAA, ou ainda "solubilizar", ou tornar possível a digestão proteolítica dos depósitos já existentes[46]. Scheinberg e cols[47] utilizaram DMSO (1g por via oral, 3 vezes ao dia, por 6 meses consecutivos) em pacientes com amiloidose secundária à hanseníase, com benefício aos pacientes em estágios iniciais do envolvimento renal. Experimentalmente, demonstrou-se que o DMSO pode levar à reabsorção das fibrilas amilóides[31].

A colchicina, com sua ação antiinflamatória, provavelmente devida à inibição da migração de granulócitos para a área inflamada[48], tem sido usada em pacientes com febre familiar do Mediterrâneo, com o objetivo de controlar os episódios agudos de dor abdominal e febre, podendo inclusive diminuir a proteinúria[49]. Foi demonstrado também que seu uso bloqueia ou retarda o desenvolvimento de AA em modelo experimental[31,50,51].

Os corticosteróides, como vimos anteriormente, podem ser usados associados a outras drogas imunossupressoras no tratamento de AL, ou em pacientes com amiloidose que são transplantados[52]. Entretanto, experimentalmente, os corticosteróides caracterizam-se por aumentar a formação de amilóide[8,53].

Quanto ao tratamento cirúrgico, a esplenectomia tem sido de algum benefício naqueles pacientes que apresentam sangramento associado a deficiência de fator X da coagulação[54], e a descompressão cirúrgica dos ligamentos carpianos alivia a dor, porém é freqüente uma certa perda de sensibilidade da extremidade acometida[27].

O prognóstico em amiloidose é muito variável, devendo-se levar em conta a forma, órgãos afetados e resposta terapêutica. Em relatos já citados, a sobrevida média de pacientes com amiloidose primária variou entre 14,7 meses (pacientes sem resposta à terapêutica) e 89,4 meses (pacientes que responderam à terapêutica)[44]; já a sobrevida de pacientes com amiloidose secundária variou entre 11,2 meses (creatinina plasmática superior a 2mg/dl no início do tratamento) e 56,9 meses (creatinina inferior a 2mg/dl). Dessa forma, mesmo em formas sistêmicas, o prognóstico pode ser favorável, principalmente quando a terapêutica é instituída precocemente e não há, ainda, sério comprometimento renal[36].

TRANSPLANTE

O primeiro relato de transplante renal em amiloidose foi feito por Belzer e cols[55], em 1967, mas, apesar disso, uma maior experiência tem sido limitada pela relativa raridade da doença, pela curta sobrevida destes pacientes, e por ter sido considerado, como em outras doenças sistêmicas, contra-indicado o tratamento dialítico e o transplante. Em uma série de 45 transplantes[56], a sobrevida dos pacientes amiloidóticos, num período de 3 anos, foi estatisticamente inferior ao controle (51% e 79%, respectivamente), sendo marcada a diferença nos primeiros 3 meses pós-transplante. A sobrevida do enxerto, porém, foi semelhante nos dois grupos durante o mesmo período, notando-se ainda que muitos pacientes faleceram com o enxerto ainda funcionante. Os óbitos foram freqüentemente relacionados com rejeição, com tratamento imunossupressor, com infecções associadas e com complicações cardiovasculares. Houve recorrência de amiloidose em 4 destes 45 pacientes.

Em 10 pacientes com febre familiar do Mediterrâneo, foi realizado o transplante renal de cadáver associado a colchicina na dose de 1mg diariamente, além da imunossupressão com azatioprina e prednisona. Destes, 5 enxertos mantiveram-se funcionantes por 20 a 64 meses, havendo recorrência em apenas um caso[52]. Até 1985 foram relatados 5 transplantes em portadores de amiloidose, realizados pela Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas de São Paulo, sendo 4 portadores de hanseníase e 1 devido a febre familiar do Mediterrâneo; outros 2 pacientes, também portadores de hanseníase, tiveram diagnóstico presuntivo de amiloidose, sem, entretanto, haver dados histológicos que o confirmem. Houve recidiva em três destes pacientes, sendo que um deles ultrapassou os 10 anos de transplante sem sinais clínicos de piora renal, e nenhum apresentou rejeição crônica associada[57]. A análise de tais experiências permite concluir que o transplante renal se revelou uma modalidade terapêutica satisfatória, no que se refere a pacientes com amiloidose e insuficiência renal terminal.

AMILOIDOSE EXPERIMENTAL

A amiloidose tem sido alvo de muitos estudos experimentais, principalmente pela possibilidade de se induzir a forma secundária desta doença. O método de indução mais comumente empregado é a injeção diária de solução de caseína, via subcutânea, por um período aproximado de um mês[58].

Em nossos estudos, inicialmente, não obtivemos sucesso com este método de indução de amiloidose em camundongos. Entretanto, ao modificá-lo, acrescentando injeções intraperitoneais de adjuvante completo de Freund (ACF), ou de microesferas de poliacrilamida (Biogel®), conseguimos induzir a amiloidose em até 15 dias.

Utilizamos camundongos geneticamente selecionados para resposta inflamatória, procurando avaliar a importância da intensidade de resposta inflamatória aguda, na deposição amilóide. A seleção genética foi feita no Instituto Butantã, através do cruzamento de 8 cepas de camundongos, formando uma população inicial; a partir desta população inicial, são separados os animais com boa e má resposta inflamatória aguda. A resposta inflamatória aguda nestes animais, durante o processo de seleção, foi provocada pela injeção de microesferas de poliacrilamida no subcutâneo e quantificada pelo número de polimorfonucleares e concentração protéica do exsudato no local da injeção[59].

Tabela 16.1 – Positividade para amiloidose em camundongos selecionados para a resposta inflamatória máxima ($AIR_{máx}$) e a resposta inflamatória mínima ($AIR_{mín}$), submetidos à administração de caseína e adjuvante completo de Freund (Série I, período de 30 dias).

	$AIR_{máx}$ n = 15	$AIR_{mín}$ n = 10	C57BL/6J n = 10
Machos n = 16	Positivo = 3/5 (60%)	Positivo = 3/6 (50%)	Positivo = 3/5 (60%)
Fêmeas n = 19	Positivo = 8/10 (80%)	Positivo = 2/4 (50%)	Positivo = 2/5 (50%)
Total n = 35	Positivo = 11/15 (73,3%)	Positivo = 5/10 (50%)	Positivo = 5/10 (50%)

A indução de amiloidose foi feita em nosso Laboratório em duas séries de experimentos. Na série I, três grupos de camundongos: de resposta máxima ($AIR_{máx}$, n = 15), resposta mínima ($AIR_{mín}$, n = 10) e camundongos controles (C57BL\6J, n = 10), por injeção subcutânea de caseína a 10% durante 30 dias, e ACF 0,4ml intraperitoneal nos dias 1 e 15. A linhagem C57BL/6J foi utilizada como grupo controle comparativo, devido à suscetibilidade desta à indução de amiloidose[30]. Na série II, outros quatro animais de cada grupo ($AIR_{máx}$ e $AIR_{mín}$) tiveram a amiloidose induzida por caseína a 10% e microesferas de poliacrilamida intraperitoneais no dia 1, no lugar do ACF, sendo estes animais analisados após 15 dias. A presença de proteína amilóide foi testada com a coloração de vermelho-congo, sendo considerada positiva com a presença de birrefringência verde nos tecidos examinados. Para avaliarmos a extensão (% de área) de acometimento no rim, baço e fígado destes animais utilizamos método estereológico de morfometria histológica[60,61]. Os resultados estão apresentados nas tabelas 16.1 a 16.4.

Não houve diferença significativa entre machos e fêmeas, em cada grupo, e, embora tenha havido uma tendência à maior freqüência de amiloidose no grupo com resposta inflamatória máxima, esta não foi estatisticamente significante (Tabela 16.2).

Não houve diferença entre sexo e grupo, sendo mais precoce a presença de amiloidose, em todos os animais apenas após 15 dias do início da indução (Tabelas 16.3 e 16.4).

O órgão mais extensamente acometido, em todos os grupos nas duas séries, foi o baço, seguido de fígado e rim. A única diferença significativa foi o aumento de extensão de acometimento em todos os órgãos, mantendo a mesma ordem, quando os animais de resposta máxima tiveram a amiloidose induzida substituindo-se o ACF pelas microesferas de poliacrilamida, as mesmas utilizadas no processo de seleção. Associado a este dado, ressalte-se que a amiloidose foi induzida em 100% dos animais em menor espaço de tempo, ou seja, apenas 15 dias. Este estudo está em andamento, para verificar mediadores envolvidos, entre eles as IL-1 e 6 e o fator de necrose tumoral, por já ter sido demonstrado que a cepa $AIR_{máx}$ produz mais IL-6, FNT e prostaglandinas E_2 (Ribeiro, O., comunicação pessoal). Pode-se dizer, por agora, que sob estímulo apropriado ambas as cepas apresentam amiloidose, sendo os camundongos $AIR_{máx}$ mais suscetíveis de aumento de extensão de área sob estímulo adequado[60].

Tabela 16.2 – Positividade para amiloidose em camundongos selecionados para a resposta inflamatória máxima ($AIR_{máx}$) e resposta inflamatória mínima ($AIR_{mín}$), submetidos à administração de caseína e microesferas de poliacrilamida (Série II, período de 15 dias).

	$AIR_{máx}$	$AIR_{mín}$
Machos = 4	Positivo 02/02 (100%)	Positivo 02/02 (100%)
Fêmeas = 4	Positivo 02/02 (100%)	Positivo 02/02 (100%)
Total = 8	Positivo 04/04 (100%)	Positivo 04/04 (100%)

Tabela 16.3 – Extensão de acometimento por amiloidose (% de área) em camundongos selecionados para a resposta inflamatória máxima ($AIR_{máx}$) e resposta inflamatória mínima ($AIR_{mín}$), submetidos à administração de caseína e adjuvante completo de Freund (Série I).

	$AIR_{máx}$	$AIR_{mín}$	C57BL/6J
Rim	0,76	0,18	1,31
Fígado	3,85	2,22	5,55
Baço	16,12	14,94	6,25

Tabela 16.4 – Extensão de acometimento por amiloidose (% de área) em camundongos selecionados para a resposta inflamatória máxima ($AIR_{máx}$) e resposta inflamatória mínima ($AIR_{mín}$), submetidos à administração de caseína e microesferas de poliacrilamida (Série II).

	$AIR_{máx}$	$AIR_{mín}$
Rim	1,35	0,16
Fígado	11,73	7,93
Baço	25,52	18,52

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. VIRCHOW R: Zur Cellulose-Frage. *Virchows Arch* 6:416, 1854.
2. GLENNER GG, TERRY WD, ISERSKY C: Amyloidosis: its nature and pathogenesis. *Sem Hematol* 10:65-86, 1973.
3. GLENNER GG: Amyloid deposits and amyloidosis – the β-fibrilloses (first of two parts). *N Engl J Med* 302(23):1283-1292, 1980.
4. VIRCHOW R: Die cellularpathologie in ihrer Begründung auf Physiologische und pathologische gewebeleche. *Aufl Berlin* 443, 1871.
5. SMETANA H: The relation of the reticulo-endothelial system to the formation of amyloid. *J Exp Med* 45:619-640, 1927.
6. TEILUM G: Pathogenesis of amyloidosis: the two-phase cellular theory of local secretion. *Acta Pathol Microbiol Scand* 61:21-45, 1964.
7. COHEN AS, CONNORS LH: The pathogenesis and biochemistry of amyloidosis. *J Pathol* 151:1-10, 1987.
8. GOREMIC PD, MUNOZ PC, CASEY TT: Polimerization of intact β_2-microglobulin in tissues causes amyloidosis in patients on chronic hemodialysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:7908-7919, 1986.
9. WALLACE MR, DWULET FE, CONNEALLY PM, BENSON MB: Biochemical and molecular genetic characterization of a new variant prealbumina associated with hereditary amyloidosis. *J Clin Invest* 78:6-12, 1986.
10. PEPYS MB, BALTZ M, BEER FC: Biology of serum amyloid P component. *Ann NY Acad Sci* 389:286-297, 1982.
11. HAWKINS PN, LAVENDER JP, PEPYS MB: Evaluation of systemic amyloidosis by scintigraphy with ^{123}I-labeled serum amyloid P component. *N Engl J Med* 323:508-513, 1990.
12. DICK RF, LOCKWOOD M, KERSHAW M: Amyloid P component is a constituent of normal human glomerular basement membrane. *J Exp Med* 152:1162-1174, 1980.
13. SNOW AD, WILLMER J, KISILEVSKY R: Sulfated glycosaminoglicans: a common constituint of all amyloidosis? *Lab Invest* 56:120-123, 1987.
14. PALMOSHI MJ, BRANDT KD: Stimulation of glycosaminoglicans biosynthesis by amyloid fibrils. *Biochem J* 148:145-147, 1975.
15. LYON AW, ANASTASSIADEST, KISILEVSKY R: In vivo analysis of murine serum sulfate metabolism and splenic glycosaminoglican biosynthesis during acute inflammation and amyloidosis. *J Rheumatol* 20:1108-1113, 1993.
16. NIEWOLD TA, FLORES-LANDEIRA JM, van den HEUVEL LP, ULTEE A, TOOTEN PC, VEERKAMP JH: Characterization of proteoglycans and glycosaminoglycans in bovine renal AA-type amyloidosis. *Virchows Arch B Cell Pathol* 60:321-328, 1991.
17. McCUBBIN WD, KAY CM, NARINDRASORASAK S, KISILEVSKY R: Circular dichroism and fluorescence studies on two murine serum amyloid A proteins. *Biochem J* 256:775-783, 1988.
18. WONG S, KISILEVSKY R: Influence of sulphate ions on the structure of AA amyloid fibrils. *Scand J Immunol* 32:225-232, 1990.
19. ALIZADEH-KHIAVI K, LI W, CHRONOPOULOS S, ALI-KHAN Z: Ubiquitin profile in inflammatory leucocytes and binding of ubiquitin to murine AA amyloid: immunocytochemical and immunogold electron microscopic studies. *J Pathol* 172:209-217, 1994.
20. AXELRAD M, KISILEVSKY R, WILMER J, CHEN SJ, SKINNER M: Further characterization of amyloid-enhancing factor. *Lab Invest* 47:139-146, 1982.
21. REID C, HÉBERT L, POZZULO G, GERVAIS F: Splenic macrophage activation and functions in amyloid enhancing factor-induced secondary amyloidosis. Study of phagocytosis, killing, respiratory burst, and MHC class II surface expressio. *J Leukoc Biol* 53:651-657, 1993.
22. BUXBAUM J: Multiple myeloma. Mechanisms of disease: monoclonal immunoglobulin deposition. *Hematol Oncol Clin North Am* 6(2):323-346, 1992.
23. STONE MJ: Amyloidosis: A final common pathway for proteins deposition in tissues. *Blood* 75(3):531-545, 1990.
24. SHIRAHAMA T, SKINNER M, COHEN AS, GEJYO F, ARAKAWA M, SUZUKI M, HIRASAWA Y: Histochemical and immunohistochemical characterization of amyloid associated with chronic hemodialysis as β_2-microglobulin. *Lab Invest* 53:705-709, 1985.
25. SHIIKI H, SHIMOKAMA T, YOSHIKAWA Y, TOYOSHIMA H, KITAMOTO T, WATANABE T: Renal amyloidosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 412:197-204, 1988.
26. CASANOVA S, DONINI U, ZUCCHELLI P, MAZZUCCO G, MONGA G, LINKE RP: Immunohistochemical distinction between amyloidosis and fibrillar glomerulopathy. *Am J Clin Pathol* 97(6):787-795, 1992.
27. KYLE RA, GREIPP PR: Amyloidosis (AL) – Clinical and laboratory features in 229 cases. *Mayo Clin Proc* 58:665-683, 1983.
28. KYLE RA, GERTZ PR: Amyloidosis, in *Textbook of Nephrology* (2nd ed.), edited by Glassok JG, Massry SG, Baltimore, Williams and Wilkins, 1989, pp 745-750.
29. SOLOMON A, FRANGIONE B, FRANKLIN EC: Bence Jones proteins and light chains of immunoglobulins. Preferential association of the $V_{\lambda VI}$ subgroup of human light chains with amyloidosis. *J Clin Invest* 70:453-460, 1982.
30. GERVAIS F, HÉBERT L, SAKAMENE E: Amyloid-Enhancing Factor: production and response in amyloid-susceptible and resistant mouse strains. *J Leukoc Biol* 43:311-316, 1988.
31. JANIGAN DT, DRUET RL: Role of antigenicity and rapid induction. *Am J Pathol* 48:1013-1025, 1966.
32. KISILEVSKY R, BOUDREAU BA, FOSTER D: Kinetics of amyloid deposition. *Lab Invest* 48:60-67, 1983.
33. GANAPATHI MK, RZEWNICKI D, SMOLS D, JIANG S, KUSHNER I: Effect of combinations of cytokines and hormones on synthesis of serum amyloid A and C- reative protein in HEP 3B cells. *J Immunol* 147:1261-1265, 1991.
34. SHAINKIN-KESTENBAUN R, BERLYNE G, ZIMLICHMAN S, SORIN HR, NYSKA M, DANON A: Acute phase protein, serum amyloid A, inhibits IL-1 and TNF- induced fever and hypotalamic PGE2 in mice. *Scand J Immunol* 34:179-183, 1991.
35. KISILEVSCKY R: Serum amyloid A, a protein without a function: some suggestions with reference to cholesterol metabolism. *Med Hypotheses* 35(4):337-341, 1991.
36. GERTZ MA, KYLE RA: Secundary systemic amyloidosis: response and survival in 64 patients. *Medicine* (Baltimore) 70:246-256, 1991.
37. KACHEL HG, ALTMEYER P, BALDAMUS CA, KOCH KM: Deposition of an amyloid-like substance as a possible complication of regular dialysis treatment. *Contrib Nephrol* 36:127-132, 1983.
38. KUNTZ D, BARDIN T, VOISIN MC, ZINGRAFF J: Amyloidosis in patients on long term hemodialysis. *Arthrits Rheum* 27:57-69, 1984.
39. VANDENBROUCKE JM, JADOUL M, MALDAQUE B, HUAUX JP, NOËL H, van YPERSELE de STRIHOU C: Possible role of dialysis membrane characteristics in amyloid osteoarthropathy. (letter) *Lancet* 1:1210-1211, 1986.
40. BERGSTRÖN J, WEHLE B: Clinical implications of middle and larger molecules, in *Clinical Dialysis* (2nd ed), edited by Nissenson AR, Fine RN, Gentile DE, Norwalk, Appleton & Lange, 1990, pp 579-590.
41. BALLARDIE FW, KERR DNS, TENNENT G, PEPYS MB: Hemodialysis versus CAPP: equal predisposition to amyloidosis? (letter). *Lancet* 1:795-796, 1986.
42. GAGNON RF, LOUGH JO, BOURGONIN PA: Carpal tunner syndrome and amyloidosis associated with continuous

ambulatory peritoneal dialysis. *Can Med Assoc J* 139:753-755, 1988.
43. OKADA M, MIYAZAKI S, HIRASAWA Y: Increase in plasma concentration of ubiquitin in dialysis patients: possible involvement in beta 2-microglobulin amyloidosis. *Clin Chim Acta* 220:135-144, 1993.
44. GERTZ MA, KYLE RA, GREIPP PR: Response rates and survival in primary systemic amyloidosis. *Blood* 77:257-262, 1991.
45. WEISSMAN G, ZURIER RB, HOFFSTEIN S: Leucocytes as secretory organs of inflamation. *Agents Action* 3:370-379, 1973.
46. ISOBE T, NURMI MJ, EKFORS TO, RAJALA PO, PUNTALA PV: Intravesical dimethyl sulfoxide instillations in the treatment of secondary amyloidosis of the bladder. *J Urol* 143(4):808-810, 1990.
47. SHEINBERG MA, PERNAMBUCO JC, BENSON MD: DMSO and colchicine therapy in amyloid disease. *Ann Rheum Dis* 43:421-423, 1984.
48. MALAWISTA SE: The action of colchicine in acute gouty arthrits. *Arthrits Rheum* 18:835-846, 1975.
49. ZEMER D, PRAS M, SOHAR E, GAFNI J: Colchicine in familial Mediterranean fever (letter) *N Engl J Med* 294:170-171, 1976.
50. KEDAR I, RAVID M, SOHAR E, GAFNI J: Colchicine inhibition of casein-induced amyloidosis in mice. *Isr J Med Sci* 10:787-789, 1974.
51. SHIRAHAMA T, COHEN AS: Blockage of amyloid induction by colchicine in an animal model. *J Exp Med* 140:1102-1107, 1974.
52. JACOB ET, BAR-NATHAN N, SHAPIRA Z, GAFNI J: Renal transplantation in the amyloidosis of familial Mediterranean fever. *Arch Intern Med* 139:1135-1138, 1979.
53. JONES NF: Renal amyloidosis: pathogenesis and therapy *Clin Nephrol* 6:458-464, 1976.
54. GREIPP PR, KYLE RA, BOWIE EJW: Factor X defficiency in primary amyloidosis: resolution after splenectomy. *N Engl J Med* 301:1050-1051, 1979.
55. BELTZER FO, ASHBY BS, GULYASSY PF, POWELL M: Successful seventeen-hour preservation and transplantation of human-cadaver kidney. *N Engl J Med* 278:608-610, 1968.
56. PASTERNACK A, AHONEN J, KUHLBACK B: Renal transplantation in 45 patients with amyloidosis. *Transplantation* 42:588-601, 1988.
57. AZEVEDO LSF: *Transplante Renal em Pacientes Portadores de Doenças Sistêmicas.* Tese de Doutoramento, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Departamento de Clínica Médica, Nefrologia, São Paulo, 1985.
58. BENSON MD, SCHEINBERG MA, SHIRAHAMA T, CATHCART ES, SKINNER M: Kinectics of serum amyloid Protein A in casein-induced murine amyloidosis. *J Clin Invest* 59:412-417, 1977.
59. IBANEZ OM, STIFFEL C, RIBEIRO OG, CABRERA WK, MASSA S, de FRANCO M, SANT'ANNA OA, DECRCUSEFOND C, MOUTON D, SIQUEIRA M: Genetics of nonspecific immunity: I. bidiretional selective breeding of lines of mice endowed with maximal or minimal inflamatory responsiveness. *Eur J Immunol* 22:2555-2563, 1992.
60. FONSECA MC: Métodos estereológicos em morfometria citológica. *Medicine* 2(1):7-23, 1981.
61. GUNDERSEN HJG, BENDTSEN TF, KORBO K, MARCUSSEN N, MØLLER A, NIELSEN K, NYENGAARD JR, PANKENBERG B, SØRENSEN FB, VESTERBY A: Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 96:379-394, 1988.
62. PINTO MRA, RIBEIRO OG, PRADO MJBA, PRADO EBA, IBAÑEZ OCM: Induction of amyloidosis in mice genetically selected for maximal and minimal acute inflammatory response. *Proceedings of the XIII International Congress of Nephrology*, Madrid, Spain, 1995, p 320.

17

HEMATÚRIA EM PORTADORES DE TRAÇO FALCIFORME

Yvoty Alves dos Santos Sens
Luiz Antonio Miorin
Hélio Gomes Cardim Silva
Pedro Jabur

INTRODUÇÃO

A anemia falciforme é doença hereditária, condicionada por gene com dominância incompleta, em que no heterozigoto a presença de um único gene implica anomalia da hemácia mas com pouca expressão clínica (insuficiente para levar à anemia), enquanto no homozigoto ocorre exteriorização completa da doença.

A hemoglobina A (HbA_1) corresponde a 97% da hemoglobina nos seres humanos normais. A hemoglobina A_2 (HbA_2), que é uma fração normal da hemoglobina, corresponde a 2 ou 3%; uma terceira variante do normal é a hemoglobina fetal (HbF). Pauling e cols conceituaram na década de 40 a anemia falciforme como uma doença molecular, identificando uma anormalidade da hemoglobina, a HbS[1]. Esta anormalidade reside na substituição do ácido glutâmico, na posição seis da cadeia beta, pela valina. Na anemia falciforme (HbSS) encontramos hemoglobina S presente em 76 a 100% dos eritrócitos, enquanto no traço falciforme (HbAS), 25 a 44%. Atualmente mais de 120 variedades de hemoglobinas já foram isoladas, entretanto, somente algumas delas determinam fenômenos patológicos, na dependência da solubilidade da hemoglobina[2,3].

Sabe-se que a relativa insolubilidade da hemoglobina S predispõe à formação de cristais, que ao ocorrer dentro da hemácia lhe confere a forma de "foice". As hemoglobinas A e S têm a mesma solubilidade quando oxigenadas, porém, ao serem desoxigenadas, a hemoglobina A perde 50% e a S, 100 vezes a sua solubilidade. A somação das características da hemoglobina S, como baixa solubilidade, formação de cristais e crescimento tactóide, são os responsáveis pelas suas implicações fisiopatológicas[4]. A presença de hemoglobina F tem a particularidade de dificultar a falcização[5].

A fisiopatologia da doença tem como base a dificuldade das hemácias falcizadas circularem nos pequenos vasos. A estase é fator importante para que a falcização e suas conseqüências ocorram e contribui para causar acidose local, em que o oxigênio se transfere da hemoglobina para os tecidos adjacentes, e os catabólitos não são removidos. Todos estes fatores tornam a hemoglobina S mais insolúvel, levando a um ciclo vicioso em que estase, acidose e falcização são conseqüências uns dos outros.

A concentração de hemoglobina S no portador do traço falciforme é em geral baixa, não suficiente para provocar crises em condições fisiológicas, mas que podem ocorrer em situações de hipóxia.

O RIM DA ANEMIA FALCIFORME

O rim da anemia falciforme sofre diversas alterações, como o comprometimento da capacidade de concentração máxima da urina, da acidificação urinária e da excreção de potássio. Observa-se ainda aumento do fluxo sangüíneo renal, da filtração glomerular e da função do túbulo proximal. Pode ocorrer proteinúria, hematúria macro

ou microscópica, necrose papilar e eventualmente insuficiência renal crônica[6]. Já os portadores de traço falciforme apresentam estas alterações mais tardiamente, de forma mais leve ou podem estar ausentes[6].

Estas alterações renais seriam conseqüentes a lesões vasculares da medula renal devidas a relativa acidose, hipóxia e hipertonicidade, que propiciam falcização mais intensa dos eritrócitos na *vasa recta* com formação de microtombos e infartos, levando à isquemia da medula renal. Através da técnica de microrradioangiografia, demonstrou-se que estes pacientes apresentam um número reduzido de *vasa recta* com perda da arquitetura normal, e os poucos vasos presentes são espiralados, dilatados e terminam em fundo cego[7]. Estas alterações comprometeriam o mecanismo de contracorrente, com redução relativa da hipertonicidade da medular interna conseqüente à menor reabsorção de sódio, reduzindo **a capacidade máxima de concentrar a urina**, além de alterar a **excreção renal de hidrogênio e potássio**[8]. Estas alterações apresentam-se de forma menos intensa nos portadores de traço falciforme.

Statius van Eps e cols observaram uma relação definida entre capacidade máxima de concentrar a urina e idade: crianças com anemia falciforme e idade abaixo de 10 anos têm rápida diminuição da capacidade de concentrar a urina para 400 a 450mOsm/kg, sem posterior decréscimo após essa idade, sendo que todos tinham filtração glomerular e fluxo plasmático renal normal ou acima do normal[7]. Por outro lado, em pacientes com traço falciforme há gradual redução da capacidade máxima de concentrar a urina até a idade de 20 anos, reduzindo posteriormente para 400mOsm/kg com a idade de 70 a 80 anos.

O paciente com anemia falciforme apresenta **aumento do fluxo sangüíneo renal (FSR) e da filtração glomerular** (FG) quando comparado com controles normais[9]. A função **tubular proximal** também está acima do normal, como demonstrado pela **maior reabsorção** de fosfato e β_2-microglobulina e **maior secreção** de ácido úrico e creatinina[9,10,11,12,13].

Se por um lado estes pacientes apresentam um defeito na função da medula renal com tendência à perda de água e sódio, por outro lado está aumentado o FSR, a FG e a atividade do túbulo proximal. Como resultado final, o balanço de sódio permanece normal (Fig. 17.1).

Há evidências de que estas alterações sejam mediadas pelo aumento da síntese das prostaglandinas vasodilatadoras em resposta à lesão isquêmica medular. Allon e cols mostraram que a indometacina provoca redução do FSR e da FG nos pacientes com anemia falciforme, o mesmo não ocorrendo quando administrada em controles normais, o que sugere que as prostaglandinas sejam importantes para manter o FSR e a FG acima do normal, nestes pacientes[9]. Demonstrou-se também que a indometacina corrige parcialmente o defeito de concentração urinária nos pacientes com anemia falciforme, provocando aumento maior da osmolalidade urinária e da queda da fração de excreção de sódio em relação a controles normais, indicando que a reabsorção de sódio na alça ascendente de Henle também seja mediada pelas prostaglandinas[9]. De Jong e cols sugerem ainda que a elevação das prostaglandinas vasodilatadoras provocam aumento do FSR preferencialmente em néfrons justamedulares, aumentando o fluxo para a medular externa, o que permite que a capacidade de diluição urinária permaneça normal[8].

A **proteinúria** ocasionalmente presente pode ser intensa e quando em níveis nefróticos os pacientes freqüentemente desenvolvem doença renal terminal[14]. A glomerulopatia da doença falciforme tem sido descrita de forma variada como um processo envolvendo imunocomplexos e outras vezes como uma variante da glomerulonefrite membranoproliferativa, porém a lesão mais comumente encontrada é a glomerulosclerose segmentar e focal[15,16,17,18,19]. Esta controvérsia, em parte, é conseqüente ao pequeno número de biopsias renais, especialmente naqueles que se apresentam com nefropatia leve.

Tem-se proposto que a nefropatia da doença falciforme seja primeiramente conseqüente à hipertrofia glomerular levando à glomerulosclerose segmentar e focal[20]. A hiperfiltração glomerular prolongada, independentemente da etiologia, levaria à esclerose glomerular, com proteinúria e insuficiência renal progressiva[21,22,23].

Falk e cols verificaram em 381 pacientes com doença falciforme que 26% tinham proteinúria e 7%, creatinina acima do normal[19]. A lesão renal em 10 destes pacientes mostrou aumento do volume glomerular e glomerulosclerose segmentar e focal peri-hilar. Estes autores administraram inibidor da enzima de conversão da angiotensina e observaram redução da proteinúria não acompanhada de queda no FSR ou da FG, o que indicaria que a hipertensão glomerular pode ser um fator patogênico na nefropatia da doença falciforme.

Allon e cols sugerem que a profilaxia a longo prazo com antiinflamatórios não-esteróides nestes pacientes poderia prevenir a hiperfiltração e retardar a progressão para insuficiência renal, que podem ocorrer em até 18% dos pacientes afetados[9,24].

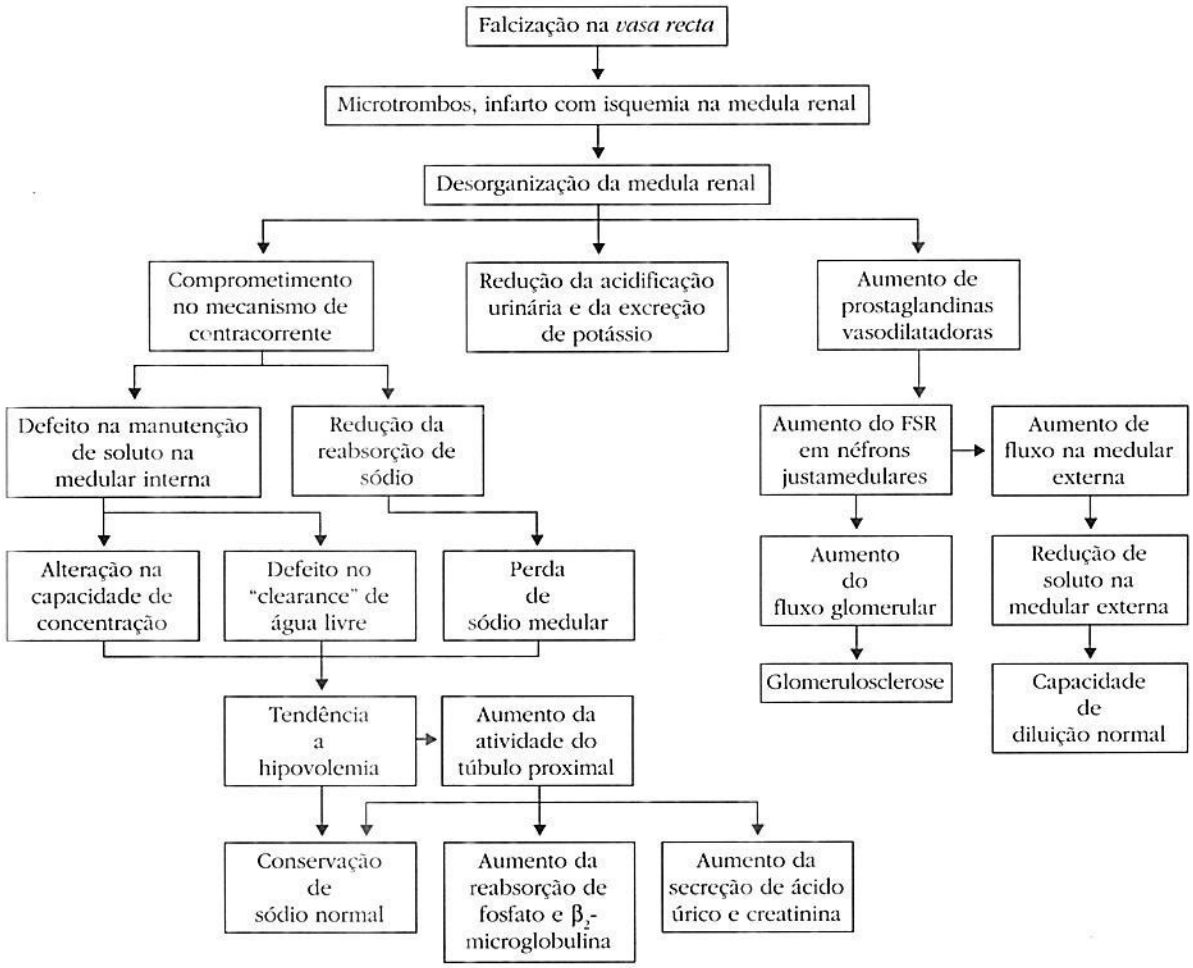


Figura 17.1 – Conseqüências da falcização da *vasa recta* na anemia falciforme (modificado de De Jong[8]).

HEMATÚRIA E TRAÇO FALCIFORME

Entre as alterações renais, a **hematúria** é a manifestação clínica mais freqüente em portadores de traço falciforme (HbAS)[25]. Destes pacientes, 3 a 4% têm pelo menos um episódio de hematúria[26]. Ocorre predominantemente em adolescentes do sexo masculino[27]. É mais freqüente em heterozigotos (HbAS), e esta predominância é atribuída ao fato de serem aproximadamente 40 vezes mais comuns na população que os homozigotos (HbSS), e não a qualquer diferença fisiopatológica entre os dois grupos[28]. Pode ser macro ou microscópica, geralmente intermitente e autolimitada, podendo algumas vezes ser intensa e prolongada. Nestes casos, a persistência da hematúria está associada a significante morbidade, por ser de difícil controle.

A patogênese da hematúria, como das outras alterações renais, é pouco conhecida e é atribuída à falcização dos eritrócitos e obstrução da *vasa recta*, resultando em áreas focais de infarto e necrose papilar, com ruptura dos pequenos vasos medulares dentro do sistema tubular coletor e dos tecidos adjacentes[8]. Além disso, o ingurgitamento vascular na parede das vias urinárias pode levar a extravasamento submucoso de sangue e formação de hematomas[26]. Um estudo de 21 rins removidos por hematúria maciça e prolongada em portadores de anemia falciforme não mostrou alterações macroscópicas significantes, porém havia estase em capilares peritubulares na medular e extravasamento de sangue, principalmente em ductos coletores[29].

O sangramento é freqüentemente unilateral e do lado esquerdo (80%), possivelmente relacionado a diferenças na drenagem venosa renal, já que a veia renal esquerda passa entre a aorta e a mesentérica superior, podendo aumentar a pressão venosa renal deste lado[30,31]. O aumento da pressão nos vasos extra-renais é transmitido de volta ao parênquima renal, para a parede fina da *vasa recta* já predisposta à lesão vascular.

A hematúria deve ser atribuída à anemia falciforme quando as outras causas de hematúria forem excluídas, como moléstias do trato urinário (nefrolitíase, tumores, uretrites), alterações renais não-glomerulares (malformações vasculares, vasculites, tumores, infecção), lesões glomerulares e alterações primárias da coagulação. Brody e cols descreveram a associação de hematúria, traço falciforme e síndrome de von Willebrand[32]. Esta condição precisa ser excluída, especialmente nos casos de hematúria refratária.

A terapêutica convencional da hematúria em portadores de hemoglobina AS consiste de repouso, hidratação, diuréticos (para reduzir a hipertonicidade da medula renal) e alcalinização da urina (para reduzir a acidez medular). Em situações mais graves podem ser necessárias transfusões sangüíneas ou exsangüineotransfusão para reduzir a porcentagem de hemácias falcizadas. Em casos refratários e que põem a vida em risco, a nefrectomia tem sido feita, embora em 10 a 20% dos casos haja recidiva do sangramento do rim contralateral[33]. Não existe concordância na literatura da melhor conduta terapêutica nestes casos mais graves. As remissões atribuídas às várias formas de tratamento podem representar apenas remissões espontâneas da hematúria.

Em 1976, Black e cols usaram o ácido épsilon aminocapróico no tratamento da hematúria refratária em anemia falciforme[34]. Sua ação consiste na inibição da fibrinólise pela ligação da plasmina ao seu substrato, inibição do sistema de ativação fibrinolítica, particularmente a uroquinase, e conseqüentemente a prevenção da liquefação do coágulo no local de sangramento[34,35]. Como efeito colateral, de particular interesse, podem ocorrer trombose do capilar glomerular ou obstrução das vias urinárias pela formação de coágulos, cuja lise espontânea é inibida pela droga[34,35,36].

Em 1980, John e cols relataram o sucesso do uso intra-arterial e intravenoso periférico da triglicil vasopressina, no tratamento da hematúria resistente ao ácido épsilon aminocapróico, e relacionaram o desaparecimento da hematúria à vasoconstrição provocada pela vasopressina[37]. Posteriormente também foi usado, com eficácia variável, o acetato de desmopressina, um polipetídeo sintético estruturalmente relacionado à arginina vasopressina que provoca aumento dose-dependente do fator VIII:C, ativador do plasminogênio, antígeno relacionado ao fator VIII e da atividade do co-fator ristocetina[38]. Não é conhecido o mecanismo pelo qual o acetato de desmopressina libera os fatores VIII:C e von Willebrand das células endoteliais, nas quais são parcialmente sintetizados e armazenados[38]. Baldree e cols descreveram dois casos de hematúria macroscópica e persistente em pacientes com traço falciforme, cujo tratamento com as medidas convencionais e com ácido épsilon aminocapróico não teve sucesso; o acetato de desmopressina intravenoso reverteu o quadro em um dos pacientes e não teve sucesso em outro[39]. Os efeitos hemostáticos da desmopressina são mediados pelos receptores V2 da vasopressina, que são os mesmos do efeito antidiurético[37].

Os rins geram predominantemente prostaglandinas PGI_2, PGE_2 e alguma PGF_2-alfa[40]. As principais funções da PGI_2 e PGE_2 nos rins incluem modulação do FSR, da FG, da liberação de renina, do mecanismo de concentração urinária e da excreção de sódio e potássio[41]. Estudos de imuno-histologia e microdissecção mostram que os principais locais de síntese das prostaglandinas no rim estão nas artérias, arteríolas, nas células mesangiais e endoteliais do capilar glomerular e ao longo dos túbulos, predominantemente no ducto coletor[42]. O tecido medular (células intersticiais e túbulos coletores medulares) sintetiza maior quantidade de prostaglandinas E_2 (PGE_2) que o córtex, regulando a função da medula renal[43,44].

As principais alterações renais que ocorrem em pacientes com doença falciforme parecem estar relacionadas aos efeitos do aumento das prostaglandinas vasodilatadoras, que têm origem na medula renal alterada pela falcização. Sua inibição com antiinflamatórios não-esteróides corrige parcialmente algumas destas alterações. Procuramos verificar se estas drogas poderiam também controlar a hematúria, pela redução do FSR, da FG e da vasodilatação relativa da *vasa recta* e desvio do fluxo sangüíneo renal.

Observamos oito pacientes com hematúria macroscópica persistente (tempo mínimo de um mês e máximo 24 meses) como manifestação clínica inicial do portador do traço falciforme. Apresentavam idade média de 27,6 ± 10,1 anos, sendo cinco do sexo masculino e três do sexo feminino. Dois eram da raça branca e seis eram mestiços. Todos eram normotensos com pressão sistólica 116,3 ± 10,6 e diastólica 72,3 ± 7,1. A prevalência de hipertensão arterial em portadores de anemia falciforme é baixa. Em 10 pacientes, com anemia e traço falciforme (cinco HbSS e cinco HbSC), observados por Hatch e cols, comparados com controles da mesma idade, a atividade da renina plasmática foi maior nos pacientes com anemia falciforme, cerca de quatro vezes em relação ao normal em todos os níveis de ingestão de sódio e com a mesma excreção de sal na urina[45]. A dose pressora de angiotensina II necessária para elevar a pressão diastólica foi maior nos pacientes do

que nos controles[45]. A constatação de hiper-reninismo e normotensão sugere a possibilidade de alteração do grau de resposta vascular à angiotensina II endógena.

Nos pacientes por nós observados, a hematúria macroscópica foi a primeira manifestação clínica e não era acompanhada por cólica ou outra manifestação de desconforto. Em todos os pacientes, a exploração diagnóstica, incluindo ultrasom renal, urografia excretora, tomografia computadorizada e arteriografia renal excluiu causas orgânicas de hematúria. A cistoscopia mostrou em seis pacientes hematúria proveniente do meato ureteral esquerdo e nos outros dois o sangramento foi bilateral. O coagulograma e a dosagem do fator VIII foram normais, a agregação plaquetária mostrou-se levemente diminuída em dois dos pacientes.

A função renal avaliada pela depuração de creatinina e ^{99m}Tc DTPA mostrou hiperfiltração em cinco pacientes, com média, respectivamente, de 143,6 ± 24,9ml/min (variou de 126 a 187ml/min) e 146,8ml/min (variou de 125 a 177ml/min), os três restantes com média de 97,0 ± 12,29ml/min. Ettelldorf e cols[46] observaram aumento do FSR e da FG em pacientes jovens com anemia falciforme e Alleyne e cols, em pacientes de 37 a 58 anos[28].

A biopsia renal foi normal em todos, com exceção de um paciente que apresentou quadro histológico de proliferação mesangial discreta e fibrose ao redor dos vasos, apresentando ainda proteinúria significativa. A imunofluorescência foi negativa em todas as biopsias realizadas. O paciente referido acima apresentava hematúria intensa com repercussão hemodinâmica e queda significativa das taxas de hemoglobina, necessitando de transfusões sangüíneas freqüentes, e não respondeu ao tratamento com ácido aminocapróico e acetato de desmopressina. Com a administração de antiinflamatório não-esteróide (AINH), apresentou rápida remissão da hematúria. Cinco outros pacientes também apresentaram regressão da hematúria com a administração de AINH. Os medicamentos administrados foram ou o diclofenato de sódio ou a indometacina, na dose de 50mg três vezes ao dia. Os outros dois pacientes apresentaram remissão espontânea quando internados para investigação.

As remissões atribuídas às várias formas de tratamento podem eventualmente representar apenas remissões espontâneas da hematúria.

Com a introdução dos AINH, ocorreu redução da função renal, embora ainda dentro dos limites normais, em que a média da depuração de creatinina e ^{99m}Tc DTPA reduziu para 97,0 ± 12ml/min e 111,5ml/min ou 32,5% e 24,1%, respectivamente.

Na literatura não há referência ao emprego dos AINH como opção terapêutica para a hematúria refratária. O fato de os pacientes observados virem apresentando hematúria macroscópica, por tempo prolongado, não melhorando com as diversas medidas terapêuticas e tendo a hematúria cessado dois a quatro dias após a administração do AINH, permite concluir pelo seu efeito positivo, provavelmente como conseqüência da redução do fluxo sangüíneo renal e da redistribuição da circulação intra-renal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PAULING L, ITANO HA, SINGER SJ, WELLS JC: Sickle cell anemia, molecular disease. *Science* 110:543-548, 1949.
2. LEHMANN H, CARREL, RW: Variations in the structure of human haemoglobin: with particular reference to the unstable haemoglobins. *Br Med Bull* 25:14-23, 1969.
3. LUKENS JN: Hemoglobinopathies, S, C, D, E and O and associated diseases, in, *Wintrob's Clinical Hematology* (9th ed), edited by Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN, Philadelphia, Lea & Febiger, 1993, pp 1061-1101.
4. OLIVEIRA HP: *Hematologia Clínica* (3ª ed), Rio de Janeiro, Atheneu, 1988, pp 165-189.
5. MURRAY N, SERGEANT BE, SERGEANT GR: Sickle cell-hereditary persistence of fetal haemoglobin and its differentiation from other sickle cell syndromes. *Br J Haematol* 69:89-92, 1988.
6. ALLON M: Renal abnormalities in sickle cell disease: *Arch Intern Med* 150:501-504, 1990.
7. STATIUS van EPS LW, PINEDO-VEELS C, DE VRIES GH, DE KONING J: Nature of concentrating defect in sickle cell nephropathy. *Lancet* 1:450-452, 1970.
8. DE JONG PE, STATIUS van EPS LW: Sickle cell nephropathy: new insights into its pathophysiology. (editorial) *Kidney Int* 27:711-717, 1985.
9. ALLON M, LAWSON L, ECKMAN JR, DELANEY V, BOURKE E: Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on renal function in sickle cell anemia. *Kidney Int* 34:500-506, 1988.
10. DE JONG PE, DE JONG-van den BERG LTW, STATIUS van EPS LW: The tubular reabsorption of phosphate in sickle cell nephopathy. *Clin Sci Mol Med* 55:429-434, 1978.
11. DE JONG PE, DE JONG-van den BERG LTW, SEWRAJSINGH GS, SCHOUTEN H, DONKER AJM, STATIUS van EPS LW: Beta-2-microglobulin in sickle cell anemia: evidence of increased tubular reabsorption. *Nephron* 29:138-141, 1981.
12. DIAMOND HS, MEISEL AD, SHARON E, HOLDEN D, CACATIAN A: Hyperuricosuria and increased tubular secretion of urate in sickle cell anemia. *Am J Med* 59:796-802, 1975.
13. DE JONG PE, DE JONG-van den BERG LTW, SEWRAJSINGH GS, SCHOUTEN H, DONKER AJM, STATIUS van EPS LW: The influence of indomethacin on renal haemodynamics in sickle cell anemia. *Clin Sci* 59:245-250, 1980.
14. FALK RJ, JENNETE JC: Sickle cell nephropathy. *Adv Nephrol Necker Hosp* 23:133-147, 1994.
15. STRAUSS J, PARDO V, KOSS MN, GRISWOLD W, McINTOSH RM: Nephropathy associated with sickle cell anemia: an autologous immune complex nephritis. 1. Studies on nature of glomerular-bound antibody and antigen identification in a patient with sikle cell disease and immunne deposit glomerulonephritis. *Am J Med* 58:382-387, 1975.

16. PARDO V, STRAUSS J, KRAMER H, OZAWA T, McINTOSH RM: Nephropathy associated with sickle cell anemia: an autologous immune complex nephritis. II. Clinicopathologic study of seven patients. *Am J Med* 59:650-659, 1975.
17. ELFEINBEIN IB, PATCHEFSKY A, SCHWATZ W, WEINSTEIN AG: Pathology of the glomerulus in sickle cell anemia with and without nephrotic syndrome. *Am J Pathol* 77:357-374, 1974.
18. TEJANI A, PHADKE K, ADAMSON O, NICASTRI A, CHEN CK, SEN D, PHADKE K, ADAMSON O: Renal lesions in sickle cell nephropathy in children. *Nephron* 39:352-355, 1985.
19. FALK RJ, SCHEINMAN J, PHILLIPS G, ORRINGER E, JOHNSON A, JENNETE JC. Prevalence and pathologic features of sickle cell nephropathy and response to inhibition of angiotensin-converting enzyme. *N Engl J Med* 326:910-915, 1992.
20. BHATHENA DB, SONDHEIMER JH: The glomerulophathy of homozygous sickle hemoglobin (SS) disease: morphology and pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 1:1241-1252, 1991.
21. HOSTETTER TH, OLSON JL, RENNKE HG, VENKATACHALAM MA, BRENNER BM: Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 241:F85-F93, 1981.
22. OLSON JL, HOSTETTER TH, RENNKE HG, BRENNER BM, VENKATACHALAM MA: Altered glomerular permselectivity and progressive sclerosis following extreme ablation of renal mass. *Kidney Int* 22:112-126, 1982.
23. BRENNER BM, MEYER TW, HOSTETTER TH: Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N Engl J Med* 307:652-659, 1982.
24. THOMAS AN, PATTISON C, SERJEANT GR: Causes of death in sickle-cell disease in Jamaica. *Br Med J (Clin Res)* 285:633-635, 1982.
25. BUCKALEW VM, SOMEREN A: Renal manifestations of sickle cell disease. *Arch Int Med* 133:660-669, 1974.
26. ALLEN TD: Sickle cell disease and hematuria: a report of 29 cases. *J Urol* 91:177-183, 1964.
27. BUCKALEW VM: The kidney in sickle cell disease. *Kidney Int* 11:11-14, 1978.
28. ALLEYNE GAO, STATIUS van EPS LW, ADDAE CK, NICHOLSON GD, SCHOUTEN H: The kidney in sickle cell anemia. (editorial) *Kidney Int* 7:371-379, 1975.
29. MOSTOFI FK, VORDER BRUEGGE CF, DIGGS LW: Lesions in kidneys removed for unilateral hematuria in sickle cell disease. *Arch Path* (Chicago) 63:336-351, 1957.
30. LUCAS WM, BULLOCK WN: Hematuria in sickle cell disease. *J Urol* 83:733-741, 1960.
31. Case records of the Massachussets General Hospital. Weekley clinico pathological exercises. Case 25-1985. A 27-year-old man with recurrent bleeding from the left kidney for 13 years. *N Engl J Med* 312:1623-1631, 1985.
32. BRODY JI, LEVISON SP, JUNG CJ: Sickle cell trait and hematuria associated with von Willebrand syndromes. *Ann Intern Med* 86:529-533, 1977.
33. BENNET MA, HESLOP RW, MEYNELL MJ: Massive haematuria associated with sickle-cell trait. *Br Med J* 1:677-679, 1967.
34. BLACK WD, HATCH FE, ACCHIARDO S: Aminocaproic acid in prolonged hematuria of patientes with sicklemia. *Arch Intern Med* 136:678-681, 1976.
35. RATNOFF OD: Epsilon aminocaproic acid: a dangerous weapon. (editorial) *N Engl J Med* 280-1124-1125, 1969.
36. CHARYTAN C, PURTILO D: Glomerular capillary thrombosis and acute renal failure after epsilon aminocaproic therapy. *N Engl J Med* 280-1102-1104, 1969.
37. JOHN EG, SCHADE SG, SPIGOS DG, CORT JH, ROSENTHAL IM: Effectiveness of triglycyl vasopressin in persistent hematuria associated with sickle cell hemoglobin. *Arch Intern Med* 140:1589-1593, 1980.
38. RICHARDSON DW, ROBISON AG: Desmopressin. *Ann Intern Med* 103:228-239, 1985.
39. BALDREE LA, AULT BH, CHESNEY CM, STAPLETON FB: Intravenous desmopressin acetate in children with sickle trait and persistent macroscopic haematuria. *Pediatrics* 86(2):238-243, 1990.
40. SCHLONDORFF D: Renal prostaglandin synthesis: sites of production and specific actions of prostaglandins. *Am J Med* 81(2B):1-11, 1986.
41. SCHLONDORFF D: Renal complications of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Kidney Int* 44:643-653, 1993.
42. BONVALET J-P, PRADELLES P, FARMAN N: Segmental synthesis and actions of prostaglandins along the nephron. *Am J Physiol* 253:F377-F387, 1987.
43. LARSSON C, ANGGARD E: Regional differences in the formation and metabolism of prostaglandins in the rabbit kidney. *Eur J Pharmacol* 21:30-36, 1973.
44. PATRONO C, DUNN MJ: The clinical significance of inhibition of renal prostaglandin synthesis. *Kidney Int* 32:1-12, 1987.
45. HATCH FE, CROWE, LR, MILES DE, YOUNG JP, PORTNER ME: Altered vascular reactivity in sickle hemoglobinopathy. A possible protective factor from hypertension. *Am J Hypertens* 2:2-8, 1989.
46. ETTELDORF JN, SMITH JD, TUTTLE AH, DIGGS LW: Renal hemodynamic studies in adults with sickle cell anemia. *Am J Med* 18:243-248, 1955.

18

COMPROMETIMENTO RENAL NA HANSENÍASE

Gianna Mastroianni Kirsztajn
Aparecido B. Pereira

◆

Não são muitos os estudos dos distúrbios renais em hanseníase. A insuficiência renal crônica por amiloidose é bem conhecida, mas pouco se sabe sobre os primeiros sinais e sintomas de acometimento renal, sobre o momento em que se instalam, quando e por que os glomérulos são afetados, e se a tubulopatia, quando presente, é devida à infecção ou às drogas em uso.

ESTUDOS ANÁTOMO-PATOLÓGICOS

Lesões renais associadas à hanseníase foram primeiramente descritas em 1937 por Mitsuda & Ogawa[1,2,3]. Embora tais lesões tenham sido a razão de vários estudos de necropsia e biopsia, sua patogênese permanece incerta[4].

Ainda que a hanseníase não afete primariamente o rim, estudos de necropsia nesses pacientes têm, algumas vezes, situado as lesões renais como a principal causa de morte[2,5].

A insuficiência renal crônica foi considerada como responsável por cerca de 1/3 das mortes em estudos iniciais feitos nos Estados Unidos (década de 50) e Argentina (1973), e por 11 a 22% das mortes em estudos de necropsia no Japão (1937), Panamá (1942)[1] e Índia (1968)[1,6]. A insuficiência renal crônica na hanseníase parece deverse principalmente à amiloidose secundária[1].

Na Índia, outras nefropatias, que não a amiloidose, são encontradas em mais de 50% dos casos de hanseníase, não contribuindo, entretanto, de forma importante para a mortalidade; naquele país, a insuficiência renal raramente é causa de morte em pacientes com hanseníase[3].

A maioria dos estudos morfológicos iniciais foram baseados em necropsias; sua revisão indica que não há alterações renais específicas na hanseníase, exceto por relatos isolados de lepromas em tecido renal[7]. De um modo geral, não têm sido demonstrados lepromas, granulomas ou a presença de bacilos álcool-ácido-resistentes nos rins[5], mas a presença de tais bacilos na urina é comum em pacientes com forma V (virchowiana)[8]. Foram descritas várias lesões não-específicas, tais como glomerulonefrites agudas e crônicas, nefrites intersticiais, amiloidose secundária[5,9,10] e pielonefrites[5,10].

Shwe[11], em publicação de 1972, numa revisão dos 5.458 casos relatados na literatura até então, informa que pelo menos 17,6% dos pacientes apresentavam alterações histopatológicas renais.

Tem sido relatada uma grande variação na incidência e no tipo de lesões histológicas renais em diferentes áreas geográficas[3,4,12]. É difícil comparar os diferentes estudos histológicos, porque alguns deles só avaliaram pacientes com a forma virchowiana, enquanto outros estudaram todas as formas, nem sempre fazendo alusão a que formas os achados se referiam. A comparação dos estudos torna-se mais útil se a doença é encarada como um todo, já que lesões renais têm sido encontradas em todas as formas.

A relação entre hanseníase, especialmente forma V com eritema nodoso, e doença renal tem sido repetidamente observada[13]. Embora o eritema nodoso pareça ter uma associação com a nefropatia da hanseníase, nem sempre esteve presente em pacientes com glomerulonefrites[2]. Na maioria das séries estudadas, há relato de alterações renais nas formas V, mas elas também podem ocorrer nas outras formas da doença[9].

A prevalência média de glomerulonefrite em estudos em que se fez biopsia é de 37%, muito superior aos 7% encontrados em necropsias[14]. Ela costuma ser mais alta nas formas V[4]. A tabela 18.1 mostra a freqüência de glomerulonefrite em vários estudos.

Tabela 18.1 – Prevalência (percentual) de glomerulonefrite (GN) em biopsias renais, segundo diferentes autores[14].

Autor	Ano	Procedência	Nº	GN (%)
Shwe	1972	Ásia	7	28
Mittal e cols	1972	Índia	30	27
Sainani e Rao	1974	Índia	60	13
Johny e cols	1975	Índia	35	37
Grupta e cols	1977	Índia	50	6
Cologlu	1979	Turquia	20	50
Peter e cols	1981	Índia	21	71
Grupta e cols	1981	Índia	21	62

Quase todos os tipos morfológicos de glomerulonefrite foram descritos em hanseníase[1,6,14], exceto "esclerose focal", segundo Date[14]. Na maioria dos estudos predominaram as glomerulonefrites proliferativas[12,15,16]; em alguns, glomerulopatia membranosa foi observada[5,16], chegando mesmo a constituir-se no tipo histológico mais freqüente[5]. Não levando em conta uns poucos casos de glomerulonefrite crescêntica, glomerulonefrite não parece ter contribuído substancialmente para a mortalidade por insuficiência renal[1].

Vários investigadores relataram glomerulonefrite proliferativa tanto na presença quanto na ausência de eritema nodoso[2,4]. A proliferação pode ser focal ou difusa e mais freqüentemente envolve as células mesangiais; proliferação epitelial é relativamente incomum[4].

A variedade de lesões histológicas observadas sugere uma doença heterogênea, mas não necessariamente etiologias diferentes, pois pode resultar apenas de diferenças na quantidade e no tipo de complexos imunes presentes[14].

Etudos imuno-histoquímicos de tecido renal na hanseníase mostraram depósitos granulares de IgG e C3 e, menos freqüentemente, de IgM, IgA e fibrina, localizados no mesângio glomerular e/ou ao longo das paredes capilares. Esse padrão é típico das glomerulonefrites por depósito ou formação local de complexos imunes[14].

À microscopia eletrônica, depósitos densos glomerulares têm sido encontrados nas regiões mesângio-subendotelial[14] ou subepitelial[17], podendo indicar que diferentes tipos de complexos imunes estão envolvidos na indução de glomerulonefrite na hanseníase[14], mas são mais comumente subendoteliais e intramembranosos e raramente subepiteliais[4].

A glomerulonefrite na hanseníase deve ser provavelmente uma doença por complexos imunes, pois em alguns casos há níveis baixos de complemento; à imunofluorescência encontram-se depósitos glomerulares de imunoglobulinas e C3, e à microscopia eletrônica evidencia-se a presença de depósitos nos glomérulos. A natureza dos antígenos nos complexos imunes ainda é desconhecida, como em muitas outras glomerulonefrites.

O eritema nodoso provavelmente é uma doença mediada por complexos imunes, envolvendo antígenos micobacterianos liberados por destruição normal do *M. leprae* ou por quimioterapia[2]; em alguns casos se faz acompanhar de anormalidades de função renal. Assim, é possível que a glomerulonefrite em alguns pacientes seja uma manifestação do eritema nodoso, causada por deposição dos complexos imunes (antígeno micobacteriano-anticorpo), que foram demonstrados na circulação em muitos pacientes com hanseníase. Alternativamente, os complexos podem ser formados *in situ* nas paredes vasculares ou capilares glomerulares. No entanto, os antígenos responsáveis não foram demonstrados nos depósitos[14].

Para Çologlu[2], a incidência da lesão renal em hanseníase dependeria principalmente da resposta por anticorpos dos pacientes e, portanto, do tamanho dos complexos imunes.

Glomerulonefrite ocorre com freqüência em pacientes sem eritema nodoso. Pacientes com forma V apresentam imunidade celular deprimida e respostas imunes humorais exageradas, não-controladas. Imagina-se que tal situação favoreça o desenvolvimento de glomerulonefrite. Isso poderia predispor a que vários antígenos viessem a desencadear a formação de complexos imunes.

Os antígenos em potencial incluem até mesmo os agentes terapêuticos, já que dapsona e anticorpos antidapsona têm sido encontrados em complexos imunes circulantes[14].

Chugh e cols[4], em estudo de 133 necropsias de pacientes com hanseníase, constataram que as lesões renais mais freqüentes eram: glomerulonefrite, abscessos, pielonefrite crônica, necrose tubular aguda e amiloidose. Evidenciaram uma associação importante entre a presença de úlceras tróficas e a ocorrência de lesões renais; é possível que a infecção secundária das úlceras por microrganismos como *Streptococcus* possa determinar doença renal; concomitância de glomerulonefrite e outros processos infecciosos, como endocardite, também foi documentada nesses pacientes.

Muitos auto-anticorpos são também encontrados em hanseníase e, entre os mais bem documentados, citam-se as crioglobulinas mistas, IgG-IgM, que estão freqüentemente presentes na circulação e podem causar glomerulonefrite nesses pacientes. Os complexos imunes circulantes e os auto-anticorpos são observados tanto em pacientes com a forma V como em pacientes com a forma T (tuberculóide)[14].

Em resumo, a glomerulonefrite por complexos imunes na hanseníase pode ter origem multifatorial. Os antígenos envolvidos poderiam ser micobacterianos e específicos da doença ou não-micobacterianos, antígenos exógenos e auto-antígenos. O desenvolvimento da glomerulonefrite por complexos imunes seria favorecido em alguns pacientes pela função deprimida das células T supressoras e atividade exagerada das células B. Uma repercussão dessa origem multifatorial seria a variedade de expressões morfológicas renais observadas[14].

Date e cols[18] estudaram, por microscopia eletrônica,19 pacientes com hanseníase, apresentando edema, hematúria ou proteinúria. Doze dos pacientes tinham glomerulonefrite proliferativa; nos 4 pacientes com as maiores proteinúrias, encontrou-se glomerulonefrite proliferativa difusa com hiperatividade mesangial acentuada; 3 pacientes tinham glomerulonefrite proliferativa focal, eram portadores de forma V com eritema nodoso e proteinúria ou hematúria microscópicas; nas outras 5 biopsias, havia apenas áreas mesangiais hiperativas, expandidas, com interposição mesangial; 2 pacientes tinham amiloidose com envolvimento extenso de alças capilares e mesângio, apresentavam proteinúria maciça e insuficiência renal crônica. As biopsias dos 5 pacientes que apresentavam apenas edema de membros inferiores, sem hematúria ou proteinúria significantes, foram normais. Embora pacientes com glomerulonefrite tivessem eritema nodoso, glomerulonefrite também ocorreu na ausência de eritema nodoso. Também não houve correlação entre o índice baciloscópico e a ocorrência de glomerulonefrite, sugerindo que ela não se relacionaria com a carga bacteriana, o que já havia sido observado em estudos anteriores. Há algumas evidências favoráveis ao envolvimento de múltiplos antígenos: 5 dos 12 pacientes com glomerulonefrite tinham evidências de infecção estreptocócica recente; 2 tinham microfilárias circulantes; 2 apresentavam infecção estafilocócica nas lesões cutâneas ulceradas, mas com hemoculturas negativas. Em face do grande número de antígenos a que esses pacientes estão expostos, seria importante identificar os antígenos presentes nos glomérulos afetados.

O estudo de Johny e cols[3], envolvendo 35 biopsias renais de pacientes com hanseníase, revelou alterações em 45% delas, destacando-se a alta incidência de glomerulonefrite proliferativa.

Grupta e cols[12] estudaram, com biopsia renal, 21 casos de forma V e encontraram glomerulonefrite proliferativa em 13 (62%) deles, 9 com proliferação mesangial e 4 com lesão proliferativa difusa; 14% apresentaram amiloidose renal, que se manifestou com síndrome nefrótica.

Chugh e cols[4] estudaram pacientes do norte da Índia por biopsia renal, detectando lesões em 9 (15%) deles; 3 tinham amiloidose e 6 glomerulonefrite; a lesão mais comum foi a proliferação de células mesangiais, observada em 5 (8,3%). Glomerulonefrite proliferativa difusa com crescentes em 70% dos glomérulos foi vista em 1 caso; não se observou glomerulonefrite em pacientes com as formas dimorfa ou tuberculóide. Depósitos amilóides foram encontrados em 3 (5%) pacientes, dos quais 2 tinham a forma lepromatosa e 1, a forma tuberculóide com úlceras tróficas crônicas. Só 4 pacientes apresentavam manifestações clínicas de doençca renal, 3 com síndrome nefrótica (e amiloidose renal) e 1 com insuficiência renal por glomerulonefrite crescêntica; em nenhum deles foi constatada hipertensão arterial sistêmica. Alterações urinárias foram detectadas em 8 dos 9 pacientes com lesões renais.

Mittal e cols[7] biopsiaram 30 pacientes, encontrando alterações renais em 15 (10 com formas lepromatosas e 5 com formas não-lepromatosas); as lesões não se relacionaram com a duração ou a forma da doença, nem o tratamento com sulfona pareceu interferir, pois metade dos pacientes com lesões renais não haviam sido tratados até a ocasião da investigação. Neferite intersticial focal (evidenciada em 13 pacientes) e hipercelularidade em glomérulos, à custa de células endoteliais e epiteliais (observada em 8), foram os principais achados.

Grover e cols[9], estudando 54 biopsias renais em pacientes com hanseníase, encontraram 12 (22,2%) casos de glomerulonefrite proliferativa difusa (11 lepromatosos e 1 tuberculóide). Foram diagnosticados 2 casos de glomerulonefrite rapidamente progressiva, que se apresentaram como insuficiência renal aguda. Glomerulopatia membranosa esteve presente em 17 (31,5%) dos casos (14 lepromatosos, 1 tuberculóide e 2 dimorfos). Peter e cols[5] encontraram 2 (9,5%) casos de glomerulopatia membranosa dentre 21 pacientes (1 com a forma lepromatosa e 1 com a forma tuberculóide).

Jain e cols[15] estudaram 40 casos de hanseníase; observaram proteinúria significante em 50% e hematúria em 15%. Alterações histológicas foram detectadas em 19 casos (47,5%), sendo glomerulonefrite membranoproliferativa em 57,9%, glomerulopatia membranosa em 26,3%, glomerulonefrite rapidamente progressiva em 10,5%, pielonefrite crônica em 5,3% e nenhum caso de amiloidose.

Das 50 biopsias renais estudadas por Phadnis e cols[16], duas revelaram glomerulopatia membranosa e seis, glomerulonefrite membranoproliferati-

va; 45 pacientes tinham forma V e estavam em reação; nefrite intersticial foi observada em 10 e amiloidose em um. A nefrite intersticial consistia de graus variáveis de degeneração tubular, focos de células inflamatórias crônicas e fibrose intersticial.

Chugh e cols[4] observaram distúrbios de função tubular em 25% dos pacientes, percentual semelhante ao encontrado por outros autores, embora não tenham constatado quaisquer lesões intersticiais nas biopsias.

Gutman e cols[19] examinaram função tubular (proximal e distal) em pacientes com hanseníase e constataram defeitos de concentração e acidificação urinárias (defeitos tubulares distais) freqüentes, que não se correlacionaram com a forma da doença ou o uso de dapsona. Embora a dapsona se assemelhe à sulfanilamida, não tem o radical N-sulfamil, que é responsável pela capacidade da droga de inibir a anidrase carbônica.

A nefrite intersticial tem sido observada não apenas na forma lepromatosa da doença, como também na tuberculóide[9].

Para alguns, a nefrite intersticial parece estar mais comumente associada à duração prolongada da doença; é possível que o tratamento por longos períodos seja um fator contribuinte[3].

Lesões específicas, como os lepromas, foram citadas por Powell & Swan (1955) em 2 de suas 50 necropsias[apud 16]. Sainani & Rao (1974)[apud 16] descreveram a presença de lesões leproma-símiles, compostas de células mononucleares com citoplasma vacuolizado, sem bacilos álcool-ácido-resistentes demonstráveis, em 1 de seus 60 casos. Phadnis e cols (1982)[16], revendo a literatura, não encontraram qualquer relato de granuloma com confirmação bacteriológica em rim. Lepromas são comumente encontrados em fígado, baço e testículos. Não se sabe por que sua incidência é aparentemente baixa em rim, mas alguns acreditam que talvez o tecido renal seja mais resistente ao *M. leprae*[16], ou que a bactéria tenha pouca afinidade pelo tecido renal, ou ainda que tal fato se deva ao pequeno número de elementos retículo-endoteliais no rim. A alegação de que granulomas só não são encontrados devido à escassez de material obtido em biopsia não se justifica, pois estudos com necropsias também não revelaram maior incidência de granulomas[7].

HEMATÚRIA

Embora hematúria não seja um achado específico e não esteja necessariamente associada com glomerulonefrite, tem-se relatado que um número significante de pacientes com forma V, em fases reativas e de eritema nodoso, apresenta hematúria[13].

Chugh e cols[4] encontraram micro-hematúria em 4 de 32 pacientes com forma V e ela esteve ausente nos 20 pacientes com a forma dimorfa virchowiana.

Mesmo sendo achados comuns em eritema nodoso, hematúria e proteinúria podem vir a desaparecer completamente dentro de alguns meses[2].

Gelber[13] relata um caso de glomerulonefrite aguda que se fez acompanhar de insuficiência renal aguda em um paciente com forma V e eritema nodoso recorrente, com rápida resolução da insuficiência renal, mas persistência da hematúria assintomática por alguns anos. O paciente em questão não permitiu biopsia renal e, assim, outras etiologias para a hematúria recorrente (como nefropatia por IgA, já descrita em paciente com hanseníase) não podem ser excluídas. No entanto, a presença de outras manifestações de eritema nodoso concomitante com macro-hematúria, presença de cilindros hemáticos e insuficiência renal aguda leve certamente são sugestivos da associação de glomerulonefrite aguda e eritema nodoso neste paciente. O fato de, após o episódio agudo, a atividade do eritema nodoso e hematúria microscópica serem paralelas sugere que a exacerbação do eritema nodoso está associada a processo glomerular recorrente leve.

Há outros relatos de insuficiência renal aguda complicando o curso de glomerulonefrites em pacientes com a forma V. Deve-se estar alerta para a associação de glomerulonefrite e eritema nodoso como uma possível causa de insuficiência renal e hematúria recorrente[13].

PROTEINÚRIA

Proteinúria tem sido relatada na ausência de reação, mas é mais comum em pacientes com eritema nodoso grave e reação reversa[11].

Peter e cols (1981)[5], estudando 30 casos, não encontraram qualquer evidência de proteinúria em análise de rotina de urina. Esses autores citam estudo anterior ao deles em que a proteinúria foi considerada como muito incomum em hanseníase[5].

Chugh e cols[4] encontraram proteinúria em 7 de 37 (19%) pacientes com forma V e em nenhum com a forma "borderline" lepromatosa da doença; a proteinúria variou de 0,4 a 8,9g nas 24 horas[4].

Já Jain e cols[15] encontraram proteinúria em 50% de seus casos.

SÍNDROME NEFRÓTICA

Hanseníase, tuberculose e outras infecções bacterianas granulomatosas crônicas podem associar-se à síndrome nefrótica, decorrendo às vezes do desenvolvimento de amiloidose[20].

Ramanujam e cols[21] relatam 5 casos de forma V, 4 deles com muitos episódios de reação, que vieram a desenvolver síndrome nefrótica; 2 deles, na necropsia, apresentaram depósitos amilóides renais, envolvendo glomérulos e paredes de vasos, assim como acometimento de outros órgãos (baço, fígado e glândulas supra-renais).

AMILOIDOSE

Reações granulomatosas crônicas a micobactérias são acompanhadas por amiloidose secundária; a proteína A amilóide eleva-se no soro e acumula-se como um constituinte de fibrilas em tecidos afetados. A síntese de amilóide A por hepatócitos é estimulada pela interleucina-1 (IL-1) e é uma conseqüência da ativação de macrófagos por constituinte adjuvante ativo de micobactérias[22].

A associação entre forma V com eritema nodoso e amiloidose está bem estabelecida[18]. A amiloidose secundária tem sido observada na forma tuberculóide com úlceras tróficas crônicas, mas é muito mais freqüente em forma V[1,12]. Não foi encontrada qualquer correlação entre a duração da doença e o desenvolvimento de amiloidose, já passível de detecção 2-3 anos após o início da hanseníase[1].

Tem-se observado que a incidência de amiloidose secundária em hanseníase varia amplamente em diferentes países[1,3,7,12,14,23,24]. É freqüente em países ocidentais, mas é incomum em países tropicais[5,24], na tabela 18.2 podem ser observados alguns desses dados. No Brasil, sua freqüência não está bem definida[23]. Vale ressaltar que, embora a incidência de amiloidose renal secundária à hanseníase na Índia seja baixa[5,7,12,24], a amiloidose secundária por todas as causas não é infreqüente[7].

Chugh e cols[4] relatam uma incidência de amiloidose renal de 5%, semelhante à de outros estudos indianos, que tem variado de 0 a 8,1%.

Em estudos de necropsia e biopsia nos Estados Unidos, a amiloidose foi detectada em 1/3 dos pacientes[4]. A maioria dos pacientes avaliados nesses estudos tinha a forma V[4]. Também na Espanha, a amiloidose renal é freqüente, sendo relatada uma incidência de 80%[12], constituindo-se na principal causa de morte de pacientes com a forma lepromatosa[3]. A incidência, entretanto, tem sido consideravelmente mais baixa em outras áreas. Williams e cols[apud 4] (1965) fizeram biopsias de gengiva em 118 pacientes no México e encontraram amiloidose em apenas 3,3%. McAdam e cols[apud 4] (1975) relataram uma incidência de 8,4% em Papua, na Nova Guiné, com base em biopsia de reto, e no Malawi encontrou-se uma incidência de 2,4%[4].

Mittal e cols[7] não diagnosticaram amiloidose renal nos 30 pacientes que estudaram por biopsia renal.

Há, no entanto, uma associação definida entre a ocorrência de episódios recorrentes de eritema nodoso e amiloidose secundária. O nível sangüíneo de proteína A amilóide sérica (precursora da proteína fibrilar amilóide) aumenta durante cada episódio de eritema nodoso e permanece elevado por vários meses após uma reação grave[1]. Os depósitos amilóides na hanseníase são compostos da proteína AA, que não é imunoglobulina e provém do precursor circulante SAA ("serum amyloid A protein"). McAdam e cols[apud14] mostraram que os níveis de SAA aumentam agudamente durante reações tipo eritema nodoso e sugerem que este fenômeno seja secundário à

Tabela 18.2 – Freqüência (percentual) de amiloidose renal em hanseníase em diferentes estudos.

Ano	Autor	Estudo	País	N	%
1942	Kean & Childress[14]	Necropsia	Panamá	103	4
1955	Powell & Swan[14]	Necropsia	EUA	50	38
1956	Shuttleworth & Ross[14]	Necropsia	EUA	18	55
1957	Junnakar[14]	Necropsia	Índia (Poona)	20	5
1965	Williams[12]	–	México	–	6
1968	Granels[12]	Biopsia	Espanha	–	80
1968	Desikan & Job[14]	Necropsia	Índia (Vellore)	37	8
1972	Mittal e cols[7]	Biopsia	Índia (Delhi)	30	0
1973	Bernard & Vazquez[14]	Necropsia	Argentina	60	32
1974	Sainani & Rao[14]	Biopsia	Índia (Nagpur)	60	2
1975	Ozaki & Furuta[14]	Necropsia	Japão	160	15
1977	Gupta e cols[12]	Biopsia	Índia (Jabalpur)	50	0
1979	Çologlu[2]	Biopsia	Turquia	20	5
1981	Peter e cols[5]	Biopsia	Índia (Calicut)	21	0
1981	Grupta e cols[12]	Biopsia	Índia (Allahabad)	21	14
1981	Grover e cols[9]	–	–	–	5,6
1987	Jain e cols[15]	Biopsia	–	40	0

neutrofilia característica do eritema nodoso. SAA também se eleva em amiloidose determinada por úlceras tróficas crônicas.

Se não for possível fazer biopsia renal, as biopsias de gengiva ou de reto (sobretudo a última) podem confirmar o diagnóstico de amiloidose. Sabe-se que o rim é acometido em mais de 80% dos casos de amiloidose sistêmica.

SURTO REACIONAL E LESÃO RENAL

Na forma V em reação observam-se anormalidades urinárias, tais como albuminúria, cilindrúria, leucocitúria e hematúria, sugerindo dano renal; enquanto na ausência de reação, em geral, não se detectam alterações urinárias[21] tão freqüentemente.

Thomas e cols[8] examinaram a urina de pacientes em reação diariamente. O número de pacientes com hematúria foi significantemente mais alto entre aqueles com forma V em reação, comparado com aqueles em fase quiescente. Também foi mais freqüente a proteinúria em pacientes com reação mais intensa. Edema foi observado em 22 dos 35 pacientes em reação; foi mínimo em 5, moderado em 11 e acentuado nos 6 restantes (5 desses pertenciam ao grupo com reação grave; em 4, diminuição na depuração de creatinina e hipoalbuminemia foram constatadas). Os autores encontraram diminuição da depuração de creatinina tanto em forma V não-complicada, como em fase de reação, em relação aos controles saudáveis. Pelo fato de terem encontrado pielonefrite com comprovação bacteriológica em 2/3 dos casos, procuraram implicar a pielonefrite na gênese do eritema nodoso, o que foi fortalecido pela relação entre tratamento da infecção do trato urinário e o desaparecimento da reação[8].

Ramanujan e cols (1973)[21] relatam estudo anterior do mesmo grupo, realizado em 1964, em que, numa avaliação de 114 pacientes com forma V em reação aguda, detectaram albuminúria em 28 (24,6%) e, em 6 (5,3%) deles, ela reaparecia a cada novo surto; em 8 (7%) encontraram também hematúria e leucocitúria[21].

Outros autores fazem referência ao encontro de edema nessas fases[5,16]. Há relato de edema de surgimento agudo de mãos e pés, ocasionalmente associado com proteinúria, como complicação de todos os tipos clínicos de hanseníase, durante episódios reacionais e reação progressiva[3]. Distúrbios de função renal parecem ser mais acentuados durante a fase reacional[7]. Déficits funcionais renais durante episódios de reação, seguidos por melhora na fase de regressão, têm sido observados[3].

Drutz & Gutman[25] estudaram 636 pacientes de um "leprosário" em Taiwan, a maioria com forma V; afastados os casos com bacteriúria, glicosúria ou leucocitúria, 12% apresentavam hematúria e/ou proteinúria. Hematúria ocorreu em 57 pacientes (quase metade com mais de 20 eritrócitos por campo de aumento médio), 11 pacientes tinham hematúria e proteinúria concomitantes e 7 desses apresentavam cilindros hemáticos. História de eritema nodoso foi mais freqüente nesses casos com hematúria e proteinúria simultâneas.

INFECÇÕES ASSOCIADAS E DROGAS

Além do acometimento renal decorrente da doença propriamente dita, os pacientes com hanseníase podem apresentar alterações renais devido à concomitância de outras infecções (sistêmicas ou do trato urinário) e ao uso de drogas para tratamento específico da hanseníase.

Alguns autores consideram que tais pacientes apresentam infecção do trato urinário, e mesmo pielonefrite, mais comumente que a população geral[8]; esse assunto, entretanto, é fonte de controvérsias[26]. Thomas e cols[8] relataram urocultura positiva em 2/3 de seus pacientes com hanseníase, mas há quem conteste as técnicas usadas e a existência de evidências clínicas de uma suscetibilidade particular do trato urinário do paciente com a forma lepromatosa da doença a infecções secundárias[25].

Alterações de função renal não se encontram entre os efeitos colaterais mais freqüentemente relatados das drogas usadas no tratamento da hanseníase. Há relato de necrose tubular aguda[4,27] e de necrose de papila[4,27,28] associadas à terapia com dapsona. A droga é capaz de induzir hemólise e coagulação intravascular, que poderiam ser a causa da necrose tubular aguda[27].

Como as séries de Mitsuda & Ogawa (1937) e Kean & Childress (1942) foram estudadas antes do advento das sulfonas na terapêutica da hanseníase, é improvável que tal droga possa ser causa de processos inflamatórios renais, já evidenciados nos trabalhos dessa época, nos pacientes com hanseníase[apud 8].

Embora a dapsona seja metabolizada no fígado, seus metabólitos são excretados pelo rim. É provável que seja necessária alguma modificação de dose em insuficiência renal crônica. Dados precisos ainda não estão disponíveis e também não se sabe se a droga é removida, em quantidade significante, por diálise[1].

A rifampicina vem sendo cada vez mais usada no tratamento da hanseníase, particularmente após o advento dos esquemas "multidroga". Nefropatia tubulointersticial alérgica tem sido associada ao uso de várias drogas, dentre as quais a rifampicina; tal nefropatia pode apresentar-se com insuficiência renal aguda (IRA), mas a causa mais co-

mum de IRA por droga é a necrose tubular aguda[29]. Geralmente a insuficiência renal por rifampicina ocorre quando grandes doses (900-1.200mg) são administradas de forma intermitente, mas é incomum com doses menores (450-600mg)[30].

TRANSPLANTE RENAL NA HANSENÍASE

Embora a insuficiência renal seja uma causa relevante de mortalidade em pacientes com hanseníase, o transplante renal nesta população não é freqüente. Uma das possíveis explicações é o fato de a hanseníase ocorrer sobretudo em regiões subdesenvolvidas, nas quais os recursos para tratamento da insuficiência renal crônica são limitados[31].

A hanseníase não é uma contra-indicação formal para o transplante renal. Têm sido descritos transplantes renais em pacientes com formas lepromatosas e tuberculóides[31].

Sabe-se que a alteração de imunidade celular subjacente à forma V determina uma tolerância aumentada a enxertos homólogos de pele[1,31]; talvez esse fato possa estar relacionado a uma boa sobrevida do aloenxerto de rim[31].

A infecção pelo *M. leprae*, como qualquer outra micobacteriose, pode ser ativada durante um curso de imunossupressão. Assim, uma complicação esperada após o transplante renal é a exacerbação das lesões cutâneas (já descrita em pacientes com forma V). Por outro lado, a corticoterapia pode mascarar as manifestações típicas, tornando difícil o diagnóstico rápido[31].

Um outro problema seria o tratamento da doença tornar inefetiva a imunossupressão, se for usada rifampicina. Essa droga induz o catabolismo hepático dos esteróides e, portanto, reduz a sua atividade farmacológica; assim, seu uso pode ser perigoso diante da possibilidade de precipitar rejeição do enxerto[31].

Teruel e cols[31] consideram que o transplante renal deve ser feito em pacientes com hanseníase que desenvolvam insuficiência renal crônica; mas, em vista do risco de reativação da doença, o tratamento profilático com sulfonas deve ser iniciado precocemente e mantido indefinidamente.

Se o transplante é feito por insuficiência renal devida a amiloidose, pode-se esperar recorrência da amiloidose no enxerto em alguns pacientes, particularmente se a hanseníase não foi adequadamente tratada ou se ocorrer recrudescência da doença[1].

MODELOS ANIMAIS DE NEFROPATIA POR HANSENÍASE

Lesões renais ainda não modificadas por tratamento, infecções ou outras complicações podem ser mais bem estudadas nos modelos animais[6].

Vaishnavi e cols[6] estudaram camundongos normais e camundongos irradiados e timectomizados, infectados com *M. leprae*, assim como os controles não-infectados de ambos os grupos. Alterações renais proporcionais à duração da infecção foram vistas nos animais infectados. As lesões foram tanto mais freqüentes quanto maior a carga bacteriana. Uns poucos bacilos álcool-ácido-resistentes foram encontrados em cerca de 1/3 dos rins dos camundongos infectados.

Glomerulonefrite foi o achado mais comum em todos os camundongos com envolvimento renal. Nos camundongos normais, infectados, as lesões incluíram expansão discreta de mesângio, espessamento de membrana basal glomerular e adesão do tufo glomerular à cápsula de Bowman, além de nefrite intersticial. No grupo imunossuprimido, o acometimento renal foi mais intenso e mais freqüente. Os controles não apresentaram alterações histológicas[6].

NOSSA EXPERIÊNCIA

Estudamos 96 pacientes com hanseníase, sendo 52 com a forma virchowiana (V), 8 com a forma dimorfa (D), 7 com a forma tuberculóide reacional (T_R), 25 com a forma tuberculóide (T) e 4 com a forma indeterminada (I), de acordo com a classificação utilizada nos Postos de Saúde no Brasil, que seria a definida pelo Congresso de Madrid (1953)[32]. O diagnóstico de hanseníase foi estabelecido com base em quadro clínico, exames histopatológico e baciloscópico; na maioria dos casos fez-se também o teste de Mitsuda.

Procuramos avaliar, sem nos valermos do exame histopatológico, as manifestações clínicas e laboratoriais em qualquer fase da doença renal, em vigência ou não de tratamento. Foi nossa intenção buscar um marcador laboratorial sensível para a detecção e, talvez, o acompanhamento da evolução da nefropatia, que em geral só tem sido detectada quando o paciente já se encontra em sua fase avançada.

No grupo examinado, não constatamos alterações importantes de função renal, se levarmos em conta a avaliação grosseira fornecida pela dosagem de creatinina sérica. Os níveis de creatinina mostraram-se superiores a 1,2mg/dl em apenas 2 (2,1%) casos, não diferindo entre os grupos paucibacilar e multibacilar. Mittal e cols[7] também não encontraram alterações de função renal e enfatizam que, na maioria das vezes, quando elas foram documentadas, os trabalhos correspondiam a um acompanhamento prolongado; consideram que um exame isolado de cada paciente reduz as chances de se flagrar tais alterações; o mesmo poder-se-ia dizer da nossa avaliação. No

entanto, como estudamos pacientes com os mais variados tempos de acometimento pela doença, esse fator parece não ajudar muito a explicar a quase ausência de déficit de função renal no grupo. O fato de todos os casos serem de pacientes ambulatoriais, usualmente fazendo tratamento adequado ou na fase de diagnóstico, com evolução de doença bem diferente daquela de pacientes de "leprosário" ou que começaram tratamento precariamente em décadas passadas, provavelmente explica melhor o achado. Não se pode dizer, entretanto, que esses pacientes estavam numa fase inicial de doença, pois 30% tinham tempo de tratamento igual ou superior a dois anos; ainda que esse argumento não bastasse, o grupo estudado já apresentava complicações próprias da doença em nível de outros sistemas. Diante da constatação de que diversos órgãos já haviam sido lesados, sem a ocorrência de insuficiência renal, parece-nos que os pacientes estudados, casualmente, vieram a constituir uma amostra adequada para avaliar as alterações mais precoces de acometimento renal.

Na amostragem, não foi possível relacionar o desenvolvimento de déficit de função com quaisquer das variáveis estudadas, provavelmente pelo fato de se tratar de um achado incomum no estudo. O seguimento regular desses pacientes talvez responda a esta questão.

Encontramos 26% dos pacientes com elevação dos níveis pressóricos; vale ressaltar, entretanto, que em muitos deles a aferição da pressão arterial foi feita em apenas uma ocasião; acreditamos ser mais provável que esse percentual se reduzisse com novas aferições.

Outras condições patológicas que simultaneamente acometiam os pacientes estudados pouco parecem ter interferido nos achados de alterações renais, exceto pelos casos de litíase renal (ainda que apenas 1 dos 5 com litíase tivesse hematúria por ocasião do estudo) e diabetes (os dois apresentavam microalbuminúria e leucocitúria).

Hematúria foi um achado comum, pois esteve presente em 21,9% dos casos. Na população normal a prevalência de hematúria encontra-se na faixa dos 0,5 a 2%[33,34]. Esse, entretanto, ainda é um ponto controverso. As dúvidas começam já em nível da definição de hematúria. Alguns consideram que o número de hemácias encontradas no sedimento urinário de indivíduos normais varia de 2 a 10 por campo microscópico de grande aumento[33]. Em nosso estudo, consideramos patológica a presença de mais de 5 hemácias por campo. Mesmo estabelecendo como anormal apenas número de hemácias igual ou superior a 10 por campo, a freqüência de hematúria (16,7%) ainda seria bem mais alta que a da população normal. A hematúria microscópica foi observada em pacientes com diferentes formas da doença (11 virchowianos, 1 dimorfo, 7 tuberculóides tórpidos e 2 com a forma indeterminada), com ou sem surto reacional. Observamos que não houve diferença significante no que tange ao encontro de hematúria entre pacientes pauci e multibacilares.

Diante do encontro de hematúria, na maioria dos casos com dismorfismo, sabidamente um critério útil na identificação de hemácias como sendo de origem glomerular[35], a principal hipótese diagnóstica para esses pacientes com hanseníase foi a de glomerulonefrite. Hematúria só se fez acompanhar de proteinúria em 4,8% dos casos que estudamos. Pacientes com glomerulonefrite podem apresentar-se com hematúria microscópica na ausência de qualquer aumento na excreção urinária de proteína[35].

Quando detectada hematúria, procurou-se repetir o exame de urina e, em 12 dos 21 casos, nova amostra foi obtida, a intervalos de tempo que variaram de 2 meses a 1 ano e 3 meses, continuando presente a hematúria em 10 deles. Consideramos, entretanto, que o fato de ela não se repetir não invalida o primeiro achado, posto que há relatos de hematúria transitória em hanseníase. Por outro lado, a realização de novo exame de urina em 18 casos inicialmente sem hematúria revelou sua presença em dois outros pacientes.

A importância do exame de urina nos pacientes com hanseníase, para a detecção de glomerulonefrite, já se fazia notar no estudo de Chugh e cols[4], em que alterações nesse exame foram observadas em 8 dos 9 pacientes com lesões renais comprovadas por biopsia.

Em nosso trabalho, naqueles casos em que além de hematúria estavam presentes leucocitúria importante e sintomas sugestivos de infecção do trato urinário, essa última passou a ser uma das explicações prováveis; no entanto, a concomitância desses achados foi pouco freqüente (14,3% dos casos de hematúria).

Uma outra possibilidade que nos parece deva ser levada em conta é a de litíase renal. Já quando interrogamos sobre as doenças pregressas, 4 pacientes (4,2%) fizeram referência a litíase renal e, na investigação iniciada para a hematúria em alguns pacientes, esse diagnóstico se fez outra vez presente uma vez.

Ainda no que diz respeito à avaliação do exame de urina, observamos que a proteinúria não foi um achado freqüente entre os pacientes estudados por nós. A constatação de proteinúria tem sido extremamente variável; mostrou-se ausente ou incomum em alguns trabalhos[5], enquanto em

outros atingiu cifras de 50%[15]. Técnicas sensíveis de detecção de albuminúria (microalbuminúria) mostram a existência de anormalidades precoces na excreção de albumina não-detectadas pelas técnicas de rotina. A microalbuminúria seria a excreção urinária de albumina anormalmente elevada na ausência de proteinúria clínica (aquela detectada pelos métodos laboratoriais habituais). No caso de pacientes com *Diabetes mellitus* insulino-dependente, mostrou-se que a microalbuminúria é um importante marcador de nefropatia, antes que qualquer outro indício de acometimento renal seja observado. Essa descoberta tem implicações prognósticas, permitindo a intervenção precoce no sentido de retardar a progressão para insuficiência renal[36].

A determinação de microalbuminúria em hanseníase, não relatada por outros autores, revelou uma positividade (15,8%) superior à da pesquisa de proteinúria realizada por métodos convencionais (2,1%). A importância real da aplicação deste teste só pode ser determinada em estudos a longo prazo.

No grupo estudado, não encontramos síndrome nefrótica, nem evidências de amiloidose (exceto por um paciente com hepatomegalia de etiologia ainda não esclarecida); alguns pacientes foram submetidos a biopsia de gengiva quando se suspeitava de amiloidose, mas tal diagnóstico não se confirmou em nenhum deles. Esse ponto não foi devidamente explorado por nós e não se constituiu em objetivo deste estudo. Acreditamos, entretanto, ser importante que a incidência de amiloidose renal em pacientes com hanseníase seja cuidadosamente estabelecida em futuros estudos em nosso meio, em face da relação tantas vezes mencionada entre o desenvolvimento de insuficiência renal e a ocorrência de amiloidose nesta doença e da constatação de diferenças regionais na incidência de amiloidose renal secundária à hanseníase.

Acreditamos também que é imprescindível a solicitação de exame de urina sempre que se diagnostique reação (particularmente eritema nodoso) na tentativa de determinar concomitância ou não de glomerulonefrite.

É importante estabelecer se por quanto tempo e em que dose deverá ser usada a corticoterapia quando a glomerulonefrite aguda for uma das manifestações de reação.

No grupo estudado por nós, eritema nodoso foi observado em 11,5% dos pacientes e indícios de glomerulonefrite concomitante (hematúria isolada ou associada a proteinúria) só foram encontrados em 27,3% deles. Mas, diante da associação comumente relatada por diferentes autores de eritema nodoso com glomerulonefrite e amiloidose, acredita-se que uma redução na freqüência de eritema nodoso[4], assim como seu rápido controle quando vier a acontecer[16], poderia reduzir a incidência de complicações renais. Consideramos importante encarar os pacientes com eritema nodoso como possíveis portadores de uma "nefrite" e, a partir do momento em que o diagnóstico do eritema nodoso seja estabelecido, por quaisquer de suas manifestações, acompanhar os pacientes com todo o cuidado habitualmente dedicado àqueles com "nefrites" agudas. Vale salientar que outras agressões aos rins, como infecções bacterianas secundárias e uso de drogas em níveis próximos daqueles que seriam nefrotóxicos, também podem contribuir para que a progressão da doença renal se faça mais rapidamente[16].

Considerando-se as dificuldades de estabelecer com rigor o grau de nefropatia na população com hanseníase, pareceu-nos apropriado lançar mão da determinação de β_2-microglobulina (β_2M) neste grupo. A elevação de β_2M urinária (com β_2M sérica normal), que ocorreu em 19,8% dos nossos casos, poderia ser explicada pela presença de tubulopatia. Resta, então, esclarecer o porquê da lesão tubular; o uso de drogas parece, à primeira vista, a causa mais provável; no entanto, após a análise dos nossos dados, não se pôde atribuir tal responsabilidade ao tratamento específico da hanseníase. Parece, portanto, que a tubulopatia seria secundária à doença propriamente dita.

Os níveis de β_2M sérica foram mais elevados nos pacientes multibacilares quando comparados com indivíduos normais ou pacientes paucibacilares. Esse comportamento não pôde ser explicado pela ocorrência de reação, que em alguns estudos se correlacionou com o aumento de β_2M sérica[37], nem pela existência de um déficit mais acentuado de função renal em pacientes com formas multibacilares, já que a análise estatística dos níveis de creatinina sérica não revelou diferença significante entre os grupos. Diante disso, acreditamos que a elevação de β_2M sérica seja decorrente de uma produção aumentada da proteína[38], possivelmente graças a uma resposta linfoproliferativa mais intensa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em alguns Postos de Saúde, costuma-se solicitar de rotina o exame de urina quando o paciente passa a ser acompanhado no Serviço, assim como as dosagens de creatinina sérica, glicemia, realização de exame protoparasitológico e de hemograma, que vêm a ser repetidos apenas quando surge sintomatologia relacionada. Pelo que vimos no curso desta pesquisa, o exame de urina foi de grande importância para triagem de nefropatia. Consideramos que a sua realização periódica teria o poder de detectar mais precocemente o

acometimento renal, que, ao que tudo indica, não seria previsto adequadamente pela dosagem de creatinina sérica.

Por fim, alterações discretas e aparentemente precoces puderam ser detectadas através da determinação de microalbuminúria e β_2M urinária; no entanto, na fase atual dos nossos estudos, não temos condições de estabelecer se esses achados têm um valor prognóstico; para tanto, há necessidade de seguimento dos pacientes provavelmente por alguns anos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHUGH KS, SAKHUJA V: End stage renal disease in leprosy. *Int J Artif Organs* 9(1):9-10, 1986.
2. ÇOLOGLU AS: Immune complex glomerulonephritis in leprosy. *Lepr Rev* 50(3):213-222, 1979.
3. JOHNY KV, KARAT ABA, RAO PSS, DATE A: Glomerulonephritis in leprosy – percutaneous renal biopsy study. *Lepr Rev* 46:29-37, 1975.
4. CHUGH KS, KAUR S, KUMAR B, NATH IVS, DAMLE PB, SHARMA BK, SAKHUJA V, DATTA BN: Renal lesions in leprosy amongst north Indian patients. *Postgrad Med J* 59:707-711, 1983.
5. PETER KS, VIJAYAKUMAR T, VASUDEVAN DM, DEVI KRL, MATHEW MT, GOPINATH T: Renal involvement in leprosy. *Lepr India* 53(2):163-178, 1981.
6. VAISHNAVI C, GANGULY NK, KUMAR B, CHAKRAVARTI RN, KAUR S: Renal involvement in *Mycobacterium leprae* infected mice. Histopathological, bacteriological and immunofluorescence study. *Indian J Lepr* 59(4):416-425, 1987.
7. MITTAL MM, AGARWAL SC, MAHESHWARI HB, KUMAR S: Renal lesions in leprosy. *Arch Path (Chicago)* 93:8-12, 1972.
8. THOMAS G, KARAT ABA, RAO PSS, PRATHAPKUMAR C: Changes in renal function during reactive phases of lepromatous leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 38(2):170-176, 1970.
9. GROVER S, BOBHATE SK, CHAUBEY BS: Renal abnormalities in leprosy. *Lepr India* 55(2):286-291, 1983.
10. SENGUPTA U, RAMU G, SINHA S, RAMANATHAN VD, DESIKAN KV: Immunoglobulins in the urine of leprosy patients (Correspondence). *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 51(3):409-410, 1983.
11. SHWE T: Immune complexes in glomeruli of patients with leprosy. *Lepr Rev* 42(4):282-289, 1972.
12. GUPTA SC, BAJAJ AK, GOVIL DC, SINHA SN, KUMAR R: A study of percutaneous renal biopsy in lepromatous leprosy. *Lepr India* 53(2):179-184, 1981.
13. GELBER RH: Erythema nodosum leprosum associated with azotemic acute glomerulonephritis and recurrent hematuria. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 54(1):125-127,1986.
14. DATE A: The immunological basis of glomerular disease in leprosy – a brief review. *Int J. Lepr Other Mycobact Dis* 50(3):351-353, 1982.
15. JAIN PK, KUMAR S, GOVIL DC, MITAL VP, AGARWAL N, ARORA RC, SETHI RS: Renal changes in leprosy and its reactions. *Abstracts of the Xth International Congress of Nephrology (London)*, 1987, p 69.
16. PHADNIS MD, MEHTA MC, BHARASWADKER MS, KOLHATKAR MK, BULAKH PM: Study of renal changes in leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 50(2):143-147, 1982.
17. DATE A, JOHNY KV: Glomerular subepithelial deposits in lepromatous leprosy. *Am J Trop Med Hyg* 24(5):853-856, 1975.
18. DATE A, THOMAS A, MATHAI R, JOHNY KV: Glomerular pathology in leprosy. An electron microscopic study. *Am J Trop Med Hyg* 26(2):266-272, 1977.
19. GUTMAN RA, LU W-H, DRUTZ DJ: Renal manifestations of leprosy: impaired acidification and concentration of urine in patients with leprosy. *Am J Trop Med Hyg* 22(2):223-228, 1973.
20. GLASSOCK RJ, COHEN AH, ADLER SG, WARD HJ: Secondary glomerular diseases: other bacterial infections, in *The Kidney* (3rd ed), edited by Brenner BM, Rector Jr FC, Philadelphia, WB Saunders, 1986, vol 1, pp 1053-1054.
21. RAMANUJAM MK, RAMU G, BALAKRISHNAN S, DESIKAN KV: Nephrotic syndrome complicating lepromatous leprosy. *Indian J Med Res* 61(4):548-556, 1973.
22. IVANYI J: Pathogenic and proctetive interactions in mycobacterial infections. *Clin Immunol Allergy* 6(1):127-157, 1986.
23. ATTA AG, FLEURY RN, MARINGONI RL, TRINDADE Jr AS, RUFINO CBF, FILHO BS: Renal amyloidosis in leprosy. Functional and histopathologic studies. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 45(2):158-166, 1977.
24. CHAKRABORTY AK, SAHA K: Immunologic aspects of leprosy with reference to extravascular immunoglobulins: their excretion profile in urine. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 44(4):456-461, 1976.
25. DRUTZ DJ, GUTMAN RA: Renal manifestations of leprosy: glomerulonephritis, a complication of erythema nodosum leprosum. *Am J Trop Med Hyg* 22(4):496-502, 1973.
26. SHWE T, JOPLING WH: Bacteriuria, chronic pyelonephritis and leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 40:318-320, 1972.
27. DATE A, HARIHAR S, JEYAVARTHINI SE: Renal lesions and other major findings in necropsies of 133 patients with leprosy. *Int J Lepr Other Myocabct Dis* 53(3):455-460, 1985.
28. HOFFBRAND BI: Dapsone and renal papillary necrosis. *Br Med J* 1(6105):78, 1978.
29. HUMES HD, WEINBERG JM: Toxic nephropaties: acute allergic or hypersensivity tubulo-interstitial nephropathy, in *The Kidney* (3rd ed), edited by Brenner BM, Rector Jr FC, Philadelphia, WB Saunders, 1986, vol 2, pp 1515.
30. STEAD WW, BATES JH: Tuberculosis, in *Harrison's Principles of Internal Medicine* (9th ed), edited by Isselbacher KJ, Auckland, McGraw-Hill, 1981, pp 708.
31. TERUEL JL, LIANO F, DEL HOYO M, ROCAMORA A, MAMPASO EG, QUEREDA C, ORTUNO J: Successful kidney transplantation in leprosy and transitory recurrence of the disease. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 53(3):410-411, 1985.
32. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Manual para o Controle da Hanseníase*. OMS/OPAS, Washington, 1983.
33. FARIA JBL: Significado da hematúria no *Diabetes mellitus*. Tese de Mestrado apresentada à Escola Paulista de Medicina (Curso de Pós-Graduação em Nefrologia), São Paulo, 1986.
34. VEHASKARI VM, RAPOLA J, KOSKIMIES O, SAVILAHTI E, VILSKA J, HALLMAN N: Microscopic hematuria in schoolchildren: epidemiology and clinicopathologic evaluation. *J Pediatr* 95(5):676-684, 1979.
35. BIRCH DF, FAIRLEY KF, WHITWORTH JA, FORBES IK, FAIRLEY JK, CHESHIRE GR, RYAN GB: Urinary erythrocyte morphology in the diagnosis of glomerular hematuria. *Clin Nephrol* 20(2):78-84, 1983.
36. MOGENSEN CE: Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy. *Kidney Int* 31(2):637-689, 1987.
37. SAHA K, BHATNAGAR A, SHARMA VK, CHAKRABARTY AK: Enzyme immunoassay of serum beta-2-microglobulin levels in various histological forms of leprosy with special reference to its elevation in type I and type II lepra reactions. *J Clin Microbiol* 21(4):658-661, 1985.
38. SCHARDIJN GHC, VAN EPS LWS: β_2-microglobulin: its significance in the evaluation of renal function. (editorial) *Kidney Int* 32:635-641, 1987.

19

NEFROPATHY IN TYPE II DIABETES

Eberhard Ritz
Adam Stefanski

◆

Magnitude of the problem

Two decades ago very few patients with type II diabetes (below 5%) developed endstage renal failure. It was therefore commonly assumed that the renal risk in type II diabetes was substantially lower than in type I diabetes where 30-40% of the patients ultimately develop endstage renal failure[1].

The situation has dramatically changed in the past two decades, first in the USA[2] and then in Europe and other countries of the Western world as well[3]. According to the report of the USRDS (US Renal Data System 1994), 29% of patients entering renal replacement programs in suffered from *Diabetes mellitus*, a large proportion of whom had type II diabetes. According to the EDTA/ERA registry[4], of the patients admitted in 1992 to renal replacement therapy in Europe, 17% had *Diabetes mellitus*, of whom 43% had type II diabetes. This overall figures does not adequately reflect, however, the tremendous variability between different European countries, where renal failure in patients with type II diabetes tends to be low in Latin countries (France 2.87, Spain 2.80, Italy 2.39 per million population) compared to Northern countries (Germany 8.33, Austria 10.4 per million population)[4]. In the Heidelberg region (Table 19.1) endstage renal failure in diabet-

Table 19.1 – Incidence and prevalence of end-stage failure (ESRD) in patients with *Diabetes mellitus* in some countries.

Country		Prevalence		Incidence		Diabetic patients (% of total incidence)	Patients with type II (% of all diabetics)
		Patients with ESRF	Diabetic patients	Patients with ESRF	Diabetic patients		
		(per million population)		(per million population/year)			
Australia	National	427	33	65	10	16	61
	White	374	23	54	7	12	48
	Aboriginal	1129	335	338	125	37	85
Europe		365	20	32	5	17	43
Italy	Lombardy	535	35	102	10	11	50
Germany	Hiedelberg region	–	–	125	52	42	90
United States (US-RDS):	National	721*	188*	195*	70*	36	–
	Black	2298**	486**	595***	174**	29	–
	White	547	115	150	46	31	–

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$

ic patients has become the single most important cause of ESRF and this is mostly accounted for by type II diabetes. These current figures in Germany are in striking agreement with those in the white population of the USA and reflect a secular epidemiological trend which will certainly be noted in other countries as well[5].

What are the explanations for such a dramatic increase? First, in parallel with the increase in obesity and inactive life style, the prevalence of type II diabetes has dramatically increased. In Germany, it currently affects 4-8% of the adult population and reaches 20% at age 80. Second, the average age of the general population has risen markedly. Since the prevalence of type II diabetes increases with age, this will impact on the prevalence of diabetic nephropathy. Finally, life expectancy of the patients with type II diabetes in general, and the patient with type II diabetes with nephropathy in specific, has markedly increased, e.g. 5 years survival in the Heidelberg population from 35% in 1975 to 75% in 1985, primarily due to better control of hypertension and better survival of patients with coronary heart disease (%). Consequently, an ever greater proportion of patients lives long enough to experience the risk of diabetic nephropathy after 10-15 years of diabetes.

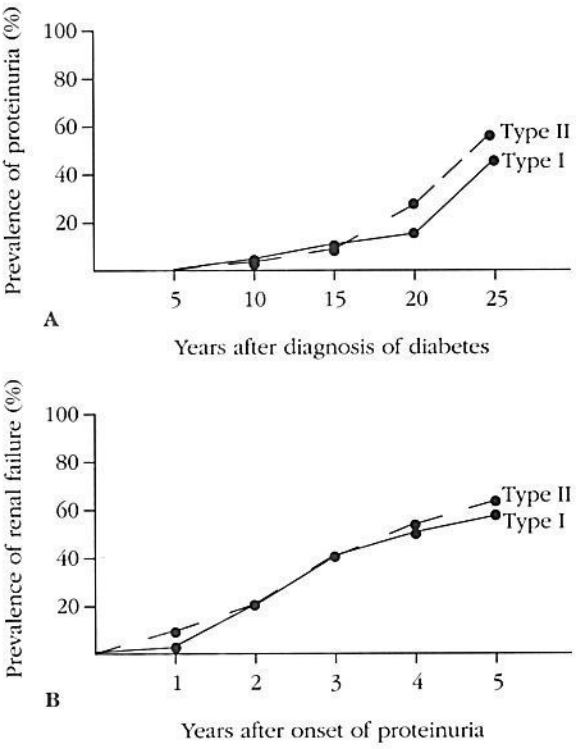


Figure 19.1 – Cumulative prevalence of persistent proteinuria and renal failure in patients with type I and type II diabetes[6]. Panel **A** shows cumulative prevalence of persisting proteinuria as a function of duration of diabetes in 292 type I and 464 type II diabetic patients. Panel **B** shows cumulative prevalence of renal failure, i.e. serum creatinine above 1.4 mg/dl as a function of duration of proteinuria in 48 proteinuric type I and 46 type II diabetic patients.

The renal risk in type I and type II diabetes

As mentioned above, until recently, the opinion was widely held that renal failure was uncommon in type II diabetes, presumably because (mostly elderly) patients with type II diabetes did not live long enough to develop diabetic nephropathy.

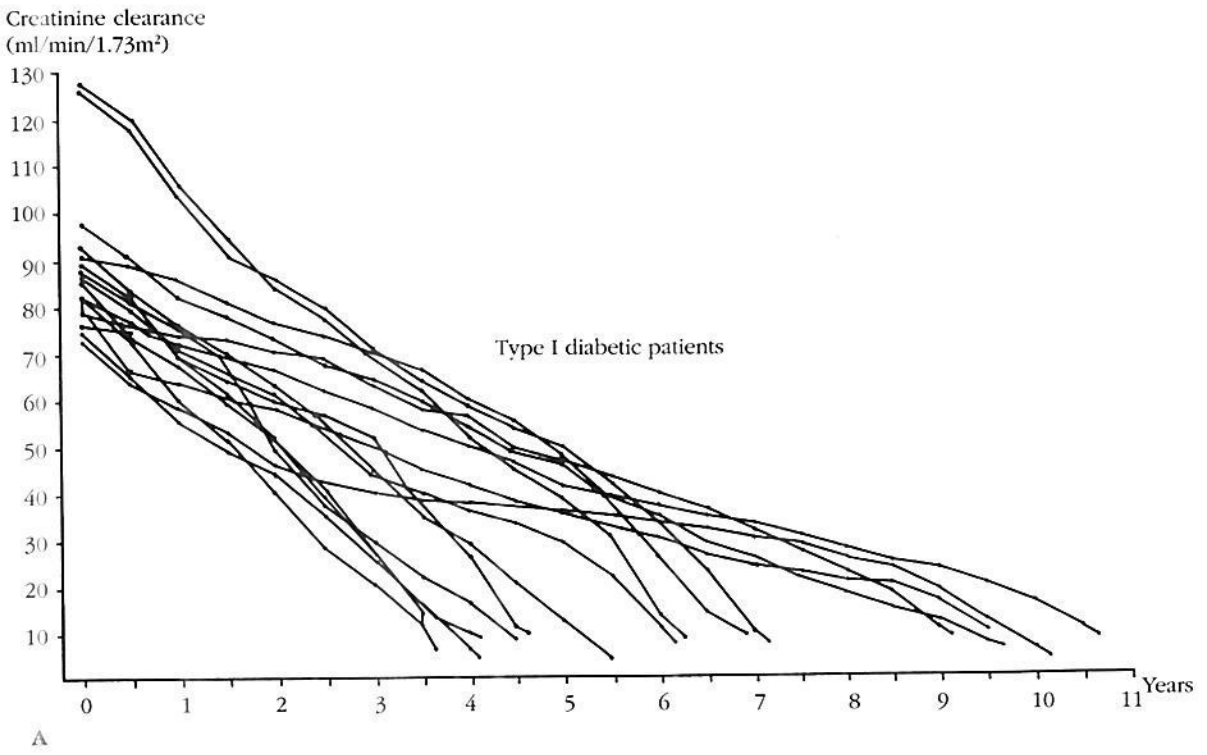
As shown in figure 19.1, Hasslacher et al.[6] compared the actuarial risk to develop proteinuria and renal failure in type I and type II diabetes. It is obvious from figure 19.1 that the risks are superimposible.

Once the patients has developed renal failure, the rate of progression is also quite comparable in type I and type II diabetes, according to the observation of Biesenbach[7]. This is illustrated in figure 19.2. It follows that the renal risk is comparable for all practical purposes. This implicates that management of diabetes and control of glycemia must be taken every bit as seriously in the patient with type II as in the patient with type I diabetes.

It is of interest that a substantial proportion of patients with type II diabetes, i.e. 20% in a prospective study in Germany[8] suffered from other types of primary chronic renal disease, e.g. analgesic nephropathy, polycystic kidney disease etc. This raises the issue of whether superimposition of *Diabetes mellitus* increases the renal risk and accelerates progression in patients with non-diabetic renal disease. It has also been claimed, based on investigation of patients admitted for evaluation of proteinuria, that chronic glomerulonephritis was found in up to 20% of patients with type II diabetes[9]. This contrasts with our own experience, where we failed to note an excess of primary glomerulonephritis in patients with diabetes, who had come to postmortem[10].

Renal involvement in early type II diabetes

Renal involvement in early type I diabetes is characterized by an increase in renal size (nephromegaly) and renal perfusion/filtration (hyperfiltration). The same is apparently true in type II diabetes. As shown in table 19.2, GFR and particular-



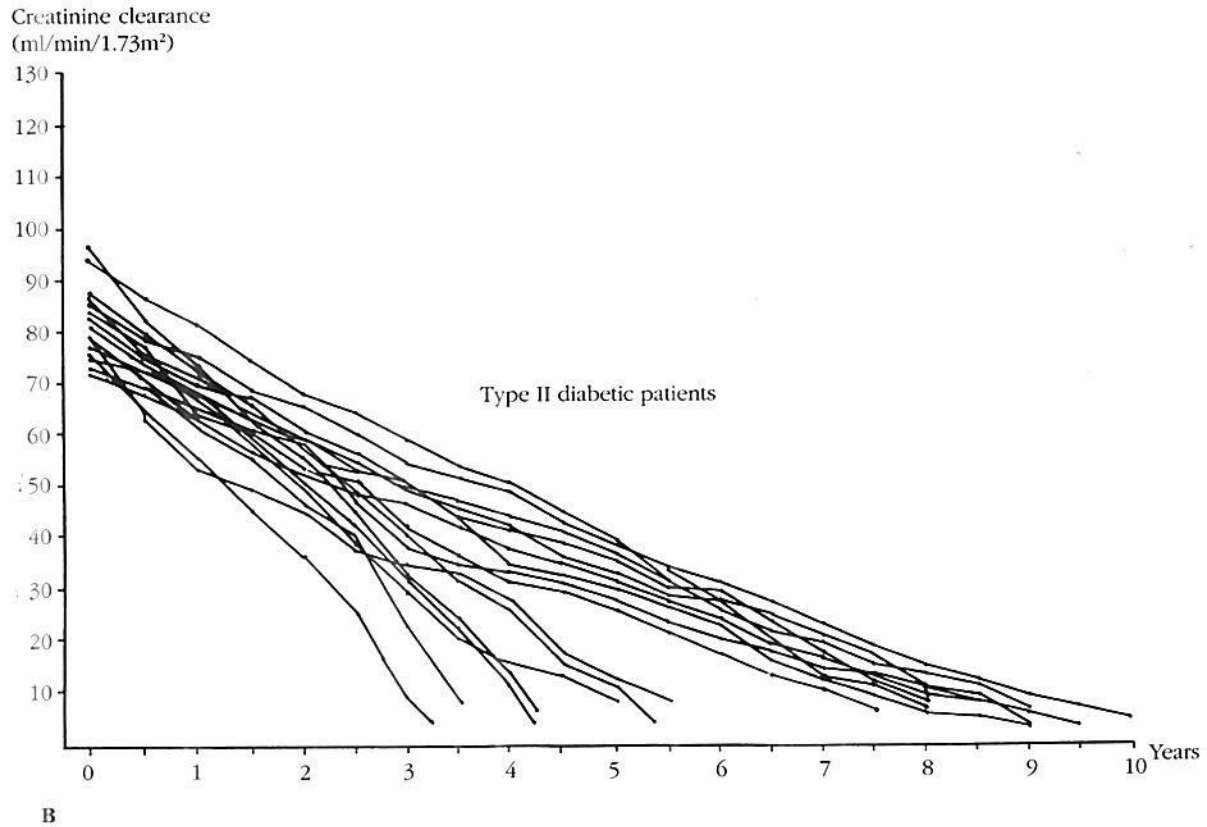


Figure 19.2 – The individual course of creatinine clearance in patients with type I and type II diabetes[7]. Panel **A** shows the individual course of creatinine clearance in 16 patients with type I and panel **B** in 16 patients with type II diabetes.

Table 19.2 – Renal hemodynamics in patients with newly diagnosed type II diabetes[11].

	Normal range	Diabetics	Obese controls
GFR (ml/min/1.73m²)	115 (92-145)	133 (95-165)	118 (95-139)
ERPF (ml/min/1.73m²)	510 (320-610)	517 (315-700)	526 (503-604)
RVR (mmHg/l × min)	152 (148-170)	141 (135-151)	139 (129-143)

ly ERPF is significantly higher in patients with newly diagnosed type II diabetes compared to obese controls[5]. The difference is particularly marked when renal hemodynamic parameters were factored for lean body mass[11].

Nephromegaly and glomerulomegaly are consistent features of early type I diabetes. The evidence is more controversial in type II diabetes. Although not all authors found larger glomeruli in patients with early type II diabetes, it is of interest that large glomeruli were noted, even prior to the onset of type II diabetes, in native populations, which are particularly susceptible to diabetic nephropathy, i.e. in Pima Indians and in Australian aboriginals.

Predictors of renal risk in type II diabetes

Familial clustering of nephropathy is noted in type II diabetes as well as in type I diabetes. This was seen not only in the genetically unique Pima Indians[12], but also in our ongoing study concerning Caucasoid German patients with type II diabetes. Of particular note is one observation[13] that an excess of cardiovascular accidents is noted in families of patients with type I and also type II diabetes and nephropathy. In a recent series of our laboratory, substantial interaction between genetic factors and glycemic control were noted: albuminuria was present in 60% of patients with a positive family history and poor glycemic control, but only in 6% of patients with positive family history and good glycemic control. It has recently been reported that the risk of diabetic nephropathy was related to the D/I (deletion/insertion) polymorphism of the ACE gene[14], but this could not be confirmed in a much larger series of diabetic patients[15]. There is recent evidence, however, that individuals with the DD genotype have more rapid progression of renal failure similar to what has also been noted in IgA glomerulonephritis[16-18]. It is obvious that the predisposition to diabetes type II and to diabetic nephropathy are coded, at least in part, on separate loci.

Apart from genetic factors, non-genetic factors play an important role as well. As shown in table 19.3, these comprise amongst others, glycemia, hypertension albuminuria and smoking.

Table 19.3 – Predictors of renal risk in diabetes type II.

1. Genetic factors (familial clustering)
2. Hyperglycemia
3. Elevated blood pressure
4. Smoking
5. Male gender
6. Advanced age
7. Microangiopathy (retinopathy)
8. Macroangiopathy (coronary heart disease, arterioocclusive disease)

In several studies a clear relation was noted between glycemia or HbA1c levels on the one hand and albuminuria or renal failure on the other hand. These observations underline the importance of glycemic control. Conversely, weight reduction and glycemic control may cause substantial and long lasting improvement of albuminuria.

Albuminuria is found at the time of diagnosis of type II diabetes in 10-20% of patients at a time, when steady state of glycemic control has been obtained[18-20]. Its prevalence increases with duration of diabetes. Microalbuminuria is an extremely potent predictor of cardiovascular risk in type II diabetes[21,22]. To some extent the high rate of cardiac death obscures the strong relation between microalbuminuria and diabetic nephropathy. Microalbuminuria is a potent predictor not only of cardiac, but also of renal risk. This implies that microalbuminuria should be actively looked for in patients with type II diabetes in order to focus preventive efforts on high risk patients[23].

Microalbuminuria is defined as the excretion of 20µg albumin/ml in morning urines or 30mg/24h in 24h urine collections on three separate occasions if other causes of albuminuria (e.g. urinary tract infection, cardiac failure etc.) have been excluded. Cigarette smoking is tightly correlated to the risk of albuminuria in patients with type II diabetes similiar to what has previously been noted in type I diabetes[7]. In our ongoing study smoking increased the relative risk by a factor of 7. In patients with established diabetic nephropathy, the rate of progression was twice as fast in smokers compared to non-smokers[7]. It is obvious that discontinuation of smoking must be an important target for preventive efforts.

The role of hypertension in the genesis and progression of nephropathy in type II diabetes

According to recent concepts[24] the occurence of chemically overt type II diabetes is only the ultimate act in a scenario ("metabolic syndrome" or syndrome X) which is characterized by (partial) insulin resistance, obesity, dyslipidemia and hypertension. At least in the Pima Indians, prediabetic hypertension, i.e. hypertension prior to the onset of chemically overt *Diabetes mellitus*, is clearly related to the subsequent risk to develop diabetic nephropathy[25].

In several studies blood pressure was found to be tightly related to albuminuria in patients with type II diabetes of short duration. In a study of our laboratory, blood pressure explained approximately 30% of total variance of albuminuria.

In patients with type II diabetes, blood pressure prior to the onset of proteinuria was significantly higher in those patients who subsequently developed proteinuria than in matched patients who failed to develop proteinuria (Table 19.4). This observation suggests that proteinuria is related, casually or otherwise, to the development of nephropathy[26]. Once nephropathy is established, progression of renal failure is clearly related to blood pressure. According to Biesenbach[7], progression was twice as rapid in patients with type II diabetes and systolic blood pressure above compared to below 160mmHg.

It emerges from the above that apart from glycemic control and discontinuation of smoking, blood pressure control is an important target for preventive measures. This raises two important issues: first, at what blood pressure levels antihypertensive treatment should be started and what target blood pressures shoud be aimed at during antihypertensive intervention. And second, whether all antihypertensive agents are similarly effective in preventing progression of diabetic nephropathy.

Space does not permit an indepth review. There is growing consensus, however, that acceptable blood pressure levels must be revised downwards, at least in diabetic patients with proteinuria. In the patient with type I diabetes, there is consensus that once proteinuria is present, antihypertensive treatment, starting with ACE inhibitors, should be initiated and that pressures of approximately 120/70mmHg should be aimed at[27]. There is currently no solid biostatistical evidence that the same is true in type II diabetes, but the similarity of the risk and renal hemodynamic changes would argue for the notion that the same applies, at least in principle, to the patient with type II diabetes. This advise must be tempered, however, with the consideration that antihypertensive treatment may be more delicate in the elderly patient, particularly in the presence of vascular complications, but at least in the patient with a reasonable life expectancy one should aim at the lower most blood pressure, which is comfortably tolerated.

While the evidence for a nephroprotective action of ACE inhibitors is incontroversial in type I diabetes and nephropathy, substantially less is known with respect to nephropathy in type II diabetes[5]. Nevertheless, greater antiproteinuric efficacy of ACE inhibitors has been documented in type II diabetes as well. The clinical use of ACE inhibitors, however, requires closer monitoring of patients, at least initially, because of the in-

Table 19.4 – Hypertension as a predictor of diabetic nephropathy in type II diabetes during the preprotein uric phase[26].

Patients	Median (range)		Patients	
	Postprandial glucose (mg/dl)	Blood pressure (mmHg)	Normotensive	Hypertensive
Developing persistent proteinuria (n = 63)	208 (130-295)	164 (105-215)* 87 (70-106)**	19/63 (30%)§	44/63 (70%)
Not developing persistent proteinuria (n = 63)	199 (104-272)	149 (122-183)* 84 (68-97)**	36/63 (57%)	27/63 (43%)

* Systolic blood pressure
** Diastolic blood pressure
§ $p < 0.05$

creased prevalence of clinically latent atherosclerotic renal artery stenosis and the greater tendency to hyperkalemia as a consequence of hyporeninemic hypoaldosteronism in elderly patients with type II diabetes.

The diabetic patient with preterminal renal failure

If one has to manage a patient with known *Diabetes mellitus* type II and renal failure, one should choose an organized approach and procede according to the strategy outlined in table 19.5. One of the first concerns is that reversal causes of renal failure must be adequately excluded. This comprises latent cardiac failure (which is quite frequent in diabetic patients in whom myocardial infarction may be masked because of the loss of pain secondary to afferent denervation), urinary tract infection (which – when left untreated – may quickly procede to pyogenic papillary necrosis and urosepsis), impaired urine transport (secondary to prostatic obstruction in the elderly patient or detrusor paresis as a consequence of autonomic polyneuropathy), hypovolemia (from overzealous diuretic treatment or osmotic diuresis secondary to hyperglycemia), renal dysfunction following administration of radiocontrast media...

Table 19.5 – Check list for management of diabetic patients with preterminal renal failure.

Reversible causes for renal failure present? (contrast media, urinary tract infection, angiotensin converting enzyme inhibitors, congestive heart failure)
Hypovolemia present?
Coronary heart disease present (percutaneous transluminal angioplasty or coronary bypass surgery required?)
Cardiomyopathy or congestive heart failure present?
Congestion due to hypervolemia or heart failure?
Early vascular access?
Hypoglycemic episodes present? Adequate nutrient intake?
Eye (examined and treated?)
Foot (neuropathic? Ischemic? foot ulcers? infection?)
Residual urine present, urinary tract infection?
Normotension or antihypertensive treatment achieved?
Orthostatic blood pressure drop?
Gastroparesis or diarrhoeal episodes?

Of some clinical interest are cases with renal failure without demonstrable fasting, postprandial or even postglucose load hyperglycemia. That cases of diabetic nephropathy without (apparent) *Diabetes mellitus*, confirmed by the finding of Kimmelstiel Wilson's glomerulosclerosis by renal biopsy, usually explained by massive weight loss and self correction of insulin resistance, combined with prolongation of the half life (and efficacy) of (endogenous) insulin. The useful clinical pointer to the diagnosis of diabetic nephropathy may be demonstration of diabetic retinopathy and polyneuropathy.

The next item in the clinical management is the assessment of renal function and rate of progression. Serum creatinine may grossly underestimate renal dysfunction in anorectic patients with low muscle mass. A serum creatinine of 2.5mg/dl may well correspond to a GRF of 20ml/min. In cases of doubt, endogenous creatinine clearance or single shot radiochelate clearance method should be used.

Diabetic nephropathy is not an isolated renal disease, but part of a generalized microangiopathy. The diabetic patients with renal impairment have to be carefully assessed for extrarenal manifestations of microangiopathy and macroangiopathy. Of particular clinical relevance is ophthalmic care, exclusion of autonomic polyneuropathy (particularly cystopathy and gastroparesis), diabetic foot problems (ischemic or polyneuropathic) and exclusion of cardiac disease. Because ischemic heart disease is frequently asymptomatic, and because non-invasive procedures have a high rate of false positive and false negative results, the clinician is well adviced to directly procede to invasive procedures, i.e. coronarography, if is substantial clinical suspicion of ischemic heart disease. Because of the risk of radiocontrast-induced acute renal failure, the patient must be well hydrated, the dose of radiocontrast must be reduced and the patient should be dialysed after administration of radiocontrast.

The management of glycemia in the patient with renal failure deserves comment. Insulin half life is prolonged. Consequently, patients are at greater risk of hypoglycemia unless the dose of insulin is reduced. Frequently one is able to discontinue insulin or reduce insulin to one daily dose. With the notable exception of gliquidone, most oral antidiabetic agents or their active metabolites cumulate in renal failure; cumulation and prolonged insulin half life substantially increase the risk of hypoglycemia. When monitoring glycemia one must be aware of the fact that with the exception of the HPLC method, most methods to measure HbA1 give falsely high values by inclusion of carbamylated Hb products. Patients with advanced renal failure (GRF 20-40ml/min/1.73m^2) tend to be catabolic. As a consequence they usually tolerate massive weight reduction poorly and efforts at weight reduction should be done with prudents.

It is of great importance to prepare the patient for renal replacement therapy in time. This includes proper instruction of the patient and his family, proper cardiac care, reversal of uremia by EPO therapy in the patient with cardiac symptoms, monitoring for hepatitis markers and above all timely creation of a Cimino fistula. If assessment of brachial and forearm blood flow shows inadequate arterial inflow, it is wise, however, to directly procede to a loop procedure or upper arm fistula.

Therapeutic options in the patient with type II diabetes on renal replacement therapy

In principle, the same therapeutic options should be considered in the diabetic patient as in the non-diabetic patient. Diabetes per se does not constitute an element to prefer one therapeutic modality over the other. Statistical data in the USA and in Europe show that the vast majority of patients is put on maintenance hemodialysis, substantially smaller proportions on CAPD or hemofiltration, and a (injustified) low proportion on renal transplantation.

An important issue is the appropriate timing of the start of non-conservative treatment. In the past it has often been aserted that diabetic patients should be put on dialysis earlier than non-diabetic patients. There is no rational reason to adopt other criteria in the diabetic patients, but one is often forced by clinical symptomatology to start earlier (i) when hypervolemia is difficult to control; this problem is very frequent in diabetic patients, particularly if salt intake is not properly reduced and (ii) if patients become severe anorectic or start vomiting. The latter is often a combination of diabetic gastroparesis and uremia and may respond very quickly to hemodialysis treatments. It is useful to keep in mind that serum creatinine concentrations may be quite misleading in patients, particularly polyneuropathic patients, with low muscle mass.

Although this is not universaly accepted we have taken several patients on dialysis at a GFR of 25-30ml/min/24h who had recurrent episodes of left ventricular failure due to a combination of LV pumping failure and difficult to control hypervolemia. Such patients with life threatening pulmonary edema may be substantially better of on dialysis.

The main clinical problems with hemodialysis are cardiovascular instability and diabetic foot problems. The latter require very careful attention to detail including prevention (adequate shoes, podeatric care) and prolonged bed rest in the case of neuropathic ulcers.

CAPD may offer the benefit of better circulatory stability. In contrast to previous opinion glycemic control is not better with or without intraperitoneal administration of insulin and episodes of peritonitis are not more frequent than in the non-diabetic patient. CAPD may be imposed upon by the failure to establish adequate vascular access, although more recently, indwelling jugular catheters for hemodialysis become a workable alternative. Finally, diabetic patients tend to be excluded automatically from transplantation programs. Undoubtedly results of transplantation are considerably worse in the patient with type II diabetes compared to age matched controls. Nevertheless some recent observations indicate that once vascular disease is rigorously excluded (by clinical investigation including coronarography) the results of transplantation in the patient with type II diabetes become reasonably comparable with age matched controls. It is therefore no longer legitimate to dramatically exclude such patients from transplantation programs.

Given the complexity of the management of these difficult patients, it is obvious that optimal management necessitates close cooperation between diabetologists, ophthalmologists, cardiologists and nephrologists.

REFERENCES

1. FABRE J, BALANT LP, DAYER PG, FOX HM, VERNET AT: The kidney in maturity onset diabetes mellitus: a clinical study of 510 patients. *Kidney Int* 21:730-738, 1982.
2. The United States Renal Data System: 1944 Annual Data Report.
3. LIPPERT J, RITZ E, SCHWARZBECK A, SCHNEIDER P: The rising tide of endstage renal failure from diabetic nephropathy type II – an epidemiological analysis. *Nephrol Dial Transplant* 10:462-467, 1995.
4. RAINE AE: Epidemiology, development and treatment of endstage renal failure in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients in Europe. *Diabetologia* 36:1099-1104, 1993.
5. RITZ E, STEFANSKI A: Diabetic nephropathy in type II diabetes (indepth review). *Am J Kidney Dis* (in press).
6. HASSLACHER C, RITZ E, WAHL P, MICHAEL C: Similar risks of nephropathy in patients with type I or type II diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 4:859-863, 1989.
7. BIESENBACH G, JANKO O, ZAZGORNIK J: Similar rate of progression in the predialysis phase in type I and type II diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 9:1097-1102, 1994.
8. KOCH M, THOMAS B, TSCHÖPE W, RITZ E: Survival and predictors of death in dialysed diabetic patients. *Diabetologia* 36:1113-1117, 1993.
9. PAVING HH, GALL MA, SKOTT P, JORGENSEN HE, LOKKEGAARD H, JORGENSEN F, NIELSEN B, LARSEN S: Prevalence and causes of albuminuria in non-insulin-dependent diabetic patients. *Kidney Int* 41:758-762, 1992.
10. WALDHERR R, ILKENHANS C, RITZ E: How frequent is glomerulonephritis in diabetes mellitus type II? *Clin Nephrol* 37:271-273, 1992.

11. NOWACK R, RAUM E, BLUM W, RITZ E: Renal hemodynamics in recent-onset type II diabetes. *Am J Kidney Dis* 20:342-347, 1992.
12. PETTIT DJ, SAAD MF, BENNETT PH, NELSON RG, KNOWLER WC: Familial predisposition to renal disease in two generation of Pima Indians with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 33:438-443, 1990.
13. EARLE K, WALKER J, HILL C, VIBERTI GC: Familial clustering of cardiovascular disease in patients with insulin-dependent diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 326:673-677, 1992.
14. MARRE M, BERNADET P, GALLOIS Y, SAVAGNER F, THAM-TAM G, HALLAB M, CAMBIEN F, PASSA P, ALHENC-GELAS F: Relationship between angiotensin I converting enzyme gene polymorphis, plasma levels and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes* 43:384-388, 1994.
15. SCHMIDT S, SCHÖNE N, RITZ E: Diabetic Study Group. Association of ACE gene polymorphism and diabetic nephropathy? *Kidney Int* 47:1176-1181, 1995.
16. YOSHIDA H, MITARAI T, KAWAMURA T, KITAJIMA T, MIYAZAKI Y, NAGASAWA R, KAWAGUCHI Y, KUBO H, ICHIKAWA L, SAKAI O: Role of the deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in the progression and therapeutic responsiveness of IgA nephropathy. *J Clin Invest* 96:2162-2169, 1995.
17. SCHMIDT S, STIER E, HARTUNG R, STEIN G, BAHNISCH J, WOODROFFE AJ, CLARKSON AR, PONTICELLI C, CAMPESE M, MAYER G, GANTEN D, RITZ E: No association of converting enzyme insertion/deletion polymorphism with immunoglobulin A glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 26:727-731, 1995.
18. STANDL E, STIEGLER H: Microalbuminuria in a random cohort of recently diagnosed type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients living in the Greater Munich Area. *Diabetologia* 36:1017-1020, 1993.
19. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS). IX: Relationships of urinary albumin and N-acetyl-glucosaminidase to glycemia and hypertension at diagnosis of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and after 3 months diet therapy. *Diabetologia* 36:835-842, 1993.
20. GALL MA, ROSSING P, SKOTT P, DAMSBO P, VAAG A, BECH K, DEJGAARD A, LAURITZEN M, LAURITZEN E, HOUGAARD P, BECK-NIELSEN H, PARVING HH: Prevalence of micro- and macroalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and large vessel disease in European type II (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 34:655-661, 1991.
21. SCHMITZ A, VAETH M: Microalbuminuria: a major risk factor in non-insulin-dependent diabetes. A 10-year follow-up study of 503 patients. *Diabet Med* 5:126-134, 1988.
22. MOGENSEN CE: Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N Engl J Med* 310:356-360, 1984.
23. MOGENSEN CE, KEANE WF, BENNETT PH, JERUMS G, PARVING HH, PASSA P, STEFFES MW, STRIKER GE, VIBERTI C: Prevention of diabetic renal disease with special reference to microalbuminuria. *Lancet* 346:1080-1084, 1995.
24. FERRANNINI E, BUZZIGOLI G, BONADONNA R, GIORICO MA, OLEGGINI M, GRAZIADEI L, PEDRINELLI R, BRANDI L, BEVILACQUA S: Insulin resistance and essential hypertension. *N Engl J Med* 317:350-357, 1987.
25. NELSON RG, PETTITT DJ, BAIRD HR, CHARLES MA, LIU QZ, BENNETT PH,KNOWLER WC: Prediabetic blood pressure predicts urinary albumin secretion after the onset of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in Pima Indians. *Diabetologia* 36:998-1001, 1993.
26. RITZ E, HASSLACHER C, MANN J, GUO JZ: Hypertension and vascular disease as complications of diabetes, in *Hypertension-Pathophysiology, Diagnosis and Management*, edited by Laragh JH, Brenner BM, New York, Raven Press, 1990, vol. 2, pp 1705-1706.

20

NEFROTOXICIDADE DA ANFOTERICINA B

José Luiz Monteiro

INTRODUÇÃO

Desde a introdução da anfotericina B no tratamento das micoses sistêmicas em 1956, muitas doenças que eram consideradas fatais tiveram sua taxa de mortalidade reduzida em níveis extraordinariamente baixos[1-3]. Sua utilização na atualidade está aumentada em virtude das infecções fúngicas hospitalares e ainda devido às situações clínicas de imunocomprometimento (neoplasias, AIDS, transplantes).

Seu uso, entretanto, é limitado devido a graus variados de efeitos tóxicos, sendo o mais sério a nefrotoxicidade. São descritas quedas do fluxo sangüíneo renal e da filtração glomerular, acidose tubular renal, hipomagnesemia, hipocalemia e alterações da capacidade de concentração urinária[3-7].

Dois mecanismos, portanto, estão implicados na sua toxicidade: efeito hemodinâmico e aumento da permeabilidade da célula tubular, principalmente distal, mas também é citado no túbulo proximal. Esta ação está relacionada à interação do antibiótico com os componentes esteróis da membrana plasmática, permitindo um aumento da permeabilidade a solutos[6,7]. Esta observação é interessante, pois a anfotericina B, assim como outros antibióticos poliênicos, age nos fungos através de sua membrana, rica em esteróis, sendo que as algas e as bactérias são resistentes por não possuírem este lípide em sua membrana[7].

FARMACOCINÉTICA

Doses endovenosas de anfotericina B de 0,5 a 1mg/kg/peso alcançam níveis sagüíneos de 1 a 3µg/ml, com pico de concentração máxima com doses acima de 50mg. No soro, este antibiótico liga-se 95% aos glóbulos vermelhos e às lipoproteínas. O total de sua distribuição nos humanos é de 3,2 a 4 litros/kg, sendo dois terços no volume sangüíneo e interstício e um terço nos tecidos. A afinidade da droga pelos esteróis pode explicar sua menor concentração nos tecidos[6].

Estudos de necropsia de humanos tratados com anfotericina B revelaram, por ordem decrescente, que sua maior concentração se encontra no fígado, baço, pulmões e rins. Por outro lado, trabalho realizado em primatas com a utilização de anfotericina B marcada com isótopo, 24 horas após uma simples dose, mostrou que a droga se concentra mais nos rins, seguidos de fígado, baço, adrenais, pulmões, tireóide, coração, músculo esquelético, pâncreas, cérebro e osso. Sua meia-vida é longa, caracterizada como bifásica, inicialmente distribuindo-se no corpo humano entre 17 e 24 horas, com eliminação total entre 11 e 15 dias, podendo muitas vezes ser encontrada nos tecidos até 30 dias após a interrupção de seu uso[6].

A degradação metabólica da anfotericina B ainda não está bem caracterizada. Após uma simples dose da droga, apenas 3% dela aparece na urina em 24 horas. No cão, 19% de uma simples dose aparece nas fezes depois de 11 dias. Quando existe drenagem biliar externa no cão, as fezes não contêm a droga. Devido às altas concentrações no fígado de necropsia de humanos, supõe-se que a principal eliminação da anfotericina B seja realizada por excreção biliar. Entretanto, a quantidade de sua eliminação pelos rins e pela bile não alcança a dose administrada. Este fato é relevante desde que sua afinidade pelos componentes esteróis da membrana faz supor que sua toxicidade é grande nas células tubulares renais, pois, apesar de ser pouco filtrada pelos glomérulos, atinge significante concentração na luz tubular. Desse modo, o uso prolongado de anfotericina B resulta em aumento de sua concentração nos tecidos renais, dando oportunidade de que seus efeitos tóxicos diretos sejam mais pronunciados[6].

MECANISMO DA TOXICIDADE

O mecanismo exato da toxicidade da anfotericina B ainda não está bem elucidado. Considera-se inicialmente um efeito hemodinâmico com alto poder vasoconstritor, principalmente ao nível da arteríola aferente, e a seguir com aumento da permeabilidade tubular. A participação de mediadores neste processo tem sido investigada e são citados o "feedback" tubuloglomerular, a adenosina, a angiotensina, os eicosanóides, os radicais livres e o óxido nítrico[6,7].

A infusão da droga diretamente em artéria renal de cão anestesiado (5mg/kg em 30 minutos) resultou em uma diminuição abrupta do "clearance" de inulina de 90%, do "clearance" de paraminoipurato (PAH) em 88%, da secreção tubular de PAH e do volume urinário. Estas alterações eram reversíveis 4 a 6 horas após a sua interrupção. A administração crônica de anfotericina B, com dose diária de 0,5mg/kg/peso, ocasionou uremia crescente com morte precoce na maioria dos animais estudados. A infusão aguda em "bolus" endovenoso de 5mg/kg causou fibrilação ventricular e morte em todos os cães deste estudo[6].

Trabalho realizado em nosso laboratório demonstrou que a infusão aguda da droga (0,5mg/kg), diretamente em artéria renal de cão, acarretou acréscimo imediato na resistência vascular renal, com conseqüente queda do fluxo sangüíneo renal e do "clearance" de creatinina. Neste mesmo estudo observou-se diminuição nas capacidades de concentração e diluição urinárias[4].

Em ratos, a administração endovenosa da anfotericina B (1mg/kg em 60 minutos) causou também redução do "clearance" de inulina, do fluxo sangüíneo renal e aumento da resistência vascular renal. Houve diminuição de 55% na recuperação de inulina marcada com isótopo quando injetada na luz tubular. Estes dados falam a favor de dois efeitos distintos: um vascular, representado pela intensa vasoconstrição, e um tubular, pelo aumento da permeabilidade, demonstrado pela difusão de inulina marcada fora do túbulo[7].

Admitindo-se sua ação vasoconstritora e citotóxica, aumentando a permeabilidade da membrana celular, tanto a hipoperfusão como sua toxicidade induzem lesão tubular sinérgica, sugerindo ambos os mecanismos como os responsáveis pela nefrotoxicidade da droga.

Em estudo recente realizado *in vivo* em ratos e *in vitro* em aorta e artéria renal de coelho, observou-se efeito direto da droga sobre os vasos, independente do envolvimento do mecanismo de "feedback" tubuloglomerular. Sugere-se, baseado nestas observações, que a ação isquêmica da droga esteja relacionada, pelo menos em parte, à abertura dos canais de cálcio nas células musculares lisas vasculares[8].

EFEITO EM MEMBRANAS

A anfotericina B, assim como todos os antibióticos poliênicos, exerce sua ação antifúngica alterando a permeabilidade da membrana celular dos fungos, levando à perda de elementos intracelulares, que são essenciais à sua vitalidade. Os fungos contêm ergosterol em sua membrana, ao contrário das bactérias, e nos mamíferos as membranas celulares são ricas em colesterol. Os antibióticos poliênicos têm grande afinidade por estes lípides, formando poros intramembranosos tanto em membranas artificiais como em membranas biológicas, aumentando enormemente sua permeabilidade a íons monovalentes. Esta é a principal característica de seus efeitos nefrotóxicos, tanto na célula tubular como sua ação tóxica vascular[6,7].

EFEITOS TUBULARES

Concentração urinária

Desde o início da utilização da anfotericina B no tratamento das micoses profundas, notou-se que os pacientes apresentavam poliúria e diminuição da capacidade de concentrar a urina. Este efeito tóxico não respondia à administração de vasopressina e era reversível com a retirada da droga. Apesar de ocorrer normalização da capacidade de concentração urinária, permanecia reduzido o "clearance" de paraminoipurato, indicando uma dissociação entre sua ação vasoconstritora e o defeito de concentrar a urina. Do mesmo modo, estudo realizado em ratos mostrou que a infusão aguda de anfotericina B acarretou poliúria, que precedeu a queda do "clearance" de inulina[7].

Em virtude de este antibiótico também provocar perda de potássio pela urina, poder-se-ia sugerir que este defeito de concentrar a urina fosse devido à hipocalemia, condição sabidamente causadora desta lesão. Entretanto, em trabalhos em humanos e em ratos, com níveis normais de potássio, este efeito tóxico se manifestou[7].

Estudo recentemente realizado em nosso laboratório evidenciou que a anfotericina B bloqueou parcialmente a ação de hormônio antidiurético no ducto coletor medular interno de ratos, com a técnica de microperfusão *in vitro* deste segmento. Este efeito era reversível com a remoção da droga[5].

Acidose tubular renal

Observações clínicas realizadas no início dos anos 60 mostraram que a anfotericina B ocasiona-

va acidose metabólica compensada. Estes pacientes também não respondiam a uma carga ácida, com seu pH urinário não atingindo nível abaixo de 5,4. Tanto a acidez titulável como a excreção urinária de hidrogênio estavam reduzidas em relação a controles normais. Este defeito de acidificação urinária parece ser dose-dependente. Com moderada dose da droga não ocorre este tipo de lesão. Pacientes que receberam mais de 1g do antibiótico alteraram a acidificação de sua urina. Outra observação importante foi que o defeito de acidificação precedeu a diminuição da taxa de filtração glumerular e tornou-se reversível alguns meses após a interrupção da droga. Este dado fala a favor de que a acidose causada por este antibiótico não deve ser atribuída à insuficiência renal[6,7].

Sugere-se que o defeito de acidificação urinária induzido pela anfotericina B seja causado por um aumento da permeabilidade passiva da membrana luminal e retrodifusão do íon hidrogênio, sem grandes alterações sobre o seu transporte ativo. Trabalho experimental em ratos colabora com esta premissa, pois a alterada acidificação urinária causada pela droga é revertida quando os animais são tratados com alcalinizantes[6].

Hipocalemia

Trabalhos experimentais mostraram que a anfotericina B aumenta a permeabilidade ao potássio em membranas de hemácias e em preparações de bexiga de tartaruga. A hipocalemia é um distúrbio comum em pacientes com uso crônico deste antibiótico devido à substancial perda urinária de potássio. Há relato de nível sangüíneo até de 0,8mEq/l. As alterações na acidificação urinária, na capacidade de concentração da urina e na excreção urinária de potássio aumentada com a utilização em pacientes, induzem o conceito de que sua toxicidade seja direta nas células do túbulo distal. Resultados de biopsia renal mostram degeneração destas células com a presença de nefrocalcinose. Por outro lado, não foram encontradas alterações nas células do túbulo proximal[7].

Outros distúrbios eletrolíticos

São relatados casos de hipomagnesemia, que devem ser monitorizados em pacientes com o uso crônico da droga, assim como, mais raramente, em situações de perda de sódio e hipercalemia. Este último efeito parece ser devido à condição de infusão rápida com imediata alteração da permeabilidade da membrana celular com efluxo de potássio do interior das células para o meio extracelular. Portanto, a sua velocidade de administração necessita ser cuidadosa[6,7].

EFEITOS VASCULARES

Fluxo sangüíneo renal

Inúmeros trabalhos demonstraram efeito agudo vasoconstritor causado pela infusão de anfotericina B em artéria renal de cães e ratos, com medida direta por fluxômetro eletromagnético, inclusive estudo realizado em nosso laboratório, já referido anteriormente[4]. Esta vasoconstrição também foi mostrada por angiografia no cão, assim como ação direta *in vitro* em aorta, artéria renal e arteríola aferente de coelho[6,8].

Similares reduções do fluxo sangüíneo renal ocorreram durante administração crônica da droga em ratos e no homem. Este efeito vasoconstritor é o maior contribuinte para a queda da taxa de filtração glomerular, responsável pela uremia e grandes alterações morfológicas encontradas com a sua utilização[6,7].

Filtração glomerular

A incidência de insuficiência renal durante o tratamento com anfotericina B é bastante variável. Há citações de índices que variam de 26 até 83% de diminuição do "clearance" de creatinina e aumento dos níveis de uréia sangüínea em pacientes tratados por infecções fúngicas diversas. Entretanto, em trabalho recente, a administração deste antibiótico em pacientes sépticos, também recebendo outras drogas potencialmente nefrotóxicas, tendo evoluído para insuficiência renal, mostrou que a verdadeira contribuição do seu efeito tóxico é discutível. Um provável efeito sinérgico entre a anfotericina B e o uso concomitante de antibióticos aminoglicosídeos não foi observado em um estudo retrospectivo realizado em 50 pacientes[7].

Diversos trabalhos realizados no homem e em animais de experimentação mostraram reduções significativas do "clearance" de creatinina e de inulina, tanto durante a infusão aguda como na administração crônica da droga[4,6,7].

MEDIADORES DA AÇÃO TÓXICA VASCULAR

Muitos estudos já foram realizados para tentar explicar os possíveis mecanismos envolvidos em seu efeito nefrotóxico. Utilizou-se no cão bloqueadores ganglionares e adrenérgicos, assim como desnervou-se o rim de ratos, sem melhora de sua ação vasoconstritora. Potentes vasodilatadores, como nitroprussiato de sódio, hidralazina e fentolamina, foram ineficazes para reverter a toxicidade vascular do antibiótico. Com o uso da saralasina, bloqueador da angiotensina II, ou bloque-

ador do seu receptor, os efeitos foram mínimos, dados consistentes de que os níveis de renina não se alteram durante terapia com anfotericina B. Mais recentemente, aventou-se a hipótese do envolvimento da endotelina nesta ação vascular; entretanto, observou-se aumento dos seus níveis plasmáticos somente em ratos hipovolêmicos e não nos ratos euvolêmicos tratados cronicamente com este antibiótico. Do mesmo modo, com o uso em cão de dopamina ou fenoldopam, um agonista seletivo da dopamina DA-1, não se notou alteração no efeito tóxico. Outro trabalho recente, com a utilização de antagonista do receptor da adenosina, DPSPX, não se preveniu a vasoconstrição induzida pela droga[7].

Diversas manobras têm sido realizadas para atenuar seu efeito vasoconstritor, incluindo-se expansão com solução salina, pré-tratamento com furosemida ou verapamil, ou com administração de aminofilina, todas com a finalidade da inibição do "feedback" tubuloglomerular[6,7].

PAPEL DO "FEEDBACK" TUBULOGLOMERULAR

O "feed-back" tubuloglomerular consiste no fenômeno do aumento do fluxo ou da concentração de NaCl na mácula densa do túbulo distal, acarretando redução na filtração glomerular. Este fato é considerado como um mecanismo protetor fisiológico na regulação da excreção de água e eletrólitos. Em virtude de a anfotericina B alterar a permeabilidade em membranas artificiais e biológicas, especula-se que este efeito poderia estar associado a um maior fluxo iônico ao nível da mácula densa, provocando aumento da resistência vascular renal. Dados favoráveis a esta hipótese foram os observados nas alterações nos determinantes da ultrafiltração glomerular ocasionados tanto pela administração da droga como pela ativação do mecanismo do "feedback" tubuloglomerular. Entretanto, em estudos de micropunção, onde se bloqueou a mácula densa, não houve prevenção quanto à queda da filtração glomerular. Ademais, aventou-se a hipótese da ação direta sobre os vasos sangüíneos[6,7].

VASOCONSTRIÇÃO DIRETA

Devido à possibilidade de a anfotericina B agir diretamente no leito vascular, experimentos foram realizados em preparações isoladas *in vitro* de arteríolas aferentes, artéria renal e aorta de coelhos. Foi observado intenso efeito vasoconstritor da droga, tanto em artérias renais como na aorta, que eram revertidos perante a presença de teofilina e fator natriurético atrial. Estes resultados sugerem que na expansão de volume, onde há liberação do fator atrial, ocorra proteção de sua ação tóxica. Por outro lado, com a concentração de teofilina utilizada, sua mediação seria através da inibição da fosfodiesterase e com elevação dos nucleotídeos cíclicos intracelulares[8].

Demonstrou-se recentemente em ratos que após expansão de sal ocorre aumento da produção endógena do vasodilatador óxido nítrico. Realmente, dados preliminares recentes sugerem que a administração de L-arginina, substrato da síntese de óxido nítrico, previne a nefrotoxicidade aguda da anfotericina B em ratos[7].

PAPEL DO CÁLCIO

Trabalhos anteriores demonstraram que o verapamil protege o rim de nefrotoxicidade aguda da anfotericina B em ratos, assim como o cardizem, outro bloqueador de canal de cálcio, também apresenta efeito protetor contra a redução da filtração glomerular e do fluxo sangüíneo renal durante uso crônico da droga. Mesmo em preparações *in vitro* de aorta de coelho esta proteção é notada quando o verapamil é administrado profilaticamente[7,8].

Este antibiótico, através de sua capacidade de incorporar-se às membranas, gerando canais permeáveis a íons monovalentes, leva à despolarização da célula. Este fato permite que ocorra um influxo de cálcio para o interior da célula, efeito observado em músculo esquelético e células de bexiga de *Necturus* na presença de anfotericina B. Dessa maneira, as células musculares lisas dos vasos ficariam mais sensibilizadas à ação constritora da droga[7,8]. Entretanto, as observações até o momento apresentadas não permitem concluir um papel totalmente protetor dos bloqueadores de cálcio.

PAPEL DOS METABÓLITOS DO ÁCIDO ARAQUIDÔNICO

Através da capacidade da anfotericina B em promover a despolarização da musculatura lisa vascular, ativando os canais de cálcio, este aumento da concentração deste íon no intracelular ativa a fosfolipase A_2, que é a enzima reguladora da síntese e liberação do ácido araquidônico. Experimentos *in vitro* realizados com macrófagos de camundongo e células mononucleares humanas mostraram que, na presença do antibiótico, ocorre produção aumentada de prostaglandina E_2. Estudos *in vivo* em ratos com administração de anfotericina B evidenciaram uma elevação da atividade das prostaglandinas e, utilizando um anta-

gonista específico do receptor do tromboxano A_2, houve atenuação do efeito vasoconstritor da droga. Portanto, este metabólito do ácido araquidônico pode mediar, pelo menos em parte, a ação da anfotericina B sobre o tônus vascular[7].

PAPEL DOS RADICAIS LIVRES

A anfotericina B lisa hemácias liberando malonildialdeído, produto final da peroxidação lipídica. Esta hipótese tenta explicar que a morte celular primariamente resulta de um dano oxidativo à membrana, e que as alterações de permeabilidade formando poros ocorreriam posteriormente. Estudos *in vivo*, com infusão aguda da droga em ratos, produziram lesão pulmonar, com liberação de metabólitos oxidativos, que são bloqueados com o uso de antioxidantes. Entretanto, outros estudos não conseguiram reproduzir estes mesmos efeitos com a participação dos radicais livres na toxicidade do antibiótico[6,7].

PREVENÇÃO DA NEFROTOXICIDADE DA ANFOTERICINA B

Manitol

Trabalhos realizados na década da descoberta da anfotericina B mostraram que o manitol dado endovenosamente revertia a nefrotoxicidade da droga. Foi sugerido que sua ação seria elevando o fluxo sangüíneo renal com queda da resistência vascular renal. Entretanto, estudos posteriores em humanos não demonstraram efeito protetor, e atualmente sua utilização não é recomendada na prevenção da nefrotoxicidade da anfotericina B[6,7].

Expansão de sal

Desde o início do uso terapêutico da anfotericina B notou-se que sua nefrotoxicidade era mais intensa em pacientes hipovolêmicos. Trabalhos experimentais posteriores reforçaram a hipótese da profilaxia da sua ação tóxica quando havia suplementação com cloreto de sódio. Em estudo recente, o tratamento com anfotericina B, efetuado em pacientes portadores de leishmaniose mucocutânea, provocou queda da função renal no grupo que não recebeu solução salina endovenosa. Desse modo, sugere-se, no momento, que a melhor prevenção da sua nefrotoxicidade seja com expansão do volume extracelular[6,7].

Furosemida

Estudo realizado em cães mostrou certo efeito protetor quando se usou furosemida concomitante à infusão da anfotericina B. Em humanos, o uso deste diurético durante três dias antes do tratamento com o antibiótico provocou aumento do risco da nefrotoxicidade em doze vezes e meia, talvez devido à espoliação do volume extracelular, conferindo uma potencialidade de seu efeito tóxico[7]. Portanto, não deve ser usado em pacientes em terapia com a droga.

Pentoxifilina

Observou-se recentemente no rato que tanto aguda como cronicamente a administração da anfotericina B não provocava grandes danos renais quando se utilizava pentoxifilina, uma metilxantina ativa hemorreologicamente. Admite-se a hipótese de que esta substância atue modulando a reação inflamatória, especialmente bloqueando a ação do fator de necrose tumoral, talvez envolvido na toxicidade do antibiótico, como demonstrou-se em macrófagos de camundongo e no homem. Este fato ainda é uma suposição, não sendo conferido a esta xantina o seu uso rotineiro na profilaxia da ação tóxica da anfotericina B[6,7].

Outros

Estudos experimentais sugerem a possibilidade protetora na redução da função renal causada pela anfotericina B com o uso de aminofilina, bloqueadores dos canais de cálcio e bicarbonato de sódio. No homem, ainda é controverso seu uso, apenas sendo indicada profilaxia com expansão do volume extracelular.

ADMINISTRAÇÃO DA ANFOTERICINA B

Relatos da literatura sugerem que a infusão da anfotericina B deve ser lenta e efetuada uma vez ao dia, diluída em soro glicosado a 5%. Este fato é baseado em estudos experimentais no cão quando a administração em "bolus" acarretou maior queda da filtração glomerular e lesões histopatológicas mais graves. Trabalhos recentes mostraram que após infusão rápida da anfotericina B pode-se induzir hipertensão maligna, dado particularmente importante para se evitar este tipo de administração[6,7].

OUTRAS FORMULAÇÕES DA ANFOTERICINA B

Com o objetivo de atenuar os efeitos tóxicos da anfotericina B, sobretudo a nefrotoxicidade, foi modificada a sua estrutura molecular com o surgimento da anfotericina metilester, que, apesar de reduzir esta toxicidade em até oito vezes ou mais, determinou grave leucoencefalopatia, motivo pelo qual deixou de ser utilizada na prática médica[9].

Na última década, vários métodos foram propostos para a substituição de seu veículo, o deoxicolato de sódio, devido à sua conhecida citotoxicidade, com a utilização das vesículas de lipossomos ou fosfolípides. A incorporação da anfotericina B em lipossomos tem reduzido a sua toxicidade *in vitro* e *in vivo* viabilizando o uso de maiores doses da droga, potencializando assim o seu efeito terapêutico. Demonstrou-se recentemente que a emulsão de anfotericina B e "intralipid" reduziu parcialmente o efeito do antibiótico na capacidade de concentração urinária de ratos. Entretanto, em outros estudos foi relatada a ocorrência de hipocalemia em pacientes recebendo anfotericina B lipossomal. Outros autores mostraram diminuição da toxicidade aguda do preparado anfotericina B/"intralipid" em pacientes neutropênicos[10].

Trabalho realizado em nosso laboratório, utilizando preparações *in vivo* e *in vitro*, com suspensão de túbulos proximais de ratos, mostrou proteção da função glomerular, com redução da fração de excreção de potássio, quando usou a anfotericina B em emulsão lipídica. Vale salientar que o poder fungicida e fungistático da droga parece estar preservado[11].

CONCLUSÃO

A anfotericina B é um agente macrolídeo poliênico com grande atividade antifúngica, em uso terapêutico há quatro décadas. Sua principal toxicidade é manifestada sobre os rins, provocando aumento dos níveis de uréia e creatinina por queda da filtração glomerular, diminuição da capacidade de concentração manifestada sobre os rins, provocando aumento dos níveis de uréia e creatinina por queda da filtração glomerular, diminuição da capacidade de concentração urinária, presença de acidose tubular renal e perda urinária de potássio. Danos histopatológicos são evidentes com a administração de doses elevadas, com possibilidade de lesões permanentes. Infusão em animais e no homem causa vasoconstrição renal com concomitante redução da filtração glomerular. Devido à capacidade de alterar a permeabilidade da musculatura lisa dos vasos, pode levar a uma despolarização da célula, com resultante abertura dos canais de cálcio e contração muscular. Este aumento da concentração de cálcio intracelular pode ativar o metabolismo do ácido araquidônico, levando a um acúmulo de substâncias vasoativas com efeito vasoconstritor. Portanto, esta ação constritora poderia ser postulada como produto final de um aumento da permeabilidade da membrana celular. Seria ou por ativação do mecanismo do "feedback" tubuloglomerular ou ação direta vascular. O uso de manitol é ineficaz na proteção de sua toxicidade. Por outro lado, somente a expansão de sal é capaz de oferecer atenuação de seus efeitos em humanos. O uso de bloqueadores dos canais de cálcio e aminofilina necessita de futuros estudos prospectivos. A nova formulação da anfotericina lipossomal é um agente promissor na preservação da função renal quando da necessidade de sua utilização em pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BUTLER WT, BENNET JE, ALLING DW, WERTLAKE PT, UTZ JP, HILL GJ: Nephrotoxicity of amphotericin B – early and late effects in 81 patients. *Ann Intern Med* 61:175-187, 1964.
2. BURGESS JL, BIRCHALL R: Nephrotoxicity of amphotericin B, with emphasis on changes in tubular function. *Am J Med* 53:77-84, 1972.
3. CHENG JT, WITTY RT, ROBINSON RR, YARGER WE: Amphotericin B nephrotoxicity: Increased renal resistance and tubule permeability. *Kidney Int* 22:626-633, 1982.
4. MONTEIRO JL, SEGURO AC, ROCHA AS: Nefrotoxicidade aguda da anfotericina B no cão. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 48:54-59, 1993.
5. YANO Y, MONTEIRO JL, SEGURO AC: Effect of amphotericin B on water and urea transport in the inner medullary collecting duct. *J Am Soc Nephrol* 5:68-74, 1994.
6. CARLSON MA, CONDON RE: Nephrotoxicity of amphotericin B. *J Am Coll Surg* 179:361-381, 1994.
7. SAWAYA BP, BRIGGS JP, SCHNERMANN J: Amphotericin B nephrotoxicity: the adverse consequences of altered membrane properties. *J Am Soc Nephrol* 6:154-164, 1995.
8. SAWAYA BP, WEIHPRECT H, CAMPBELL WR, LORENZ JN, WEBB RC, BRIGGS JP, SCHNERMANN J: Direct vasoconstriction as a possible cause for amphotericin-B-induced nephrotoxicity in rats. *J Clin Invest* 87:2097-2107, 1991.
9. CAPASSO G, SCHUETZ H, VICKERMANN B, KINNE R: Amphotericin B and amphotericin methylester: effect on brush border membrane permeability. *Kidney Int* 30:311-317, 1986.
10. MOREAU P, MILPIED N, FAYETTE N, RAMÉE JF, HAROUSSEAU JL: Reduced renal toxicity and improved clinical tolerance of amphotericin B mixed with intralipid compared with conventional amphotericin B in neutropenic patients. *J Antimicrob Chemother* 30:535-541, 1992.
11. DOREA EL, YU L, CASTRO I, CAMPOS SB, SEGURO AC: Nephrotoxicity of amphotericin B (AB) is attenuated by solubilizing with lipid emulsion. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 6:996, 1995.

21

AVANÇOS DA BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR NA INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA

Mirian A. Boim
Oscar Fernando Pavão dos Santos
Nestor Schor

INTRODUÇÃO

A insuficiência renal aguda nefrotóxica ou isquêmica é um evento tipicamente transitório e que causa graus variáveis de dano renal, em especial ao epitélio tubular renal, podendo entretanto tornar-se irreversível. Este processo geralmente se associa a uma descamação das células epiteliais, seguida por um rápido período de proliferação celular e processos de reparação. Portanto, os processos celulares e moleculares envolvidos na fisiopatologia da insuficiência renal aguda (IRA) compreendem basicamente duas etapas. A primeira relaciona-se com a fase de instalação da IRA: este processo é caracterizado por alterações de diversos fatores celulares responsáveis pelo funcionamento normal da célula, como por exemplo redução dos níveis de ATP, liberação de espécies reativas de oxigênio, aumento na concentração de cálcio intracelular, ativação de fosfolipases, perda da polaridade celular, etc. A segunda etapa relaciona-se com a fase de reperfusão (após isquemia) e de recuperação da IRA: esta fase se caracteriza por normalização dos fatores citoplasmáticos com normalização ou não das atividades celulares, bem como pela proliferação celular, em especial quando a extensão da lesão atingir proporções maiores, levando à morte celular. Assim, a recuperação celular após a lesão é, na maioria das vezes, mediada por aumento na síntese de DNA[1,2], bem como por modificações na expressão gênica de diversas proteínas celulares, principalmente fatores de crescimento[3,4]. Neste capítulo, serão abordados os principais mecanismos celulares e moleculares envolvidos nestes dois processos.

FASE DE INSTALAÇÃO DA IRA

As alterações celulares e moleculares causadas por lesões isquêmicas/hipóxicas ou nefrotóxicas levando à IRA são bastante complexas e variam de acordo com a extensão e o tipo de dano. Entretanto, na maioria dos casos, a via final comum é a morte celular, levando à necrose tubular aguda. Atualmente está bem estabelecido que a morte celular pode envolver pelo menos dois mecanismos, a necrose e a apoptose (morte celular programada).

O mecanismo de necrose é bastante distinto da apoptose. Na necrose, a membrana citoplasmática é o principal local de dano celular, tornando a célula incapaz de manter a homeostase intracelular. O resultado é a perda da regulação osmótica com aumento do volume intracelular, levando à ruptura da membrana. O conteúdo celular invade o tecido adjacente provocando uma resposta inflamatória[5,6]. Ao contrário, a "morte celular programada" ou apoptose envolve primariamente alterações nucleares com condensação da cromatina e do citosol, fragmentação do DNA por ação de enzimas nucleares (endonucleases), desaparecimento dos microvilos e aparecimento de pequenas vesículas a partir da membrana citoplasmática, as quais englobam o citosol condensado e fragmentos do núcleo. Estas vesículas, chamadas de corpos apoptóticos, são então fagocitadas por macrófagos[7].

O mecanismo da apoptose está envolvido em diversos processos fisiológicos, como no "turnover" normal da célula[8] e no desenvolvimento embrionário[9,10,11], em processos fisiopatológicos,

como por exemplo na irradiação terapêutica[12,13], infecções virais[14,15,16], neoplasias[17,18], estresse oxidante[19,20], etc.

Nos mamíferos o controle genético da apoptose é feito pelos genes *ced-3* e *bcl-2*. O *bcl-2* é um proto-oncogene que inibe a maioria dos processos apoptóticos. Em um relato preliminar, Ortiz e cols[21] descreveram uma redução de 50-60% nos níveis de RNAm do gene *blc-2*, 48 horas após administração de ácido fólico. Estes resultados preliminares estão de acordo com a hipótese de que na IRA o mecanismo de apoptose ocorre preponderantemente nas fases mais tardias de reperfusão[19,22,23]. Estudos mais recentes mostram que, na fase de instalação da insuficiência renal aguda, a morte celular não é mediada por processo de apoptose, uma vez que a fragmentação do DNA não precede a necrose tubular após isquemia renal[24,25]. Portanto, a apoptose não seria o mediador primário da morte celular, mas sim uma conseqüência, uma vez que a quebra do DNA ou a apoptose pode ser detectada nos períodos pós-isquemia ou de reperfusão[19,20,22,23]. Assim, as manifestações celulares iniciais, em resposta a uma lesão isquêmica ou tóxica, envolvem primariamente um desequilíbrio bioquímico e estrutural, comprometendo a integridade celular e levando à necrose.

ATP

A redução dos níveis intracelulares de ATP é um evento precoce resultante da isquemia, da hipoperfusão e da hipóxia. O ATP celular é produzido por fosforilação oxidativa na mitocôndria e pela glicólise, sendo que a redução na oxigenação diminui a produção de ATP pela mitocôndria mas não interfere com a via glicolítica. Como o ATP produzido no túbulo proximal depende predominantemente da mitocôndria, este segmento de néfron é geralmente mais suscetível às lesões isquêmicas[26]. Os efeitos imediatos da depleção de ATP são: redução da atividade da ATPase da membrana citoplasmática, desequilíbrio nas concentrações intracelulares de Na^+, K^+ e Ca^{++} e edema celular[27].

Ca^{++} intracelular

Há evidências de que o íon Ca^{++} seja um dos mediadores mais importantes do desequilíbrio funcional, bioquímico e morfológico que caracteriza a IRA. A manutenção do meio intracelular adequado para a função normal da célula é controlada através de um equilíbrio entre os transportes iônico passivo e ativo. O transporte ativo é normalmente mediado pelas bombas iônicas, como por exemplo a Na^+-K^+-ATPase e Ca^{++}-ATPase. A atividade destas bombas é altamente dependente da disponibilidade de substratos energéticos, principalmente o ATP. Durante os eventos isquêmicos, a redução dos níveis intracelulares de ATP provoca diminuição da atividade destas bombas. Da mesma forma, várias toxinas também podem diminuir a atividade destas bombas, diretamente por seu efeito tóxico ou indiretamente via redução dos níveis de ATP. A resultante acumulação intracelular de íons leva ao aumento de influxo de água e edema celular, enfraquecendo ainda mais os mecanismos de transporte[28,29]. Uma questão interessante é saber se o aumento da concentração de cálcio intracelular precede o dano letal à célula ou se este aumento ocorreria apenas nas células irreversivelmente danificadas.

Recentemente, Kribben e cols[30] demonstraram, em elegante estudo experimental, que períodos tão curtos quanto 5 minutos de hipóxia em túbulos renais foram suficientes para induzir aumentos substanciais no cálcio citosólico, sugerindo que a elevação na concentração de cálcio ionizável ($Ca^{++}i$) precede o desenvolvimento de dano celular irreversível, sendo portanto um fator iniciador da lesão. Um mecanismo de compensação, ainda que limitado, na tentativa de manter níveis reduzidos de $Ca^{++}i$ na IRA, é a ligação do Ca^{++} livre a ânions e organelas citoplasmáticas, principalmente a mitocôndria[31]. Em situações normais, o retículo endoplasmático tem papel preferencial sobre a mitocôndria na retirada de cálcio do citosol, tamponando as elevações citoplasmáticas deste íon[32,33]. A retirada de cálcio pela mitocôndria torna-se substancial somente quando os níveis citosólicos de cálcio excedem em 500nM[34], como ocorre na célula danificada por isquemia ou por agentes tóxicos. Quando a mitocôndria se torna saturada, o Ca^{++} é novamente liberado para o citosol, podendo ser este um marcador de dano celular irreversível[29,35], uma vez que o metabolismo do Ca^{++} tem papel vital em diversas funções celulares. A depleção de ATP induz a aumentos no Ca^{++} citosólico devido a dois mecanismos básicos, ou seja, a entrada através da membrana plasmática e a liberação pelo retículo endoplasmático[36]. Diferentemente do aumento transitório e fisiológico de $Ca^{++}i$, observado com a estimulação hormonal por exemplo, durante um evento isquêmico, o $Ca^{++}i$ se eleva de maneira persistente e progressiva[36], induzindo um aumento patológico na concentração de $Ca^{++}i$, o que resulta na ativação continuada de diversas enzimas, em especial as fosfolipases, as quais liberam ácidos graxos insaturados da mem-

brana citoplasmática[37,38]. Em condições fisiológicas normais, uma porção dos ácidos graxos insaturados é reincorporada na membrana celular envolvendo gasto de energia. Em situações de elevação anormal do $Ca^{++}i$, como aquelas observadas durante eventos isquêmicos, ocorre associação de dois fenômenos: aumento da atividade da fosfolipase A_2 dependente de cálcio[23,39] e redução da incorporação dos ácidos graxos na membrana citoplasmática, comprometendo as estruturas do citoesqueleto[23]. Adicionalmente, este mecanismo de lesão celular se associa à liberação de vários metabólitos vasoativos derivados dos ácidos graxos, como as prostaglandinas e os leucotrienos, com conseqüente alteração do tônus vascular, agregação plaquetária e função tubular[40].

O cálcio também desempenha papel importante nas alterações da hemodinâmica glomerular observadas em vários modelos de IRA. Diversas nefrotoxinas são capazes de modificar o ritmo de filtração glomerular por induzir alterações em vários dos determinantes da filtração glomerular, de maneira geral hormônio-mediadas, incluindo modificação do tônus vascular das resistências das arteríolas aferente e eferente e contração da célula mesangial levando a redução do coeficiente de ultrafiltração glomerular (Kf)[41-46]. Vários estudos experimentais mostram que o cálcio é um dos mediadores destas alterações, uma vez que elas podem ser revertidas ou minimizadas pela utilização de antagonistas dos canais de cálcio[41,43,44]. A contração da célula mesangial, geralmente iniciada pela interação de hormônios vasoconstritores aos seus receptores ou pela ação direta de toxinas, é mediada preponderantemente pelo aumento do Ca^{++} intracelular. Em recente estudo, Hadad e cols[47] demonstraram que o agente imunossupressor FK 506 provoca aumento na concentração de Ca^{++} em células mesangiais em cultura, desencadeando eventos cujo efeito biológico final é a contração destas células, levando à redução do Kf e, portanto, da área glomerular disponível para a filtração.

"Heat shock proteins"

O aparecimento das chamadas proteínas do choque térmico ou "heat shock proteins" (HSP) foi inicialmente associado à capacidade adquirida pela célula, de termotolerância, uma adaptação que permite a sua sobrevivência a novas exposições ao calor, a qual seria letal na ausência destas proteínas[48,49]. Atualmente se sabe que as HSP são induzidas por vários estímulos endógenos (divisão celular, fertilização) e exógenos (calor, toxinas, estresse oxidante) na maioria das células eucarióticas[49,50,51,52]. Particularmente, o rim tem a capacidade de sintetizar HSP, e evidências sugerem que o rim pode adquirir resistência a certos tipos de reincidência tóxica como por aminoglicosídeos, metais pesados ou glicerol[53], bem como a isquemia e a lesão oxidativa[54,55,56]. Em estudo mais recente, Van Why e cols[57] demonstraram que uma redução de 50% na concentração de ATP no córtex renal é necessária para que a resposta ao estresse seja detectável, através da indução na síntese de RNAm das HSP, com potencialização da resposta para decréscimos adicionais nos níveis de ATP. Estes resultados foram obtidos precocemente e durante a isquemia e, portanto, a reperfusão não seria necessária para o início da resposta ao estresse isquêmico. Assim, na dependência da intensidade do estresse tóxico ou isquêmico, mecanismos imprescindíveis para a recuperação celular são ativados, ainda na fase inicial ou de instalação da IRA.

Alterações morfológicas

O epitélio tubular renal é polarizado, formando um sistema estrutural e funcionalmente complexo, responsável por funções críticas envolvidas na manutenção da homeostase intracelular, como a reabsorção do filtrado glomerular, solutos e água, secreção de bioprodutos metabólicos, manutenção do equilíbrio acidobásico e regulação do volume intracelular. O dano deste epitélio produzido por lesões isquêmicas ou agente tóxicos pode, portanto, afetar criticamente estas funções vitais. As alterações morfológicas mais precoces observadas na IRA isquêmica incluem a perda da borda "em escova" e a formação de vesículas na membrana apical[23]. Estas alterações são conseqüências de um desequilíbrio do citoesqueleto da célula, o qual é composto, entre outros elementos, por feixes de actina, que formam uma complexa rede de microfilamentos. O ATP é necessário para a manutenção e a regulação do citoesqueleto[58,59] e, portanto, a depleção de ATP provoca profundas alterações na ultra-estrutura da actina[60,61]. Estas alterações são reversíveis à medida que os níveis de ATP intracelular são restabelecidos, indicando que as modificações nos microfilamentos de actina ocorrem em células danificadas mas que ainda são viáveis e precedem a lesão letal[62]. As conseqüências diretas da desestruturação do citoesqueleto incluem perda da polaridade celular, alteração das junções intercelulares ("tight junctions") e dos microvilos que constituem a borda "em escova" do túbulo proximal, bem como a perda da capacidade de adesão célula-célula e célula-substrato[26].

Uma lesão isquêmica moderada, mesmo que por um curto período de tempo, é suficiente para induzir um redirecionamento da bomba Na^+-K^+-APTase, normalmente presente na membrana basolateral, direcionando-se para a membrana apical da célula[58,63], desequilibrando assim a estrutura altamente polarizada do epitélio tubular. A redistribuição da Na^+-K^+-APTase está associada ao desequilíbrio dos microfilamentos de actina e à abertura das "tight junctions"[58]. Como conseqüência, os lípides da membrana e as proteínas se difundem lateralmente dentro da bicamada, atingindo outras regiões. A importância funcional deste movimento se deve ao fato de que as membranas apical e basolateral possuem composições e propriedades distintas. Assim, a membrana apical (luminal) se relaciona mais com a reabsorção de água, íons e macromoléculas, enquanto a membrana basolateral está envolvida com a manutenção da homeostase e sinalização intracelular[58,64,65]. Funcionalmente, a perda da polaridade celular é responsável, em parte, pela redução na reabsorção de Na^+, água e outro solutos. Apesar de a perda da polaridade ser rapidamente reversível[58], a restituição da polaridade depende mais diretamente da remodelação das membranas apical e basolateral das células subletalmente afetadas do que da proliferação celular[66]. Mais ainda, a repolarização epitelial parece envolver a reciclagem da Na^+-K^+-ATPases deslocadas em direção ao seu local correto (membrana basolateral) do que a síntese "de novo"[67].

Um número importante de proteínas de membrana está acoplado aos componentes do citoesqueleto, incluindo as moléculas de adesão[68,69,70]. Uma conseqüência morfológica bastante comum da IRA é o descolamento das células do epitélio tubular, devido à perda da capacidade de adesão célula-célula e célula-matriz[71]. Os eventos moleculares relacionados à perda da capacidade de adesão celular provavelmente envolvem alterações na estrutura, função e distribuição das moléculas de adesão e proteínas de ligação[71,72]. As células epiteliais encontram-se aderidas umas às outras, formando um sistema epitelial intacto e funcionante. Este tipo de ligação envolve não somente a adesão célula-célula, mas também célula-substrato, fazendo o contato entre a célula, a matriz extracelular e a membrana basal[71]. As entidades responsáveis por este tipo de ligação compreendem um substancial número de moléculas, incluindo a família das integrinas, moléculas de adesão celular como L-CAM (uvomorulina, "E-cadherin") e A-CAM (membro da família da "N-cadherin"). Evidências experimentais começam a se acumular mostrando o impacto de uma lesão isquêmica ou nefrotóxica sobre a expressão e a distribuição das moléculas de adesão. Conforme comentado anteriormente, a depleção de ATP induz importantes alterações no citoesqueleto, cujos componentes interagem com as moléculas de adesão, e, portanto, o rompimento desta interação pode resultar em desequilíbrio destas moléculas. Em estudo utilizando células epiteliais submetidas à depleção energética, foi demonstrado que a "E-cadherin", normalmente presente na superfície da membrana plasmática, é parcialmente internalizada[73]. Entretanto, as alterações mais profundas na distribuição e expressão destas moléculas ocorrem após a reperfusão.

FASE DE REPERFUSÃO

Nas situações de IRA isquêmica é freqüente a dificuldade em distinguir os danos causados pela própria isquemia daqueles causados pela reperfusão. Este fato ocorre porque os efeitos da reoxigenação súbita podem produzir danos adicionais à célula, por mecanismos que envolvem a formação de espécies reativas de oxigênio, aumento do influxo de cálcio e reversão abrupta da acidose intratubular[74]. As alterações celulares mais importantes induzidas pela isquemia/toxicidade e reperfusão estão resumidas no quadro 21.1.

Quadro 21.1 – Alterações de fatores celulares durante a isquemia e reperfusão.

Isquemia	Reperfusão
– Depleção e degradação de ATP	– Formação de espécies reativas de oxigênio
– Desorganização do citoesqueleto	– ↑↑Ca^{++}
– ↑CA^{++} intracelular	– ↑Ativação de fosfolipases
– Ativação de fosfolipases	– Ativação de proteases
– Edema celular	– Alcalinização celular
– Acidificação intracelular	– Infiltração de células inflamatórias

O paradoxo da reoxigenação baseia-se no fato de que a célula não pode sobreviver sem o suprimento adequado de oxigênio, mas também pode ser intensamente danificada quando, após deprivação durante uma lesão isquêmica ou tóxica, o suprimento de oxigênio é restaurado abruptamente. Os mediadores mais importantes na lesão causada pela reoxigenação são os radicais livres ou as chamadas espécies reativas de oxigênio, que incluem o ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e a hidroxila[75-77]. Um radical livre é um átomo ou molécula que possui um ou mais elétrons despareados. No evento isquemia/reper-

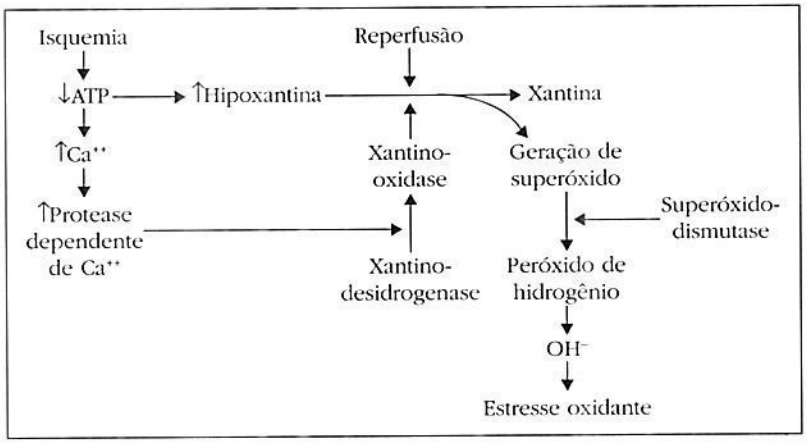


Figura 21.1 – Evento isquemia/reperfusão renal. Liberação de radicais superóxidos.

fusão renal, estes radicais livres são provenientes principalmente da conversão de hipoxantina (metabólito do ATP) em xantina, através da enzima xantino-oxidase, com a liberação de radicais superóxidos (Fig. 21.1). A enzima superóxido-dismutase converte estes radicais superóxidos em peróxido de hidrogênio, o qual é posteriormente convertido na mais reativa espécie de oxigênio, o radical hidroxila (OH^-).

As espécies reativas de oxigênio têm vários efeitos deletérios sobre as células, incluindo a oxidação lipídica, oxidação de proteínas celulares e lesão do DNA[78]. O papel dos radicais livres na lesão celular provocada pela reperfusão foi sugerido e comprovado através da utilização de agentes antioxidantes (glutation, deferoxamina, etc.)[79-81] ou de agentes que metabolizam os radicais livres (catalase, glutation-peroxidase, etc.)[82], cuja administração atenua o dano celular causado pela reperfusão[1].

Conforme mostrado no quadro 21.1, a reperfusão induz aumentos adicionais na concentração já elevada de Ca^{++} intracelular[1]. Existem, por outro lado, interações importantes entre o cálcio e a formação de espécies reativas de oxigênio durante a reperfusão, sendo uma das mais importantes a conversão da xantino-desidrogenase em xantino-oxidase, cuja reação é catalisada por uma protease ativada pelo complexo cálcio-calmodulina[75] (Fig. 21.1). Assim, inibidores de calmodulina e dos canais de cálcio reduzem a formação de radicais superóxido e, portanto, a lesão celular.

pH intracelular

Durante a isquemia, a hidrólise do ATP leva ao acumulo de H^+ intracelular. Adicionalmente, a redução do pH também pode ser conseqüência da glicólise, a qual leva à formação de ácido láctico. A acidose intracelular foi inicialmente considerada um dos efeitos maléficos da hipóxia, devido à ativação de enzimas proteolíticas em pH ácidos[26]. Entretanto, evidências mais recentes sugerem que a acidose intracelular, na intensidade provocada pela isquemia, pode, na realidade, ter um papel citoprotetor[83-87]. A rápida correção do pH durante a reperfusão é que pode, na verdade, contribuir para a lesão celular. Este paradoxo, ainda não totalmente esclarecido, parece envolver mecanismos multifatoriais, incluindo a inativação de enzimas hidrolíticas, ativadas em pH ácidos, como por exemplo a fosfolipase A_2 e a normalização da afinidade do Ca^{++} pela calmodulina, enfraquecida pela redução do pH[23-26].

FASE DE RECUPERAÇÃO DA IRA

O fenômeno da recuperação da IRA deve-se à capacidade de regeneração e diferenciação das células tubulares, restabelecendo um epitélio íntegro e funcionante. Mesmo em situações mais graves, onde 90% das células epiteliais do túbulo proximal são destruídas, os 10% das células remanescentes são capazes de entrar em processo de proliferação, recompondo o epitélio tubular. Independentemente do dano inicial isquêmico ou tóxico[88-92], as células remanescentes aumentam a síntese de ácidos nucléicos e entram em mitose. Em estudo recente, Witzgall e cols[93] demonstraram que o processo de proliferação celular após isquemia se inicia a partir de células remanescentes do epitélio tubular, que funcionam como células progenitoras, com capacidade de desdiferenciar, dividir e rediferenciar formando um epitélio com células maduras e funcionantes.

O processo de proliferação celular se inicia precocemente após a lesão, por estímulo de vários fatores de crescimento e citocinas, sintetizados e liberados das próprias células danificadas, bem como de células inflamatórias[94] atraídas ou ativadas na região lesada. A infiltração de células inflamatórias e a ativação de macrófagos, com liberação dos fatores de crescimento, estão bem estabelecidas após agressão tóxica ou isquêmica[95,96]. Vários fatores de crescimento, incluindo TGF-α, TGF-β, PDGF, EGF, IGF-I e HGF, têm papel importante nos processos regenerativos do rim[97,98]. Um dos mais potentes mitógenos de células do túbulo proximal é o "transforming growth factor α" (TGF-α). Originado de macrófagos ativados, ele estimula a divisão celular através de interação com receptores do fator de crescimento epidérmico (EGF)[99]. A administração exógena de EGF ou TGF-α acelera os processos regenerativos e a recuperação da função renal em animais expostos a isquemia ou agentes tóxicos[100-103]. O fator de crescimento insulina-"like" (IGF-I), interagindo com receptores específicos, apresenta vários efeitos biológicos, incluindo a proliferação celular e a diferenciação de células mesodérmicas[99,104], tendo participação crítica na nefrogênese[105]. Embora os níveis de RNAm do IGF-I e seu receptor aumentem após isquemia[106], e sua administração em células em cultura aumente a síntese de DNA[107], seu efeito mitogênico é menor do que aquele produzido pelo EGF, sugerindo que este fator tem um efeito modesto sobre a proliferação das células tubulares. O fator de crescimento derivado de hepatócitos (HGF) representa um componente importante nos processos regenerativos do epitélio tubular após insuficiência renal aguda, uma vez que tanto os níveis de RNAm como a atividade do HGF aumentam precocemente (6 horas) após lesão tóxica ou isquêmica[108]. Tanto o RNAm quanto a proteína HGF estão localizados em células endoteliais, intersticiais e macrófagos, mas não nas células tubulares[99], indicando que o HGF é fonte parácrina de estimulação ao crescimento de células renais.

As células quiescentes ou não proliferantes encontram-se na chamada fase G_0 do ciclo celular, onde a síntese de DNA é relativamente reduzida. Células em cultura, quando estimuladas por fatores de crescimento como PDGF, EGF, IGF, HGF, entre outros, proliferam-se. Assim, os fatores de crescimento interagem com seus respectivos receptores, desencadeando uma cascata de sinais intracelulares induzindo a célula a sair da fase G_0 e entrar na fase G_1, iniciando o processo de divisão. Durante a transição da fase G_0 para a fase G_1, a aparência das células não se modifica de maneira substancial. Entretanto, ocorre nesta fase a estimulação de vários genes ("immediate early genes"), os quais possibilitarão a continuidade do ciclo celular[109]. Terminada a transição da fase G_0 para a fase G_1 do ciclo celular, inicia-se, na fase G_1, a síntese de novas proteínas e RNAm que serão cruciais para a continuidade da fase G_1 e entrada na fase S, quando então a síntese de DNA ocorre. O antígeno nuclear de proliferação celular ("proliferating cell nuclear antigen" – PCNA) é um marcador da transição G_1-S do ciclo celular. Assim, os núcleos que se coram positivamente para PCNA identificam uma população de células em mitose. Núcleos PCNA-positivos são claramente detectáveis 24 e 48 horas pós-isquemia em túbulos proximais[93], em especial na região S_3.

Assim, os mecanismos pelos quais os fatores de crescimento levam a célula a se dividir são bastante complexos e incluem uma série de sinalizações intracelulares que induzem a transcrição e a expressão de diversos genes[110]. Os primeiros genes a serem transcritos são chamados de "immediate early genes" ou genes precoces, cuja expressão se inicia quase imediatamente após um estímulo mitogênico, tem uma ação bastante rápida e precede, de uma maneira geral, o pico de síntese de DNA[111]. Alguns destes genes precoces codificam proteínas nucleares ou proteínas de ligação a regiões regulatórias do DNA desencadeando uma cascata genética que termina com a divisão celular. A expressão de diversos destes genes precoces tem sido investigada em diversas formas de IRA, isquêmica e nefrotóxica.

Os eventos lesão-recuperação estão associados a alterações em muitos destes genes, cujas funções são variadas. Após a lesão renal ocorre aumento na expressão dos genes *c-fos*[2,90,112,113], *c-myc*[113,114], *Erg-1*[90,112], e redução do gene Kid-1[115]. Um outro grupo de genes precoces são os pertencentes à classe dos genes citocina-"like", que também têm sua transcrição aumentada pós-isquemia[116]. A expressão destes genes, *KC* e JE***, codifica pequenas glicoproteínas com potente ação quimiotática e mitogênica[116,117].

A expressão destes genes é estimulada por vários agentes que potencializam a divisão celular. Entretanto, estímulos outros que levam a ativação e diferenciação da célula mas que não estão ligados à divisão celular também aumentam a

* Gene quimiotático para monócitos e células musculares lisas.

** Proteína quimiotática para neutrófilos, membro da superfamília de proteínas que incluem o fator 4 plaquetário e o peptídeo III ativador do tecido conectivo.

sua expressão[110]. Um exemplo disso é a observação de que os genes *c-fos* e *Erg-1* são induzidos pela despolarização celular, secundária à depleção energética da célula[118], e, portanto, esta expressão pode estar dissociada da resposta mitogênica. Em trabalho recente, Megyesi e cols[119] demonstraram que os genes *c-fos* e *c-jun* são expressos 24 horas após isquemia; contudo, a localização ocorreu predominantemente em células da alça espessa ascendente, túbulo distal e ducto coletor, ou seja, células que tipicamente são menos lesadas do que aquelas do túbulo proximal e que não proliferam após lesão isquêmica. De forma semelhante, os genes *JE* e *KC* também se expressam predominantemente em célula da alça ascendente espessa após uma lesão isquêmica[116], mais do que no segmento S_3 do túbulo proximal, onde conhecidamente as células são mais danificadas pela isquemia. O significado da expressão destes genes, principalmente nas porções distais do néfron, não está claro, mas há sugestões de que os produtos dos genes precoces seriam secretados pelo néfron distal atuando nas células do túbulo proximal, aumentando a sua capacidade de renegeração.

A expressão de vários outros genes não relacionados diretamente com a divisão celular também está alterada na insuficiência renal aguda (Quadro 21.2). Os níveis de produção da proteína de Tamm-Horsfall estão reduzidos na IRA[119]. Da mesma forma, a expressão de renina e de superóxido-dismutase também está diminuída[2], enquanto as "heat shock proteins"[56] e as proteínas relacionadas ao citoesqueleto como a clusterina[93] estão aumentadas. Embora estas alterações estejam relativamente bem caracterizadas na IRA, sua contribuição na resposta regenerativa do epitélio tubular é desconhecida.

Quadro 21.2 – Expressão de genes durante a regeneração.

	Gene	Modelo	Direção
Fatores de transcrição			
	c-fos	Cisplatina	↑
		Isquemia	↑
		Ácido fólico	↑
	c-myc	Ácido fólico	↑
	c-jun	Isquemia	↑
	Erg-1	Isquemia	↑
	Kid-1	Isquemia	↓
		Ácido fólico	↓
Citocinas			
	KC	Isquemia	↑
	JC	Isquemia	↑
Genes estruturais			
	Actina	Isquemia	↑
		Ácido fólico	↑
	Vimentina	Isquemia	↑
Sinalização			
	Ki-ras (proteína G)	Ácido fólico	↑
	Ha-ras	Ácido fólico	↑
	c-ros (tirosina quinase)	Isquemia	↑
Fatores de crescimento			
	HGF	Isquemia	↑
	EGF	Isquemia	↓
		Cisplatina	↓
	IGF-I	Isquemia	↑
Genes associados a lesão			
	"Heat shock protein"	Isquemia	↑
	Clusterina	Isquemia	↑
		Glicerol	↑
Outros			
	Tamm-Horsfall	Isquemia	↑
	Renina	Isquemia	↑
	Endotelina	Isquemia	↑

Embora a insuficiência renal aguda isquêmica ou tóxica seja, na maioria das vezes, reversível, em alguns casos esta recuperação é lenta, podendo inclusive não ocorrer, o que contribui para a elevada taxa de mortalidade, em torno de 50%, a qual não tem se modificado nos últimos 40 anos, apesar dos avanços no entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na gênese da IRA. Portanto, os objetivos principais do estudo da insuficiência renal aguda incluem a prevenção ou a minimização de seus efeitos e a maximização dos processos regenerativos. A prevenção ou a redução da lesão renal depende de um melhor entendimento dos mecanismos que levam à morte celular, bem como dos componentes vasculares que podem prolongar a isquemia, comprometendo mais seriamente o tecido renal.

Com relação aos processos regenerativos, a administração sistêmica de fatores de crescimento tem mostrado um aumento na capacidade e na velocidade de renegeração do epitélio renal em animais de experimentação, embora alguns destes fatores desencadeiem efeitos colaterais indesejáveis, como por exemplo a vasoconstrição renal induzida pelo EGF[120] e a hipoglicemia provocada pelo IGF[121], o que poderia limitar o uso clínico destes fatores. Adicionalmente, o estudo dos genes que controlam o ciclo celular deverá trazer avanços nos conhecimentos dos processos regenerativos, à medida que se consiga controlar a expressão de genes no sentido de estimular a expressão de genes benéficos e bloquear a expressão daqueles com efeitos deletérios, de tal maneira que um equilíbrio induzido exogenamente possa acelerar a regeneração estrutural e funcional do rim.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CUPPAGE FE, CUNNINGHAM N, TATE A: Nucleic acid synthesis in the regenerating nephron following injury with mercuric chloride. *Lab Invest* 21:449-457, 1969.
2. ROSENBERG ME, PALLER MS: Differential gene expression in the recovery from ischemic renal injury. *Kidney Int* 39:1156-1161, 1991.
3. HUMES HD, CIESLINSKI DA, COIMBRA TM, MESSANA JM, GALVÃO C: Epidermal growth factor enhances renal tubule cell regeneration and repair and accelerates the recovery of renal function in postischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 84:1757-1761, 1989.
4. SAFIRSTEIN R: Gene expression in nephrotoxicity and ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 4:1387-1395, 1994.
5. KERR JFR, WYLLIE AH, CURRIE AR: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide range implication in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239-257, 1972.
6. WYLLIE AH: Apoptosis. (the 1992 Frank Rose Memorial Lecture). *Br J Cancer* 67:205-208, 1993.
7. UEDA N, SHAH V: Apoptosis. *J Lab Clin Med* 124:169-177, 1994.
8. OBERHAMMER F, WILSON JW, DIVE C, MORRIS ID, HICKMAN JA, WAKELING AE, WALKER PR, SIKORSKA M: Apoptotic death in epithelial cells: cleavage of DNA to 300 and/or 50 kb fragments prior to or in the absence of internucleosomal fragmentation. *EMBO J* 12:3679-3684, 1993.
9. BARRES BA, HART IK, COLES HS, BURNE JF, VOYVODIC JT, RICHARDSON WD, RAFF MC: Cell death and control of cell survival in the oligodendrocyte lineage. *Cell* 70:31-46, 1992.
10. GARCIA-MARTINEZ V, MACIAS D, GAÑAN Y, GARCIA-LOBO JM, FRANCIA MV, FERNANDEZ-TERAN MA, HURLE JM: Internucleosomal DNA fragmentation and programmed cell death (apoptosis) in the interdigital tissue of the embryonic chick leg bud. *J Cell Sci* 106:201-208, 1993.
11. KOSEKI C, HERZLINGER D, AL-AWQATI Q: Apoptosis in metanephric development. *J Cell Biol* 119:1327-1333, 1992.
12. LOWE SW, SCHMITT EM, SMITH SW, OSBORNE BA, JACKS T: p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature* 362:847-849, 1993.
13. LOWE SW, RULEY HE, JACKS T, HOUSMAN DE: p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. *Cell* 74:957-967, 1993.
14. HENDERSON S, ROWE M, GREGORY C, CROOM-CARTER D, WANG F, LONGNECKER R, KIEFF E, RICKINSON A: Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein I protects infected B cells from programmed cell death. *Cell* 65:1107-1115, 1991.
15. BANDA NK, BERNIER J, KURAHARA DK, KURRLE R, HAIGWOOD N, SEKALY RP, FINKER TH: Crosslinking CD4 by human immunodeficiency virus gp120 primes T cells for activation-induced apoptosis. *J Exp Med* 176:1099-10106, 1992.
16. LEVINE B, HUANG K, ISAACS JT, REED JC, GRIFFIN DE, HARDWICK JM: Conversion of lytic to persistent alphavirus infection by the bcl-2 cellular oncogene. *Nature* 361:739-742, 1993.
17. STRASSER A, HARRIS AW, BATH ML, CORY S: Novel primitive lymphoid tumours induced in transgenic mice by cooperation between myc and bcl-2. *Nature* 348:331-333, 1990.
18. DONEHOWER LA, HARVEY M, SLAGLE BL, McARTHUR MJ, MONTGOMERY Jr CA, BUTEL JS, BRADLEY A: Mice deficient for p53 are developmently normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* 356:215-221, 1992.
19. UEDA N, SHAH SV: Endonuclease-induced DNA damage and cell death in oxidant injury to renal tubular epithelial cells. *J Clin Invest* 90:2593-2597, 1992.
20. HOCKENBERY DM, OLTVAI ZN, YIN XM, MILLIMAN CL, KORSMEYER SJ: Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell* 75:241-251, 1993.
21. ORTIZ A, KARP SL, DANOFF TM, NEILSON EG: Expression of survival promoting Bcl-2 oncogene by renal cells and whole kidney. *J Am Soc Nephrol* 4:742, 1993.
22. SCHUMER M, COLOMBEL MC, SAWCZUK IS, GOBÉ G, CONNOR J, O'TOOLE KM, OLSSON CA, WISE GJ, BUTTYAN R: Morphological, biochemical, and molecular evidence of apoptosis during the reperfusion phase after brief periods of renal ischemia. *Am J Pathol* 140:831-838, 1992.
23. BONVENTRE JV: Mechanisms of ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 43:1160-1178, 1993.
24. ZAGER RA, FUERSTENBERG SM, BAEHR PH, MYERSON D, TOROK-STORB B: An evaluation of antioxidant effects on recovery from postischemic acute renal failure. *Am J Soc Nephrol* 4:1588-1597, 1994.
25. IWATA M, MYERSON B, TOROK-STORB B, ZAGER RA: An evaluation of renal tubular DNA laddering in response to oxygen deprivation and oxidant injury. *Am J Soc Nephrol* 5:1307-1313, 1994.

26. WEINBERG JM: The cell biology of ischemic renal failure. *Kidney Int* 39:476-500, 1991.
27. BRADY HR, BRENNER BM, LIEBERTHAL W: Acute renal failure, in *The Kidney* (5th ed), edited by Brenner BM, Philadelphia, WB Saunders Co, 1995, pp 1200-1252.
28. MASON J, BECK FX, DÖRGE A, RICK R, THURAU K: Intracellular electrolyte composition following renal ischemia. *Kidney Int* 20:61-70, 1981.
29. CHEUNG JY, BONVENTRE JV, MALISE D, LEAF A: Calcium and ischemic injury. *N Engl J Med* 314:1670-1676, 1986.
30. KRIBBEN A, WIEDER ED, WETZELS JFM, YU L, GENGARO PE, BURCKE TJ, SCHRIER RW: Evidence for role of cytosolic free calcium in hypoxia-induced proximal tubule injury. *J Clin Invest* 93:1922-1929, 1994.
31. HOHENFELLNER M, THÜROFF JW, THURAU K: Cellular changes in acute renal failure: functional and therapeutic consequences. *Eur Urol* 22:265-270, 1992.
32. CARAFOLI E: Intracellular calcium homeostasis. *Annu Rev Biochem* 56:395-433, 1987.
33. WILLIAMSON JR, MONCK JR: Hormone effects on cellular calcium fluxes. *Ann Rev Physiol* 51:107-124, 1989.
34. BECKER GL, FISKUM G, LEHNINGER AL: Regulation of free calcium by liver mitochondria and endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 255:9009-9012, 1980.
35. SCHRIER RW, ARNOLD PE, VAN PUTTEN VJ, BURKE TJ: Cellular calcium in ischemic acute renal failure: role calcium enter blockers. *Kidney Int* 32:313-321, 1987.
36. McCOY CE, SELVAGGIO AM, ALEXANDER EA, SCHWARTZ JH: Adenosine triphosphate depletion induced a rise in cytosolic free calcium in canine renal epithelial cells. *J Clin Invest* 82:1326-1331, 1988.
37. BONVENTRE JV, SWIDLER M: Calcium dependency of prostaglandin E_2 in rat glomerular mesangial cells. Evidence that protein kinase C modulates de Ca^{+2}- dependent activation of phospholipase A_2. *J Clin Invest* 82:168-176, 1988.
38. SCHWERTZ DW, HALVERSON J: Characterization of phospholipase C-mediated polyphosphoinositide hydrolisis in rat heart ventricules. *Arch Biochem Biophys* 269:137-147, 1989.
39. GRONICH JH, BONVENTRE JV, NEMENOFF RA: Purification of a high molecular mass phospholipase A_2 from rat kidney activated at physiological calcium concentrations. *Biochem J* 271:37-43, 1990.
40. WILSON MF, BRACKETT DJ: Release of vasoactive hormones and circulatory changes in shock. *Circ Res* 11:225-234, 1983.
41. BARROS EJG, BOIM MA, AJZEN H, RAMOS OL, SCHOR NS: Glomerular hemodynamics and hormonal participation on cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 32:19-25, 1987.
42. BARROS EJG, BOIM MA, SANTOS OFP, SCHOR NS: Effect od cisplatin on glomerular hemodynamics. *Braz J Med Biol Res.* 22:1295-1302, 1989.
43. LUGON JR, BOIM MA, RAMOS OL, AJZEN H, SCHOR N: Renal function and glomerular hemodynamics in male endotoxemic rats. *Kidney Int* 36:570-575, 1989.
44. THOMPSON SC, TUCKER BJ, GABBAI F, BLANTZ RC: Functional effects on glomerular hemodynamics of short term chronic cyclosporine in male rats. *J Clin Invest* 83:960-967, 1989.
45. SANTOS MFF, BOIM MA, SANTOS OFP, AJZEN H, SCHOR NS: Experimental acute renal failure by acyclovir (ACV) in rats: glomerular hemodynamics evaluation (abstract). *J Am Soc Nephrol* 4:758, 1993.
46. KUMANO K, WANG G, ENDO T, KUWAO S: FK506-induced nephrotoxicity in rats. *Transplant Proc* 23:512-518, 1991.
47. HADAD SJ, SOUZA ERM, FERREIRA AT, OSHIRO MEM, BOIM MA, RAZVICKAS CV, MOURA LA, SCHOR NS: FK 506: Effects of glomerular hemodynamics and on mesangial cells in culture. *Kidney Int* 48:56-64, 1995.
48. JOHNSTON RN, KUCEY BL: Competitive inhibition of hsp70 gene expression causes thermosensitivity. *Science* 242:1551-1554, 1988.
49. SCHLESINGER MJ: Heat shock proteins. *J Biol Chem* 265:12111-12114, 1990.
50. BENSAUDE O, BABINET C, MORANGE M, JACOB F: Heat shock proteins, first major products of zygotic gene activity in mouse embryo. *Nature* 305:331-333, 1983.
51. LINDQUIST S: The heat stress response. *Annu Rev Biochem* 55:1151-1191, 1986.
52. WELCH WJ: The mammalian heat schock (or stress) response: a cellular defense mechanism. *Adv Exp Med Biol* 225:287-301, 1987.
53. HONDA N, NISHIDA A, YONEMURA K: Acquired resistance to acute renal failure. *Kidney Int* 31:1233-1238, 1987.
54. EMAMI A, SCHWARTZ JH, BORKAN S: Transient ischemia or heat stress induces a cytoprotectant protein in rat kidney. *Am J Physiol* 260:F479-F485, 1991.
55. YOSHIDA T, BILLIS T, MOORE-JARRETT T, GREENE HL, BURR M, ICHIKAWA I: Role of intrinsic antioxidant enzymes in renal oxidant injury. *Kidney Int* 38:282-288, 1990.
56. Van WHY SK, HILDEBRANDT F, ARDITO T, MANN AS, SIEGEL NJ, KASHIGARIAN M: Induction and intracellular localization of HSP-72 after renal ischemia. *Am J Physiol* 263:F769-F775, 1992.
57. Van WHY SK, MANN AS, THULIN G, ZHU XH, KASHIGARIAN M, SIEGEL NJ: Activation of heat-shock transcription factor by graded reductions in renal ATP, in vivo, in the rat. *J Clin Invest* 94:1518-1523, 1994.
58. MOLITORIS BA: Ischemia-induced loss of epithelial polarity: potential role of the actina cytoskeleton. *Am J Physiol* 260:F769-F778, 1991.
59. KELLERMAN PS, CLARK RAF, HOILIEN CA, LINAS SL, MOLITORIS BA: Role of microfilaments in the maintenance of proximal tubule structural and functional integrity. *Am J Physiol* 259:F279-F285, 1990.
60. CANFIELD PE, GEERDES AE, MOLITORIS BA: Effects of reversible ATP depletion on tight junction integrity. *Am J Physiol* 261:F1038-F1045, 1991.
61. BERSHADSKY AD, GELFAND VI: Role of ATP in the regulation of stability of cytoskeleton structures. *Cell Biol Int Rep* 7:173-177, 1983.
62. HINSHAW DB, ARMSTRONG BC, BURGER JM, BEALS TF, HYSLOP PA: ATP and microfilaments in cellular oxidant injury. *Am J Pathol* 132:479-488, 1988.
63. CANFIELD PE, GEERDES AM, MOLITORIS BA: Effect of reversible ATP depletion on tight-junction integrity in LLC-PK_1 cells. *Am J Physiol* 261:F1038-F1045, 1991.
64. MOLITORIS BA, NELSON WJ: Alterations in the establishment and maintenance of epithelial cell polarity as a basis for disease processes. *J Clin Invest* 85:3-9, 1990.
65. RODRIGUES-BOULAN E, SCHILLER A, TAUGNER R: Morphogenesis of the polarized epithelial cell phenotype. *Science* 245:718-725, 1989.
66. MOLITORIS BA, DAHL R, GEERDES A: Cytoskeleton disruption and apical redistribution of proximal tubule Na-K-ATPase during ischemia. *Am J Physiol* 263:F488-F495, 1992.
67. Van WHY SK, MANN AS, ARDITO T, SIEGEL NJ, KASHIGARIAN: Expression and molecular regulation of Na^+-K^+-ATPase after renal ischemia. *Am J Physiol* 267:F75-F85, 1994.
68. CARRAWAY KL, CARRAWAY ACA: Membrane-cytoskeleton interaction in animal cells. *Biochim Biophys Acta* 988:141-171, 1989.

69. GEIGER B: Cytoskeleton-associated cell contacts. *Curr Opin Cell Biol* 108:455-465, 1989.
70. SMITH R, SACCOMANI G, JOE EH, ANGELIDES KJ, BENOS DJ: Amiloride sensitive sodium channel is linked to the cytoskeleton in renal epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci* 88:6971-6975, 1991.
71. RACUSEN LC: Biology of disease: Alterations in tubular epithelial cell adhesion and mechanisms of acute failure. *Lab Invest* 67:158-165, 1992.
72. GOLIGORSKY MS, LIEBERTHAL W, RACUSEN L, SIMON EE: Integrin receptors in renal tubular epithelium: new insights into pathophysiology of acute renal failure. *Am J Physiol* 264:F1-F8, 1993.
73. BACALLAO R, MANDEL L: Internalization of E-cadherin and Na-K-ATPase in cultured renal cells occurs rapidly with energy depletion (abstract). *J Am Soc Nephrol* 2:643, 1991.
74. PALLERS MS: The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med* 426-432, 1994.
75. GREENE EL, PALLER MS: Xantine oxidase produces O_2^- in post-hypoxic injury of renal epithelial cells. *Am J Physiol* 263:F251-F255, 1992.
76. BRASS CA, NARCISO J, GOLLAN JL: Enhanced activity of the free radical producing enzyme xantine oxidase in hypoxic rat liver. *J Clin Invest* 87:424-427, 1991.
77. KENNEDY TP, RAO NV, HOPKINS C, PENNINGTON L, TOLLEY E, HOIDAL JR: Role of reactive oxygen species in reperfusion injury of the rabbit lung. *J Clin Invest* 83:1326-1335, 1989.
78. ICHIKAWA I, KIYMA S, YOSHIDA T: Renal antioxidant enzymes: their regulation and function. *Kidney Int* 45:1-9, 1994.
79. PALLER MS, NEUMANN TV: Reactive oxygen species in rat renal epithelial cells during hypoxia and reoxygenation. *Kidney Int* 40:1041-1044, 1991.
80. PALLER MS: Renal work glutathione, and susceptibility to free radical-mediated postischemic injury. *Kidney Int* 33:843-849, 1988.
81. BIRD JE, MILHOAN K, WILSON CB, YOUNG SG, MUNDY CA, PARTHASARATHY S, BLANTZ RC: Ischemic acute renal failure and antioxidant therapy in the rat. The relation between glomerular and tubular dysfunction. *J Clin Invest* 81:1630-1638, 1988.
82. GREENE EL, PALLER MS: Oxygen free radicals in acute renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 17:124-129, 1991.
83. BORE PJ, SEHR PA, CHAN L, THULBORN KR, ROSS BD, RADDA GR: The importance of pH in renal preservation. *Transplant Proc* 13(1 Pt1):707-708, 1981.
84. SHANLEY PF, SHAPAIRO JI, CHAN L: Acidosis and hypoxic medullary injury in the isolated perfused kidney. *Kidney Int* 34:791-796, 1988.
85. GORES GJ, NEIMINEN AL, FLEISHMAN KE, DAWSON TL, HERMAN B, LEMASTERS JJ: Extracellular acidosis delays onset of cell death in ATP depleted hepatocytes. *Am J Physiol* 255:C315-C322, 1988.
86. BOND JM, HERMAN B, LEMASTERS JJ: Protection by acidosis pH against anoxia/reoxygenation injury to rat neonatal cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 179:798-801, 1991.
87. BONVENTRE JV, CHEUNG JY: Effects of metabolic acidosis on viability of cels exposed to anoxia. *Am J Physiol* 249:C149-C159, 1985.
88. THRELFALL G, TAYLOR DM, BUCK AT: The effect of folic acid on growth and deoxyribonucleic acid synthesis in the rat kidney. *Lab Invest* 15:1477-1485, 1966.
89. LAURENT G, MALDAGUE P, CARLIER MB, TULKENS PM: Increased renal DNA synthesis in vivo after administration of low doses of gentamicin to rats. *Antimicrob Agents Chemother* 24:586-593, 1983.
90. SAFIRSTEIN R, PRICE PM, SUBODH J, SAGGI SJ, HARRIS RC: Changes in gene expression after temporary renal ischemia. *Kidney Int* 37:1515-1521, 1990.
91. NONCLERCQ D, WRONA S, TOUBEAU G, ZANEN J, HEUSON-STEINNON JA, SCHANDEIS RP, LAURENT G: Tubular injury and regeneration in the rat kidney following acute exposure to gentamicin: a time-course study. *Ren Fail* 14:507-521, 1992.
92. CUPPAGE FE, CHIGA M, TATE A: Cell cycle studies in the regenerating rat nephron following injury with mercuric chloride. *Lab Invest* 26:122-126, 1972.
93. WITZGALL R, BROWN D, SCHWARZ C, BONVENTRE JV: Localizations of proliferating cell nuclear antigen, vimentin, c-Fos, and clusterin in the postischemic kidney. *J Clin Invest* 93:2175-2189, 1994.
94. STEIN M, KESHAV S: The versatility of macrophages. *Clin Exp Allergy* 22:19-27, 1992.
95. SEKKARIE M, CIESLINSKI DA, WIGGINS R, HUMES HD: Characterization of the inflammatory response in the kidney during the recovery phase postischemic acute renal failure. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 1:603, 1990.
96. SEDOR JR: Cytokines and growth factors in renal injury. *Semin Nephrol* 12:428-440, 1992.
97. HUMES HD, CIESLINSKI DA: Interaction between growth factors and retinoic acid in the induction of kidney tubulogenesis in tissue culture. *Exp Cell Res* 201:8-15, 1992.
98. FINE LG, NORMAN JT: Renal growth responses to acute and chronic injury: routes to therapeutic intervention. *J Am Soc Nephrol* 2:206-211, 1992.
99. HUMES HD, SHIGANG L: Cellular and molecular basis of renal repair in acute renal failure. *J Lab Clin Med* 124:749-754, 1994.
100. HUMES HD, CIESLINSKI DA, COIMBRA T, MESSANA JM, GALVÃO C: Epidermal growth factor enhances renal tubule cell regeneration and repair and accelerates the recovery of renal function in postischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 84:1757-1761, 1989.
101. COIMBRA T, CIESLINSKI DA, HUMES HD: Exogenous epidermal growth factor enhances renal repair in mercuric chloride-induced acute renal failure. *Am J Physiol* 259:F438-F443, 1990.
102. MORIN NJ, LAURENT G, NONCLERCQ D, TOUBEAU G, NEUSON-STIENNON JA, BERGERON MG, BEAUCHAMP D: Epidermal growth factor accelerates renal tissue repair in a model of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am J Physiol* 263:F806-F811, 1992.
103. REISS R, CIESLINSKI DA, HUMES HD: Transforming growth factor-alpha accelerates renal repair and recovery following ischemic injury. *Kidney Int* 37:492-503, 1990.
104. MOXHAM C, JACOBS S: Insulin-like growth factor receptors, in *The Insulin-Like Growth Factors: Structure and Biological Functions*, edited by Schofield PN, Oxford, Oxford University Press, 1992, pp 80-109.
105. ROGERS SA, RYAN G, HAMMERMAN MR: Insulin-like growth factor I and II are produced in the metanephros and are required for growth and development in vitro. *J Cell Biol* 113:1447-1454, 1991.
106. MATEJKA GL, JENNISCHE E: IGF-I binding and IGF-I mRNA expression in the postischemic regenerating rat kidney. *Kidney Int* 42:1113-1123, 1992.
107. HUMES HD, BEALS TF, CIESLINSKI DA, SANCHEZ IO, PAGE TP: Effects of transforming growth factor-beta, transforming growth factor-beta, and other growth factors on renal proximal tubule cells. *Lab Invest* 64:538-545, 1991.
108. IGAWA T, MATSUMOTO K, KANDA S, SAITO Y, NAKAMURA T: Hepatocyte growth factor may function as a renotropic factor for regeneration in rats with acutely induced renal injury. *Am J Physiol* 265:F61-F69, 1993.
109. SAFIRSTEIN R: Gene expression in nephrotoxic and ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 4:1387-1395, 1994.
110. SAFIRSTEIN R, BONVENTRE JV: Molecular response to ischemic and nephrotoxic acute renal failure, in *Molecu-*

lar Nephrology, edited by Scholondorf D, Bonventre JV, New York, Marcel Dekker, 1995, pp 839-854.
111. ALMENDRAL JM, SOMMER D, McDONALD-BRAVO H, BURCKHADT J, PERERA J, BRAVO R: Complexity of the early genetic response to growth factors in mouse fibroblasts. *Mol Cell Biol* 8:2140-2148, 1988.
112. OUELLETTE AJ, MALT RA, SUKHTME VP, BONVENTRE JV: Expression of two "immediate early" genes, Erg-1 and c-fos, in response to renal ischemia and during compensatory renal hypertrophy in mice. *J Clin Invest* 85:766-771, 1990.
113. COWLEY Jr BD, CHADWICK LJ, GRANTHAM JJ, CLAVET JP: Sequential protooncogene expression in regenerating kidney following acute renal injury. *J Cell Biol* 264:8389-8393, 1989.
114. NORMAN JT, BOHMAN RE, FISCHMANN G, BOWEN JW, McDONOUGH A, SLAMON D, FINE LG: Patterns of mRNA expression during early cell growth differ in kidney epithelial cells destined to undergo compensatory hypertrophy versus renegerative hyperplasia. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:6768-6772, 1988.
115. WITZGALL R, O'LEARY E, GESSNER R, OUELLETTE AJ, BONVENTRE JV: Kid-1, a putative renal transcription factor: Regulation during ontogeny, and in response to ischemic and toxic injury. *Mol Cell Biol* 13:1933-1942, 1993.
116. SAFIRSTEIN R, MEGYESI J, SUBODH J, SAGGI J, PRICE PM, POON M, ROLLINS BR, TAUBMAN MB: Expression of cytokine-like genes JE and KC is increased during renal ischemia. *Am J Physiol* 261:F1095-F1101, 1991.
117. ROLLINS BJ, YOSHIMURA T, LEONARD EJ, POBER JS: Cytokine-activated human endothelial cells synthese and secrete a monocyte chemotractant, MCP-1/JE. *Am J Pathol* 136:1229-1233, 1990.
118. SUKHATME VP, CAO X, CHANG LC, TSAI-MORRIS CH, STAMENKOVICH D, FERREIRA PC, COHEN DR, EDWARDS SA, SHOWS TB, CURRAN T, Le BEAU MM, ADAMSON ED: A zinc finger-encoding gene coregulated with c-fos during growth and differentiation, and after cellular depolarization. *Cell* 53:37-43, 1988.
119. MEGYESI J, di MARI J, UDVARHELYI N, PRICE PM, SAFIRSTEIN R: DNA synthesis is dissociated from the immediate-early gene response in the post-ischemic kidney. *Kidney Int* 48:1451-1458, 1995.
120. HARRIS RC, HOOVER RL, JACOBSON HR, BADR KF: Evidence for glomerular activity of epidermal growth factor in the rat. *J Clin Invest* 82:1028-1039, 1988.
121. GULER H-P, ZAPF, J, FROESCH ER: Short term metabolic effects of recombinant human insulin-like growth factor I in health adults. *N Engl J Med* 317:137-140, 1987.

22

FISIOPATOLOGIA DA INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA PÓS-RENAL

Carlos José Martins Pena
Nestor Schor

◆

INTRODUÇÃO

A insuficiência renal devido à obstrução do trato urinário resulta quando ambos os rins ou somente um são obstruídos e o rim contralateral está ausente ou muito lesado[1]. A doença obstrutiva do trato urinário ou insuficiência renal pós-renal é uma causa importante de falência renal aguda, sendo potencialmente reversível com tratamento adequado quando instituído o mais precocemente possível.

FISIOPATOLOGIA

Existem diferenças entre os eventos fisiopatológicos encontrados nas obstruções urinárias uni e bilaterais. As alterações funcionais provenientes de obstruções unilaterais parecem resultar predominantemente de modificações confinadas ao rim afetado, enquanto aquelas causadas por obstruções bilaterais demonstram uma interação entre fatores locais intra-renais e influências resultantes de modificações urêmicas do ambiente extracelular. Estas alterações variam com o tempo de obstrução, o tipo – se uni ou bilaterais – e do período após sua desobstrução.

OBSTRUÇÃO URETERAL UNILATERAL

Fase hiperêmica aguda

Durante as 2 horas iniciais de uma obstrução unilateral, o fluxo sangüíneo renal aumenta[2]. Pelo menos três fatores podem contribuir para esta alteração hiperêmica precoce: 1. o reflexo miogênico; 2. a resposta "feedback" tubuloglomerular; e 3. a produção intra-renal aumentada de prostaglandinas vasodilatadoras.

O **reflexo miogênico** é normalmente ativado pela diminuição do gradiente de pressão transmural no capilar glomerular, devido ao aumento da pressão hidrostática no espaço de Bowman secundário à obstrução. Este reflexo age relaxando as células musculares da arteríola aferente. Este mecanismo de auto-regulação do fluxo sangüíneo está presente em outros leitos vasculares e geralmente age protegendo a perfusão do órgão durante situações de hipotensão[3].

Na **resposta "feedback" tubuloglomerular**, o aumento do fluxo sangüíneo renal que ocorre em rins obstruídos é semelhante à resposta do fluxo sangüíneo de um único glomérulo quando uma obstrução é feita nas porções proximais de seu néfron, bloqueando sua passagem pela mácula densa. Durante uma nefropatia obstrutiva clínica, o fluxo de urina diminuirá na mácula densa e ativará este mecanismo[4].

Com relação ao **aumento da produção intra-renal de prostaglandinas vasodilatadoras**, não se conhece qual delas está envolvida – se PGE_2 ou PGI_2 (prostaciclina) – e qual seu local de síntese. Sabe-se que a medula renal é rica em PGE_2 e a sua produção está aumentada em situações de elevação da pressão na pelve renal[5].

Fase tardia

Após 24 horas de obstrução, a taxa de filtração glomerular, a taxa de filtração glomerular por néfron único (SNGFR) e o fluxo sangüíneo renal estão diminuídos de forma significante, indicando vasoconstrição renal generalizada sobreposta à hiperemia inicial[6]. Uma obstrução ureteral uni-

lateral resultará em diminuição do fluxo sangüíneo renal no rim ipsilateral e aumento do fluxo no contralateral intacto[7].

Estudos de micropunção em rins obstruídos por mais de 24 horas demonstram aumento na resistência vascular aferente, resultando em fluxo sangüíneo renal e pressão hidrostática capilar diminuídos associados à pressão hidrostática do espaço de Bowman já aumentada em decorrência da obstrução ureteral. Estas alterações colaboram na redução da filtração glomerular. Vários mecanismos parecem contribuir para este quadro vasoespástico, principalmente com relação ao aumento da resistência vascular do capilar glomerular – arteríola aferente e outros vasos pré-glomerulares. A angiotensina II e o tromboxano, que serão comentados a seguir, parecem contribuir para esta vasoconstrição generalizada. Este aumento de atividade de vasoconstritores parece ser balanceado por uma elevação paralela de oponentes vasodilatadores, tais como as prostaglandinas. O fator de relaxamento derivado de endotélio (EDRF) é um composto vasoativo liberado localmente e que modula a resistência vascular[8]. Recentemente, o óxido nítrico foi identificado como um importante EDRF[9], parecendo contribuir de maneira significante para o tônus vascular. Chevalier & Peach demonstraram que a vasoconstrição em rins obstruídos unilateralmente após 24 horas é atenuada pelo aumento da produção local de óxido nítrico[10].

Período de desobstrução de uma obstrução ureteral unilateral

A resposta hiperêmica inicial já citada desaparece rapidamente se a obstrução ureteral unilateral for retirada poucas horas após sua instalação. O mesmo não acontece se a obstrução persistir por cerca de 24 horas e depois liberada. Nesta situação, o fluxo sangüíneo renal e a taxa de filtração glomerular permanecem diminuídos muitas horas depois. Esta persistência do vasoespasmo sugere que outros não diretamente dependentes do bloqueio ao fluxo urinário foram ativados e estão afetando a vasculatura renal. Um número de fatores circulantes e parácrinos foram implicados nesta vasoconstrição, incluindo angiotensina e tromboxano[10]. Existem evidências de que a filtração pelos néfrons justamedulares está diminuída de forma marcante devido, pelo menos em parte, à queda na resistência ao fluxo sangüíneo através dos *vasa recta*. Esta diminuição na resistência não somente age reduzindo a pressão de filtração de capilar glomerular, mas também age desviando o fluxo sangüíneo dos capilares peritubulares. Não se sabe ainda se esta alteração nos *vasa recta* resulta de um aumento na produção de prostaglandina vasodilatadora (PGE_2), de uma diminuição na viscosidade do sangue nos *vasa recta* secundária à "lavagem" dos solutos medulares ou por outros fatores[11]. É possível que uma lesão anóxica secundária ao desvio no suprimento sangüíneo através dos *vasa recta* possa ser a responsável pela diminuição da capacidade reabsortiva dos túbulos proximais justamedulares.

A diminuição na taxa de filtração glomerular do rim no seu período pós-desobstrução parece resultar de um aumento na resistência aferente dos glomérulos da porção externa do córtex renal e de uma diminuição na resistência dos *vasa recta* da porção interna do córtex. A resistência aferente dos néfrons justamedulares pode estar aumentada em menor intensidade porque a produção de renina parece ser importante no aumento da resistência nos rins obstruídos e acredita-se que os néfrons da porção do córtex tenham capacidade menor de sintetizá-la.

As alterações no fluxo sangüíneo renal, taxa de filtração glomerular e SNGFR no período pós-desobstrução não são muito diferentes daquelas observadas imediatamente antes da desobstrução, mas seus mecanismos diferem entre si. A SNGFR dos néfrons superficiais, momentos antes da liberação de uma obstrução de 24 horas, resulta de uma resistência vascular aferente e de uma pressão hidrostática intratubular aumentadas. Após a desobstrução, a pressão intratubular cai para valores inferiores ao normal, o que poderia favorecer um aumento da taxa de filtração glomerular, mas este fato não ocorre. A SNGFR no período pós-desobstrutivo permanece reduzida cerca de 30% do normal porque a queda na pressão hidrostática do espaço de Bowman é **neutralizada** ("**off set by a further ?**") pelo aumento adicional na resistência aferente previamente elevada. Alguns autores demonstraram que a maioria dos néfrons não formam nenhum filtrado detectável[12,13], havendo um decréscimo na SNGFR dos túbulos superficiais, que continuam a funcionar. Assim, o fluxo sangüíneo renal e a taxa de filtração glomerular estão diminuídos durante e após uma obstrução ureteral unilateral de 24 horas de duração, primariamente por aumento na resistência vascular, principalmente nos vasos pré-glomerulares. A explicação para este aumento não pode ser atribuída somente às alterações anatômicas, pois são poucas neste período. Este vasoespasmo é funcional e resulta da interação complexa de pelo menos três sistemas hormonais-autacóides intra-renais.

Alteração nos sistemas hormonais-autacóides: prostaglandinas-tromboxano, renina-angiotensina e calicreína-cinina

As modificações causadas pela ativação destes três sistemas em decorrência de uma obstrução ureteral são os principais determinantes nas resistências intra-renais alteradas. Estes sistemas, além de seus efeitos particulares próprios, interagem entre si controlando suas atividades e, portanto, tornando difícil nossa observação e compreensão.

Sistema renina-angiotensina – mostra-se ativado nas fases iniciais da nefropatia obstrutiva[14]. A angiotensina II diminui o fluxo plasmático do capilar glomerular (QA), contribuindo na queda da SNGFR; reduz o coeficiente de filtração glomerular (Kf) devido à contração do mesângio e conseqüente diminuição na área de superfície glomerular total disponível para filtração; aumenta a pressão de filtração presumivelmente devido à contração preferencial da arteríola eferente[15]. A angiotensina II tem um importante papel no aumento da síntese de prostanóides encontrados em glomérulos isolados de ratos com obstrução ureteral bilateral. A explicação mais plausível é que a angiotensina II provoca uma estimulação de forte intensidade da fosfolipase A_2 e/ou cicloxigenase nestes glomérulos de rins obstruídos[16,17].

Sistema prostaglandina-tromboxano – inclui não só prostaglandinas vasodilatadoras – PGE_2 e PGI_2 (prostaciclina) – mas também um potente vasoconstritor, o tromboxano A_2. Estes eicosanóides vasoativos contribuem de maneira importante na função renal no período de desobstrução. O tromboxano A_2 diminui o QA em conseqüência do aumento da resistência arteriolar aferente e eferente. Pode também reduzir o Kf devido à contração do mesângio e à diminuição na área disponível para filtração[18]. As prostaglandinas vasodilatadoras, tais como a PGE_2 e a PGI_2, produzidas em maior quantidade no rim obstruído, pelo seu antagonismo aos vasoconstritores, podem minimizar as diminuições tardias da taxa de filtração glomerular[19].

Sistema calicreína-cinina – os efeitos vasoconstritores das cininas em rins obstruídos provavelmente são indiretos. As cininas agem como potentes estimulantes da produção de eicosanóides vasoconstritores[20]. A calicreína, uma enzima produtora de cinina, produzida no néfron distal, não só leva à produção de cinina nos túbulos renais, como também é um dos mais potentes agentes que converte pró-renina inativa em renina ativa, levando à estimulação do sistema renina-angiotensina[21]. A cinina pode estimular diretamente a liberação de renina das células justaglomerulares[22].

OBSTRUÇÃO URETERAL BILATERAL

Os estudos de obstruções ureterais bilaterais revelaram fatores importantes envolvidos na patogênese deste tipo de insuficiência renal aguda. O primeiro deles é o papel desempenhado pelos nervos renais e o segundo é o do ambiente extracelular.

A obstrução unilateral parece reduzir o fluxo sangüíneo ao rim contralateral intacto através de um reflexo neurogênico envolvendo sinais aferentes originários do rim obstruído que ascendem pela medula até centros nervosos mais altos e retornam por vias eferentes produzindo vasoconstrição via fibras simpáticas no rim contralateral[23]. A resposta vasodilatadora observada no rim obstruído depende somente de fatores intra-renais e não envolve os nervos renais.

A resposta vasodilatadora atenuada observada em rins submetidos à obstrução bilateral provavelmente representa a interação de respostas vasoconstritoras neurogênicas originadas do rim contralateral com a resposta vasodilatadora intrínseca do rim obstruído.

Existe uma diferença importante entre as obstruções uni e bilaterais com relação à absorção de sal e água e que se torna mais evidente nos períodos após a desobstrução de obstruções bilaterais. Embora, como o nome indique, a diurese pós-desobstrutiva somente ocorra após a liberação da obstrução, as alterações na reabsorção tubular podem ser demonstradas durante períodos avançados de obstrução (16 a 24 horas). Neste momento a pressão intratubular em animais com rins obstruídos bilateralmente está maior do que aquelas observadas em rins normais, enquanto a pressão em rins obstruídos unilateralmente está menor do que rins normais[24]. A elevação da pressão intratubular em obstruções bilaterais nas fases tardias se deve à diminuição na reabsorção tubular e não ao acréscimo de fluidos tubulares de maneira mais rápida.

Os mecanismos pelos quais a SNGFR se encontra reduzida em obstruções uni e bilaterais nas fases tardias diferem entre si: nas obstruções unilaterais a resistência arteriolar aferente se encontra marcadamente aumentada levando à queda da pressão no capilar glomerular e do fluxo plasmático glomerular[25], enquanto nas obstruções bilaterais existe um aumento das pressões

intratubulares e do espaço de Bowman com diminuição da pressão hidrostática transcapilar glomerular[24].

Yanagisawa e cols demonstraram que obstruções ureterais bilaterais em ratos causam diminuição significativa na quantidade de duas formas de proteína G na membrana glomerular. As proteínas G são uma família de proteínas presentes em membranas de células responsáveis pela transdução de sinais intracelulares. São compostas por subunidades α, β, e γ, cada uma delas com função específica, podendo apresentar um papel na regulação da atividade da adenilcilclase e fosfolipase, uma vez que a atividade destas enzimas se encontra alterada após uma obstrução ureteral. O decréscimo de algumas destas subunidades da proteína G pode estar relacionado com a interferência dos níveis elevados de angiotensina II e/ou tromboxano A_2 e pode contribuir, pelo menos em parte, para as alterações da função glomerular observada após 24 horas de obstruções ureterais bilaterais[26].

Resposta hemodinâmica após a liberação de uma obstrução ureteral bilateral

Embora os valores do fluxo sangüíneo renal após a liberação de uma obstrução ureteral bilateral variem entre os pesquisadores, com resultados próximos do normal até diminuições entre 50 e 60%[27], as medidas da taxa de filtração glomerular após a desobstrução estão diminuídas entre 10 e 25% do normal[28]. A distribuição intra-renal do fluxo sangüíneo após a liberação de uma obstrução ureteral bilateral está normal quando comparada ao desvio do fluxo para a medula renal após a liberação de uma obstrução unilateral[29].

A redução da taxa de filtração glomerular após a liberação de uma obstrução bilateral é menos grave do que a observada na liberação de uma obstrução unilateral, porque o número de néfrons funcionantes é bem maior na primeira situação: após a liberação bilateral, aproximadamente 80% dos néfrons superficiais e 50% dos justamedulares continuam a exibir filtração, enquanto após a liberação de uma obstrução unilateral apenas 40% dos superficiais e 20% dos justamedulares o fazem[30]. Acredita-se que a SNGFR esteja diminuída antes e após a liberação de uma obstrução bilateral de 24 horas por mecanismos diferentes: antes, pela pressão intratubular aumentada, e após a liberação, em virtude da resistência arteriolar aferente aumentada e conseqüente diminuição do fluxo plasmático glomerular. O mecanismo pelo qual a resistência aferente está aumentada após a desobstrução é desconhecido. O mecanismo sensor da mácula densa pode ser afetado durante a obstrução e seu sinal para aumentar a resistência aferente pode recomeçar em um outro nível de fluxo de líquido tubular.

EFEITOS DA OBSTRUÇÃO UNILATERAL SOBRE A EXCREÇÃO DE SOLUTOS E ÁGUA

Após a liberação de um rim obstruído depois de 24 horas de duração, sua excreção de sódio e água está discretamente diminuída, mas com uma reabsorção fracional de sódio e água substancialmente diminuída. Por outro lado, alguns segmentos ou mesmo grupos de néfrons estão reabsorvendo uma menor quantidade de sódio e água que chegam aos seus túbulos. Como a reabsorção fracional e a quantidade de fluidos que chegam aos seus túbulos estão reduzidas, a quantidade absoluta de sódio e água excretados na urina está próximo do normal. Estudos de micropunção demonstram que a reabsorção fracional por túbulos proximais de néfrons superficiais está aumentada. Existem evidências de que a reabsorção por néfrons justamedulares estaria diminuída, talvez em virtude da resistência reduzida dos *vasa recta*, promovendo um desvio no fluxo sangüíneo dos capilares peritubulares dos néfrons da porção interna do córtex renal. A primeira conseqüência seria o menor fluxo sangüíneo disponível para carrear o fluido tubular reabsorvido e a segunda poderia ser uma lesão anóxica das células dos túbulos proximais dos néfrons justamedulares[31].

EFEITOS DA OBSTRUÇÃO BILATERAL SOBRE A EXCREÇÃO DE SOLUTOS E ÁGUA (DIURESE PÓS-DESOBSTRUTIVA)

Após a liberação de uma obstrução bilateral de 24 horas de duração existe um aumento de excreção absoluta de água de 10 vezes e de excreção fracional de água de 40 vezes. A esta excreção aumentada dá-se o nome de diurese pós-desobstrutiva. Além disso, as excreções absoluta e fracional de sódio também estão claramente aumentadas neste mesmo período.

Estudos de micropunção revelam que a reabsorção fracional pelos túbulos proximais de néfrons superficiais estão normais, tal qual em ratos obstruídos unilateralmente[32]. No entanto, a alça de Henle destes mesmos néfrons superficiais reabsorve fluidos em quantidade menor, uma vez que a quantidade de fluidos que chega a estes túbulos está decididamente aumentada. O

mesmo ocorre com a reabsorção nos túbulos proximais de néfrons justamedulares e ramos descendentes da alça de Henle de néfrons profundos[33].

A disfunção dos ductos coletores papilares exerce um papel preponderante na diurese pós-desobstrutiva, embora a extensão desta importância e a direção de fluido através de seu epitélio sejam controversas, onde se observa um pequeno fluxo de fluido glomerular dos ductos em direção ao interstício papilar[34] e uma secreção de sódio do interstício para a luz dos ductos[35].

Os maiores determinantes da diurese pós-desobstrutiva são fatores natriuréticos circulantes já demonstrados. Dois destes fatores, sódio e uréia, se acumulam como conseqüência direta da anúria. A retenção de sódio é um importante fator natriurético em doenças obstrutivas clínicas no início do quadro de diurese pós-desobstrutiva[36]. Outro fator que tem recebido a atenção é a retenção de uréia[36]. Em pacientes com diurese pós-desobstrutiva, a taxa de perda de sódio e água diminui linearmente, assim como a concentração plasmática de uréia, durante o curso abundante da diurese. Embora haja esta correlação entre a queda da concentração de uréia e o processo de diurese, existem alguns pacientes nos quais se demonstra diurese pós-desobstrutiva com uréia plasmática inicialmente normal.

A terceira substância demonstrando exercer este tipo de diurese é o peptídeo natriurético atrial, que se mostra aumentado em conseqüência da anúria durante a obstrução bilateral e da metabolização enzimática renal deficitária[37].

Além dos três fatores já citados – sódio, uréia e peptídeo natriurético atrial – que tomam parte na fisiopatologia da diurese pós-desobstrutiva, postula-se a existência de um quarto fator, retido em virtude da anúria da obstrução bilateral, embora atualmente não mensurável. Este fator natriurético seria também responsável pela natriurese e diurese aumentadas e pela diminuição da reabsorção de sódio. Sua natureza química, mecanismo de ação e local de produção ainda são desconhecidos[38].

Em resumo, estes quatro fatores se combinam para induzir a diurese pós-desobstrutiva e provavelmente não estão limitados às obstruções ureterais, podendo exercer algum papel nas insuficiências renais agudas que apresentem períodos iniciais de anúria que, posteriormente, exibem diurese marcante nas fases de recuperação. Esta fase diurética de recuperação, tal qual a diurese pós-desobstrutiva, pode refletir a ação destes fatores natriuréticos.

INFILTRAÇÃO DO PARÊNQUIMA RENAL POR LEUCÓCITOS NA NEFROPATIA OBSTRUTIVA

Existe uma infiltração de células mononucleares, principalmente macrófagos e linfócitos T supressores, de localização cortical e glomerular, após 24 horas de obstrução ureteral em coelhos[39]. Os efeitos a longo prazo deste infiltrado de células mononucleares sobre a função e a estrutura renal ainda são desconhecidos[40]. A glomerulosclerose segmentar e focal é um achado patológico comum em pacientes com obstruções ureteropélvicas[41]. Dessa maneira, o infiltrado celular pode contribuir para a lesão e a deficiência progressiva da função renal observada nas obstruções crônicas. A contribuição específica, se é que existe alguma, do infiltrado de linfócitos T supressores requer mais estudos. O mecanismo responsável pelo seu influxo ao rim obstruído, assim como o de macrófagos, parece ser um atrativo químico de origem lipídica produzido pelo rim com obstrução[42].

ACIDIFICAÇÃO URINÁRIA

Alguns pacientes com obstrução do trato urinário apresentam acidose hipercalêmica hiperclorêmica devido a uma lesão nos túbulos distais com relação ao mecanismo de secreção de ácido, ao hipoaldosteronismo reninêmico ou ambos. Observam-se anormalidades nas células intercalares dos ductos coletores, responsáveis pela secreção de íons hidrogênio, após 24 horas de obstrução[18].

MANIPULAÇÃO RENAL DE POTÁSSIO

O efeito da obstrução sobre a manipulação renal de potássio dependerá do tipo de obstrução, se uni ou bilateral. Existe diminuição na excreção de potássio após a liberação de uma obstrução unitaleral, talvez em virtude de uma menor responsividade tubular à aldosterona. Ao contrário, a liberação de uma obstrução bilateral resulta em aumento marcante na excreção fracional e secreção de potássio. Todos os fatores não são inteiramente compreendidos, mas certamente a maior oferta distal de potássio e o fluxo aumentado da diurese pós-desobstrutiva contribuem para a composição de tal quadro. E, ainda, a hipercalemia e a queda nas concentrações plasmáticas de bicarbonato durante o período de anúria da obstrução bilateral podem estimular a secreção renal de íons potássio e hidrogênio[40].

REABSORÇÃO RENAL DE ÍONS DIVALENTES

Existe diminuição da excreção de cálcio em rins de ratos liberados de obstruções unitalerais, mas o mesmo não ocorre naqueles liberados de obstruções bilaterais. Em animais de experimentação, parece que a reabsorção de cálcio depende do hormônio paratireoidiano. A excreção aumentada de magnésio na urina após a liberação de uma obstrução uni ou bilateral pode chegar a ter repercussão clínica. O provável segmento de néfron comprometido é o ramo ascendente espesso da alça de Henle, onde uma proporção maior de magnésio filtrado é reabsorvida, quando comparado com o cálcio[18].

CONCLUSÃO

A obstrução do trato urinário permanece como importante causa de insuficiência renal a despeito do grande avanço nas técnicas cirúrgicas, nas medidas de cuidados intensivos e de enfermagem e no arsenal de novas drogas. Sua patogênese ainda é compreendida de maneira incompleta, apesar dos numerosos estudos realizados em animais de experimentação nas últimas quatro décadas. Mesmo assim, tais observações levaram à melhor compreensão de outros tipos de falência renal aguda. A insuficiência renal aguda de causa obstrutiva evidenciou a participação decisiva de uma ampla variedade de hormônios e autacóides intra-renais interagindo uns com os outros e sobre os rins acometidos e que ainda merecem maiores investigações.

Assim como nas outras formas de falência renal aguda, os rins na condição obstrutiva, por um determinado tempo, ainda possuem a capacidade de recuperação de uma perda de função temporária e completa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. YARGER WE: Obstructive urinary tract disease as a cause of acute renal failure, in *Acute Renal Failure*, edited by Lazarus JM, Brenner BM, New York, Churchill Livingstone, 1993, pp 393-415.
2. YARGER WE, GRIFFITH LD: Intrarenal hemodynamics following chronic unilateral ureteral obstruction in the dog. *Am J Physiol* 227:816-826, 1974.
3. GILMORE JP: Renal vascular resistence during elevated ureteral pressure. *Circ Res* 15(Suppl):148-152, 1964.
4. WRIGHT FS, BRIGGS JP: Feedback control of glomerular blood flow, pressure, and filtration rate. *Physiol Rev* 59:958-1006, 1979.
5. Dal CANTON A, STANZIALE R, CONADI A, ANDREUCCI VE, MIGONE L: Effects of acute ureteral obstruction on glomerular hemodynamics in rat kidneys. *Kidney Int* 12:403-411, 1977.
6. HARRIS RH, BILL JM: Changes in glomerular filtration rate during complete obstruction in rats. *Kidney Int* 19:603-607, 1981.
7. FELSEN D, LOO MH, VAUGHAN Jr ED: Effect of ureteral obstruction on renal hemodinamics. *Semin Urol* 5:160-166, 1991.
8. LUSCHER TF, BOCK HA, YANG Z, DIEDERICH D: Endothelium derived relaxing and contracting factors: Perspectives in nephrology. *Kidney Int* 39:575-590, 1991.
9. MONCADA S, PALMER RMJ, HIGGS EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43:109-142, 1991.
10. CHEVALIER RL, PEACH MJ: Hemodynamic effects of enalapril on neonatal chronic partial ureteral obstruction. *Kidney Int* 28:891-898, 1985.
11. HARRIS RH, YARGER WE: Renal function after release of unilateral ureteral obstruction in rats. *Am J Physiol* 227:8006-8010, 1974.
12. HARRIS RH, YARGER WE: Renal function in rats. *Am J Physiol* 227:806-812, 1974.
13. TANNER GA: Effects of kidney tubule obstruction on glomerular function in rats. *Am J Physiol* 237:F379-F383, 1979.
14. VAUGHAN ED, SWEET RC, GILLENWATER JY: Peripheral renin and blood pressure changes following complete unilateral occlusion. *J Urol* 104:89-94, 1970.
15. SCHOR N, ICHIKAWA I, BRENNER BM: Glomerular adaptation to chronic dietary salt restriction or excess. *Am J Physiol* 238:F428-F436, 1980.
16. YANAGISAWA H, MORRISEY J, KLAHR S: Mechanism of enhanced eicosanoid production by isolated glomeruli from rats with bilateral ureteral obstruction. *Am J Physiol* 261:F248-F255, 1991.
17. YANAGISAWA H, MORRISEY J, MORRISON AR, PURKERSON ML, KLAHR S: Role of ANG II in eicosanoid production by glomeruli from rats with bilateral ureteral obstruction. *Am J Physiol* 258:F85-F93, 1990.
18. KLAHR S, HARRIS K, PURKERSON ML: Effects of obstruction ou renal functions. *Pediatr Nephrol* 2:34-42, 1988.
19. ICHIKAWA I, PURKERSON ML, YATES J, KLAHR S: Dietary protein intake conditions the degree of renal vasoconstriction in acute renal failure caused by ureteral obstruction. *Am J Physiol* 249:F54-F61, 1985.
20. MORRISON AR, NISHIKAWA K, NEEDLEMAN P: Unmaskin of tromboxane syntesis by ureteral obstruction in the rabbit kidney. *Nature* 267:259-264, 1977.
21. SEALEY JE, ATTLAS SA, LARAGH JH: Human urinarykallikrein converts inactive to active renin and is a possible physiological activator of renin. *Nature* 275:144-149, 1978.
22. FLAMENBAUN W, GAGNON J, RAMWELL P: Bradykinin-induced renal hemodynamic alterations: renin and prostaglandin relationship. *Am J Physiol* 237:F433-F441, 1979.
23. FRANCISCO LL, HOVERSTEN LG, DiBONA GF: Renal nerves in the compensatory adaptation to ureteral occlusion. *Am J Physiol* 238:F229-F234, 1980.
24. Dal CANTON A, CORRADI A, STANZIALE R, MARUCCIO G, MIGONE L: Glomerular hemodynamics before and after release of 24-hour bilateral ureteral obstruction. *Kidney Int* 17:491-496, 1980.
25. Dal CANTON A, CORRADI A, STANZIALE R, MARUCCIO G, MIGONE L: Effects of 24-hour unilateral ureteral obstruction on glomerular hemodynamics in rat kidney. *Kidney Int* 15:457-462, 1979.
26. YANAGISAWA H, MORRISEY J, KLAHR S: Bilateral ureteral obstruction alters level of the G-protein subunits G αs and G αq/11. *Kidney Int* 43:865-871, 1993.
27. LAZLO K, JUSZKO J, BALINT P: Intrarenal haemodynamics in postobstructive diuresis in the dog. *Acta Physiol Hung* 53:409-414, 1979.
28. BUERKERT J, HEAD M, KLAHR S: Effects of acute bilateral obstruction on deep nephron and terminal collecting duct function in the young rat. *J Clin Invest* 59:1055-1061, 1977.

29. HSU CH, KURTZ TW, ROSENZWEIG J, WELLER JM: Intrarenal haemodynamics and renal function in postobstructive uropathy. *Invest Urol* 15:348-352, 1978.
30. YARGER WE: Urinary tract obstruction, in *The Kidney*, edited by Brenner BM, Rector Jr FC, Philadelphia, WB Saunders, 1991, pp 1768-1808.
31. HANLEY MJ, DAVIDSON K: Isolated nephron segments from rabbit models of obstructive nephropaty. *J Clin Invest* 69:165-169, 1982.
32. YARGER WE, AYNEDJIAN HS, BANK N: A micropuncture study of postobstructive diuresis in the rat. *J Clin Invest* 51:625-629, 1972.
33. BUERKERT J, ALEXANDER E, PUERKENSON M, KLAHR S: On the site of decreased fluid reabsorption after release of ureteral obstruction in the rat. *J Lab Clin Med* 87:397-403, 1976.
34. BUERKERT J, MARTIN D, HEAD M: Effect of acute ureteral obstruction on terminal collecting duct function in the weanling rat. *Am J Physiol* 236:F269-F275, 1979.
35. SONNENBERG H, WILSON DR: The role of the medullary collecting ducts in postobstructive diuresis. *J Clin Invest* 57:1564-1574, 1976.
36. PETERSON LJ, YARGER WE, SCHOCKEN DD, GLENN JF: Postobstructive diuresis: a varied syndrome. *J Urol* 113:190-195, 1975.
37. CONDRA CL, LEIDY CA, BUNTING P, COLTON CD, NUTT RF, ROSENBLATT M, JACOBS JW: Clearance and early hydrolysis of atrial natriuretic factor in vivo: Structural analysis of cleavage sites and design of an analogue that inhibits hormone cleavage. *J Clin Invest* 81:1348-1354, 1988.
38. OLSEN UB, WEIS JU, DINESS V, WOLFFBRANDT KH: Triopeptin III improves renal function in a ureter-obstructed rat kidney model. *Eur J Pharmacol* 122:1099-1103, 1986.
39. NAGLE RB, JOHNSON ME, JERVIS HR: Proliferation of renal interstitial cells following injury induced by ureteral obstruction. *Lab Invest* 35:18-22, 1976.
40. KLAHR S: New insights into the consequences and mechanisms of renal impairment in obstructive nephropathy. *Am J Kidney Dis* 6:689-698, 1991.
41. STEINHARD GF, RAMON G, SALINAS-MADRIGAL L: Glomerulosclerosis in obstructive uropathy. *J Urol* 140:1316-1318, 1988.
42. SCHAIMUCH LJ, HANO JE: Bilateral ureteral obstruction following sulfametoxazole. *J Urol* 98:466-469, 1967.

23

INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA ASSOCIADA À INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Regina Célia Rodrigues de Moraes Abdulkader

INTRODUÇÃO

As doenças cardíacas estão associadas à insuficiência renal aguda (IRA) por vários mecanismos. O principal deles é a deterioração da função miocárdica levando a um quadro de insuficiência cardíaca congestiva (ICC). Este é o aspecto que será mais profundamente abordado nesta revisão.

A ICC induz mecanismos adaptativos sistêmicos e renais que podem levar à diminuição da filtração glomerular (FG) e finalmente à IRA. A primeira conseqüência da ICC é a diminuição do débito cardíaco levando à redução do volume intravascular efetivo (VIE) (Fig. 23.1). A diminuição do VIE é detectada pelos receptores de volume de alta pressão localizados no seio carotídeo e arco aórtico. A ativação desses receptores leva à diminuição dos impulsos inibitórios sobre o sistema nervoso simpático com conseqüente aumento da atividade simpática, vasoconstrição sistêmica e renal, diminuição da FG e retenção de sódio e água. A doença miocárdica leva à distensão das câmaras cardíacas, estiramento dos átrios e ativação dos receptores de baixa pressão aí localizados. A ativação desses receptores de baixa pressão aumenta a atividade vagal, o que, de certa forma, contrabalança o aumento da atividade simpática acima citado[1].

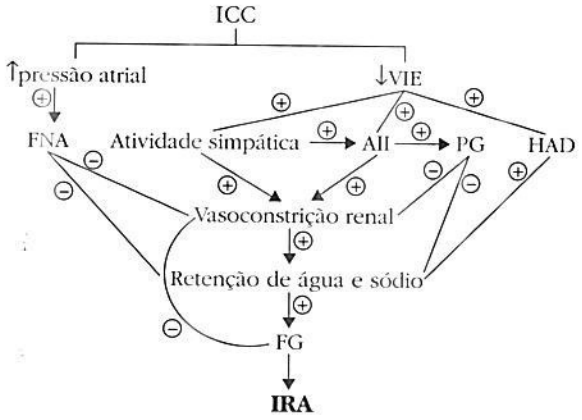


Figura 23.1 – Mecanismos fisiopatológicos envolvidos na insuficiência renal aguda associada à insuficiência cardíaca congestiva.

ICC = insuficiência cardíaca congestiva; VIE = volume intravascular efetivo; HAD = hormônio antidiurético; AII = angiotensina II; PG = prostaglandinas; FNA = fator natriurético atrial; FG = filtração glomerular; ⊕ = aumenta ou estimula; ⊖ = diminui ou inibe.

O estiramento dos átrios induz também à liberação do fator natriurético atrial (FNA) que diminui a secreção de renina e aldosterona e aumenta a natriurese. Na ICC parece existir resistência à ação renal do FNA. A diminuição do VIE e o aumento da atividade simpática estimulam o sistema renina-angiotensina-aldosterona. O aumento da angiotensina II (AII) é importante na manutenção da FG nessas condições de diminuição do VIE, através da sua ação vasoconstritora preferencial sobre a arteríola eferente glomerular. No entanto, em concentrações mais elevadas, a ação vasoconstritora da AII se faz também sobre a arteríola aferente glomerular levando à diminuição da FG. A elevação da AII induz um aumento de prostaglandinas (PG) que, por meio de sua ação vasodilatadora renal e natriurética, se contrapõe, à semelhança do FNA, à ação vasoconstritora e antinatriurética da AII. A diminuição do VIE também leva ao aumento do hormônio antidiurético (HAD) que aumenta a reabsorção renal de água, podendo produzir hiponatremia: distúrbio eletrolítico comum na ICC. À medida que a ICC se torna mais grave, os mecanismos adaptativos tor-

nam-se insuficientes no sentido de manter o VIE, ocorrendo grande diminuição da FG e conseqüentemente IRA[1].

A IRA associada à ICC é, em princípio, pré-renal, portanto se caracterizando por uma relação elevada de uréia/creatinina no plasma, oligúria, fração de excreção de sódio < 1% e pela recuperação da FG com a reversão da ICC. No entanto, os mesmos mecanismos vasoconstritores que levam à IRA pré-renal podem induzir necrose tubular aguda e conseqüentemente apresentar fração de excreção de sódio > 1%. Nessa condição, a FG mantém-se rebaixada mesmo após a reversão do quadro de ICC.

OUTROS FATORES

Além desse mecanismo fisiopatológico mais comumente encontrado na IRA associada à ICC, outros fatores podem levar à IRA por mecanismos diversos. Alguns desses fatores serão analisados a seguir.

Uso de inibidores da enzima de conversão de AI em AII (IECA)

Essas drogas são de primeira linha no tratamento da ICC na medida em que revertem alguns mecanismos induzidos como resposta à ICC. Os IECA diminuem a resistência periférica, em conseqüência aumentam o débito cardíaco, a FG e a natriurese. No entanto, se a vasodilatação arteriolar glomerular produzida pelos IECA for muito intensa, sobrepujando o efeito benéfico do aumento do fluxo sangüíneo glomerular, ocorre diminuição da pressão transcapilar e conseqüentemente da FG e IRA. Vários casos de IRA têm sido descritos em pacientes miocardiopatas graves em uso de diuréticos e IECA. Além de IRA, o uso de IECA nesses pacientes pode levar à hiperpotassemia por diminuição da AII e conseqüentemente da aldosterona[2].

Uso de contrastes radiológicos iodados

Com certa freqüência, pacientes miocardiopatas ou valvulopatas já com um certo grau de ICC são submetidos a exames radiológicos contrastados como, por exemplo, a cinecoronariografia. A nefrotoxicidade do contraste é potencializada por: insuficiência renal prévia, *Diabetes mellitus*, hipovolemia e idade mais avançada. Essas condições estão comumente presentes no paciente com ICC agravando ainda mais a nefrotoxicidade do contraste já facilitada pela diminuição do VIE[2,3].

Uso de antiinflamatórios não hormonais (AINH)

Como exposto acima, a ICC é uma entidade clínica onde os sistemas vasoconstritores estão exacerbados e são contrabalançados pelos sistemas vasodilatadores, entre eles as PG. Nessa situação, a FG é mantida pelo equilíbrio entre esses dois sistemas. Assim, o uso de AINH pode precipitar IRA, como às vezes ocorre em crianças portadoras de ducto arterioso tratadas com AINH. Além de IRA, o uso de AINH nesses pacientes pode levar à maior retenção de água e agravar a hiponatremia, pela diminuição da ação oposta que as PG têm sobre o mecanismo de aumento da permeabilidade tubular à água induzido pela vasopressina. Os AINH podem também levar à hiperpotassemia pela diminuição da secreção de renina, induzida por PG e conseqüentemente da AII e da aldosterona[2,4].

Embolização arterial renal

Os miocardiopatas freqüentemente apresentam arritmias cardíacas ou trombos intracavitários que podem produzir embolização arterial sistêmica e/ou renal levando à IRA freqüentemente anúrica. Outra possibilidade de embolização arterial que deve-se sempre ter em mente, quando a IRA se instala após cateterização arterial (por exemplo: após arteriografia), é a embolização por cristais de colesterol liberados de placas ateromatosas. Esse quadro de IRA se caracteriza por eosinofilia e diminuição do complemento sérico por consumo e em geral não ocorre recuperação da FG[3].

Doenças sistêmicas acometendo coração e rins

Certas doenças podem acometer simultaneamente coração e rim, entre elas pode-se citar: lúpus eritematoso sistêmico levando à glomerulonefrite proliferativa e à IRA e descompensação cardíaca, ou por hipertensão arterial, ou por miocardite ou por cor anêmico por anemia hemolítica; viroses produzindo miocardites e glomerulonefrites e doenças que em geral levam a comprometimento mais crônico do rim e do coração como o *Diabetes mellitus*, a amiloidose e a anemia falciforme[3].

Doenças cardíacas que podem induzir lesão renal

Certas doenças cardíacas podem levar à IRA por mecanismos fisiopatológicos diferentes dos descritos para a IRA associada à ICC. Entre elas pode-

se citar a endocardite bacteriana, que pode-se acompanhar de glomerulonefrite, e as doenças valvulares ou próteses valvulares levando à hemólise, hemoglobinúria e NTA. Doenças congênitas cianóticas podem levar a comprometimento renal a longo prazo. Em geral, o decréscimo da FG aparece em indivíduos com mais de 10 anos de cianose e as lesões renais encontradas são glomerulomegalia, proliferação mesangial, mesangiólise ou glomerulosclerose nodular, sugerindo mecanismos fisiopatológicos semelhantes ao da nefropatia diabética[3].

TRATAMENTO

No tratamento do portador de IRA associada à ICC deve-se ter em mente que este é um paciente extremamente instável e no qual a condição cardíaca é tão precária que levou à IRA ou pode piorar rapidamente, seja pela hipervolemia induzida pela IRA, seja por um tratamento diurético ou dialítico muito intenso. Assim, o objetivo do tratamento é tentar melhorar ao máximo a função cardíaca com aminas vasoativas e/ou vasodilatadores evitando-se IECA, que impedem a auto-regulação renal já comprometida pela própria IRA. O comprometimento da auto-regulação renal faz com que pequenas quedas da pressão arterial sistêmica se traduzam por correspondentes quedas de fluxo sangüíneo renal e novos focos de NTA. A AII é um fator de proliferação celular. Se a AII é diminuída pelo IECA, pode ocorrer retardo na recuperação da NTA. Da mesma forma que em IRA de outras etiologias, é importante evitar-se o uso de antibióticos nefrotóxicos[5].

As condições miocárdicas desses pacientes fazem com que a hipervolemia e a congestão pulmonar imponham precocemente um tratamento dialítico, diferentemente do que ocorre com IRA de outras etiologias onde a uremia e as alterações eletrolíticas são mais intensas. Nessas condições, o método dialítico escolhido deve ser capaz de remover um volume relativamente grande de fluido sem, no entanto, levar à maior instabilidade hemodinâmica do paciente. Os métodos dialíticos lentos e prolongados são os que mais bem atendem a essas exigências, tais como a diálise peritoneal, a hemodiálise de fluxo lento, a hemofiltração ou a hemodiafiltração. Se for imperativo o uso da hemodiálise clássica, o procedimento seqüencial de ultrafiltração seca seguida de hemodiálise convencional com banho de bicarbonato permite maior retirada de líquido com menor instabilidade pressórica. Cada um dos procedimentos dialíticos citados têm vantagens e desvantagens como pode ser visto no quadro 23.1.

Quadro 23.1 – Vantagens e desvantagens de diferentes métodos dialíticos no tratamento da insuficiência renal aguda associada à insuficiência cardíaca congestiva.

Vantagens	Desvantagens
Diálise peritoneal	
Pouca alteração hemodinâmica	Pode piorar a função pulmonar
Anticoagulação não necessária	Risco de infecção
Acesso vascular não necessário	Risco de hiperglicemia
Não necessidade de aparelhos	
Hemodiálise de fluxo lento	
Pouca alteração hemodinâmica	Necessidade de acesso vascular
Retirada de grandes quantidades de volume	Necessidade de anticoagulação prolongada
	Risco de hiperglicemia
	Necessidade de bomba rolete
Hemofiltração ou hemodiafiltração	
Pouca alteração hemodinâmica	Necessidade de acesso vascular
Uso de solução de bicarbonato	Necessidade de anticoagulação
Possibilita maiores retiradas de volume	Necessidade de pessoal altamente treinado
	Custo elevado
	Necessidade de bombas de infusão ou equipamento específico
Hemodiálise clássica	
Curta duração	Alterações hemodinâmicas
Bom "clearance"	Necessidade de acesso vascular
Método conhecido	Necessidade de equipamento específico
Pode ser realizada com anticoagulação mínima	Custo menor
Uso de banho de bicarbonato	Necessidade de pessoal habilitado

PROGNÓSTICO

O prognóstico do paciente com IRA associada à ICC é ruim. Em levantamento de 85 pacientes adultos miocardiopatas graves em IRA atendidos pelo grupo de IRA do Hospital das Clínicas da FMUSP, verificou-se uma mortalidade de 75%. Todos os 85 pacientes haviam sido submetidos a pelo menos uma diálise peritoneal. A idade média desses pacientes foi de 57 anos (15 a 81 anos), sendo 74% homens. A idade e o sexo não foram determinantes de maior mortalidade. Quando a condição hemodinâmica do paciente impunha a necessidade de duas ou mais drogas vasoativas para manter a pressão arterial, quando a indicação da diálise ocorreu por hipervolemia e quando existia oligúria (volume urinário menor do que < 400ml/dia), a mortalidade nesses pacientes chegou a 86%. Os pacientes nesse grupo de 85 analisados, que tiveram menor mortalidade (57%), foram aqueles dialisados essencialmente por uremia e não por hipervolemia, que estavam em uso de menos do que duas drogas vasoativas e nos quais a doença miocárdica que os acometia era a miocardiopatia isquêmica ou hipertensiva[6].

Assim, quando o médico se depara com um paciente miocardiopata, deve tentar precocemente preservar ao máximo a função miocárdica no sentido de prevenir a instalação da IRA com todas as suas conseqüências e alta mortalidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BURNETT Jr JC: Acute renal failure associated with cardiac failure and hypovolemia, in *Acute Renal Failure* (3rd ed), edited by Lazarus JM, Brenner BM, New York, Churchill Livingstone Inc, 1993, pp 193-206.
2. SWAN SK, BENNETT WM: Nephrotoxic acute renal failure, in *Acute Renal Failure* (3rd ed), edited by Lazarus JM, Brenner BM, New York, Churchill Livingstone Inc, 1993, pp 357-392.
3. LAJOIE G, LASZIK Z, NADASDY T, SILVA FG: The renal-cardiac connection: renal parenchymal alterations in patients with heart disease. *Semin Nephrol* 14:441-463, 1994.
4. CLIVE DM, STOFF JS: Renal syndromes associated with nonsteroidal antiinflamatory drugs. *N Engl J Med* 310:563-572, 1984.
5. FRANCIS GS: Vasodilators and inotropic agents in the treatment of congestive heart failure. *Semin Nephrol* 14:464-478, 1994.
6. ABDULKADER RC, MENEZES RX, FREITAS I, YU L, MALHEIRO PS, AYROSA PC, BURDMANN EA: Mortality predictors in dialysis dependent acute renal failure in patients with congestive heart failure. (abstract) *Renal Failure* 17:199, 1995.

24

INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA E FALÊNCIA DE MÚLTIPLOS ÓRGÃOS

Domingos O. D'Avila

INTRODUÇÃO

Apesar de notáveis avanços introduzidos na prevenção e no tratamento da insuficiência renal aguda (IRA) e na condução de pacientes criticamente enfermos ao longo dos últimos 50 anos, mantém-se elevada morbidade e, em algumas circunstâncias, altíssima mortalidade (entre um mínimo de 50% e um máximo de 100%, dependendo das populações em análise) neste grupo selecionado de doentes, geralmente internados em unidades de tratamento intensivo (UTI)[1-5].

A aplicação de novas técnicas ao tratamento destes pacientes tem permitido, em muitas situações, prolongar o tempo de hospitalização sem reduzir a mortalidade, representando, de um lado, enorme frustração às equipes de saúde e, de outro, inaceitável sobrecarga financeira à sociedade. Pacientes internados em UTI que apresentam IRA, freqüentemente apresentam também sepse ou lesão de outros órgãos ou sistemas, compondo a assim denominada **síndrome da falência de múltiplos órgãos** (FMO)[1,4,6,7].

A mortalidade relaciona-se à etiologia da IRA – a qual pode contribuir para a falência de outros órgãos –, o que pode modificar o resultado do tratamento[7,8,9]. Apesar de muitos fatores contribuírem para alterar a mortalidade, há crescente preocupação de que o método de substituição da função renal empregado possa mudar o resultado terapêutico[10,11]. Várias alternativas de tratamento estão disponíveis para uso em UTI, mas há poucas informações sobre qual a mais indicada, em cada circunstância. Hemodiálise (HD) convencional tem sido o método mais empregado, tanto em pacientes criticamente enfermos, internados em UTI, como em pacientes de menor risco. A grande maioria dos procedimentos emprega dialisadores capilares em aparelhos que utilizam bicarbonato como alcalinizante.

Durante longo período, a diálise peritoneal intermitente (DPI) foi empregada como forma preferencial de tratamento da IRA, especialmente em locais onde aparelhos de hemodiálise não estavam disponíveis. Seu emprego ainda permanece como alternativa terapêutica importante em crianças.

A disponibilidade de membranas de alta permeabilidade permite a modificação das técnicas de hemodiálise, tanto em pacientes com uremia crônica, como nos que apresentam IRA. Neste grupo, a possibilidade de remover volume e solutos de forma lenta, gradual e contínua, mantendo adequada estabilidade hemodinâmica, tornou-se uma alternativa viável. Há uma grande variedade de terapêuticas contínuas que empregam hemodialisadores convencionais (hemodiálise lenta contínua – HDLC) ou hemofiltros de alta permeabilidade (hemofiltração lenta contínua – HFLC) para o tratamento da IRA[10-17]. Sistemas de pontuação e esquemas de estratificação de riscos têm-se desenvolvido, sendo também empregados em Nefrologia[18-22]. À medida que novas e caras tecnologias são introduzidas – e maiores constrangimentos financeiros são colocados por entidades pagadoras, responsáveis pelos sistemas de saúde – maior se torna a necessidade de criar modelos lógicos úteis para identificar fatores prognósticos na IRA. A variedade de critérios de inclusão e a exclusão dos modelos e sistemas tornam difícil, e por vezes confuso, prever sobrevida e resultados de tratamentos em IRA[4,23,24,25].

IRA geralmente é definida como um aumento de certa magnitude e, em curto tempo, das concentrações plasmáticas de uréia ou creatinina (refletindo a rápida perda de função renal). Poucos levantamentos têm-se limitado à análise de pacientes que necessitem substituição da função renal, que estejam internados em UTI ao iniciar tratamento dialítico ou evoluam com falência de múltiplos órgãos. IRA, definida por critérios bioquímicos (aumento de 50% no nível plasmático de creatinina, por exemplo), ocorre em 1 a 5% de pacientes hospitalizados. Necessitando de substituição da função renal, acompanhada por insuficiência funcional de outro órgão ou sistema, apesar de muito menos freqüente, pode ser uma situação, médica e financeiramente, devastadora. Prever acuradamente o prognóstico nestas circunstâncias seria no máximo interesse de pacientes, familiares e sistemas de saúde[5,18,19,22].

O prognóstico é especialmente dependente de fatores extra-renais que predispõem a IRA.

EPIDEMIOLOGIA

A mortalidade em IRA ainda é superior a 50%, possivelmente por modificação da população em risco: o número de intervenções sofridas por pacientes com doença crônica ou hemodinamicamente instáveis é, definidamente, maior do que foi no passado[7,8,21]. É difícil comparar diferentes estudos, pois, com freqüência, as populações têm características diversas. Pacientes internados em UTI têm maior probabilidade de apresentar IRA e de morrer que pacientes fora destas unidades, provavelmente por estarem mais doentes. Vários estudos têm demonstrado que a mortalidade aumenta progressivamente, à medida que ocorre falência de maior número de órgãos ou funções. Geralmente, falência de mais de três órgãos se acompanha de 100% de mortalidade[26]. Inúmeras condições associadas à IRA concorrem para aumentar sua mortalidade. Em estudo recente, a presença de "**shock**" e a necessidade de "**uso de drogas vasoativas**" e de "**ventilação mecânica**" se associaram fortemente a desfecho desfavorável[26].

A prevalência média de IRA em UTI é de 16%, variando entre largos limites (3 a 30%), quando se analisam pacientes clínicos e cirúrgicos. Esta prevalência é maior do que a registrada em pacientes fora de UTI (2 a 5%) ou na comunidade (1%), possivelmente dependente da presença de fatores associados, em pacientes hospitalizados em UTI. A presença de infecção ou sepse aumenta a possibilidade de IRA em pacientes gravemente enfermos. Pacientes operados de via biliar infectada apresentam IRA com mais freqüência do que indivíduos submetidos a cirurgias abdominais "limpas"[1,3,4,8,27].

PATOGÊNESE

A alteração mais vezes associada à perda aguda de função renal é a redução abrupta e intensa da perfusão sangüínea renal[2]. São particularmente vulneráveis aos efeitos da hipoperfusão pacientes que, para manter filtração glomerular, utilizam mecanismos extraordinários de controle hormonal (via prostaglandinas). Com freqüência, pacientes internados em UTI são submetidos a situações agudas de redução da perfusão renal, ou recebem drogas nefrotóxicas, que se sobrepõem a situações funcionais desfavoráveis, dependentes de suas doenças prévias[28]. Muitos pacientes estão em pós-operatório imediato de grandes cirurgias (cardíaca ou de aorta abdominal); outros estão cronicamente hipovolêmicos, por desnutrição (neoplasias); alguns apresentam perda crônica de função cardíaca, renal ou hepática[4,26,27]. Fração não desprezível de pacientes em IRA com FMO apresenta evidência de infecção prévia, ou no curso do tratamento[6]. Vários mecanismos (imunológicos ou não) de lesão renal se associam a infecções bacterianas e virais[6]. Em pacientes criticamente enfermos, dados experimentais e clínicos sugerem que crescimento bacteriano exagerado em alças intestinais com perfusão sangüínea reduzida pode levar à passagem de microrganismos através da parede intestinal, com bacteriemia, ou endotoxinemia. Endotoxina não atua diretamente, mas estimula a liberação de citocinas que podem atuar diretamente sobre células renais, ou indiretamente, pela ativação de neutrófilos ou monócitos. Neutrófilos ativados podem, também, estar envolvidos na produção da lesão renal aguda pós-isquemia, pela produção de leucotrienos. A produção de leucotrienos e tromboxano é uma hipótese para explicar a ação da endotoxina no rim de pacientes com FMO: a presença de endotoxina ativa, de um lado, a formação de leucotrienos e tromboxano (a partir do ácido araquidônico) e, por outro, estimula a síntese de óxido nítrico (via citocinas). É interessante notar que uma fração dos pacientes sépticos que evoluem com IRA têm anticorpos antiendotoxina em circulação[6].

O desfiladeiro que vai da hipoperfusão à IRA passa, obrigatoriamente, por intensa redução de fluxo sangüíneo cortical superficial, alteração metabólica e redução de ATP[6]. A redistribuição intra-renal do fluxo sangüíneo, preservando as

áreas justamedulares, ocorre mesmo quando o fluxo sangüíneo renal total está ainda relativamente preservado.

É possível que a geração de tromboxano (TxA_2), somada a aumento de angiotensina II (estimulada por múltiplos fatores operando na FMO), bloqueie o efeito protetor das prostaglandinas vasodilatadoras (PGI_2 e PGE_2) sobre a estrutura e a função dos glomérulos justamedulares. Efeito semelhante parece mediar a perda de função renal de pacientes em uso de antiinflamatórios não esteróides[28].

TRATAMENTO DIALÍTICO

Em relação à escolha do método de substituição da função renal, e como utilizá-lo, podem ser feitas algumas considerações.

Geralmente, institui-se diálise na presença de sintomas e sinais de uremia, alterações bioquímicas importantes ou acúmulo de sal e água. Discute-se a vantagem de iniciar precocemente o tratamento em pacientes com FMO, sem esperar que ocorra acúmulo de líquido e sal ou alterações bioquímicas importantes. O uso de diálise como método de suporte geral mais do que substituto da função renal, em UTI, parece ser a tendência atual. Há evidências de que diálise precoce se associa a melhor prognóstico[29]. Há, também, relação entre níveis séricos de uréia pré-diálise e aumento de mortalidade. A maioria dos pacientes com IRA em vigência de FMO, mais do que azotermia, apresenta acúmulo de sal e água, como indicação para diálise[9,14].

A freqüência das diálises é importante quando se empregam modalidades intermitentes (HD e DPI). Na ausência de sintomas urêmicos, os níveis de creatinina e uréia, ou alterações eletrolíticas, são os fatores determinantes de seu emprego. A literatura é conflitante quando se tenta relacionar freqüência de tratamento e desfecho[9,27,29]. Não parece haver dados conclusivos, também, quando se comparam terapias intermitentes e contínuas. Em nossa série, não se detectou diferença entre formas de tratamento e desfecho[26].

A manutenção do tratamento é determinada, basicamente, por recuperação da função renal. A maioria dos pacientes com IRA recobra a função renal em quatro a seis semanas. Evidentemente, há casos com evolução prolongada ou que não recuperam integralmente a função renal.

Diversos estudos têm-se direcionado para determinar fatores prognósticos em IRA. Isolada, resultante de alterações hemodinâmicas temporárias ou ação de substâncias nefrotóxicas, pode-se acompanhar de muito baixa mortalidade. O prognóstico em IRA parece ser mais dependente da falência de outros órgãos e sistemas. Há incremento progressivo de mortalidade à medida que aumenta o número de órgãos funcionalmente comprometidos[5,24,27,30]. No mesmo levantamento, praticamente não houve sobreviventes com mais de três órgãos em falência, além de IRA. Por outro lado, o aparecimento de IRA em paciente com FMO, e criticamente doente em UTI, encerra prognóstico muito reservado e aumenta importantemente o risco de morte. A presença de FMO, associada à IRA, pode influir na escolha da terapêutica de substituição da função renal de duas maneiras[9,12]:

1. Pode ser um limitador da escolha – cirurgia abdominal pode impedir o uso de DPI ou DPC. Pacientes hemodinamicamente instáveis podem não tolerar HD.
2. Pode ser um indicador da escolha – usar anticoagulante, depende da presença ou não de distúrbio da coagulação. DPI não exige anticoagulação sistêmica e HD pode ser realizada sem anticoagulante, por lavagem periódica do sistema com solução fisiológica (métodos "lentos contínuos" podem ser arriscados, em presença de defeitos da coagulação).

Número considerável de pacientes com IRA e FMO, internados em UTI, apresenta insuficiência respiratória; muitos usam, pelo menos temporariamente, drogas vasopressoras por instabilidade hemodinâmica e, provavelmente, a maioria recebe alimentação enteral ou nutrição parenteral integral. A utilização de hemodiálise convencional, nestas condições, é problemática. Deslocar ou manter o equipamento junto com vários outros sistemas de controle e suporte é complexo. Manter o equilíbrio hemodinâmico e, ao mesmo tempo, retirar o excesso de água e sal acumulados por necessidades nutricionais ou metabólicas pode-se tornar impossível, com técnicas intermitentes. Os métodos "lentos contínuos" de substituição da função renal (hemodiálise e hemofiltração) têm sua grande indicação nestas situações. Se adequadamente instituídos e controlados, são capazes de manter o equilíbrio metabólico e hidrossalino de praticamente todos os doentes. É preciso determinar a modalidade que melhor se adapte às necessidades de cada paciente: pela seleção da via de acesso, pela escolha da membrana e pela decisão sobre a maneira de repor líquidos e sais (pré ou pós-dialisador, ou hemofiltro). A escolha da membrana (forma de transporte: se por "difusão" ou por "arrastamento", ou por ambos) dependerá das necessidades do paciente,

das facilidades de controle operacional e da disponibilidade financeira (hemofiltros ainda são caros)[13,14,16,17].

A simplicidade operacional e a flexibilidade de manejo dos métodos contínuos tornam-os ideais para uso em UTI. Deve-se lembrar que encerram problemas e riscos, também: o controle da coagulação sangüínea no circuito extracorpóreo é crítico (pode ocorrer sangramento anormal ou trombose da tubulação), as perdas e a reposição de líquidos podem variar rapidamente e, se técnicas venovenosas são usadas, há risco de embolia gasosa[10,11,17].

É difícil determinar o impacto do método de substituição da função renal na sobrevida: a mortalidade é elevada (entre 68 e 100%, para 1 a 4 falências, em nossa série) e pode determinar a vantagem de um sobre outro[26]. É também possível que exista um viés inicial na seleção: pacientes mais graves, hemodinamicamente instáveis, são, ou foram, alocados para terapias lentas contínuas[11]. Talvez se necessite de um número grande de observações para permitir separar adequadamente os desfechos, em cada grupo.

NUTRIÇÃO EM IRA

É necessário suporte nutricional adequado para prevenir ou minimizar a perda de massa muscular, compensar deficiências nutricionais e evitar a ocorrência de desnutrição intensa. Programas nutricionais para pacientes em IRA, como parte de FMO, terão de levar em consideração as conseqüências metabólicas do trauma agudo, infecção, doença subjacente e modalidade de tratamento dialítico, pelo menos[31].

Pacientes com IRA não complicada têm gasto energético normal.

A maioria dos pacientes com IRA, em vigência de FMO, apresenta alto catabolismo protéico, freqüentemente acompanhado por dificuldade ou impossibilidade de alimentação espontânea. Esta situação leva a balanço calórico e nitrogenado nagativo, com rápida perda de massa muscular e alterações dos mecanismos imunológicos[2]. As causas podem ser: resistência à insulina, liberação de hormônios catabolizantes e ativação de mediadores inflamatórios (citocinas) e proteases. Acidose metabólica e diálise extracorpórea aumentam o catabolismo protéico, a elas se juntando a presença freqüente de infecção. A passagem, intermitente ou contínua, de sangue por um circuito extracorpóreo com membrana relativamente permeável e de material não totalmente inerte, de um lado, produz perda significativa de aminoácidos e, de outro, ativa citocinas que contribuem para o catabolismo protéico. Lembre-se, ainda, que processos lentos contínuos podem se associar a perdas calóricas entre 750 e 1.000kcal/dia[31].

Pacientes com catabolismo aumentado parecem ter, pelo menos, duas vezes mais chance de morrer do que os que mantêm metabolismo normal[2]. É provável que uma parcela da morbidade e da mortalidade se deva à incapacidade de considerar a importância do aumento das necessidades nutricionais do paciente.

É possível que maior oferta calórica se relacione a melhor sobrevida, em IRA. A evidência em favor desta hipótese, entretanto, não é evidente.

A maioria dos pacientes com IRA e FMO não conseguem, espontaneamente, adequada ingestão protéica: estão em ventilação mecânica, foram submetidos a cirurgia abdominal, têm náuseas e vômitos, ou estão comatosos.

Sem o emprego de métodos "lentos contínuos", torna-se extremamente difícil manter pacientes com IRA adequadamente nutridos, sem expansão de volume extracelular, pois a oferta nutricional, por via enteral ou parenteral, é obtida sob forma líquida. A possibilidade de retirar grandes volumes por processos lentos contínuos permite o uso de dietas adequadas à nutrição do paciente agudamente urêmico[11,12,13].

Por fim, deve-se lembrar que as metas nutricionais em IRA são fundamentalmente diferentes daquelas em insuficiência renal crônica e que as necessidades metabólicas são determinadas mais pela doença desencadeante, por suas complicações, e pela freqüência e tipo de diálise, do que pela uremia aguda[31].

USO DE ANTIBIÓTICOS

Em amostra que foi objeto de análise recente, 94% dos indivíduos usaram antibióticos. Muitas vezes, seu emprego deveu-se à causa desencadeante da FMO com IRA; em outras, foram usados para tratamento de complicações surgidas ao longo da evolução[26]. Seu uso é dificultado pela IRA e, com freqüência, está implicado na gênese ou no agravamento da insuficiência renal: o metabolismo de muitas drogas é modificado pela uremia, necessitando de ajustes de dose. Métodos contínuos de hemodiálise ou hemofiltração interferem na cinética e nos níveis circulantes de quimioterápicos e antibióticos[12,14].

A maioria das infecções se relaciona a procedimentos cirúrgicos anteriores, ou iniciam durante o tratamento em UTI, como conseqüência da intensa manipulação e do uso de procedimentos invasivos, por germes altamente selecionados[26].

Não há estudos adequados que confirmem, em IRA com falência respiratória, a vantagem de usar métodos profiláticos na redução da população bacteriana e fúngica de via aérea superior e tubo digestivo. Há sugestão de que em outras situações de tratamento intensivo o uso de antibióticos e fungicidas, profilaticamente, reduz a incidência de infecção pulmonar de pacientes em suporte respiratório. É possível que a administração de imunoglobulina G reduza a ocorrência de infecções e modifique favoravelmente a mortalidade em IRA[32]. Como a variável que mais se relaciona à mortalidade é insuficiência respiratória, é possível que medidas que interfiram favoravelmente para melhor controle bacteriano se reflitam em melhores resultados de tratamento.

MODELOS PREDITIVOS

A progressiva complexidade introduzida nos métodos de diagnóstico, na monitorização de sinais vitais, nas formas de suporte e no tratamento de pacientes gravemente enfermos tem-se acompanhado por custos permanentemente crescentes. A maior parte destes custos ocorre pelo tratamento em UTI. As atividades destas unidades têm de ser mensuradas em termos de "custo-efetividade": os pacientes em tratamento, avaliados quanto à probabilidade prévia para determinado "desfecho" e seu "risco" estratificado, como parte daquela avaliação[18,19,20,22,23,24,25,27].

Os modelos probabilísticos e de avaliação de riscos podem auxiliar o médico e familiares a tomada de decisões em situações extremas, como manter ou suspender determinadas condutas terapêuticas. Podem, também, ser úteis para avaliar a capacidade de determinada conduta em modificar o desfecho de certas situações. Com recursos progressivamente limitados, modelos de avaliação, eventualmente, serão usados para definir que pacientes poderão ser realmente beneficiados por determinados procedimentos[23,32,33,34].

Entre os sistemas de classificação da gravidade de doenças, o mais utilizado é o **APACHE** ("acute physiology and chronic health evaluation"), e em suas diversas versões (I, II e III) toma por base que **a gravidade de uma doença aguda pode ser medida quantificando-se o grau de anormalidade de múltiplas variáveis fisiológicas.** Este sistema tem sido, com grande freqüência, empregado na avaliação de pacientes em IRA internados em UTI[18,19]. Outras tentativas de aplicação de sistemas de avaliação de risco e previsão de desfecho têm-se desenvolvido, especificamente para a IRA. Todos analisam variáveis fisiológicas, clínicas e laboratoriais ao longo da evolução, às quais se aplicam testes estatísticos que incluem análise de função discriminante e regressão logística uni e multivariada. Os resultados individuais parecem confiáveis. Entretanto, é difícil compará-los, por não definirem de forma uniforme as variáveis, não haver validação prospectiva suficiente e os resultados não se reproduzem, quando usados por outros centros, na maioria dos modelos. Aparentemente, são específicos para cada instituição[22].

COMENTÁRIOS

O prognóstico de pacientes com IRA isolada tem sido progressivamente favorável, graças a avanços tecnológicos e terapêuticos, especialmente nas áreas de membranas, aparelhos, nutrição e antibióticos[1,2,27,35,36,37]. Ocorrendo como parte da FMO, entretanto, permanece com prognóstico reservado[23,35,38,32]. O emprego de hemodiálise, em suas várias modalidades (HD ou HDLC), ou hemofiltração (HFLC, arteriovenosa ou venovenosa) pode, em algumas circunstâncias, ser a diferença entre sobrevida ou morte do paciente[14,15]. Entretanto, em numerosas outras, pode ser um esforço inútil: a magnitude do comprometimento de órgãos ou sistemas encaminha ao desfecho fatal, a despeito de qualquer esforço[27]. Determinar, prospectivamente, que grupo de pacientes tem maior chance de sobrevida e nele concentrar esforços pode ser atitude correta, do ponto de vista de "custo-benefício". Ao mesmo tempo, introduzir modificações no manejo das variáveis que diretamente se associam à mortalidade pode contribuir para melhorar resultados[27,33,34].

Quando se analisou uma série (n = 100) de pacientes com IRA e FMO, fatores clínicos antecedentes não foram importantes no resultado final, mas certas complicações, simultâneas, foram determinantes do desfecho. Necessitar de suporte ventilatório, estar hemodinamicamente instável, ser portador de infecção, ter necessitado de cirurgia foram, isoladamente ou associados a outras fatores (como sangramento digestivo, defeito de coagulação), importantes determinantes de desfecho fatal. Quando se analisaram os dois grupos (**sobrevida** ou **morte**), verificou-se que a ocorrência de falência de outros órgãos ou sistemas piorou o prognóstico progressivamente, não havendo sobreviventes com mais de três órgãos ou sistemas em disfunção simultânea, além da falência renal. Entretanto, não foi possível demonstrar relação entre idades extremas e aumento do risco de morte, mesmo separando três grupos (0 a 10 anos, 11 a 65 e acima de 65 anos de idade). A análise de função discriminante, na amostra em

consideração, não apresentou sensibilidade e especificidade elevadas. A análise multivariada apontou as mesmas variáveis que, em outras séries, são determinantes de mau prognóstico[26].

Ao longo de várias décadas, e apesar de grandes avanços tecnológicos, a mortalidade por IRA não se tem modificado significativamente[1,2,27]. É possível que pacientes internados em UTI e necessitando de diálise, presentemente, estejam mais doentes do que há alguns anos: a progressiva sofisticação dos métodos de controle (monitorização hemodinâmica à beira do leito) e o tratamento (balão intra-aórtico e métodos "lentos" de depuração) em UTI permitem a sobrevida de pacientes que não seriam considerados para tratamento, no passado[15,26,30,39,40,41].

A mortalidade de pacientes com FMO e IRA, em qualquer centro de tratamento, mantém-se elevada. Entretanto, várias áreas de pesquisa e observação podem abrir a discussão e algumas perguntas ser feitas, como:

1. Utilizar mais intensamente os métodos contínuos?
2. Iniciar diálise mais precocemente e usá-la mais intensamente?
3. Melhorar os métodos de nutrição enteral e parenteral disponíveis?
4. Tornar mais eficaz o tratamento profilático e curativo das infecções?

Responder adequadamente a estas questões pode ser um caminho para melhorar resultados no tratamento da IRA e da FMO.

CONCLUSÕES

A revisão da literatura e a análise dos dados de várias séries permitem observações sobre evolução, formas de tratamento, gravidade e desfecho, sugerindo possíveis caminhos para melhorar o desempenho de equipes que tratam população selecionada de doentes, com quadro clínico complexo, alta mortalidade e elevado custo de tratamento. A despeito dos inúmeros avanços tecnológicos e da introdução de novas drogas, a mortalidade de pacientes com IRA, como parte da FMO, permanece elevada[1,26,27,37,38,39]. É impossível ignorar que grande soma de esforços e recursos materiais é jogada fora, na tentativa de recuperar alguns destes pacientes, resultando em frustração das equipes terapêuticas e resistência dos provedores de recursos[27].

Inúmeros modelos para a avaliação de risco têm sido criados para a aplicação a pacientes internados em UTI, com resultados variáveis[18,19]. Alguns são de manipulação complexa e outros apresentam resultados divergentes, se usados em instituições diferentes[20,24]. A busca de um modelo ideal deve continuar, para entender e melhorar o tratamento dos fatores críticos à sobrevida e fazer com que recursos materiais escassos não se gastem em vão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CIOFFI WG, ASHIKAGA T, GAMELLI R: Probability of surviving postoperative acute renal failure. Development of a prognostic index. *Ann Surg* 200:205-211, 1984.
2. FINN WF: Recovery from acute renal failure, in *Acute Renal Failure* (3rd ed), edited by Lazarus JM, Brenner BM, New York, Churchill Livingstone, 1993, pp 553-596.
3. FEEST TG, ROUND A, HAMAD S: Incidence of severe acute renal failure in adults: results of a community based study. *BMJ*, 306:481-483, 1993.
4. WILKINS RG, FARAGHER EB: Acute renal failure in an intensive care unit: incidence, prediction, and outcome. *Anaesthesia* 38:628-634, 1983.
5. WOODROW G, TURNEY JH: Cause of death in acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 7:230-234, 1992.
6. WIECEK A, ZEIER M, RITZ E: Role of infection in the genesis of acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 9(Suppl 4):40-44, 1994.
7. WARDLE EN: Acute renal failure and multiorgan failure. *Nephrol Dial Transplant* 9(Suppl 4):104-107, 1994.
8. TRAN DD, Van ONSELEN EBH, WENSINK AJF, CUESTA MA: Factors related to multiple organ system failure and mortality in a surgical intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant* 9(Suppl 4):172-178, 1994.
9. MEHTA RL: Therapeutic alternatives to renal replacement for critically ill patients in acute renal failure. *Femin Nephrol* 14:64-82, 1994.
10. RONCO C: Continuous renal replacement therapies in the treatment of acute renal failure in intensive care patients. Part 1. Theoretical aspects and techniques. *Nephrol Dial Transplant* 9(Suppl 4):191-200, 1994.
11. RONCO C: Continuous renal replacement therapies in the treatment of acute renal failure in intensive care patients. Part 2. Clinical indications and prescription. *Nephrol Dial Transplant* 9(Suppl 4):201-209, 1994.
12. ALARABI AA, DANIELSON BG, WINSTRÖM B: Continuous arteriovenous hemodialysis: outcome in intensive care acute renal failure patients. *Nephron* 64:58-62, 1993.
13. RONCO C: Continuous renal replacement therapies for the treatment of acute renal failure in the intensive care patients. *Clin Nephrol* 40:187-198, 1993.
14. KIERDORF H: Continuous versus intermittent: clinical results in acute renal failure. *Contrib Nephrol* 93:1-12, 1991.
15. McDONALD BR, MEHTA RL: Decreased mortality in patients with acute renal failure undergoing continuous arteriovenous hemodialysis. *Contrib Nephrol* 93:51-56, 1991.
16. HIRASAWA H, SUGAI T, OHTAKE Y, ODA S, SHIGA H, MATSUDA K, ITAMURA N: Continuous hemodiafiltration in the management of multiple organ failure. *Contrib Nephrol* 93:42-46, 1991.
17. BELLOMO R, PARKIN G, LOVE J, BOYCE N: Use of continuous hemodiafiltration: an approach to the management of acute renal failure in the critically ill. *Am J Nephrol* 12:240-245, 1992.
18. KNAUS WA, DRAPER EA, WAGNER DP, ZIMMERMANN JE, APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13:818-829, 1985.
19. KNAUS WA, WAGNER DP, DRAPER EA, ZIMMERMANN JE: The APACHE III prognostic system. Risk prediction of hos-

pital mortality for critically ill hospitalized adults. *Chest* 100:1619-1636, 1991.
20. WRIGHT JG, PIFARRE R, SULLIVAN HJ: Multivariate discriminant analysis of risk factors for operative mortality following isolated coronary artery bypass graft *Chest* 91:394-399, 1987.
21. COSENTINO F, CHAFF C, PIEDMONTE M: Risk factors influencing survival in ICU acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 9(Suppl 4):179-182, 1994.
22. HALSTEMBERG WK, GOORMASTIC M, PAGANINI EP: Utility of risk models for renal failure and criticaly ill patients. *Semin Nephrol* 14:23-32, 1994.
23. SHUSTERMAN N, STROM BL, MURRAY TG, MORRISON G, WEST SL, MAISLIN G: Risk factors and outcome of hospital acquired acute renal failure. *Am J Med* 83:65-71, 1987.
24. RASMUSSEN HH, PITT EA, IBELS LS, Mc NEIL DR: Prediction of outcome in acute renal failure by discriminant analysis of clinical variables. *Arch Intern Med* 145:2015-2018, 1985.
25. LOHR JW, McFAIRLAINE MJ, GRANTHAM JJ: A clinical index to predict survival in acute renal failure patients requiring dialysis. *Am J Kidney Dis* 11:254-259, 1988.
26. D'AVILA DO, GALÃO AO, SANTOS HF: Insuficiência renal aguda e falência de múltiplos órgãos. *J Bras Nefrol* (no prelo).
27. CHERTOW GM, CHRISTIANSEN CL, CLEARY PD, MUNRO C, LAZARUS JM: Prognostic stratification in critically ill patients with acute renal failure requiring dialysis. *Arch Int Med* 155:1505-1511, 1995.
28. PALMER BF, HENRICH WL: Clinical acute renal failure with nonsteroidal anti-inflamatory drugs. *Semin Nephrol* 15:214-227, 1995.
29. KLEINKNECHT JP, CHANARD J, BARABANEL C: Uremic and non uremic complications on acute renal failure: evaluation of early and frequent dialysis on prognosis. *Kidney Int* 1:190, 1972.
30. ELIHOU HE, BEN-DAVID A, BLAU A: Recovery may be enhanced in acute renal failure of multisystem organ failure. *Contrib Nephrol* 106:59-62, 1994.
31. DRUML W: Nutritional considerations in the treatment of acute renal failure in septic patients. *Nephrol Dial Transplant* 9(Suppl 4):219-223, 1994.
32. KEANE WF, HIRATA-DULAS CAI, BULLOCK ML, NEY AL, GUAY DR, KALIL RS, DINARELLO CA, HALSTENSON CE, PETERSON PK: Adjunctive therapy with intravenous human immunoglobuline G improves survival of patients with acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2:841-847, 1991.
33. ROUTH SG, BRIGGS JD, MONE JE, PARKIN G: Survival from acute renal failure with and without multiple organ dysfunction. *Postgrad Med J* 56:244-247, 1980.
34. SPIEGEL DM, ULLIAN ME, ZERBE GO, BERLE T: Determinants of survival and recovery in acute renal failure patients dialysed in intensive care units. *Am J Nephrol* 11:44-47, 1991.
35. BIESEMBACH G, ZAZGORNIK J, KAISER W, GRAFINGER P, STUBY V, NECEK S: Improvement in prognosis of patients with acute renal failure over a period of 15 years. An analysis of 710 cases in a dialysis center. *Am J Nephrol* 12:319-325, 1992.
36. LIAÑO F, GALLEGO A, PASCUAL J: Prognosis of acute tubular necrosis: an extended prospectively contrasted study. *Nephron* 63:21-31, 1993.
37. CHEW SL, LINS RL, DAELEMANS R, DE BROE ME: Outcome in acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 8:101-107, 1993.
38. GROENVELD ABJ, TRAN DD, VAN DER MEULEN J, NAUTA SS, THIJS LG: Acute renal failure in the medical intensive care unit: predisposing, complicating factors and outcome. *Nephrol* 59:602-610, 1991.
39. SPURNEY RF, FULKERSON WJ, SCHWAB SJ: Acute renal failure in critically ill patients: prognosis for recovery of kidney function after prolonged dialysis support. *Crit Care Med* 19:8-11, 1991.
40. SCHETZ M, LAUWERS PM, FERDINANDE P: Extracorporeal treatment of acute renal failure in the intensive care unit: a critical view. *Intens Care Med* 15:349-357, 1989.
41. CONGER JD: Does hemodialysis delay recovery from acute renal failure? *Semin Dial* 3:146-148, 1990.

25

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DIALÍTICA DA DIÁLISE PERITONEAL AMBULATORIAL CONTÍNUA

Hugo Abensur

A diálise peritoneal ambulatorial contínua (DPAC) é o segundo método dialítico, em ordem de freqüência, empregado no tratamento de pacientes portadores de insuficiência renal crônica terminal. Portanto, é uma importante alternativa terapêutica e em muitas situações tem sido preferida em relação à hemodiálise, como, por exemplo, em crianças pequenas e pacientes moradores em áreas distantes de centros de diálise. Sendo um método terapêutico, sua eficiência deve ser avaliada. Porém, esta tarefa ainda não está bem definida na literatura especializada. A seguir serão apresentados os principais tipos de abordagens correntemente empregados para adequar a DPAC.

Twardowski & Nolph[1] consideram um paciente adequadamente dialisado, do ponto de vista clínico, quando está livre de sitomas de uremia, com habilidade de produzir glóbulos vermelhos sem a necessidade de eritropoetina (hematócrito acima de 25%), com velocidade de condução nervosa normal e pressão arterial controlada. O problema do enfoque clínico é que os pacientes freqüentemente desenvolvem sintomas deletérios antes que a diálise inadequada fique evidente. Estes sintomas incluem insônia, fraqueza, náuseas, anorexia, ocasionando desnutrição, perda de peso e uremia. À semelhança do ocorrido com pacientes em programa de hemodiálise, surgiu a necessidade de se adotar para os pacientes em programa de DPAC um enfoque quantitativo de adequação.

Apesar da questão das toxinas urêmicas ainda não estar bem definida na literatura especializada, a adequação da terapia hemodialítica tem sido feita, na maioria dos centros de diálise do mundo, em termos de uréia. Utiliza-se para tanto um índice de diálise introduzido por Gotch & Sargent[2] no ano de 1985, cohecido como KT/V. Onde, o K corresponde à depuração do dialisador em ml/min, o T, à duração da sessão de hemodiálise em minutos e o V, ao volume de distribuição da uréia em ml. No Estudo Nacional Cooperativo de Diálise, realizado nos Estados Unidos[3], valores de KT/V de 0,9-1,0 por sessão estavam relacionados com menor morbidade. Atualmente existe uma tendência em se obter valores maiores de KT/V em torno de 1,2-1,4 por sessão (KT/V > 3 por semana).

A aplicação da cinética de uréia para a adequação da DPAC esbarrou inicialmente num paradoxo. Foi visto que pacientes tratados em um regime padrão de DPAC, 4 trocas de 2 litros por dia com uma ultrafiltração de cerca de 1,5 litro por dia, apresentavam KT/V semanal da ordem de 1,7 e evoluíam satisfatoriamente. A hipótese do pico tóxico foi elaborada por Keshaviah & Nolph[4] para explicar porque os pacientes em DPAC evoluíam bem, apesar de receberem KT/V menor. De acordo com esta hipótese, um KT/V maior é requerido para hemodiálise, porque, em oposição à DPAC, é uma terapia intermitente com picos elevados de concentração sérica de uréia. Portanto, os pacientes em hemodiálise têm de receber maior KT/V para coibir estes picos.

Para o cálculo do KT/V em DPAC é necessário coletar todas as bolsas de diálise drenadas num período de 24 horas, homogeneizar o seu conteúdo, aferir o volume drenado total e a sua

concentração de uréia. Ao se multiplicar a concentração de uréia obtida pelo volume drenado, obtém-se a massa de uréia eliminada durante as 24 horas no peritônio. A esta massa deve-se adicionar a massa total de uréia eliminada na urina, coletada no mesmo período de 24 horas (UV). A depuração de 24 horas é, então, obtida, dividindo-se a massa total de uréia eliminada pela concentração plasmática de uréia. Por fim, o KT/V de um dia é obtido ao se dividir a depuração de 24 horas de uréia (renal + peritoneal) pelo volume de distribuição de uréia. O KT/V semanal corresponde ao KT/V de um dia, multiplicado por 7.

O volume de distribuição de uréia, que corresponde ao conteúdo total de água no organismo, pode ser estimado como uma porcentagem fixa do peso corpóreo (homens 60%, mulheres 55%) ou pela equação antropométrica de Watson[5]. O primeiro método gera resultados de KT/V, superestimados em torno de 5%[6].

O ganho de peso e a perda progressiva da função renal residual são dois aspectos inerentes em programa de DPAC, que comprometem o valor do KT/V. O primeiro por que, aumentando o peso, o volume de distribuição de uréia aumenta e em conseqüência deste fato o valor do KT/V diminui. Já a perda da função renal residual, apesar de ser mais lenta na DPAC do que na hemodiálise[7], faz com que o valor de K, que tem um componente renal e peritoneal, fique menor e desta forma o valor do KT/V também diminui.

Quando um paciente deixa de ter função renal residual, toda a depuração de uréia fica a cargo do peritônio. Nesta situação, o peso do paciente passa a ser limitante importante da adequação dialítica. Segundo Nolph e cols[8], quando um paciente sem função renal residual tem peso superior a 64kg e está em esquema padrão de DPAC (4 trocas de 2 litros/dia), o KT/V será inferior a 1,7. Para resolver esta situação, devem-se utilizar bolsas de diálise com volume de 2,5 litros. O aumento do número de trocas diárias não é uma boa solução, pois compromete a qualidade de vida do paciente e acarreta maior risco de peritonites. Ainda, segundo este mesmo grupo, se o paciente pesar mais do que 91kg, o volume da solução de diálise deverá ser de 3 litros. Cada 1ml/min de função renal residual é equivalente a 1,44 litro/dia de solução de diálise drenada em DPAC. Baseando-se nestes achados, deve-se ter cuidado quando um paciente em programa de hemodiálise sem função renal residual e peso elevado solicita transferência para programa de DPAC.

Apesar de a maioria dos autores utilizar 1,7 como o valor alvo de KT/V em DPAC, ainda está em aberto na literatura especializada uma questão anterior a esta. O que se questiona é se o KT/V é ou não um índice adequado de mortalidade e morbidade em DPAC. Existem publicados vários estudos relacionando o valor do KT/V com a evolução e a incidência de complicações em pacientes em programa de DPAC[9-15] e os resultados têm sido contraditórios. Blake e cols[9] não encontraram relação, em 76 novos pacientes em DPAC, entre KT/V e mortalidade, complicações e velocidade de condução nervosa. Teehan e cols[10] estabeleceram em 51 pacientes em DPAC que o KT/V se relacionava com o nível sérico de albumina. Lameire e cols[11] mostraram correlação entre KT/V e número de internações hospitalares e velocidade de condução nervosa em 16 pacientes. Selgas e cols[12] mostraram que os 15 pacientes que faleceram, durante o seguimento de 56 pacientes em DPAC, tinham valores de KT/V menores do que os sobreviventes. No estudo de Tattersall e cols[13], o KT/V baixo associou-se com número maior de internações hospitalares, fato este que não foi confirmado no estudo de Goodship e cols[14]. O estudo prospectivo multicêntrico canadense e americano, conhecido como CANUSA[15], que avaliou 698 pacientes em programa de DPAC, mostrou que no início da avaliação o KT/V médio era de 2,38, caindo para 1,99 no final de dois anos de avaliação, devido à perda da função renal residual. Segundo este mesmo estudo, o risco relativo de mortalidade para um incremento de 0,1 no KT/V era de 0,95. Ainda, os autores deste estudo demonstraram melhor sobrevida em 2 anos com KT/V superior a 2,1 (78% em 2 anos).

Outro índice quantitativo, utilizado para adequação da DPAC, é a depuração semanal de creatinina, normalizada para 1,73m^2 de superfície corpórea. Baseados em observações clínicas, Twardowski & Nolph[1] recomendaram um valor mínimo de depuração de creatinina de 40-50 litros/semana. Para o cálculo da depuração semanal de creatinina, é levado em consideração o componente renal e peritoneal. O valor da contribuição renal é obtido pela média entre a depuração renal de uréia e de creatinina. O cálculo da contribuição peritoneal na depuração semanal de creatinina é feito coletando-se o volume total de solução de diálise drenada num período de 24 horas e então o volume é aferido e uma amostra da solução é enviada para a dosagem de creatinina. Porém, o valor obtido na concentração de creatinina deve ser corrigido pela interferência da concentração de glicose presente na solução de diálise.

A escolha entre o KT/V e a depuração semanal de creatinina pode ser pessoal, uma vez que ambos os índices se correlacionam fortemente[16].

Também para a depuração semanal de creatinina a contribuição da função renal residual é marcante. Para cada ml/min de depuração renal residual, a depuração semanal de creatinina aumenta em 10 litros.

No estudo CANUSA, o valor inicial da depuração semanal de creatinina foi de 89 litros/semana e o risco relativo de morte foi de 0,85 para um incremento de 10 litros de depuração semanal de creatinina. A sobrevida em 2 anos foi de 73, 75, 77, 79 e 89% para depuração semanal da creatinina de 55, 60, 65, 70 e 75 litros/semana, respectivamente.

A concentração sérica de albumina tem-se mostrado um poderoso preditor de mortalidade em DPAC[10,12,17,18]. No estudo CANUSA, o risco relativo de morte foi de 0,91 para um incremento de 1g/dl de concentração sérica de albumina. O fato é que não se deve esperar um paciente ficar hipoalbuminêmico para se perceber que está mal dialisado. Neste aspecto, o KT/V e a depuração semanal de creatinina têm um caráter pró-ativo, ou seja, se um determinado paciente apresenta um valor baixo de KT/V ou de depuração semanal de creatinina, pode-se prever que este paciente poderá ter sintomas de subdiálise e se os valores inadequados forem corrigidos estes problemas, provavelmente, deixarão de existir.

O tratamento dialítico adequado, além de eliminar os solutos acumulados, visa à eliminação de líquidos. A avaliação da capacidade de perda de fluido em qualquer técnica de diálise é um aspecto que deve ser levado em consideração quando se avalia adequação, porém, não será discutida neste capítulo, uma vez que este tópico já foi abordado por este autor[19].

Concluindo, o controle da qualidade da terapia dialítica oferecida a pacientes em programa de DPAC é ainda uma questão não completamente estabelecida entre os nefrologistas, ficando como recomendação provisória KT/V alvo de 2,0 e depuração semanal de creatinina de 60 litros, devendo-se voltar atenção maior ao paciente desprovido de função renal residual.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. TWARDOWSKI ZJ, NOLPH KD: Peritoneal dialysis: How much is enough? *Semin Dial* 1:75-76, 1988.
2. GOTCH FA, SARGENT JA: A mechanistic analysis of the National Cooperative Dialysis Study (NCDS). *Kidney Int* 28:526-534, 1985.
3. LOWRIE EG, LAIRD NM, PARKER TF, SARGENT JA: Effect of the hemodialysis prescription on patient morbidity. *N Engl J Med* 305:1176-1181, 1981.
4. KESHAVIAH P, NOLPH K: The peak concentration hypothesis: a urea kinetic approach to comparing the adequacy of continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) and hemodialysis. *Perit Dial Int* 9:257-260, 1989.
5. WATSON PE, WATSON ID, BATT RD: Total body water volumes for adult males and females estimated from simple anthropometric measurements. *Am J Clin Nutr* 33:27-39, 1980.
6. BLAKE PG, BALASKAS E, BLAKE R, OREOPOULOS DG: Urea kinetics has limited relevance in assessing adequacy of dialysis in CAPD. *Adv Perit Dial* 8:65-70, 1992.
7. LYSAGHT MJ, VONESH EF, GOTCH F, IBELS L, KEEN M, LINDHOLM B, NOLPH KD, POLLOCK CA, PROWANT B, FARREL PC: The influence of dialysis treatment modality on the decline of remaining renal function. *ASAIO Trans* 37:598-604, 1991.
8. NOLPH KD, JENSEN RA, KHANNA R, TWARDOWSKI ZJ: Weight limitations for weekly urea clearance using various exchange volumes in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 14:261-264, 1994.
9. BLAKE PG, SOMBOLOS K, ABRAHAM G, WEISSGARTEN J, PEMBERTO R, LIAN CHU G, OREOPOULOS DG: Lack of correlation between urea kinetic indices and clinical outcomes in CAPD patients. *Kidney Int* 39:700-706, 1991.
10. TEEHAN BP, SCHLEIFER CR, BROWN JM, SIGLER MH, RAIMONDO J: Urea kinetic analysis and clinical outcome on CAPD. A five year longitudinal study. *Adv Perit Dial* 6:181-185, 1990.
11. LAMEIRE NH, VANHOLDER R, VEYT D, LAMBERT MC, RINGOIR S: A longitudinal, five year survey of urea kinetic parameters in CAPD patients. *Kidney Int* 42:426-432, 1992.
12. SELGAS R, BAJO MA, FERNANDEZ-REYES MJ, BOSQUE E, LOPEZ-REVUELTA K, BORREGO F, DE ALVARO F: An analysis of adequacy of dialysis in a selected population on CAPD for over 3 years: the influence of urea and creatitine kinetics. *Nephrol Dial Transplant* 8:1244-1253, 1993.
13. TATTERSALL JE, DOYLE S, GREENWOOD RN, FARRINGTON K: Kinetic modelling and underdialysis in CAPD patients. *Nephrol Dial Transplant* 8:535-538, 1993.
14. GOODSHIP THJ, PASSLICK-DEETJEN J, WARD MK, WILKINSON R: Adequacy of dialysis and nutritional status in CAPD. *Nephrol Dial Transplant* 8:1366-1371, 1993.
15. CHURCHILL DN, THORPE K, TAYLOR DW, KESHAVIAH P: Adequacy of peritoneal dialysis (abstrat). *J Am Soc Nephrol* 5:439, 1994.
16. KESHAVIAH P: Adequacy of CAPD: a quantitative approach. *Kidney Int* 42(Suppl 38):S160-S164, 1992.
17. BLAKE PG, FLOWEDEW G, BLAKE RM, OREOPOULOS DG: Serum albumin in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis – Predictors and correlations with outcomes. *J Am Soc Nephrol* 3:1501-1507, 1993.
18. STRUIJK DJ, KREDIET RT, KOOMEN GCM, BOESCHOTEN EW, ARISZ L: The effect of CAPD tretment on patient survival. *Perit Dial Int* 14:121-126, 1994.
19. ABENSUR H: Capacidade de perda de fluido na técnica de diálise peritoneal ambulatorial contínua (DPAC), in *Atualidades em Nefrologia 3*, editado por Cruz J, Barros RT, Sesso RCC, David Neto E, Suassuna JHR, Heilberg IP, Gouvea Filho WL, São Paulo, Sarvier, 1994, pp 127-131.

26

ASPECTOS NUTRICIONAIS OBSERVADOS EM CRIANÇAS EM DIÁLISE PERITONEAL AMBULATORIAL CONTÍNUA

Maria Benedita Barbosa Reis
Mayumi Shima
João Egídio Romão Júnior

◆

INTRODUÇÃO

Sabemos que os rins têm três funções corporais básicas: 1. excretar a maioria dos produtos finais do metabolismo corpóreo; 2. regular o volume e a composição dos líquidos corporais; 3. funcionar como um órgão endócrino. A falência da função renal pode envolver a suspensão de todas as três funções, resultando no acúmulo de produtos catabólicos, anormalidades na composição e volume dos líquidos corporais e alterações no balanço endócrino. Tais anormalidades afetam o uso de nutrientes pelo corpo de diversas formas, o que, por sua vez, afeta o estado nutricional do paciente[1].

Sabemos também que os pacientes com insuficiência renal crônica terminal (IRCT) em geral já sofrem de desnutrição, mesmo antes de começarem o tratamento dialítico. A entrada em programa de diálise deveria levar a uma melhora no estado nutricional dos pacientes urêmicos; entretanto, o próprio tratamento dialítico provoca, ele mesmo, certos problemas nutricionais. Assim, apesar das grandes melhoras nas técnicas dialíticas, a desnutrição continua a ser um problema em pacientes urêmicos[2-6]. Os estudos têm mostrado que essa complicação clínica ocorre em pacientes recebendo quer hemodiálise (HD)[7,8], quer diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD)[6,9,10].

A importância da nutrição nos pacientes em diálise foi observada logo após a HD ter sido recomendada como tratamento de pacientes com IRCT. Estudos recentes têm mostrado consideráveis avanços nos conhecimentos sobre nutrição e, como resultado, mais atenção tem sido dada aos problemas de desnutrição nos pacientes em diálise e naqueles em tratamento conservador[10].

A avaliação nutricional é de grande importância porque tem-se observado que a desnutrição está associada com maior morbidade e maior mortalidade tanto em pacientes em HD quanto em CAPD.

Quando são avaliados os efeitos nutricionais do tratamento dialítico deve-se ter em mente que o paciente, ao iniciar programa de diálise, em geral apresenta uma ou mais características de desnutrição. Durante o período que antecede o tratamento dialítico, os pacientes são geralmente tratados com dietas hipoprotéicas e medicamentos que podem piorar a anorexia. Uma vez iniciado o tratamento dialítico, alguns pacientes podem mostrar melhora no estado nutricional pela redução nos sintomas urêmicos e pela liberação da dieta. Outrossim, muitos dos indicadores de desnutrição que estão presentes no começo do tratamento permanecem alterados e alguns aspectos da desnutrição podem até piorar[11]. A HD e a diálise peritoneal (DP) podem induzir catabolismo e aumentar as necessidades protéicas acima do basal necessário a pacientes urêmicos não dialisados.

ABORDAGEM NUTRICIONAL DE CRIANÇAS EM TRATAMENTO DIALÍTICO

A insuficiência renal crônica (IRC) em crianças é geralmente acompanhada por desnutrição. O grau de comprometimento nutricional da criança renal crônica é determinado pela gravidade de sua falência renal, pelo tempo de sua instalação e pelo método dialítico empregado. Muitas das manifestações clínicas da síndrome urêmica, incluindo a suscetibilidade às infecções e a dificuldade de cicatrização, são exacerbadas pela presença de desnutrição[7]. Portanto, o manuseio dietético é uma parte importante de qualquer regime terapêutico adotado para crianças com IRC. O médico se vê confrontado com objetivos opostos ao prescrever uma dieta ideal para esse tipo de paciente. A necessidade de limitar certos constituintes dietéticos, a fim de minimizar as conseqüências bioquímicas da uremia, deve ser contraposta ao desejo de evitar a desnutrição calórico-protéica e suas conseqüências. Sabemos que o retardo do crescimento e do desenvolvimento é um problema clínico significativo em crianças com IRC. Alguns fatores implicados na gênese deste problema incluem a desnutrição calórico-protéica, a osteodistrofia renal e a acidose metabólica. Infelizmente, a correção de tais fatores não tem estado associada com a melhora no crescimento[12,13].

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

Deve ser iniciada com um exame clínico bem feito e uma história dietética detalhada e bem quantificada. Os parâmetros antropométricos e bioquímicos são usados para se detectar as deficiências nutricionais, bem como para se avaliar a resposta ao tratamento empregado. A metodologia para a coleta seriada dos dados para a avaliação nutricional da criança com doença renal inclui o exame físico com ênfase no aspecto geral, exames bioquímicos do sangue e da urina, medidas antropométricas e da pressão sangüínea, entre outros. As medidas antropométricas e os exames radiológicos seriados devem ser analisados e comparados com o padrão anterior de crescimento. É essencial a monitorização freqüente da ingestão dietética e do estado nutricional[14,15], o qual pode ser avaliado das seguintes maneiras: a) estimando-se a ingestão protéica e calórica; b) através de avaliações bioquímicas; c) pela antropometria; d) por estimativas eletromagnéticas da água corpórea; e) através de avaliações do estado imunológico[13,16].

HISTÓRIA DIETÉTICA

Uma história dietética completa a exata deve ser feita por um(a) nutricionista alerta e bem treinado(a) que esteja acostumado(a) com os padrões alimentares típicos da idade e do padrão sócio-econômico de cada paciente. A composição de nutrientes da dieta do paciente pode ser calculada através da análise nutricional de um inquérito alimentar recordatório de três ou quatro dias, usando-se tabelas padronizadas de alimentos ou, preferencialmente, por computador, com o auxílio de um "software" confiável. A ingestão calórica obtida através do inquérito alimentar deve ser comparada com o RDA ("Recommended Dietary Allowances") para a mesma idade e sexo[12,14].

AVALIAÇÃO PSICOSSOCIAL

É importante que se perceba o efeito psicossocial da doença e seu impacto sobre o estado nutricional do paciente. Em geral, crianças com doença crônica têm baixa auto-estima, e uma compreensão dos fatores psicossociais que as afetam pode fazer diferença na eficácia das intervenções nutricionais. Deve-se avaliar a dinâmica familiar, os padrões de alimentação em casa e fora de casa, o horário escolar, as atividades extracurriculares, os padrões de apetite e de exercícios físicos e lazer, a ocorrência de náuseas ou vômitos e os hábitos de defecação[14,17].

PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS

Os parâmetros antropométricos utilizados para se fazer a avaliação nutricional de crianças normais também podem ser utilizados para crianças com IRC. Todas as medidas antropométricas devem ser realizadas, de maneira ideal, pela mesma pessoa[13,14,18]. Altura, peso corpóreo, prega cutânea do tríceps (PCT), prega cutânea subescapular, porcentagem de gordura corpórea, circunferência da cabeça, circunferência do braço (CB) e circunferência muscular do braço (CMB) são índices antropométricos comuns usados para se avaliar o grau de nutrição calórico-protéica em crianças. Cada uma dessas medidas antropométricas, individualmente, é um mau indicador de reservas calórico-protéicas; entretanto, uma combinação de várias medidas parece ser um indicador mais preciso do estado nutricional. O mesmo examinador deve realizar as medidas antropométricas três vezes em cada local utilizando-se de técnica padronizada e equipamento adequadamente calibrado, devendo-se considerar a média das três medidas[14].

Altura corpórea

Deve ser medida com os calcanhares e costas da criança em contato com um estadiômetro fixado em uma parede. Um único estadiômetro é usado para medidas seriadas, as quais devem ser repetidas até que três observações concordem com diferença mínima de 0,2cm. A altura do paciente deve ser comparada com valores para crianças normais da mesma idade cronológica, idade óssea e sexo[13,14,18].

Peso corpóreo

O peso do paciente é comparado com valores para crianças normais do mesmo sexo e idade cronológica e do mesmo sexo e idade estatural. Consideramos os valores de peso corpóreo aqueles aferidos após sessão de hemodiálise e, para as crianças em CAPD, o valor aferido menos o peso da bolsa de diálise infundida. Idealmente, são usadas duas balanças, uma para pesar crianças com peso de até 16kg e outra para crianças com mais de 16kg[13,18].

Espessura da prega cutânea

Deve ser medida na área posterior do tríceps, no ponto central entre o acrômio e o olécrano, usando-se um adipômetro. As medidas são feitas com o braço relaxado e também devem ser tomadas em triplicata. A CB é medida com uma fita de aço flexível e que não estica, evitando-se comprimir o braço; deve ser realizada no mesmo local usado para se medir a espessura da prega cutânea do tríceps. A circunferência muscular do braço é estimada por:

$$CMB\ (mm) = CB - [0{,}314 \times PCT\ (mm)]$$

Os valores normais para PCT, CB e CMB ainda são baseados nos dados de Frisancho[19]. Os dados referentes a esses parâmetros obtidos em crianças urêmicas devem ser comparados aos valores encontrados no percentil 50 de crianças sadias da mesma idade cronológica e sexo e da mesma idade estatural e sexo[13,18]. Cada valor obtido para cada criança deve ser comparado com o valor do controle correspondente (consultado nas tabelas), usando-se Z-escore ou escores de desvio-padrão (DP). Tais escores interpretam dados em termos de número de DP acima (valor positivo) ou abaixo (valor negativo) da mediana (percentil 50) para controles normais, do mesmo sexo e idade cronológica ou idade estatural[13,18].

As medidas antropométricas e bioquímicas avaliam os depósitos de gordura do corpo e a massa protéica somática. A massa protéica visceral é avaliada pela monitorização das concentrações séricas de proteínas de transporte sintetizadas pelo fígado. O cálculo da contagem total de linfócitos e os testes para reatividade aos antígenos comuns usados em testes cutâneos são recomendados para se avaliar a competência imune. A comparação dos dados obtidos de pacientes individuais com padrões populacionais "normais" fornece um perfil do estado nutricional. É importante lembrar que as tabelas normais dão pouca consideração à ampla variação individual[15].

A medida dos depósitos de gordura do corpo serve para estimar a duração e a gravidade da inadequação da ingestão dietética. Como cerca da metade da gordura nos seres humanos está na camada subcutânea, aceita-se que a medida da gordura subcutânea seria um índice satisfatório da gordura corpórea total. A espessura da camada subcutânea depende da idade, do sexo e do local escolhido[15].

Massa protéica somática

Diversas técnicas são usadas para se estimar a massa protéica somática ou músculo-esquelética. As medidas antropométricas já foram discutidas; a massa muscular corpórea total pode ser avaliada pela excreção urinária de creatinina, exceto em pacientes com disfunção renal como a população estudada por nós[15].

Massa protéica visceral

A albumina tem sido classicamente usada em estudos populacionais como um indicador de depleção protéica visceral. Em grandes estudos populacionais tem-se associado um nível deprimido de albumina sérica com uma ingestão protéica diminuída. A albumina é um marcador pobre de desnutrição protéica precoce, uma vez que os níveis séricos caem e sobem lentamente com as mudanças nutricionais. A meia-vida sérica de albumina é longa: 20 dias; o "pool" corpóreo é grande: 4 a 5g/kg. Aceita-se que a concentração de albumina entre 2,8 e 3,5g/100ml é representativa de depleção protéica visceral leve; entre 2,1 e 2,7g/100ml, de depleção moderada e, menor que 2,1g/100ml, de depleção grave[15].

A transferrina é uma beta-globulina que transporta o ferro no plasma. É sintetizada pelo fígado e reflete de modo mais acurado as modificações no estado da proteína visceral, uma vez que tem meia-vida mais curta (8 a 10 dias) e menor "pool" corpóreo (5,29g em média)[13].

RECOMENDAÇÕES NUTRICIONAIS

O objetivo do tratamento dietético é diminuir as conseqüências metabólicas da uremia e assegurar uma aceitação das recomendações dietéticas. A equipe deve incluir médicos, nutricionistas, psicólogos, enfermeiros, assistentes sociais, dentre outros profissionais. A dieta de cada criança deve ser individualizada, baseada em resultados de sua avaliação nutricional feita através da história dietética e dos parâmetros antropométricos e bioquímicos usados para se estabelecer o seu estado nutricional. A maioria dos autores concorda que, em função do retardo de crescimento apresentado pela criança com IRC, sua avaliação nutricional e, portanto, a recomendação dietética deveriam ser baseadas em sua idade estatural e não em sua idade cronológica[2,13,14,18]. As necessidades protéicas, calóricas e de outros componentes alimentares são prescritas com base no RDA para a correspondente idade estatural[2,13,14,18,20]. Existe uma forte correlação entre balanço e ingestão calórica, enfatizando a importância de uma ingestão calórica adequada na prevenção do balanço nitrogenado negativo prolongado em urêmicos[17].

NECESSIDADES CALÓRICAS EM CRIANÇAS EM CAPD

Em pacientes em CAPD a concentração de glicose no líquido de diálise fornece uma fonte extra de calorias. Há correlação direta entre a quantidade de glicose absorvida a cada dia e a glicose infundida no dialisato[21]. É possível calcular a glicose absorvida por litro de dialisato pela seguinte fórmula[21,22]:

Glicose absorvida (gramas por litro de dialisato) = 11,3 × concentração de glicose monoidratada (em gramas por decilitro por dia, no líquido de diálise) – 10,9

Observação: a solução de diálise a 1,5% de dextrose contém 1,3g de glicose por 100ml e a solução a 4,25% contém 3,76g de glicose por 100ml.

Na opinião de Salusky[12,23] e de outros autores[13], a absorção de glicose pelo dialisato em crianças é responsável por cerca de 12 a 15% da ingestão calórica diária. Porém, apesar dessa fonte extra de calorias provenientes do dialisato, o total da ingestão calórica está abaixo dos níveis recomendados, na maioria dos pacientes estudados. Tal fato se confirmou na população por nós estudada e será discutido detalhadamente em outro local deste trabalho (págs. 205-206).

As necessidades calóricas para crianças variam enormemente de acordo com a sua faixa etária. A ingestão calórica ótima para crianças pré-púberes em CAPD deveria ser pelo menos aquela determinada pelo RDA para crianças do mesmo sexo e da mesma idade estatural. Para crianças púberes e pós-púberes, a ingestão calórica prescrita é semelhante ao RDA para adolescentes normais: 44 a 55kcal/kg/dia para os meninos e 40 a 50kcal/kg/dia para as meninas. Os carboidratos da dieta devem ser basicamente compostos e fornecer cerca de 35% da ingestão calórica da dieta. É importante estimular a ingestão de refrigerantes, doces, sorvetes e sucos de frutas[2,13,18].

Quanto ao lactente em CAPD, devemos ter em mente que o crescimento total é o principal objetivo no manuseio nutricional de lactentes com insuficiência renal. A altura de uma criança que se desenvolve normalmente aumenta em cerca de 50% durante o primeiro ano de vida e diversos relatos têm mostrado que, quando a insuficiência renal ocorre muito precocemente, o crescimento e o desenvolvimento ficam intensamente afetados.

Os "RDA" são os padrões usados para se determinar as necessidades nutricionais de lactentes com insuficiência renal. As mais recentes recomendações para lactentes variam entre 102 e 108kcal/kg/dia e 2,5 a 3g de proteína/kg/dia, refletindo uma ingestão dietética que oferece aproximadamente 7 a 8% da ingestão calórica como proteína. Tais recomendações são apropriadas para lactentes que crescem normalmente. As necessidades ideais para lactentes em diálise de manutenção não estão bem estabelecidas[18]. Ainda, segundo Salusky & Nelson[18], com base na experiência clínica atual, as seguintes recomendações deveriam ser seguidas: a) a energia (caloria) deve ser estimada pela ingestão oral e pela quantidade de glicose absorvida do dialisado; b) a ingestão calórica total deveria ficar entre 110 e 150kcal/kg/dia; c) lembrar que a anorexia é um achado comum em pacientes urêmicos, especialmente em lactentes.

Lindsay & Spanner[2] consideram a possibilidade de que a grande absorção de glicose pode, de forma negativa, suprimir a ingestão alimentar geral do paciente em CAPD. Sugerem ainda que o paciente pode experimentar uma sensação de preenchimento abdominal, a qual poderia ser aliviada pelo esvaziamento da cavidade peritoneal antes das refeições, aguardando-se cerca de 30 minutos após terminar a refeição para se iniciar a próxima troca.

Torrington & cols[24], da mesma forma preocupados com a absorção de glicose proveniente do dialisato e conseqüente supressão do apetite,

bem como com a possível sensação de enchimento causada pela presença de líquido na cavidade peritoneal, ambos levando a uma baixa ingestão alimentar, decidiram avaliar se a presença do líquido por si só contribuía para o empobrecimento do apetite. Tais pesquisadores compararam o consumo de alimentos em um grupo de pacientes em CAPD que ora ingeriam seus alimentos com o dialisato no abdome e ora com o abdome vazio, após o líquido ter sido drenado. Esse estudo mostrou que a quantidade de alimentos consumidos pelos pacientes em CAPD não é afetada pela presença de dialisato no abdome e sugerem que a continuada absorção de glicose proveniente do dialisato desempenhe o principal papel, no que concordam outros autores[21].

NECESSIDADES PROTÉICAS EM CRIANÇAS EM CAPD

Devido às perdas de proteínas, de aminoácidos (AA) e provavelmente de outros nutrientes hidrossolúveis no dialisato, as necessidades para muitos nutrientes, em pacientes em CAPD, podem ser maiores do que para pacientes normais. As perdas protéicas diárias em CAPD foram menores do que aquelas relatadas para diálise peritoneal intermitente (DPI). Entretanto, como a CAPD é realizada diariamente, as perdas semanais provavelmente excedem as perdas diárias da DPI, realizada de forma intermitente[23].

As recomendações para as crianças em CAPD em relação à ingestão protéica ainda não estão muito bem definidas. Estudos de balanço nitrogenado realizados em adultos em CAPD foram positivos ou neutros quando os pacientes ingeriam 1,2 a 1,4g de proteína/kg de peso/dia. As perdas de proteína total para o dialisado se correlacionam inversamente com o peso e a superfície peritoneal em crianças pequenas, quando comparadas a adultos[18]. Diversos autores[2,13,18,20] recomendam a seguinte ingestão protéica para crianças em CAPD:

- lactentes de 0 a 12 meses: 3 a 4g/kg/dia;
- lactentes maiores de 12 meses e crianças de 1 a 3 anos: 2,5-3g/kg/dia;
- crianças de 4 anos até a puberdade: 2 a 2,5g/kg/dia;
- pacientes púberes: 2g/kg/dia;
- pacientes pós-púberes: 1,5g/kg/dia.

Para qualquer criança em CAPD, a ingestão protéica pela dieta pode exceder a quantidade sugerida, desde que o nitrogênio ligado à uréia (BUN) permaneça menor que 80mg%*[25]. Em relação à necessidade de aminoácidos essenciais, pelo menos 50% da ingestão protéica diária deve ser de AA de alto valor biológico. A quantidade de proteína secretada para o líquido peritoneal varia de 5 a 15g/dia (60 a 80% de albumina). Dessa forma, a dieta deve ser suficiente em proteína para compensar tais perdas[3]. Diversos fatores dificultam a manutenção de uma ingestão adequada de proteína: doenças intercorrentes e peritonites levando a necessidades protéicas aumentadas; saciedade precoce relacionada à entrada de glicose e perda particular de apetite para alimentos ricos em proteínas. Lindsay & Spanner[2] oferecem algumas sugestões gerais para ajudar os pacientes a aumentarem sua ingestão de proteínas: a) ingerir em primeiro lugar os alimentos ricos em proteínas; b) fazer refeições freqüentes com grandes fontes protéicas; c) orientar os pacientes no uso dos suplementos orais e enterais.

A desnutrição protéica é o principal problema na população em CAPD. Recente investigação internacional avaliou que a incidência de desnutrição calórico-protéica é cerca de 40% nos pacientes em CAPD, sendo que 8% desses pacientes estavam gravemente desnutridos[3]. Vários autores têm mostrado que a albumina sérica dos pacientes em CAPD se correlaciona com o PCR ("protein catabolic rate"), sugerindo que uma albumina sérica baixa seria o resultado de uma ingestão protéica insuficiente para manter o balanço nitrogenado, levando à conseqüente desnutrição protéica. Embora a albumina plasmática possa, sem dúvida, ser influenciada por outros fatores além do nutricional (retenção de líquidos, permeabilidade vascular aumentada, redução do retorno linfático, catabolismo aumentado e diminuição da síntese), parece claro que a albumina sérica vai-se modificar de acordo com o estado nutricional[3].

Alguns pacientes em CAPD podem apresentar diminuição nos valores antropométricos e no balanço nitrogenado durante episódios de peritonite; quando a peritonite desaparece, aumenta a ingestão protéica, o balanço nitrogenado se torna positivo e os valores antropométricos melhoram. Em tais pacientes há correlação linear direta entre ingestão de nitrogênio e balanço de nitrogênio, e a albumina sérica tem sido considerada um bom marcador de tais alterações[3]. Lindsay & Spanner[2] analisaram, em 1980, 260 pacientes em diálise domiciliar de 16 centros do Canadá; 150 em HD, 21 em DPI e 89 em CAPD. Após seis meses de tratamento em CAPD, a concentração média de albumina sérica foi de 3,5 ± 0,06g/100ml, significativamente menor que 4,1 ± 0,05g/100ml encontrados nos pacientes em HD. Após um ano de tratamento, a albumina sérica estava inalterada e,

* Corresponde a cerca de 171mg/dl de uréia.

12 anos mais tarde, essa diferença persistia[26]. Em 70 pacientes estudados pelos mesmos autores, houve correlação linear significativa entre a albumina sérica e a PCR. Vinte entre os 70 pacientes tinham albumina sérica menor que 3g/100ml e todos esses tinham PCR maior que 0,85. Tais dados sugerem que uma proteína sérica baixa é o resultado de ingestão protéica insuficiente para manter o balanço nitrogenado, o que leva à desnutrição protéica. Os referidos autores acreditam que a albumina plasmática é influenciada por outros fatores além da nutrição.

Pacientes pediátricos em HD e CAPD, em geral, demonstram desnutrição. Albumina sérica e transferrina baixas, diminuição dos níveis de complemento e padrão plasmático anormal de aminoácidos são alguns dos parâmetros bioquímicos que caracterizam a desnutrição em tais pacientes. A dieta deve conter proteínas de alto valor biológico (ovos, carnes e peixes), uma vez que estas contêm grande porcentagem de aminoácidos essenciais. A quantidade ideal é calculada como sendo a mínima necessária para se evitar a desnutrição protéica e como sendo o máximo permitido que vá minimizar ou evitar a toxicidade proveniente dos produtos nitrogenados catabólicos[13]. As necessidades protéicas ideais para crianças em CAPD não estão definidas.

Salusky e cols[16] avaliaram as perdas protéicas para o dialisado em 12 pacientes pediátricos com menos de 10 anos e em 12 pacientes com mais de 10 anos. Tanto as perdas de proteína total quanto as de albumina foram significativamente mais altas nos pacientes mais jovens, 0,22 ± 0,07 e 0,14 ± 0,04g/kg/dia, comparadas com as perdas de pacientes mais velhos, 0,13 ± 0,03 e 0,08 ± 0,03, respectivamente (pacientes mais jovens *versus* pacientes mais velhos, $p < 0,005$ e $p < 0,005$ para perdas de proteína total e de albumina)[16]. Nesse estudo[16], cada uma dessas perdas se correlacionou inversamente com o peso corpóreo (proteína total: $r = -0,81$, $p < 0,001$; albumina: $r = -0,74$, $p < 0,001$) e com área da superfície corpórea (proteína total: $r = -0,83$, $p < 0,001$, albumina: $r = 0,76$, $p < 0,0001$). Tais resultados podem estar, provavelmente, relacionados à área de superfície peritoneal proporcionalmente maior em pacientes mais jovens[3,13,16,18].

Broyer e cols[27] observaram que a concentração plasmática de albumina estava diminuída em 6 entre 14 crianças. As crianças mais jovens tinham menores níveis plasmáticos de albumina. Observaram que a perda também era mais acentuada nos pacientes mais jovens e houve correlação entre a albumina plasmática e a perda protéica peritoneal. Nesse trabalho, concluíram que não houve relação entre albumina plasmática e ingestão calórica ou protéica, ou entre velocidade de crescimento e albumina plasmática.

Estudamos 11 crianças em tratamento por CAPD no Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Outros dados sobre tais pacientes encontram-se na tabela 26.1.

Tabela 26.1 – Crianças em CAPD no HC-FMUSP.

Sexo	**F:6 M:5**
Idade cronológica (em anos)	10,3 ± 3,9
Idade estatural (em anos)	6,75 ± 3,01
Peso seco (em kg)	22,24 ± 7,25
Tempo em diálise (em meses)	7,5 ± 6,98

Para melhor comparar as avaliações feitas em nossos pacientes pediátricos com os dados encontrados na literatura especializada, optamos por classificar e analisar os nossos pacientes de acordo com sua idade estatural, como recomenda a maioria dos autores consultados. Utilizamos também a idade cronológica para realizarmos uma análise comparativa. Decidimos pelos índices oferecidos pelo estudo internacional "National Center for Health Statistics" (NCHS), os quais não mostram diferenças significativas em relação às crianças brasileiras, o que também pode ser confirmado em nossos dados, quando confrontamos a idade estatural fornecida pelo NCHS e pelo trabalho de Marcondes e cols[28].

Para o grupo das crianças em CAPD, a recomendação da ingestão calórica segundo o RDA de 1989, em kcal/kg peso/dia, foi de 65,09 ± 17,88kcal/kg/dia para a idade cronológica e 81,45 ± 18,33kcal/kg/dia para a idade estatural, de acordo com as variações para cada faixa etária.

A média da ingestão calórica total (soma das calorias ingeridas por via oral e das calorias provenientes da glicose do líquido da diálise) foi de 70,38 ± 19,64kcal/kg/dia, correspondendo a uma adequação de 86,78 ± 15,82% do RDA para a idade estatural (10,40 ± 4,96% das calorias eram provenientes da glicose do líquido de diálise). Todavia, se analisarmos em relação à idade cronológica, as crianças estariam ingerindo calorias em quantidades adequadas (113,48 ± 34,11% do RDA).

A participação das calorias oferecidas pela CAPD é significativa; em nossos pacientes, contribuiu com 179,33 ± 90,59kcal/dia, representando 10,40 ± 4,96% da ingestão calórica total/dia. O cálculo da oferta calórica via CAPD foi realizado pelo método sugerido por Grodstein e cols[22].

Quanto à ingestão protéica, verificou-se adequação de 187,77 ± 58,03%, quando usamos os valores recomendados para crianças da mesma idade estatural em relação ao RDA de 1989. Porém, se seguirmos a orientação de Salusky & Nelson[18,23], os quais recomendam a ingestão de maiores quantidades de proteína por kg de peso por dia, com variações segundo a faixa etária, concluímos que nossas crianças ingeriram 117,76 ± 55,40% da quantidade de proteína recomendada por tais autores, de acordo com a idade estatural, o que está de acordo com os dados apresentados em diversos artigos e revisões, bem como reforça a necessidade de maior ingestão calórica para melhor aproveitamento protéico.

As crianças em tratamento em CAPD também foram avaliadas através dos dados antropométricos. Esses dados foram analisados de acordo com o padrão de normalidade proposto pelo NCHS para peso e altura e por Frisancho[19]. Para pregas cutâneas e CMB, de acordo com a idade estatural, não se utilizou a idade cronológica, pois esta impossibilitava a análise dos dados, visto que grande porcentagem das crianças com IRC apresentavam comprometimento importante de altura.

Em relação à análise do peso para a idade estatural (P/IE) em percentis para o grupo em CAPD, verificou-se uma freqüência de 72,73% de P/IE abaixo do percentil 50, demonstrando comprometimento do peso para a idade estatural. Os dados de peso e altura também foram analisados de acordo com o critério de Waterlow e verificou-se que 45,5% foram classificados como desnutridos crônicos e 54,5% como desnutridos pregressos.

Em relação aos dados da prega cutânea tricipital (PCT), verificou-se que todos os pacientes classificados como desnutridos crônicos apresentavam PCT abaixo do percentil 5. Dos pacientes classificados como desnutridos pregressos, 33,3% apresentaram PCT abaixo do percentil 5 e em 66,7% a PCT estava na faixa igual ou superior ao percentil 10, demonstrando comprometimento importante do tecido adiposo. Quanto aos exames bioquímicos de albumina, os pacientes em CAPD apresentaram valor médio de albumina de 3,47 ± 0,65g/100ml, demonstrando uma depleção protéica visceral leve.

Nesse estudo, observou-se um quadro de desnutrição e de déficit de ingestão calórica importante, sendo que o déficit calórico foi maior e mais freqüente que o déficit protéico.

Pelo exposto, os autores procuram chamar a atenção para os aspectos multifatoriais envolvidos tanto no diagnóstico quanto na terapêutica das alterações do estado nutricional das crianças submetidas ao tratamento por diálise peritoneal, especialmente a CAPD.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DEVINE W, Di CHIRO J: Current nutrition management of patients with renal disease. *Top Clin Nutr* 7(4):21-33, 1992.
2. LINDSAY RM, SPANNER E: Nutritional management in CAPD, in *Dialysis Therapy* (2nd ed), edited by Nissesson AR, Fine RN, Philadelphia, Hanley and Belfus Inc., 1993, pp 201-205.
3. COLES GA: Body composition in chronic renal failure. *Q J Med* 41:25-47, 1972.
4. BLUMENKRANTZ MJ, KOPPLE JD, KOPPLE VA: Cooperative dialysis study participants: incidence of nutritional abnormalities in uremic patients entering dialytic therapy. (abstract) *Kidney Int* 10:514, 1976.
5. WOLK R: Nutritional support during peritoneal dialysis, in *Nutrition in Critical Care*, edited by Zaloga GP, St. Louis, Mosby, Year Book, Inc., 1994, pp 421-438.
6. KRATKA R, SHULER C, WOLFSON M: Nutrition in hemodialysis and peritoneal dialysis patients, in *Clinical Dialysis* (2nd ed), edited by Nissesson AR, Fine RN, Gentile DE, Norwalk, Appleton & Lange, 1990, pp 350-365.
7. ACCHIARDO SR, MOORE LW, LATOUR PA: Malnutrition as the main factor in morbity and mortality of hemodialysis patients. *Kidney Int* 24(Suppl 16):S199-S203, 1983.
8. HAKIN RM, LEWIN N: Malnutrition in hemodialysis patients. In-depth review. *Am J Kidney Dis* 21(2):125-137, 1993.
9. YOUNG GA, KOPPLE JD, LINDHOLM B, VONESH EF, VECCHI A, SCALAMOGNA A, CASTELNOVA C, OREOPOULO DG, ANDERSON GH, BERGSTRÖM J, DICHIRO J, GENTILE D, NISSESSON A, SAKHRANI L, BROWNJOHN AM, NOLPH KD, PROWANT BR, ALGRIM CE, MARTIS L, SERKES KD: Nutritional assessment of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients: an international study. *Am J Kidney Dis* 17:462-471, 1991.
10. BLAGG CR: Importance of nutrition in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 17(4):458-461, 1991.
11. BERGSTROM J, LINDHOLM B: Nutrition and adequacy of dialysis. How do hemodialysis and CAPD compare? *Kidney Int* 43(Suppl 40):S39-S50, 1993.
12. SALUSKY IB: Nutritional management of pediatric patients on chronic dialysis, in *Clinical Dialysis* (2nd ed), edited by Nissesson AR, Fine RN, Gentile DE, Norwalk, Appleton & Lange Inc, 1990, pp 676-686.
13. MASSIE MD, NIIMI K, YANG W, CHAM JCM: Nutritional assessment of children with chronic renal insufficiency. *J Renal Nutr* 2(1):2-12, 1992.
14. GRAT JP, CUSTER PB, THURLOW J: Current techniques of nutritional assessment. Symposium on surgical nutrition. *Surg Clin North Am* 61(3):437-463, 1981.
15. STEIMMAN TI, MITCH WE: Nutrtion in dialysis patients, in *Replacement of Renal Function by Dialysis – A Textbook of Dialysis* (3rd ed), edited by Maher MF, Boston, Kluwer Academic Publishers, 1989, pp 1088-1106.
16. SALUSKY IB, FINE RN, NELSON P, BLUMENKRANTZ MJ, KOPPLE JD: Nutritional status of children undergoing continous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Clin Nutr* 38:599-611, 1983.
17. GRUPE WE, GROEFER SL, LEAVITT LA: Phychosocial devepment in children with chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 7:324-328, 1986.
18. SALUSKY IB, NELSON P: Nutritional management of children on peritoneal dialysis, in *Dialysis Theraphy* (2nd ed), edited by Nissesson AR, Fine RN, Philadelphia, Hanley and Belfus Inc., 1993, pp 364-367.
19. FRISANCHO AR: New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 34:2540-2545, 1981.
20. KALBACKER ME, FINE RN, CARREON E, HANSEN B, DULLY D, CHEIDRESS L, SMITH B, HERR R: Children on dialysis – open forum. *Dial Transplantation* 20(6):297-316, 1991.

21. von BAEYER H, GAHL GM, RIEDINGER H, BOROWZAK R, AVERDUNK R, SCHURIG R, KESSEL M: Adaptation of CAPD patients to the continuous peritoneal energy uptake. *Kidney Int* 23:29-34, 1983.
22. GRODSTEIN GP, BLUMENKRANTZ MJ, KOPPLE JD, MORAN JK, COBURN JW: Glucose absortion during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Int* 19:564-567, 1981.
23. SALUSKY IB: Nutritional recomendations for children treated with CAPD-CCPD, in *Chronic Ambulatory Peritoneal Dialysis*, edited by Fine RN, Boston, Martinus Nijihoff Inc., 1987, pp 235-247.
24. TORRINGTON J, JENKINS JH, COLES GA: The effect of the dialysate on food consumption by continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *J Renal Nutr* 2(3):113-116, 1992.
25. FINE RN, SALUSKY IB, ETTENGER RB: The therapeutic approach to the infant, child and adolescent with end-stage renal disease. *Pediatr Clin North Am* 34:789-801, 1987.
26. LINDSAY RM, SPANNER E: Is the lower serum albumin concentration in CAPD patients a reflection of nutritional status? *Semin Dial* 5(3):215-218, 1992.
27. BROYER M, NIAUDET P, CHAMPION G, JEAN G, CHOPIN N, CZERNICHOW P: Nutritional and metabolic studies in children on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Int* 24(Suppl 15):S106-S110, 1983.
28. MARCONDES E, MACHADO DVM, SETIAN N: Crescimento e desenvolvimento, em *Pediatria Básica* (7ª ed), editado por Marcondes E, São Paulo, Sarvier, 1985, vol 1, pp 40-48.

27

PRESCRIÇÃO DE ANTIBIÓTICOS EM PERITONITES

Miguel Carlos Riella

◆

INTRODUÇÃO

A diálise peritoneal na sua forma ambulatorial e contínua tornou-se uma alternativa dialítica eficaz e muito bem aceita pelos pacientes renais crônicos[1]. Assim sendo, do total de 641.800 pacientes em diálise atualmente no mundo, 15% estão em diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD) e no Brasil aproximadamente 3.500 pacientes são tratados por esta modalidade dialítica[2]. Considerando-se uma incidência de um episódio por paciente ao ano, só no Brasil teríamos 3.500 episódios de peritonites ao ano. Como a incidência de peritonites no Brasil é maior, fica evidente a magnitude do problema[3].

A peritonite é a complicação mais freqüente em CAPD e uma importante causa de saída do programa e de mortalidade, o que torna importante se estabelecer precocemente o diagnóstico clínico e laboratorial e utilizar apropriadamente os antibióticos[4].

Uma grande variedade de microrganismos pode causar peritonite em CAPD, mas os organismos gram-positivos são os mais freqüentes, particularmente *Staphylococcus epidermidis*[4]. Entretanto, em nosso meio, *Staphylococcus aureus* é mais comumente associado às peritonites[5-7]. Vários antibióticos têm sido utilizados no tratamento das peritonites em diálise peritoneal, administrados por via endovenosa ou intraperitoneal e em diferentes doses.

AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL INICIAL DO PACIENTE

A presença de líquido de diálise turvo, acompanhado ou não de dor abdominal e/ou febre inexplicável, requer o início de uma investigação (Fig. 27.1)[8].

Após o encaminhamento de uma bolsa turva para o laboratório, recomenda-se o início da terapia empírica através do uso de uma cefalosporina (cefazolina ou cefalotina) + aminoglicosídeo. A cefazolina tem preferência sobre a cefalotina devido à sua farmacocinética (Tabela 27.1, pág. 210), ou seja, a meia-vida de 2,2 horas passa para 28 horas na presença de insuficiência renal terminal, enquanto a meia-vida da cefalotina passa de 0,2 hora para 3,7 horas[9].

INÍCIO DA TERAPÊUTICA BASEADO NO GRAM

Embora a coloração do esfregaço pelo Gram seja geralmente negativa, o seu valor preditivo é superior a 80%, ou seja, a identificação de organismos gram-positivos habitualmente é traduzida por uma cultura positiva e um organismo gram-positivo é isolado[10]. O Gram também é útil na identificação de fungos, e a presença de bactérias gram-positivas e negativas (infecção mista) sugere a possibilidade de perfuração de víscera oca.

SELEÇÃO INICIAL DO ANTIBIÓTICO

Coloração pelo Gram revelando organismos gram-positivos

Até recentemente, vancomicina na dose de 2g a cada 7 dias era a terapia recomendada. Entretanto, há preocupação com o aparecimento de resistência à vancomicina, especialmente ao enterococo, e rapidamente evoluindo para o *Staphylococcus aureus*[9]. Tanto o CDC quanto o Comitê de Controle de Infecções Hospitalares (HICPAC) desaconselham o uso de vancomicina no tratamen-

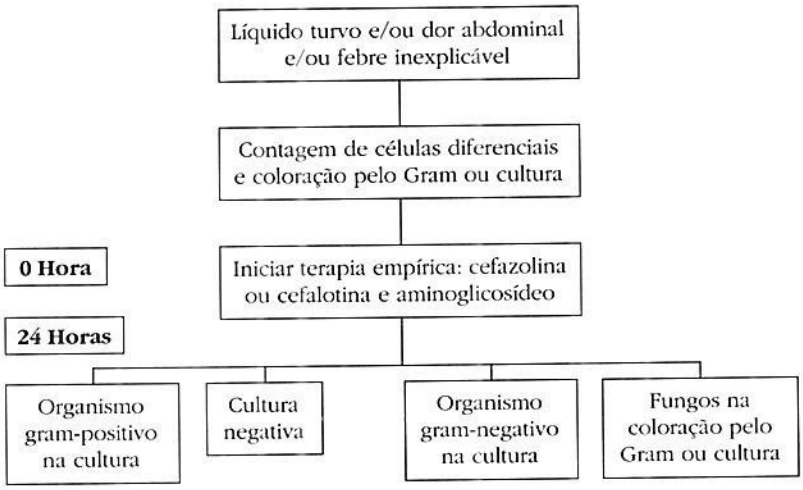


Figura 27.1 – Avaliação e terapia inicial.

to rotineiro de peritonites. Há evidência de que o gene vanA pode ser transferido *in vitro* do enterococo para o *Staphylococcus aureus*. Com isto, o aparecimento de *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina comprometeria o emprego desta excelente droga, particularmente por sua vantagem farmacocinética na insuficiência renal. Portanto, desaconselha-se o uso de vancomicina nas seguintes situações: profilaxia de rotina, terapia empírica, profilaxia ou primeira escolha em peritonite da CAPD, uso oral para enterocolite por *Clostridium difficile* e uso tópico (irrigação). Considera-se aceitável o uso de vancomicina no tratamento de: infecções por *Staphylococcus aureus* meticilino-resistentes, organismos resistentes à beta-lactamase, pacientes com alergia a beta-lactamase e tendo graves infecções por gram-positivos onde não se pode usar clindamicina, enterocolite grave que não responde ao metronidazol, profilaxia de endocardite em procedimentos de alto risco e em grandes cirurgias de implantação de próteses.

COLORAÇÃO PELO GRAM: NEGATIVA OU NÃO-REALIZADA

Nestas circunstâncias, manter a terapia inicial de uma cefalosporina (cefazolina ou cefalotina) + aminoglicosídeo. Os aminoglicosídeos gentamicina, tobramicina, amicacina e netilmicina têm igual eficácia. Recomenda-se a administração de 40mg/bolsa única de gentamicina, tobramicina ou netilmicina. A dose diária de amicacina é de 120mg/bolsa de 2 litros (vide a seguir).

Novo regime terapêutico para os aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos deverão ser administrados numa única dose diária, ao invés de serem administrados continuamente em todas as bolsas de diálise[11]. Esta estratégia visa melhorar a eficácia e reduzir a toxicidade[12-14]. Os aminoglicosídeos têm ação bactericida que depende da concentração, de sorte que doses maiores resultam numa menor contagem bacteriana e maior intervalo até que haja novo crescimento bacteriano. Além disso, exibem um longo efeito pós-antibiótico definido como persistente supressão do crescimento bacteriano apesar de uma concentração abaixo da concentração inibitória mínima[12].

COLORAÇÃO PELO GRAM REVELA FUNGOS

Embora à pronta retirada do cateter se segue uma rápida resolução dos sintomas e dos sinais de peritonite, a experiência tem demonstrado alta incidência posterior de aderências, impedindo o retorno do paciente à CAPD. Embora tradicionalmente a anfotericina B tenha sido a droga de escolha, a sua toxicidade impedia seu uso de maneira efetiva. Mais recentemente, vários autores relataram experiências bem-sucedidas com novos imidazóis/triazóis e flucitosina. Quando usados juntos parecem ter um efeito sinergístico. Goldie e cols recentemente relataram suas experiências em 46 de 863 pacientes tratados entre 1984-1994. Os autores identificaram os seguintes fatores de risco: índice de peritonites, uso prévio de antibióticos, tratamento imunossupressor e HIV[15]. Todos

Tabela 27.1 – Farmacocinética de antibióticos em pacientes em CAPD e esquemas propostos para tratamento de peritonites em CAPD.

	Meia-vida (horas)			Dose (por adulto 70kg)*		
	Normal	ESRD	CAPD	Dose inicial (mg/2 litros)	Dose de manutenção: Intermitente mg/2 litros Dose por bolsa (mg/2 litros)	Contínuo (mg/2 litros)
Aminoglicosídeo						
Amicacina	1,6	39	40	500	120/bolsa	12-24
Gentamicina	2,2	53	32	70-140	40/bolsa	8-16
Netilmicina	2,1	42	18	70-140	40/bolsa	8-16
Tobramicina	2,5	58	36	70-140	40/bolsa	8-16
Cefalosporina						
Primeira geração						
Cefazolina	2,2	28	30	500-1.000	1.000/dia	250-500
Cefonicida	4,0	68	50	250	ND	50
Cefalotina	0,2	3,7	ND	1.000	ND	200
Cefradina	0,9	12	ND	500	ND	250
Cefalexina	0,8	19	9	1.000 VO	500/4 vezes/dia VO	NA
Segunda geração						
Cefamandol	1,0	10	8,0	1.000	1.000/dia	500
Cefmenoxima	1,3	11,3	6,0	2.000	1.000/dia	100
Cefoxitina	0,8	20	15	1.000	ND	200
Cefuroxima	1,3	18	15	1.000	400/dia IV/VO	150-400
Terceira geração						
Cefixima	3,2	11,5	15	400 VO	400/dia VO	NA
Cefoperazol	1,8	2,3	2,2	2.000	ND	400-1.000
Cefotaxima	0,9	2,5	2,4	2.000	2.000/dia	500
Cefsulodina	1,8	11	11	1.000	500/dia	50
Ceftazidina	1,8	26	13	1.000	1.000/dia	250
Ceftizoxina	1,6	28	11	1.000	1.000/dia	250
Ceftriaxona	8,0	15	12	1.000	1.000/dia	250-500
Moxalactam	2,2	20	16	1.000	1.000/dia	350
Penicilinas						
Azlocilina	0,9	5,1	ND	500	ND	500
Mezlocilina	1,0	4,3	ND	3.000 IV	3.000/2 vezes/dia EV	500
Piperacilina	1,2	3,9	2,4	4.000 IV	4.000/2 vezes/dia EV	500
Ticarcilina	1,2	15	ND	1.000-2.000	2.000/2 vezes/dia	250
Quinolones						
Ciproflaxin	4,0	8,0	11	500 VO	500/3 vezes/dia VO	50
Fleroxacin	13	27	27	800 VO	400/dia VO	NA
Ofloxacin	7,0	30	25	400 VO	200/dia VO	NA
Vancomicina e outros						
Vancomicina	6,9	161	92	1.000-2.000	1.000-2.000/7 dias	30-50
Teicoplanin	50	260	260	400	400/2 vezes/dia	40**
Aztreonam	2,0	7,0	9,3	1.000	1.000/dia	500
Clindamicina	2,8	2,8	ND	300	ND	300
Eritromicina	2,1	4,0	ND	ND	500/4 vezes/dia VO	150
Metronidazol	7,9	7,7	11	500 VO/EV	500/3 vezes/dia EV	ND
Minociclina	15,5	20	ND	NA	100/2 vezes/dia VO	NA
Rifampina	4,0	8,0	ND	600 VO	600/dia VO	NA
Agentes antifúngicos						
Anfotericina B	360	360	ND	NA	20-30/dia EV	2-8
Flucitosina	4,2	115	ND	2.000-3.000 VO	1.000/dia VO	NA
Fluconazol	22	125	72	NA	150mg cada 2 dias	ND
Cetoconazol	2,0	1,8	2,4	400 VO	200-800/dia VO	NA
Miconazol	24	25	ND	200	ND	100-200
Combinações						
Ampicilina	1,3	15	9,5	1.000-2.000	1.000/2 vezes ao dia	100
Sulbactam	1,0	19	9,7	1.000-2.000	1.000/2 vezes ao dia	100
Imipenem	0,9	3,0	6,4	1.000	500/2 vezes ao dia	200
Cilistatina	0,8	15	19	500-1.000	500/2 vezes ao dia	100-200
Sulfametoxazol	10	13	14	1.600 VO	1.600/1-2 dias VO	400
Trimetoprima	14	33	34	320 VO	320/1-2 dias VO	80

* A via de administração é a intraperitoneal, a menos que outra via seja especificada. Não há evidências de que a mistura de diferentes antibióticos no líquido de diálise (exceto para aminoglicosídeos e penicilinas) seja prejudicial para os medicamentos ou para os pacientes. Não mistura antibióticos na mesma seringa.

** Esta dose é em cada bolsa × 7 dias, depois em 2 bolsas/dia × 7 dias, e depois em 1 bolsa/dia × 7 dias.

ESRD = "clearance" de creatinina < 10ml/min, paciente não em diálise;
NA = não aplicável; ND = não há dados; EV = endovenoso; VO = via oral.

receberam terapêutica antifúngica e 82% tiveram seus cateteres removidos. Um mês após o episódio de peritonite fúngica, apenas 50% dos pacientes continuavam em CAPD. Montané e cols relataram o resultado de três pacientes pediátricos, nos quais usaram fluconazol oral e/ou intraperitoneal[16]. A dose oral foi de 3mg/kg/dia e a dose intraperitoneal de 75mg/l. Todos responderam ao tratamento e apenas um paciente foi removido do programa. Recomenda-se a administração de flucitosina na dose de ataque de 2.000mg por via oral e 1.000mg/dia por via oral além de fluconazol 150mg intraperitoneal a cada 2 dias. Se houver melhora clínica, manter a terapia por 3-4 semanas. Se não houver melhora clínica, repita os exames e considere a remoção do cateter.

MODIFICAÇÃO DO REGIME TERAPÊUTICO DE ACORDO COM O RESULTADO DA CULTURA

Bactérias gram-positivas na cultura

Se *Enterococcus*, descontinue a cefalosporina e adicione a ampicilina, mantendo o aminoglicosídeo. Lembrar que o *Enterococcus* é freqüentemente oriundo do trato gastrintestinal e a possibilidade de uma perfuração de víscera oca deve ser aventada. Se a peritonite for por *Staphylococcus aureus*, descontinue o aminoglicosídeo, continue a cefalosporina e adicione rifampicina na dose de 300mg via oral 2 vezes ao dia (Fig. 27.2). Se não houver melhora clínica em 4 dias, reavaliar, e na presença de infecção do local de saída do cateter ou do túnel considerar a retirada do cateter.

Cultura negativa

A cultura negativa ocorre em maior ou menor freqüência na dependência das técnicas empregadas pelo laboratório. Na presença de melhora clínica e uma cultura negativa, recomenda-se a suspensão do aminoglicosídeo e a manutenção da cobertura para *Staphylococcus epidermidis*, organismo geralmente responsável por estas peritonites com cultura negativa (Fig. 27.3). Entretanto, quando não há melhora clínica, reculturas têm demonstrado a presença de bactéria gram-negativa não-pseudomonas em mais da metade dos casos[17].

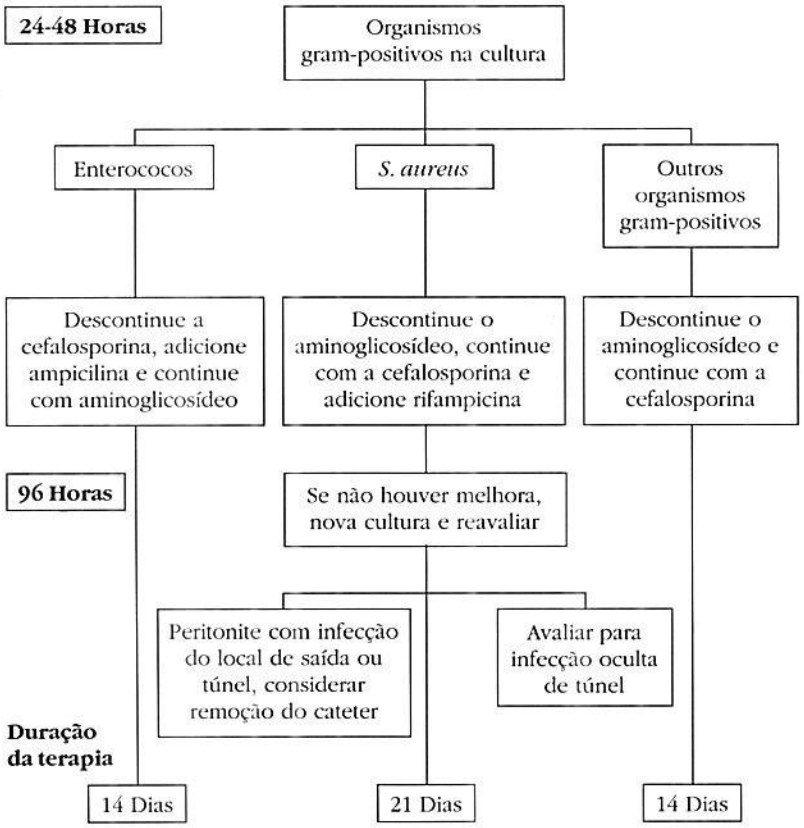


Figura 27.2 – Organismos gram-positivos na cultura.

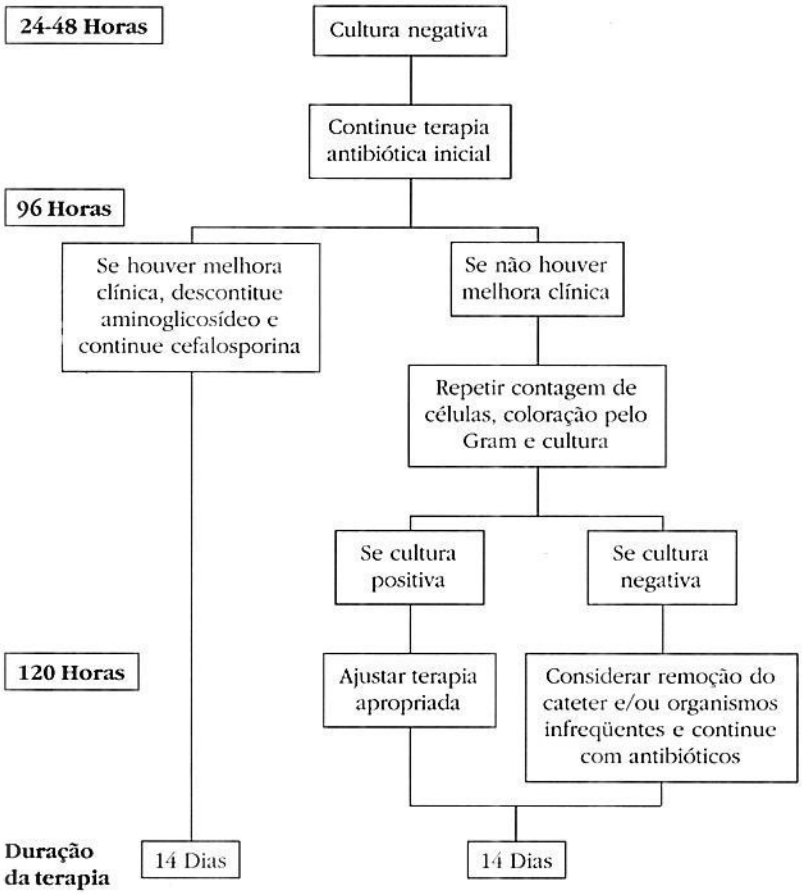


Figura 27.3 – Cultura negativa.

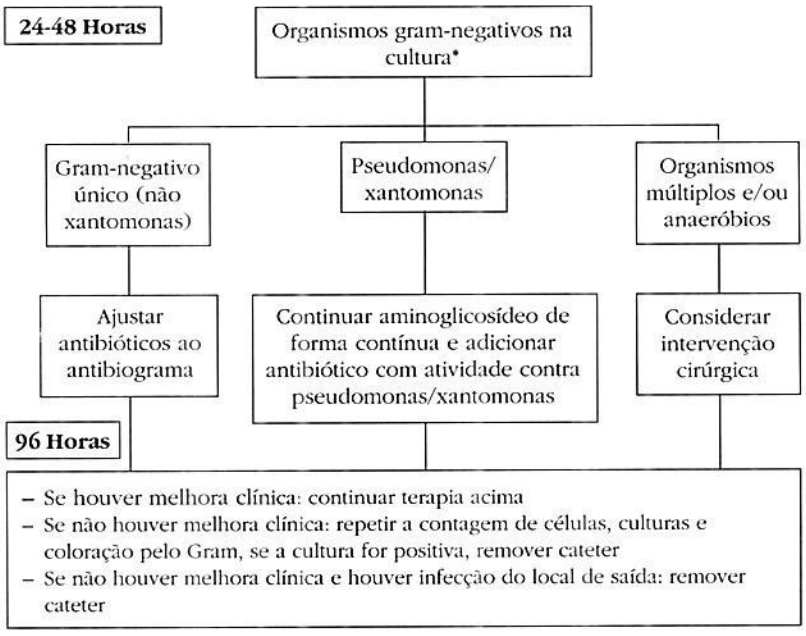
Cultura positiva para gram-negativos

Se apenas uma bactéria gram-negativa não-xantomonas é isolada, deve-se ajustar os antibióticos de acordo com o antibiograma. Havendo melhora clínica em 96 horas, manter o esquema, caso contrário repetir os exames, e se a cultura persistir positiva ou houver infecção do local de saída do cateter, deve-se removê-lo. Mais de uma bactéria gram-negativa ou anaeróbios isolados sugerem perfuração de víscera oca, e a exploração cirúrgica deve ser considerada (Fig. 27.4).

A identificação de *Pseudomonas aeruginosa* ou organismos da classe *xantomonas* requer a utilização de pelo menos duas drogas com atividade antipseudomonas ou xantomonas (vide Fig. 27.4). É importante enfatizar que peritonites por *Pseudomonas* são difíceis de ser curadas, particularmente quando associadas à infecção do local de saída do cateter. O sucesso terapêutico é muito pequeno se o cateter não for removido. A terapêutica deve ser mantida por 21 dias.

Cultura positiva para fungos

Como salientamos há pouco, tem-se obtido sucesso com o uso de imidazóis/triazóis e fluocitosina no tratamento de peritonites por fungos (Fig. 27.5). Se não houver melhora clínica em 4-7 dias de terapia, o cateter deve ser removido e a flucitosina (1g/dia, via oral) e o fluconazol (100mg/dia, via oral) devem ser mantidos por mais 10 dias. Com relação à anfotericina B, existe preocupação se uma dose diária por via endovenosa proporciona concentrações adequadas no líquido peritoneal. A instilação direta de anfotericina B na cavidade peritoneal causa efeitos adversos, desde discreto desconforto abdominal até peritonite química.



Drogas com atividade contra pseudomonas (*) ou antixantomonas (**)	
Droga	**Dosagem**
1. Ceftazidima*	125mg/l IP
2. Piperacilina*	4g cada 12h EV
3. Ciprofloxacina*	750mg 2 vezes ao dia VO
4. Aztreonam*	dose de ataque: 500mg/l IP dose de manutenção: 250mg/l IP
5. Imipenem*	dose de ataque: 500mg/l IP dose de manutenção: 100mg/l IP
6. Sulfametoxazol +Trimetoprima**	dose de ataque: 1.600mg/320mg VO dose de manutenção: 200/40mg/l IP

* A escolha do antibiótico deve ser guiada pelo antibiograma.
IP – intraperitoneal, EV – endovenoso, VO – via oral

Figura 27.4 – Organismos gram-negativos na cultura.

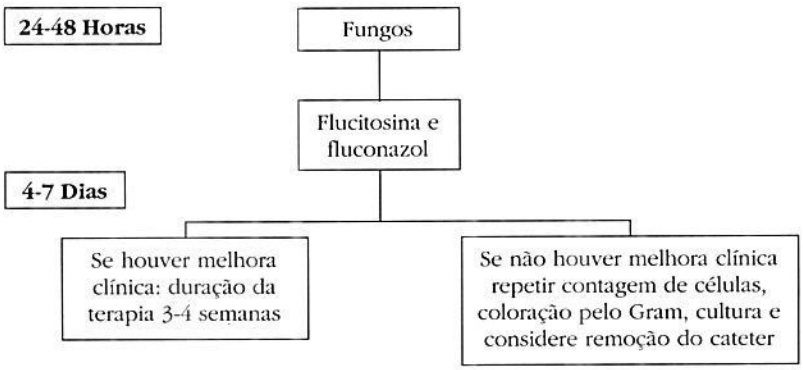


Figura 27.5 – Fungos.

ANTIBIOTICOTERAPIA PROFILÁTICA PARA PACIENTES EM CAPD[18,19]

Para procedimentos odontológicos e trato respiratório superior

Profilaxia oral

Amoxicilina, 3g, dose única via oral, 1 hora antes do procedimento seguido de 1,5g via oral, 6 horas após a dose inicial.

Profilaxia parenteral

2g de ampicilina, IM ou EV, 30 minutos antes do procedimento, 1g de ampicilina IM ou EV 6 horas após a dose inicial.

Para pacientes alérgicos à penicilina ou à ampicilina

Profilaxia oral

Estearato de eritromicina, 1g via oral, 1 hora antes do procedimento seguido de 0,5g via oral, 6 horas após a dose inicial

ou

etilssuccinato de eritromicina, 800mg via oral, 1 hora antes do procedimento seguido de 400mg 6 horas após a dose inicial

ou

clindamicina 300mg via oral, 1 hora antes do procedimento, seguida de 150mg via oral, 6 horas após a dose inicial.

Profilaxia parenteral

Vancomicina, 1g EV, 1 hora antes do procedimento.

Para procedimentos gastrintestinais ou urológicos

Profilaxia oral

Amoxicilina 3g, via oral, 1 hora antes do procedimento seguida de amoxicilina 1,5g 6 horas após a dose inicial.

Profilaxia parenteral

Ampicilina 2g EV ou IM, 1,5mg/kg de tobramicina 30 minutos antes do procedimento seguida por ampicilina 1g EV ou IM, 6 horas após a dose inicial.

Para pacientes alérgicos à penicilina ou à ampicilina

Profilaxia parenteral

Tobramicina 1,5mg/kg EV 1 hora antes do procedimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHURCHILL DN: Comparative morbidity among hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 43(Suppl 40):S16-S22, 1993.
2. NOLPH KD: Peritoneal Dialysis Registry Update: worldwide survey. 15th Annual Conference on Peritoneal Dialysis. Baltimore, February, 1995.
3. BEVILACQUA JL, MARABEZI MGB, CANIELLO CA, CAMARGO MC, NEVES AV, GOMES JG: Diálise peritoneal ambulatorial contínua (DPAC): experiência de 10 anos em um centro brasileiro. *J Bras Nefrol* 17:206-213, 1995.
4. MAIORCA R, CANCARINI GC, BRUNORI G, CAMERINI C, MANILI L: Morbidity and mortality of CAPD and hemodialysis. *Kidney Int* 43(Suppl 40):S4-S15, 1993.
5. SATO IY, KHOURI PV, BARBOSA DA, DRAIBE SA, AJZEN H: *Peritonite por Stafilococcus aureus em CAPD:* Evolução. 13º Congresso Brasileiro de Nefrologia, Temas Livres, Belo Horizonte, SBN, 1986, pp 70.
6. D'ÁVILA R, GUERRA EMM, RODRIGUES CIS, SILVA FC, CADAVAL RAM, ALMEIDA FA: *Peritonites em CAPD: eficácia e protocolo.* 14º Congresso Brasileiro de Nefrologia, Livro de resumo, Florianópolis, SBN, 1988, pp 89.
7. ROMÃO Jr JE, ABENSUR H, IGARASHI LC, MASSOLA V, MARCONDES M, SABBAGA E: *Análise Bacteriológica de 100 Peritonites em CAPD.* 14º Congresso Brasileiro de Nefrologia, Livro de resumo, Florianópolis, SBN, 1988, pp 89.
8. The Ad Hoc Advisory Committee on Peritonitis Management 1993 Update. *Perit Dial Int* 13:14-28, 1993.
9. The Ad Hoc Advisory Committee on Peritonitis Management 1996 Update. *Perit Dial Int* (in press).
10. TARRONE G, TESSARIN C, CASOL D, De SILVESTRO L, ZASIO C, CAVAGNA R: Diagnostic value and clinical utility of Gram stain test in management of peritonitis in CAPD. (abstract) *Perit Dial Int* (Suppl 1)15:S34, 1995.
11. GILBERT DW: Once daily aminoglycoside therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 35:399-405, 1991.
12. MOORE RD, LEITMAN P, SMITH CR: Clinical response to aminoglycoside therapy: importance of the ratio of peak concentration to minimum inhibitory concentration. *J Infect Dis* 155:93-97, 1987.
13. NOONE P, PARSONS TMC, PATTISON JR, SLACK RCB, GARFIELD-DAVIES D, HUGHES K: Experience in monitoring gentamicin therapy during treatment of serious gram-negative sepsis. *Br Med J* 1:477-481, 1974.
14. HAQQIE SS, BAILIE GR, EISELE G: Once daily gentamycin and once weekly vancomycin intraperitoneally to treat CAPD peritonitis. (abstract) *Perit Dial Int* 14(Suppl 1):S79, 1994.
15. GOLDIE SJ, KERNAN L, TORRES C, GORGAN-BRENNAN N, DUNNE D, KLIGER A, FINKELSTEIN F: 54 episodes of fungal peritonitis. (abstract) *Perit Dial Int* 15(Suppl 1):S27, 1995.
16. MONTANÉ B, ROSSIQUE M, ABITBOL C, ZILERUELO G, STRAUSS J, COAKLEY S, DIAZ R: Treatment of fungal peritonitis with intraperitoneal and oral fluconazole. (abstract) *Perit Dial Int* 15(Suppl 1):S31, 1995.
17. BUNKE M, BRIER ME: Culture-negative CAPD peritonitis: the Network 9 Peritonitis Study. (abstract) *Perit Dial Int* 14(Suppl 1):S35, 1994.
18. DAJANI AS, BISNO AL, CHUNG KJ, DURACK DT, FREED M, GERBER MA, KARCHMER AW, MILLARD D, RAHIMTOOLA S, SHULMAN ST, WATANAKLINAKORN C, TAUBERT KA: Prevention of bacterial endocarditis. Recommendations by the American Heart Association. *JAMA* 264:2919-2922, 1990.
19. Antibiotic prophylaxis of infective endocarditis. Recommendations from the Endocarditis Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *Lancet* 335:88-89, 1990.

28

MÉTODOS DIALÍTICOS EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

Paulo César Ayroza Galvão
Luís Yu

INTRODUÇÃO

A insuficiência renal aguda (IRA) é uma das complicações mais freqüentes e graves em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), com altas taxas de morbidade e mortalidade apesar de todos os avanços tecnológicos no tratamento de doentes críticos com falência renal nas últimas décadas[1]. Este fato é devido principalmente a dificuldades de ajustar-se artificialmente a homeostase hídrica, eletrolítica e acidobásica do paciente, mas também, muitas vezes, representa a exaustão de um sistema que já atingiu o seu grau máximo de adaptação diante da agressão a que esteve exposto, repercutindo em outros órgãos e sistemas orgânicos[2,3,4]. No doente crítico, portanto, somam-se diversos distúrbios, tais como hipotensão, choque, insuficiência respiratória, insuficiência renal e infecção, culminando com a falência de múltiplos órgãos, impossibilitando a abordagem destes distúrbios isoladamente. Quando existe necessidade de diálise, o intensivista depara-se com várias dificuldades, principalmente quando a via peritoneal não é exeqüível, ou o paciente não apresenta condições hemodinâmicas para suportar a hemodiálise convencional. Dessa forma, novos métodos dialíticos têm sido utilizados, visando à substituição da função renal insuficiente e também outros aspectos do doente crítico, tais como a retirada de eventuais mediadores imunológicos envolvidos na síndrome séptica e de fatores depressores do miocárdio.

As alternativas dialíticas no paciente crítico serão revistas a seguir, analisando-se as indicações clínicas, os aspectos técnicos e da instalação dos procedimentos, os critérios para a escolha do método dialítico e as complicações dialíticas.

INDICAÇÕES DE DIÁLISE

O tratamento do paciente em insuficiência renal aguda muitas vezes é apenas clínico, procurando-se corrigir os distúrbios hidroeletrolíticos e acidobásicos, retirar fatores agressores, como drogas nefrotóxicas, e manter um fluxo sangüíneo renal adequado. Entretanto, em alguns destes pacientes a IRA progride, apesar das medidas terapêuticas, necessitando de tratamento dialítico.

As principais indicações de diálise são:

Hiperpotassemia – principalmente se associada a cardiotoxicidade representada por alterações eletrocardiográficas, tais como: onda T pontiaguda e simétrica, alargamento do QRS, desaparecimento da onda P e arritmias ventriculares.

Hipervolemia – que pode se manifestar por edema periférico, derrames pleural e pericárdico, ascite, hipertensão arterial e insuficiência cardíaca congestiva (ICC).

Uremia – que se manifesta através de complicações envolvendo o sistema nervoso central (sonolência, tremores, coma e convulsões), sistema cardiovascular (pericardite e tamponamento pericárdico), pulmões (congestão pulmonar e pleurite) e aparelho digestivo (náuseas, vômitos e hemorragias digestivas).

Acidose metabólica – causada pela retenção de ácidos orgânicos, pela incapacidade de regenerar bicarbonato e acidificar a urina adequadamente. A acidose geralmente causa alterações clínicas quando o pH está abaixo de 7,2.

Outras indicações de diálise no doente crítico seriam: graus moderados de hipervolemia, hipo ou hipernatremia, hipo ou hipercalcemia, hiperuricemia, hipermagnesemia, hemorragias devido a

distúrbios plaquetários, insuficiência cardíaca congestiva refratária, hipotermia e intoxicação exógena.

CONCEITO DE "CLEARANCE"

O transporte de água e solutos através de uma membrana de diálise implica dois processos físicos: convecção e difusão. No transporte difusional, há movimento de solutos da solução de maior concentração (por exemplo, uréia no sangue) para a solução de menor concentração. No processo convectivo, há transporte de água através de uma membrana, arrastando os solutos por meio desta.

Na diálise peritoneal, a depuração é feita através de "clearance" convectivo e difusional. A difusão acontece através dos capilares peritoneais, determinada pela diferença de concentração de determinados solutos entre o banho de diálise e o sangue. O "clearance" convectivo decorre da presença de substâncias osmoticamente ativas, como a glicose, no banho de diálise.

Durante a hemodiálise ou hemodiafiltração, o dialisato, uma solução eletrolítica balanceada, passa pelo filtro, criando um gradiente de concentração entre esta solução e o sangue. Este gradiente determina a remoção de escórias nitrogenadas e eletrólitos do sangue através da difusão, enquanto a base contida no dialisato faz o caminho inverso.

Na ultrafiltração ou hemofiltração não se utiliza dialisato, obtendo-se, portanto, somente "clearance" convectivo. Na prática, sabe-se que o "clearance" da hemofiltração é numericamente igual ao volume ultrafiltrado, em ml/min. No caso da hemodiafiltração, o "clearance" do procedimento é a soma do "clearance" convectivo com o "clearance" difusional. Este último é numericamente igual ao fluxo do dialisato (entre os limites de 0 a 1.500ml/h para o fluxo do dialisato e 50 a 170ml/min para o fluxo de sangue).

ACESSO VASCULAR

O acesso vascular é necessário tanto para a hemodiálise convencional como para as terapias contínuas de substituição renal. Os vasos mais freqüentemente utilizados são as veias jugular, subclávia e femoral. Todos estes acessos permitem a colocação de cateteres de duplo lúmen, com a obtenção de bom fluxo sangüíneo (até 300ml/min). Em termos de conforto para o paciente, se este tem condições para deambular, o acesso femoral é menos favorável. A incidência de infecção e duração do acesso é semelhante em todos, porém a recirculação, que pode determinar uma dose insuficiente de diálise, é maior na veia femoral[5] para fluxos de sangue maiores do que 250ml/min. Para fluxos de sangue menores, a recirculação é comparável nos três acessos vasculares.

Para os procedimentos arteriovenosos, o acesso vascular é obtido através de uma punção arterial e uma punção venosa preferencialmente nos vasos femorais, mas há possibilidade de se utilizar um "shunt" arteriovenoso no antebraço ou na perna.

ANTICOAGULAÇÃO

A anticoagulação é absolutamente necessária para os procedimentos contínuos, e talvez seja o maior inconveniente destes procedimentos. Em nosso meio, utiliza-se a heparina, na dose de 500 a 1.000 unidades por hora, sob a forma de infusão contínua[6]. Se a anticoagulação for insuficiente, o desempenho do filtro se deteriorará, e, eventualmente, o circuito extracorpóreo coagulará, determinando perda sangüínea e má adequação da diálise. O excesso de anticoagulação, por outro lado, pode resultar em complicações hemorrágicas. A anticoagulação regional, com heparina e protamina, não tem trazido resultados promissores. A ligação da molécula de heparina com a protamina parece ser instável, podendo ocasionar sangramentos tardios.

Uma outra alternativa, bastante utilizada no exterior, é a anticoagulação com citrato de sódio[7]. Esta se faz através da infusão de citrato trissódico a 4% no sistema extracorpóreo, na dose de 170ml/h, de forma pré-dilucional. O citrato é quelado, para evitar hemorragia, pela infusão simultânea de cloreto de cálcio via endovenosa, na dose de 10ml/h, ajustando-se para manter o cálcio iônico plasmático normal. O tempo de coagulação ativado (ACT) é determinado na linha venosa do circuito extracorpóreo, devendo permanecer entre 2 e 4 minutos. O inconveniente do uso de citrato é a necessidade de dosagens freqüentes do cálcio ionizado e do ACT. Uma outra alternativa pouco utilizada, porém bastante promissora, é a anticoagulação com mesilato de nafamostato. Esta substância é um inibidor sintético de proteases com potente efeito inibidor sobre o sistema de coagulação. Em trabalho recente, foram analisados 200 casos de terapia contínua de substituição renal anticoagulados com nafamostato. Houve baixa incidência de complicações hemorrágicas (11%). A dose preconizada é de 0,1 a 0,3mg/kg/h com ajuste do ACT para 2,5 minutos[8].

BIOCOMPATIBILIDADE DA MEMBRANA

A membrana de cuprofano, pouco biocompatível, desencadeia uma série de processos fisiopatológicos, tais como: agregação e ativação de neutrófilos e ativação do sistema complemento. Estes efeitos podem ser deletérios para pacientes submetidos a diálise com este tipo de material. Por outro lado, as membranas de polissulfona, polimetilmetacrilato e poliacrilonitrila são consideradas mais biocompatíveis, por não apresentarem estas propriedades. Para avaliar o efeito da biocompatibilidade da membrana no tratamento da IRA, dois estudos multicêntricos recentes apresentaram resultados mais favoráveis no grupo de pacientes dialisados com membranas biocompatíveis. Neste grupo, a evolução da IRA foi mais curta, houve menor necessidade de diálise, e a mortalidade por sepses foi menor. Estes dados, que devem ser confirmados em novos estudos, sugerem que o uso de membranas pouco biocompatíveis pode interferir negativamente na evolução de pacientes com IRA[9,10].

Os métodos dialíticos disponíveis atualmente são diálise peritoneal, hemodiálise e os métodos contínuos de substituição renal (Quadro 28.1). Estes processos podem ser espontâneos (arteriovenosos) ou controlados (venovenosos) e executados de maneira intermitente ou contínua. O conhecimento das características dos diferentes métodos auxilia na escolha do método dialítico mais adequado para o tratamento da IRA[11].

Quadro 28.1 – Métodos terapêuticos para o tratamento da IRA.

Métodos intermitentes	Métodos contínuos
Diálise peritoneal intermitente	Diálise peritoneal ambulatorial contínua
Hemodiálise intermitente	SCUF
Hemofiltração intermitente	CAVH
	CVVH
	CAVHD
	CVVHD
	CAVHDF
	CVVHDF

DIÁLISE PERITONEAL

A diálise peritoneal (DP) é o método mais utilizado para o tratamento da IRA em nosso meio. As principais razões são o baixo custo e a facilidade de execução, pois requer treinamento específico mínimo da equipe médica e de enfermagem. Os pacientes com instabilidade hemodinâmica e os pacientes neurológicos agudos, com acidente vascular cerebral, trauma cranioencefálico e hemorragia intracraniana, também se beneficiam da diálise peritoneal, pois é um procedimento que induz alterações do volume extracelular e da osmolaridade plasmática mais lentamente. Entretanto, este método vem sendo gradativamente substituído, em centros mais avançados, por técnicas extracorpóreas, devido à baixa eficiência dialítica e à inviabilidade do peritônio, principalmente em pacientes submetidos a cirurgias abdominais.

O acesso à cavidade peritoneal se faz por punção percutânea, com a colocação de cateter rígido ou flexível. O cateter rígido não deve permanecer por mais de quatro dias na cavidade peritoneal, pois o risco de infecção se aproxima de 100%. O ideal é que este cateter fique no máximo 24 horas. Os cateteres flexíveis, como o cateter de Tenckoff, são mantidos por tempo indeterminado na cavidade abdominal, de preferência com túnel subcutâneo, o que reduz a incidência de infecções.

As soluções de diálise peritoneal contêm glicose (1,5, 2,5, 4,25 e 7%) para torná-las hiperosmolares em relação ao plasma, criando um gradiente osmótico, que facilita a ultrafiltração de fluido dos capilares peritoneais para o dialisato. Quanto mais hipertônica a solução, maior será o volume ultrafiltrado. A troca-padrão utiliza 2 litros de solução estéril de diálise a 1,5%, tamponado com lactato, para a correção da acidose metabólica. Cada troca se processa em 40 a 60 minutos, dividida da seguinte forma: inicia-se com a infusão do dialisado durante 10 a 15 minutos, seguida pelo tempo de permanência na cavidade abdominal, de 20 a 30 minutos, e pela drenagem da cavidade, que deve durar aproximadamente 10 a 15 minutos. Nestas condições, a depuração de uréia é de aproximadamente 10ml/min, e o ultrafiltrado pode atingir 200ml por troca. Por este motivo a diálise peritoneal é utilizada por períodos de pelo menos 24 horas, e muitas vezes opta-se por dialisar o doente crítico, hipercatabólico, continuamente para contrabalançar o baixo "clearance" de uréia. Podem-se utilizar, em UTI, cicladores como na diálise peritoneal contínua com cicladores (CCPD), que facilitam o manuseio e permitem maior eficiência dialítica.

HEMODIÁLISE

A hemodiálise convencional (HD) é o método extracorpóreo mais utilizado para o tratamento da IRA, apesar da necessidade de equipamentos específicos e de treinamento especializado da equipe médica e de enfermagem.

O acesso vascular é obtido através da colocação de cateter de duplo lúmen em veia subclávia ou preferencialmente na veia jugular. Pode-se utilizar, também, a veia femoral, ou "shunt" arteriovenoso.

O fluxo de sangue é obtido através de bomba rolete mantida entre 250 e 350ml/min. O movimento de solutos é bidirecional, há solutos que se movem do sangue para o dialisato, como uréia e potássio, e outros solutos, como cálcio e bicarbonato, que se movem do dialisato para o sangue. A maior parte do transporte de solutos ocorre por difusão, e a remoção de fluido é por ultrafiltração decorrente do gradiente de pressão hidráulica no dialisador. A ultrafiltração pode ser aumentada pela elevação da pressão hidrostática no "set" venoso do sistema, ou então pela colocação de pressão negativa no "set" que drena o dialisato. A ultrafiltração depende também das características da membrana; o valor médio de ultrafiltração é de 5ml/min/mmHg, que pode determinar uma retirada de até 2.000ml/h de volume ultrafiltrado. A depuração de uréia varia com o modelo do dialisador, do tamanho e do fluxo de sangue, podendo atingir 150ml/min. O tempo de duração de cada procedimento é de aproximadamente 4 horas, tempo suficiente para dialisar todo o volume de distribuição da uréia (60% do peso corpóreo) e ultrafiltrar pelo menos 2.000ml.

Verifica-se, portanto, que a hemodiálise é muito mais eficiente que a diálise peritoneal para a correção da uremia e para a retirada de volume.

Em algumas situações clínicas, comuns em UTI, a hemodiálise pode não ser exeqüível: instabilidade hemodinâmica, choque, insuficiência cardíaca grave, encefalopatias com edema cerebral. Nestas situações, outro tipo de procedimento dialítico deve ser considerado.

TERAPIA CONTÍNUA DE SUBSTITUIÇÃO RENAL

A impossibilidade de se realizar diálise peritoneal ou hemodiálise convencional no doente crítico motivou o desenvolvimento de uma série de novos procedimentos de substituição renal extracorpórea, os quais são chamados genericamente de terapia contínua de substituição renal, seguindo-se uma tendência mundial que tem utilizado o tempo "continuous renal replacement therapy" (CRRT)[12,13]. Há grande confusão quanto à terminologia utilizada para estes procedimentos, fazendo-se necessária uma padronização internacional. Neste sentido, será utilizada a nomenclatura proposta no I Simpósio Internacional sobre CRRT[14].

Hemofiltração arteriovenosa contínua (CAVH) – é a técnica em que o circuito extracorpóreo começa em uma artéria e termina em uma veia, e o sangue passa através de um filtro impulsionado pela própria pressão arterial do paciente. Este filtro é composto por uma membrana de alta permeabilidade, e o ultrafiltrado produzido é reposto em sua totalidade, ou uma grande parte dele, com soluções de reposição apropriadas. O volume reposto pode ser igual ao volume ultrafiltrado, no caso de não ser necessário balanço hídrico negativo, ou o volume reposto pode ser menor que o volume ultrafiltrado, dependendo do balanço negativo desejado. A solução de reposição normalmente é colocada no "set" arterial do sistema extracorpóreo (reposição pré-dilucional). O "clearance" de solutos é exclusivamente convectivo.

Hemofiltração venovenosa contínua (CVVH) – é uma técnica semelhante à anterior, com a diferença que o circuito se inicia e termina em uma veia, e o fluxo de sangue é determinado por uma bomba rolete. A vantagem deste procedimento em relação ao anterior é que se pode ajustar o volume ultrafiltrado e, portanto, o "clearance" convectivo através do ajuste do fluxo sangüíneo pela bomba rolete.

Hemodiafiltração arteriovenosa contínua (CAVHDF) – é um técnica de substituição renal em que o circuito é modificado em relação à CAVH, com a passagem de dialisato contracorrente no compartimento apropriado do hemofiltro. Como na CAVH, utilizam-se membranas de alto fluxo, sendo necessária solução de reposição para repor as perdas parcial ou totalmente. O "clearance" de solutos é convectivo e difusional. As hemodiafiltrações têm, em média, um "clearance" total maior que as hemofiltrações, sendo indicadas para aqueles pacientes hipercatabólicos.

Hemodiafiltração venovenosa contínua (CVVHDF) – é uma técnica de substituição renal em que o circuito é modificado em relação à CVVH, com a passagem de dialisato contracorrente no compartimento apropriado do hemofiltro. Como na CVVH, utilizam-se membranas de alto fluxo, e soluções de reposição são necessárias para repor as perdas parcial ou totalmente. O "clearance" de solutos é convectivo e difusional.

Ultrafiltração lenta contínua (SCUF) – é uma forma de CAVH ou CVVH sem o emprego da solução de reposição, sendo utilizada no manejo de pacientes com edema refratário, com ou sem insuficiência renal. A principal utilidade é manipular líquido e não solutos, principalmente em pacientes com insuficiência cardíaca refratária e edema agudo de pulmão. O volume ultrafiltrado pode ser espontâneo ou controlado através do uso de uma bomba rolete acoplada à linha de drenagem do ultrafiltrado.

Hemodiálise arteriovenosa contínua (CAVHD) – é uma técnica de substituição renal semelhante à CAVHDF, porém utilizam-se membranas de baixa permeabilidade, como o cuprofano, o que determinará um baixo volume de ultrafiltrado. Por isso, não é necessário o uso de solução de reposição, tornando o procedimento tecnicamente mais simples. O "clearance" de solutos é quase totalmente difusional. Por outro lado, há o inconveniente do "clearance" menor e de utilizar freqüentemente membranas pouco biocompatíveis.

Hemodiálise venovenosa contínua (CVVHD) – é um procedimento semelhante à CAVHD, com a diferença do acesso vascular, que neste caso é venoso, determinando a necessidade de se utilizar uma bomba de sangue. Nesta técnica, utilizam-se também dialisadores com membranas de baixa permeabilidade.

SOLUÇÃO DE REPOSIÇÃO

Na hemodiálise contínua, arterial ou venosa, não é necessário soluções de reposição por causa do pequeno volume ultrafiltrado decorrente da utilização de membranas de baixa permeabilidade. Por outro lado, em todos os procedimentos que utilizam membranas de alta permeabilidade (CAVH, CVVH, CAVHDF, CVVHDF) e, por conseguinte, apresentam volume de ultrafiltrado muito grande, é imprescindível o uso de solução de reposição.

Na hemodiafiltração (CAVHDF e CVVHDF), a reposição pode ser feita com solução fisiológica ou Ringer-lactato, de forma pré-dilucional, pois a utilização de dialisato ajuda a corrigir os distúrbios eletrolíticos.

Na hemofiltração (CAVH e CVVH), o "clearance" de solutos é convectivo, determinado por um grande volume de ultrafiltrado, geralmente maior do que 1.000ml/h. Neste caso, a solução de reposição também é necessária, devendo ser formulada cuidadosamente para evitar graves distúrbios eletrolíticos, pois não há passagem de dialisato. A solução de Ringer-lactato pode ser uma boa opção para a reposição nesta modalidade dialítica. Como o volume de reposição pode ser maior do que 25 litros por dia, a solução de reposição deve ser aquecida a 37°C para evitar-se hipotermia. A grande quantidade de lactato infundida é metabolizada satisfatoriamente no fígado para bicarbonato. Em pacientes com acidose láctica, hepatopatas ou em pacientes submetidos a transplante de fígado, pode-se utilizar uma solução tamponada com bicarbonato, a qual deve ser preparada imediatamente antes da utilização. A solução utilizada na UTI do Serviço de Nefrologia do HC-FMUSP tem a seguinte fórmula: SF a 0,9% 700ml + SG a 5% 250ml + bicarbonato de sódio a 10% 30ml + $MgSO_4$ a 10% 1ml + KCl a 19,1% 1,5ml. O volume infundido depende do balanço hídrico desejado. O cálcio deve ser administrado por veia central, pois pode precipitar com o bicarbonato, na dose de 4mEq/h, ajustado pelo cálcio iônico do paciente.

CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ESCOLHA DO MÉTODO DIALÍTICO

A diálise peritoneal é o método mais simples, de baixo custo, não requer equipamento especializado e é amplamente difundido. A diálise não causa estresse hemodinâmico, não necessita de anticoagulação sistêmica e nem de acesso circulatório. Entretanto, é o método dialítico menos eficiente quando comparado aos métodos extracorpóreos. Pode não ser suficiente para controlar a uremia em pacientes hipercatabólicos, para correção rápida de hipercalemia grave e/ou para retirar grandes quantidades de volume em pacientes hipervolêmicos, e não ser exeqüível em pacientes com cirurgias abdominais recentes ou antigas devido à formação de cavidades abdominais isoladas. Por outro lado, todos os métodos extracorpóreos necessitam de via de acesso circulatório, de anticoagulação sistêmica, e podem causar alterações hemodinâmicas e desequilíbrio osmótico. A HD deve ser considerada pela alta eficiência dialítica para pacientes hipercatabólicos, pacientes com alterações eletrolíticas emergenciais como hiperpotassemia, em intoxicações exógenas por substâncias dialisáveis ou para os casos onde a diálise peritoneal e a hemofiltração tenham falhado. A hemofiltração e a hemodiafiltração devem ser consideradas em pacientes hemodinamicamente instáveis, em oligúricos que se encontram hipervolêmicos e que necessitam ultrafiltração diária e naqueles com SARA e septicemia, devido a um possível efeito benéfico decorrente da retirada de mediadores inflamatórios[15,16].

O quadro 28.2 demonstra algumas das situações clínicas de IRA comumente encontradas e as indicações preferenciais de tratamento dialítico[3,17] (Tabela 28.1).

DOSE DE DIÁLISE

É importante considerar a dose efetivamente recebida de diálise em pacientes portadores de IRA. A quantificação da dose prescrita e recebida de diálise em pacientes renais crônicos é extensa-

Quadro 28.2 – Escolha inicial do método dialítico para o tratamento da IRA em UTI.

Indicação	Condição clínica	Método preferencial
IRA não complicada	Nefrotoxicidade	DP, HD
Sobrecarga de volume	Choque cardiogênico	SCUF, CAVH, DP, CVVHD
Uremia	IRA complicada	HD, CVVHDF
Hipertensão intracraniana	AVCH, síndrome hepatorrenal	CVVHD, CVVHDF, DP
Choque	Sepse, SARA	CAVH, CAVHDF, CVVHD, DP
Nutrição	Queimados	HD, CVVHDF, CVVH
Intoxicações	Barbitúricos, teofilina	Hemoperfusão, HD, CVVHDF
Alterações eletrolíticas	Hiperpotassemia grave	HD, CVVHDF
IRA na gravidez	Uremia nos últimos trimestres	DP

Tabela 28.1 – Características dos métodos terapêuticos contínuos para o tratamento da IRA.

	SCUF	CAVH	CVVH	CAVHD	CVVHD	CAVHDF	CVVHDF	DP
Acesso	AV	AV	VV	AV	VV	AV	VV	Cateter
Bomba de sangue	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não
Filtrado (ml/h)	100	600	1.000	300	300	600	800	500
Filtrado (litro/dia)	2,4	14,4	24	7,2	7,2	14,4	19,2	12
Fluxo dialisato (litro/dia)	0	0	0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,0
Reposição fluido (litro/dia)	0	12	21,6	4,8	4,8	12	16,8	0
Depuração uréia (ml/min)	1,7	10	16,7	21,7	21,7	26,7	30	8,5

DP = diálise peritoneal; AV = arteriovenoso; VV = venovenoso

mente estudada, sendo amplamente praticada nos serviços de diálise. Entretanto, o mesmo não ocorre com pacientes em IRA. Sabe-se que a evolução e o prognóstico destes pacientes podem estar diretamente relacionados com a dose de diálise recebida[18], principalmente em pacientes com IRA em UTI.

Dados recentes comparando os procedimentos dialíticos contínuos com hemodiálise intermitente em doentes críticos com IRA tendem a mostrar melhor evolução nos pacientes submetidos a procedimentos contínuos de substituição renal[19]. Entretanto, a metodologia utilizada para avaliar a dose de diálise (KT/V, URR) para pacientes em IRA precisa ser validada ou outros métodos precisam ser desenvolvidos neste sentido. Na prática clínica, a dose de diálise oferecida ao paciente deve ser constantemente monitorizada, analisando-se seu tamanho, diurese residual, "clearance" da diálise, tipo de membrana empregada, duração da diálise, recirculação do acesso vascular e sua nutrição.

INDICAÇÕES NÃO-RENAIS DE HEMOFILTRAÇÃO E HEMODIAFILTRAÇÃO

Alguns autores trabalharam a possibilidade de que as terapias contínuas de substituição renal poderiam retirar mediadores inflamatórios, como TNF, PAF, IL-1, IL-6, IL-8, fator depressor do miocárdio, trazendo benefícios a pacientes com falência de múltiplos órgãos mesmo com função renal normal. Na maioria dos casos, as casuísticas são pequenas, retrospectivas, não controladas e com populações heterogêneas de pacientes. Mesmo assim, alguns autores preconizam o uso de terapias contínuas de substituição renal em *falência de múltiplos órgãos* e *síndrome de angústia respiratória do adulto*[20-25]. Entretanto, até o presente momento, não há ainda subsídios clínicos definitivos para a inclusão desta modalidade dialítica no tratamento destas doenças.

COMPLICAÇÕES DO TRATAMENTO DIALÍTICO

As complicações do tratamento dialítico decorrem de alterações ocasionadas pela rapidez e intensidade da depuração de solutos (síndrome de desequilíbrio, hipoxemia, arritmias) e/ou do grau de ultrafiltração (hipovolemia) e/ou de problemas técnicos (peritonites, sangramentos). As principais complicações encontram-se listadas no quadro 28.3[17]. Estas complicações, obviamente, estão relacionadas à familiaridade e ao treinamento da equipe médica e de enfermagem com os procedimentos dialíticos e também aos equipamentos e filtros disponíveis. Atualmente, há no mercado equipamentos modernos para hemodiálise e hemofiltração que facilitam a instalação e o manuseio dos procedimentos, além de torná-los mais seguros.

Quadro 28.3 – Complicações do tratamento dialítico.

Diálise peritoneal

- Peritonites
- Problemas de cateter: posicionamento inadequado, vazamentos, dor e infecção
- Perfuração de vísceras
- Hipotensão e insuficiência cardíaca congestiva
- Atelectasias
- Insuficiência respiratória
- Derrame pleural
- Erros técnicos: manuseio inadequado, composição inadequada do dialisato

Hemodiálise

- Hipotensão
- Arritmias
- Sangramentos
- Hipoxemia e leucopenia
- Síndrome de desequilíbrio
- Infecções e reações piogênicas
- Reações à membrana
- Vazamentos
- Erros técnicos: embolia gasosa, contaminação e mistura inadequada do dialisato

Hemofiltração

- Sangramentos
- Hipotensão e insuficiência cardíaca congestiva
- Trombose do circuito extracorpóreo
- Hemólise e vazamentos
- Infecções e reações piogênicas
- Erros técnicos: embolia gasosa, vazamento de sangue, contaminação e mistura inadequada do dialisato e reposição inadequada de fluidos

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CAMERON JS: Acute renal failure in the ICU: the nephrologist's view, in *Acute Renal Failure in the Intensive Therapy Unit*, edited by Bihari D, Neild G, Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag, 1990, pp 3-12.
2. ANDERSON RJ, SCHRIER RW: Acute tubular necrosis, in *Diseases of the Kidney* (5th ed), edited by Schrier RW, Gottschalk CW, Boston, Little Brown and Company, 1993, pp 1287-1318.
3. METHA RL: Therapeutic alternatives to renal replacement for critically ill patients in acute renal failure. *Semin Nephrol* 14:64-82, 1994.
4. GROENVELD ABJ, TRAN DD, van der MEULEN J, NAUTA JJP, THIJS LG: Acute renal failure in the medical intensive care unit: predisposing, complication factors and outcome. *Nephron* 59:602-610, 1991.
5. KRAUS M, McMCUSKY M, CLARK W: Temporary hemodialysis catheter recirculation studies, a comparison of design and site selection. (abstract) *Blood Purif* 13:390, 1995.
6. BELLOMO M, TEEDE H, BOYCE N: Anticoagulant regimens in acute continuous hemodiafiltration: a comparative study. *Intensive Care Med* 19:329-332, 1993.
7. METHA RL, McDONALD BR, AGUILAR MM, WARD DM: Regional citrate anticoagulation for continuous arteriovenous hemodialysis in critically ill patients. *Kidney Int* 38:976-981, 1990.
8. SUGAI T, HIRASAWA H, OHTAKE Y, ODA S, NAKANISHI K, KITAMURA N, MATSUDA K, KAWABE T, UENO H, TOUMA T, YOKOHARI K: Nafamostat mesilate is the first choice anticoagulant for continuous renal replacement therapy. (abstract) *Blood Purif* 13:388, 1995.
9. SCHIFFL H, LANG SM, KÖNIG A, STRASSER T, HAIDER MC, HELD E: Biocompatible membranes in acute renal failure: prospective case-controlled study. *Lancet* 344:570-572, 1994.
10. HAKIM RM, WINGARD RL, PARKER RA: Effect of dialysis membrane in the treatment of patients with acute renal failure. *N Engl J Med* 311:1338-1342, 1994.
11. SCHETZ M, LAUWERS PM, FERDINANDE P: Extracorporeal treatment of acute renal failure in the intensive care unit: a critical view. *Intensive Care Med* 15:349-357, 1989.
12. REYNOLDS HN, BORG U, BELZBERG H, WILES III CE: Efficacy of continuous arteriovenous hemofiltration with dialysis in patients with renal failure. *Crit Care Med* 19:1387-1394, 1991.
13. BELLOMO R, PARKIN G, LOVE J, BOYCE N: Use of continuous haemodiafiltration: an approach to the management of acute renal failure in the critically ill. *Am J Nephrol* 12:240-245, 1992.
14. BELLOMO R: Consensus Statement – Standardized Terminology for CRRT, in *International Conference on CRRT (Syllabus)*. San Diego, November 8-10, 1995.
15. BAGSHAW ONT, ANAES FRC, HUTCHINSON A: Continuous arteriovenous haemofiltration and respiratory function in multiple organ systems failure. *Intensive Care Med* 18:334-338, 1992.
16. BURDMANN A, GONÇALVES AR, ANDRADE LC, YU L, ABDULKADER R, MALHEIRO P, AYROZA P, SABBAGA E, MARCONDES M: Use of pump-driven hemodiafiltration (HDF) in acute respiratory distress syndrome (ARDS) associated with acute renal failure (ARF). (abstract) *Ren Fail* 14:91, 1992.
17. OWEN WF, LAZARUS JM: Dialytic management of acute renal failure, in *Acute Renal Failure* (3rd ed), edited by Lazarus JM, Brenner BM. New York, Churchill Livingstone, 1993, pp 487-525.
18. TAPOLYAI M, FEDAK S, CHAFF C, PAGANINI EP: Delivered dialysis dose may influence acute renal failure outcome in ICU patients. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 5:530, 1994.
19. CLARK WR, ALAKA KJ, MUELLER BA, MACIAS WL: A comparison of metabolic control by continuous and intermittent therapies in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 4:1413-1420, 1994.
20. GOTLOIB L, BARZILAY E, SHUSTAK A, LEV A: Sequential hemofiltration in nonoliguric high capillary permeability pulmonary edema of severe sepsis: preliminary report. *Crit Care Med* 12:997-1000, 1984.
21. GOTLOIB L, BARZILAY E, SHUSTAK A, WAIS Z, JAICHENKO J, LEV A: Hemofiltration in septic ARDS. The artificial kidney as an artificial endocrine lung. *Ressuscitation* 13:123-132, 1986.
22. CORAIM F, PAUSER G, STELLWAG F, WERNER T, ZIEGLER W: Positive modification of hemodynamics in postcardiac surgery patients by hemofiltration. Improved method for the demonstration of myocardial depressant factor in hemofiltrate. *Anaesthesist* 34:236-240, 1985.
23. BARZILAY E, KESSLER D, BERLOT G, GULLO A, GEBER D, ZEEV IB: Use of extracorporeal supportive techniques as additional treatment for septic-induced multiple organ failure patients. *Crit Care Med* 17:634-637, 1989.
24. GARZIA F, TODOR R, SCALEA T: Continuous arteriovenous hemofiltration-countercurrent dialysis (CAVH-D) in acute respiratory failure (ARDS). *J Trauma* 31:1277-1284, 1991.
25. BLINZLER L, HAUSSER J, BÖDECKER H, ZAUNE U, MARTIN E, GEBHARDT CH: Conservative treatment of severe necrotizing pancreatitis using early continuous venovenous hemofiltration. *Contrib Nephrol* 93:234-236, 1991.

29

SISTEMAS VASOATIVOS ATUANTES NA HEMODIÁLISE

Manuel Carlos Martins de Castro

◆

Uma das metas do tratamento hemodialítico é o adequado controle do volume de fluido do espaço extracelular. Desse modo, durante uma sessão de hemodiálise o objetivo deve ser atingir o peso seco do paciente. O peso seco é definido como aquele abaixo do qual o paciente, com albumina sérica normal, irá apresentar hipotensão arterial durante a retirada adicional de volume. Este conceito é fundamental, pois para a maioria dos pacientes em diálise o controle da pressão arterial pode ser obtido com a restrição dietética de sal e com a remoção do excesso de sal e água durante a diálise[1].

Nos últimos anos, a diálise de curta duração (3 a 4 horas/sessão, três vezes por semana) tem-se tornado o tratamento de escolha para a manutenção dos pacientes com insuficiência renal crônica[2,3]. Entretanto, um fator limitante para a redução do tempo de diálise tem sido a dificuldade para a remoção do excesso de água e sódio em intervalos de tempo relativamente curtos. Uma das razões desse fato é que durante a hemodiálise a ultrafiltração rápida é freqüentemente acompanhada de hipotensão arterial secundária a depleção do volume intravascular[4]. Por outro lado, ainda durante a hemodiálise, ocorrem variações da osmolaridade e do equilíbrio acidobásico e eletrolítico, que em conjunto estimulam respostas adaptativas para preservar a integridade metabólica e circulatória do paciente. No entanto, apesar dos mecanismos neuro-hormonais envolvidos, hipotensão sintomática ocorre em 30 a 50% de todas as sessões de hemodiálise clássica[5,6].

Durante a hemodiálise o reenchimento do volume plasmático, os vasos de capacitância venosa, a resistência vascular periférica e o coração sofrem adaptações com o objetivo de evitar a hipotensão arterial. O quadro 29.1 mostra variáveis que podem influenciar diretamente esses mecanismos de adaptação.

Quadro 29.1 – Variáveis potencialmente envolvidas no controle da pressão arterial durante a hemodiálise.

Sódio
Cálcio
Osmolaridade
Tampão acetato/bicarbonato
Sistema renina-angiotensina
Sistema nervoso simpático
Vasopressina
Endotelina
Peptídeo atrial natriurético
Óxido nítrico
Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina

Paralelamente à remoção de volume do compartimento intravascular ocorre translocação de fluido a partir do espaço intersticial, que será tanto mais intensa quanto maior o estado de hidratação do interstício[7]. Além do estado de hidratação do interstício, a velocidade de ultrafiltração e a concentração de sódio no dialisato podem modificar o ritmo de reenchimento plasmático, alterando a estabilidade hemodinâmica durante a hemodiálise[7,8]. Assim, por exemplo, o uso de solução de diálise com baixa concentração de sódio está associado à redução mais rápida do volume plasmático[8,9], que, por sua vez, se acompanha de reenchimento plasmático mais lento e de maior instabilidade cardiovascular. Por outro lado, o uso de solução de diálise com concentração elevada de sódio está associado com melhor estabilidade

hemodinâmica durante a hemodiálise. Esse efeito parece estar relacionado com a manutenção da osmolaridade sérica, que favorece o rápido reenchimento vascular[10,11,12].

Alguns estudos têm avaliado a importância dos vasos de capacitância venosa como mecanismo de defesa contra a hipovolemia induzida pela diálise. Nesse sentido, demonstrou-se que durante a hemodiálise com acetato, um poderoso vasodilatador[13,14,15], ocorre translocação do volume de sangue para os vasos de capacitância venosa, possivelmente como conseqüência da venodilatação[14,16,17]. Contrastando com esses achados observa-se que durante a hemodiálise com bicarbonato a estabilidade do sistema cardiovascular é maior, visto que, com esse tampão, não ocorre esse fenômeno de venodilatação[14]. Essa venoconstrição é ainda maior quando a ultrafiltração é realizada de forma isolada, ou seja, não associada à difusão. Nessas condições ela representa um mecanismo importante para garantir a estabilidade hemodinâmica[18].

Para manter a pressão arterial quando a resistência vascular periférica se reduz de 20%, deve ocorrer elevação no débito cardíaco da mesma intensidade. Obviamente, se o débito cardíaco não se elevar por causa do retorno venoso reduzido, a hipotensão arterial pode ocorrer. Desse modo, tanto a redução da resistência periférica quanto a redução do retorno venoso são fatores que contribuem para a hipotensão. Sem dúvida, a redução da resistência vascular periférica é causa importante de hipotensão em hemodiálise[19] e, conseqüentemente, uma elevação da resistência vascular como aquela documentada durante a ultrafiltração isolada e a hemofiltração[20,21,22] resultam em maior estabilidade da pressão arterial.

Diversos estudos comparando a estabilidade hemodinâmica entre a diálise com acetato e a ultrafiltração isolada ou a hemofiltração têm demonstrado que a redução da pressão arterial durante a hemodiálise com acetato é secundária à redução da resistência vascular periférica[20,21,23]. Por outro lado, ausência de vasodilatação ou mesmo discreta elevação da resistência vascular tem sido observada durante a hemodiálise com bicarbonato[22,24,25,26].

Em pacientes ou animais sem insuficiência renal a resposta cardíaca à hipotensão hipovolêmica contribui pouco para a regulação da pressão arterial. Entretanto, a hipovolemia induzida pela hemorragia é certamente diferente da hipovolemia induzida pela diálise. Durante a hemodiálise podem estar interagindo fatores que provocam redução da resistência vascular periférica de modo que, nessas condições, a pressão arterial pode depender da capacidade de aumentar o débito cardíaco, apesar da redução do retorno venoso.

Tem sido proposto que o aumento na concentração do cálcio sérico iônico durante a diálise poderia ter efeito inotrópico positivo sobre o coração, elevando o débito e a estabilidade hemodinâmica durante a diálise[27,28]. Esses estudos sugerem que variações na concentração sérica de cálcio podem atuar sobre a pressão arterial através de um efeito sobre o débito cardíaco. Entretanto, outros trabalhos sugerem que o cálcio pode elevar diretamente a resistência vascular periférica[29]. Portanto, o efeito pressor do cálcio pode ocorrer tanto através da melhora da contratilidade cardíaca quanto através da ação direta do íon sobre o músculo liso vascular. De qualquer maneira, independente do mecanismo intrínseco envolvido, pequena elevação na concentração de cálcio na solução de diálise tem sido associada não só à menor redução da pressão arterial durante a hemodiálise[30,31], mas também com elevação da pressão arterial após a diálise[28].

Para pacientes em diálise, apesar de funcionalmente anéfricos, o rim mantém sua capacidade de adaptar a produção de renina a diversos estímulos, principalmente em resposta à redução da volemia. Brow e cols[32] mostraram que após uma sessão de hemodiálise a variação da renina plasmática se correlacionava positivamente com a magnitude da perda de peso corpóreo. Por outro lado, Schalekamp e cols[33] verificaram que tanto para pacientes com normalização da pressão arterial após a contração de volume, quanto para aqueles sem normalização ocorria, em termos relativos, elevação na concentração da renina plasmática de aproximadamente 1,4 vez após uma sessão de hemodiálise acompanhada de ultrafiltração.

Estudamos 19 pacientes hipertensos, não anéfricos, submetidos a ultrafiltração isolada e observamos que uma redução no volume plasmático de $-25,7 \pm 1,3\%$ ($\bar{X} \pm$ EPM), avaliada pelo método do hematócrito[34], estava associada com elevação de $98,6 \pm 18,5\%$ na atividade da renina plasmática[35]. Por outro lado, Leenen e cols[36] verificaram que não só a hemodiálise com ultrafiltração induzia elevação de aproximadamente 30% na atividade da renina plasmática, mas também, contrariamente, quando os pacientes eram reexpandidos com solução salina ocorria redução de 40% na atividade da renina plasmática. Portanto, para indivíduos em diálise o rim mantém a capacidade de secretar renina em situações de contração volêmica e de inibir essa secreção em condições de expansão de volume.

Ora, se o aumento da atividade da renina plasmática está associado com elevação na concentração de angiotensina circulante e sabendo-se que a infusão de angiotensina II induz elevação da pressão arterial[33], é de se supor que esse sistema esteja agindo durante a hemodiálise para compensar a hipovolemia que se estabelece quando se procura atingir o peso seco do paciente.

Uma das maneiras para avaliar a participação do sistema nervoso simpático como sistema pressor durante a hemodiálise é através da variação na concentração plasmática de norepinefrina durante a diálise. Nesse sentido, os estudos têm demonstrado resultados variáveis. Enquanto em alguns ocorre elevação na concentração plasmática de norepinefrina[37-40], em outros essa concentração não se modificou[22,41,42,43] ou até se reduziu[44]. Sem dúvida, as diferenças no comportamento da norepinefrina durante a hemodiálise devem ser conseqüência de variações presentes no momento da coleta do sangue. Por outro lado, essas diferenças também podem ser conseqüência de variações no tipo de diálise e na metodologia utilizada para quantificar a norepinefrina.

A intensidade da remoção de volume através da ultrafiltração pode influenciar a concentração da norepinefrina plasmática. Quando a ultrafiltração é realizada isoladamente, a elevação da norepinefrina plasmática é maior que aquela observada após a hemodiálise com o mesmo grau de ultrafiltração[45,46]. Entretanto, em outro estudo, elevação da mesma intensidade na norepinefrina foi observada na ultrafiltração isolada e na ultrafiltração com diálise[47]. De qualquer maneira, somente em poucos estudos a ultrafiltração isolada não foi associada com elevação da norepinefrina plasmática[48].

Submetemos 20 pacientes a ultrafiltração isolada que resultou em redução no volume plasmático, avaliado pelo método do hematócrito seriado[31], de –25,6 ± 1,3% ($\bar{X}$ ± EPM), e observamos uma elevação na concentração plasmática de norepinefrina de 152,7 ± 22,7%, ocorrendo, inclusive, correlação direta e significante entre essas variáveis (Fig. 29.1)[35]. Este estudo ilustra a capacidade do paciente urêmico em responder com estimulação do sistema nervoso simpático diante de uma situação de contração de volume induzida pela ultrafiltração isolada.

Alguns autores têm postulado que durante a hemodiálise não ocorre elevação da norepinefrina plasmática em função de sua depuração através do dialisador[45,46,49]. Entretanto, esta afirmação é colocada em dúvida desde que durante a hemofiltração, uma forma de tratamento cujo comportamento hemodinâmico e da norepinefrina é semelhante ao da ultrafiltração isolada, a depuração da norepinefrina seja maior que aquela observada durante a hemodiálise[21,22], sugerindo que as diferenças no perfil da norepinefrina representam diferenças específicas do tratamento sobre a atividade simpática.

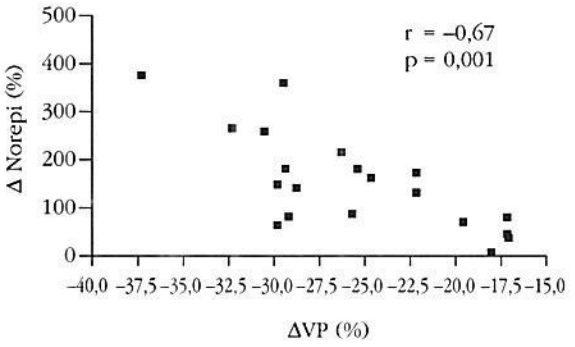


Figura 29.1 – Correlação entre a variação do volume plasmático (ΔVP) e da norepinefrina plasmática (Δ Norepi) pré e pós-ultrafiltração.

Na última década o desenvolvimento de técnicas para o registro direto da atividade nervosa simpática para o músculo tem-se constituído em metodologia adicional para o estudo da importância do sistema nervoso simpático na insuficiência renal crônica e na hemodiálise. Embora a atividade simpática para o músculo se correlacione com o nível plasmático de norepinefrina[50,51,52], cada uma dessas técnicas reflete um aspecto diferente do sistema simpático. A atividade nervosa simpática muscular reflete a descarga simpática central para a região em estudo, enquanto o nível de norepinefrina plasmática é o somatório da descarga simpática central para as várias regiões e dos mecanismos periféricos de liberação e captação de norepinefrina na terminação nervosa[53].

Recentemente Converse e cols[54] aplicaram a técnica da microneurografia em pacientes propensos e resistentes a hipotensão durante a hemodiálise. Esses autores observaram que a norepinefrina plasmática não se modificava significativamente após uma sessão de hemodiálise com bicarbonato acompanhada de ultrafiltração. Apesar disso, no grupo resistente à hipotensão, a resistência vascular aumentava progressivamente com a remoção de volume, sendo essa elevação acompanhada por aumento na atividade nervosa simpática muscular. Por outro lado, no grupo de pacientes propensos à hipotensão, o comportamento era semelhante até um determinado ponto, a partir do qual ocorria repentina redução na atividade nervosa simpática muscular. Portanto, é possível supor que o aumento na atividade nervosa simpática seja um mecanismo vasopressor

importante na estabilidade hemodinâmica da hemodiálise. Além disso, a suspensão abrupta dessa vasoconstrição parece ser uma causa importante de hipotensão durante a hemodiálise.

Outro sistema potencialmente envolvido na hemodinâmica da hemodiálise é o da vasopressina que, além de um potente vasoconstritor[55], potencializa o efeito vasopressor da angiotensina e da estimulação do sistema nervoso simpático, os quais estão diretamente envolvidos na hemodinâmica da hemodiálise[56]. Esses três sistemas parecem estar integrados de maneira uniforme para garantir a estabilidade da pressão arterial[57,58,59]. Desse modo, a vasopressina está envolvida na regulação do volume de sangue e da pressão arterial não só através de sua ação direta, mas também através de sua interação com o sistema nervoso simpático e com o sistema renina-angiotensina.

Os maiores determinantes para a síntese e a secreção de vasopressina são as variações da osmolaridade plasmática[60], do volume sangüíneo[60,61] e da pressão arterial[62,63]. Visto que, para pacientes com insuficiência renal crônica, esses três fatores estão geralmente alterados, é possível admitir que, nesses pacientes, a concentração de vasopressina represente a resultante dessas forças.

A maioria dos estudos tem revelado que a vasopressina plasmática está elevada nos pacientes em hemodiálise[64-67], não variando significativamente durante o procedimento[64,66,68]. Entretanto, esses resultados não são uniformes, pois tem sido observado redução da vasopressina plasmática após a hemodiálise, independente da realização ou não de concomitante ultrafiltração[69]. Também nos estudos onde a vasopressina foi avaliada após a realização de ultrafiltração isolada os resultados são contraditórios. Em alguns desses estudos a concentração da vasopressina não se modificou[65,69], enquanto em outros ela se elevou[70]. Provavelmente esses resultados representam diferenças na intensidade da contração volêmica.

Apesar desses conhecimentos, a real importância da vasopressina na hemodinâmica da hemodiálise não é conhecida em detalhes. Entretanto, do ponto de vista clínico, Lindberg e cols[67] verificaram que, para pacientes hipotensos em diálise, a administração exógena intranasal de vasopressina reduzia significativamente o número de episódios de hipotensão arterial durante a hemodiálise. Portanto, esta é uma evidência da participação desse sistema na hemodiálise.

Outro sistema vasoconstritor possivelmente envolvido na hemodinâmica da hemodiálise é representado pela endotelina, um peptídeo produzido pelas células do endotélio vascular[71]. Diversos estudos têm demonstrado que a concentração plasmática da endotelina está aumentada em pacientes em hemodiálise[72,73,74]. Por outro lado, o comportamento da endotelina durante a diálise ainda não é bem conhecido. Em dois estudos a concentração não variou após a hemodiálise[75,76] e em outro ela diminuiu[72]. Também não se observou qualquer variação na concentração plasmática da endotelina após a ultrafiltração isolada[77]. Entretanto, recentemente foi demonstrado que as variações na concentração plasmática de endotelina durante a hemodiálise dependem do tipo de membrana utilizada. Assim, o uso de membranas de alto fluxo como poliacrilonitrila, triacetato de celulose ou polimetilmetacrilato associa-se com a redução da endotelina plasmática, enquanto a concentração não se modifica com o uso de membranas de celulose[77].

Ainda, procurando estudar a importância da endotelina na hemodinâmica da hemodiálise, Totsune e cols[74] verificaram que, embora não existisse correlação entre a concentração plasmática de endotelina e a pressão arterial pré e pós-diálise, existia correlação positiva entre a variação da concentração da endotelina plasmática e a variação da pressão arterial durante a hemodiálise. Desse modo, este estudo demonstrou que a concentração plasmática de endotelina diminuía nos pacientes com redução da pressão arterial e aumentava naqueles com elevação da pressão arterial durante a hemodiálise. Conseqüentemente, é possível supor que a endotelina esteja envolvida na hemodinâmica da hemodiálise.

Um sistema com ação vasodilatadora possivelmente envolvido na hemodiálise é representado pelo peptídeo atrial natriurético. A ação vasodilatadora desse peptídeo foi demonstrada em artérias e arteríolas isoladas a partir de diversos leitos vasculares[78,79,80]. Também, *in vivo*, a infusão do peptídeo atrial natriurético produz uma redução dose-dependente da pressão arterial tanto no cão[81] quanto no homem[82,83].

Diversos estudos têm demonstrado uma elevação na concentração plasmática do peptídeo atrial natriurético em pacientes com insuficiência renal crônica pré-hemodiálise[77,84,85], podendo ser secundária à hiper-hidratação freqüentemente observada nesses pacientes. Por outro lado, os estudos revelam que tanto durante a hemodiálise com ultrafiltração[77,84,85] como durante a ultrafiltração isolada[77,86] ocorre redução nos níveis do peptídeo atrial natriurético. Essa redução é diretamente proporcional à intensidade da contração volêmica[84], mas mesmo ao final da redução volê-

mica a concentração plasmática desse peptídeo ainda é maior que aquela observada em indivíduos normais[84,85].

Recentemente, Viron e cols[85] observaram que, quando os pacientes em hemodiálise são separados de acordo com a ocorrência ou não de hipotensão durante o tratamento, o nível do peptídeo atrial natriurético mais elevado está associado com a redução mais intensa da pressão arterial durante a hemodiálise, e com uma pressão sistólica mais baixa ao final da diálise. Esses dados confirmaram observações anteriores[87] e sugerem a eventual importância do peptídeo atrial natriurético, via efeito vasodilatador, na redução da pressão arterial durante a hemodiálise.

Outro sistema possivelmente envolvido na hemodinâmica da hemodiálise é representado pelo óxido nítrico. Esse agente vasoativo é produzido principalmente nas células do endotélio vascular[88] e possui potente efeito vasodilatador[89]. Tem sido proposto que a hipotensão associada à hemodiálise pode envolver a participação do fator alfa de necrose tumoral e da interleucina-1[90]. Por outro lado, a uremia e a hemodiálise estão associadas com a elevação nos níveis circulantes do fator de necrose tumoral e da interleucina-1[91,92], os quais, estimulando a síntese do óxido nítrico, poderiam contribuir para a gênese da hipotensão durante a diálise[92,93]. Nessa linha de raciocínio durante a hemodiálise, os monócitos aderem à membrana de diálise[94] provocando a produção de interleucina-1 e do fator de necrose tumoral. Também, o dialisato contendo acetato[95] e as membranas bioincompatíveis[96] podem estimular a produção de interleucina-1. Conseqüentemente, não só os níveis de interleucina-1 e do fator de necrose tumoral estão elevados no paciente submetido a hemodiálise, mas também a produção dessas substâncias aumenta durante uma sessão de hemodiálise[91].

Recentemente, Yokokawa e cols[97] publicaram o primeiro trabalho onde a produção de óxido nítrico foi diretamente avaliada durante a hemodiálise. Nesse estudo, os autores observaram que o óxido nítrico aumentava acentuadamente durante os episódios de hipotensão induzidos pela diálise, ocorrendo inclusive correlação direta entre a produção de óxido nítrico e a variação da pressão arterial após a hemodiálise. Estas observações sugerem que um aumento na síntese de óxido nítrico pode contribuir para a hipotensão induzida pela diálise.

Finalmente, outro sistema com características vasodilatadoras, representado pelo peptídeo relacionado ao gene da calcitonina[98], foi descrito em pacientes com insuficiência renal crônica em tratamento dialítico. Esse peptídeo é um vasodilatador potente, continuamente liberado pelos nervos cardíacos e perivasculares[99], que, quando infundido em indivíduos normais, reduz a pressão arterial e eleva a freqüência cardíaca[100].

Para pacientes em hemodiálise a concentração plasmática pré-diálise do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina mostra resultados conflitantes. Em um estudo ela estava elevada[77], enquanto em outro era normal[101]. Também durante a hemodiálise o comportamento da concentração plasmática do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina mostra resultados confusos. Em um estudo, a concentração do peptídeo elevou-se durante a ultrafiltração e hemodiálise seqüencial[101], levando os autores a sugerir que o aumento do nível plasmático desse peptídeo poderia ser um fator importante na hipotensão induzida pela diálise[101,101]. Por outro lado, foi sugerido que, durante a hemodiálise, o comportamento do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina depende do tipo de membrana utilizado[77]. Provavelmente, em função das diversas variáveis envolvidas, nenhuma correlação significante foi observada entre a variação do nível plasmático do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina e a variação da pressão arterial pré ou pós-hemodiálise[77]. Portanto, essas observações sugerem que a eventual importância desse sistema na hemodinâmica da hemodiálise aguarda novos estudos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. VERTES V, CANGIANO JL, BERMAN LB, GOULD A: Hypertension in end-stage renal disease. *N Engl J Med* 280:970-981, 1969.
2. CAMBI V, SAVAZZI G, ARISI L, BIGNARDI L, BRUSCHI G, ROSSI E, MIGONE L: Short dialysis schedule finally ready to become a routine? *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 11:112-119, 1974.
3. CASTRO MCM: Prescrição em hemodiálise, em *Atualidades em Nefrologia 3*, editado por Cruz J, Barros RT, Sesso RCC, David Neto E, Suassuna JHR, Heilberg IP, Gouvea Filho WL. Sarvier, São Paulo, 1994, pp 146-154.
4. KIM KE, ONESTI G, SCHWARTZ AB, CHINITZ JL, SWARTZ CD: Hemodynamics of hypertension in chronic end-stage renal disease. *Circulation* 46:456-464, 1972.
5. AZANCOT I, DE GOULET P, JUILLET Y, ROTTEMBOURG J, LE GRAINS M: Hemodynamic evaluation of hypotension during chronic hemodialysis. *Clin Nephrol* 8:312-316, 1977.
6. RUBIN LJ, GUTMAN RA: Hypotension during haemodialysis. *Kidney Int* 11:21-24, 1978.
7. STILLER S, THOMMES A, KONIGS F, SCHALLENBERG V, MANN H: Characteristic profiles of circulating blood volume during dialysis therapy. *Trans Am Soc Artif Organs* 35:530-532, 1989.
8. KIMURA G, VAN STONE JC: Model prediction of plasma volume changes induced by hemodialysis. *J Lab Clin Med* 104:932-938, 1984.

9. DAUGIRDAS JT, PURANIDARE VV, ING TS, CHEN WT, POPLI S, HANO JE, KLOK MA: Ultrafiltration hemodynamics in an animal model. Effect of a decreasing plasma sodium level. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 30:603-609, 1984.
10. WEHLE B, ASABA H, CASTENFORS J, FÜRST P, GRAHN A, GUNNARSSON B, SHALDON S, BERGSTRÖM J: The influence of dialysis fluid composition on the blood pressure response during dialysis. *Clin Nephron* 10:62-66, 1978.
11. AGUILERA D, DIAB N, FAIVRE JM: Influence of sodium dialysate variation on hemodynamic stability. *Kidney Int* 34(Suppl 25): S187-S189, 1988.
12. KRÄMER BK, RESS KM, ULSHÖFER TM, RISLER T: Hemodynamic and hormonal effects of low or high sodium hemodialysis. *Kidney Int* 34(Suppl 25):S192-S195, 1988.
13. CHAIGNON M, CHEN WT, TARAZI RC, BRAVO EL, NAKAMOTO S: Effect of hemodialysis on blood volume distribution and cardiac output. *Hypertension* 3:327-332, 1981.
14. LEENEN FH, BUDA AJ, SMITH DL, FARREL S, LEVINE DZ, ULDALL PR: Hemodynamic changes during acetate and bicarbonate hemodialysis. *Artif Organs* 8:411-417, 1984.
15. DAUGIRDAS JT, NAWAB ZM: Acetate relaxation of isolated vascular smooth muscle. *Kidney Int* 32:39-46, 1987.
16. CHEN WT, CHAIGNON M, OMVIK P, TARAZI RC, BRAVO EL, NAKAMOTO S: Hemodynamics studies in chronic hemodialysis patients with hemofiltration/ultrafiltration. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 24:682-686, 1978.
17. BRADLEY RJ, EVANS DB, GORE SM, COWLEY AJ: Is dialysis hypotension caused by an abnormality of venous tone? *Br Med J* 296:1634-1637, 1988.
18. KOOMAN JP, GLADZIWA U, BÖCKER G, VAN BORTEL LMAB, VAN HOOFF JP, LEUNISSEN KML: Role of the venous system in hemodynamics during ultrafiltration and bicarbonate dialysis. *Kidney Int* 42:718-726, 1992.
19. CHAIGNON M, CHEN WT, TARAZI RC, NAKAMOTO S, BRAVO E: Blood pressure response to hemodialysis. *Hypertension* 3:333-339, 1981.
20. WEHLE B, ASABA H, CASTENFORS J, FÜRST P, GUNNARSSON B, SHALDON S, BERGSTRÖM J: Hemodynamic changes during sequential ultrafiltration and dialysis. *Kidney Int* 15:411-418, 1979.
21. BALDAMUS CA, ERNST W, LYSAGHT MJ, SHALDON S, KOCH KM, PIERIDES A, STREICHER E: Hemodynamics in hemofiltration. *Int J Artif Organs* 6:27-31, 1983.
22. BALDAMUS CA, ERNST W, FREI U, KOCH KM: Sympatheticand hemodynamic response to volume removal during different forms of renal replacement therapy. *Nephron* 31:324-332, 1982.
23. HAMPL H, KLOPP H, WOLFGRUBER M, PUSTELNIK A, SCHILLER R, HANEFELD F, KESSEL M: Advantages of bicarbonate hemodialysis. *Int J Artif Organs* 6:410-414, 1982.
24. VAGGE R, CAVATORTA F, QUEIROLO C, ROSSELLI P, GENTILE A, BERTULLA A: Hemodynamic changes during acetate dialysis, bicarbonate dialysis and hemofiltration. *Biochem Pharmacol* 6:43-50, 1988.
25. LIOMIN E, SCHNEIDER H, STREICHER E: Hemodynamics during hemodialysis, hemofiltration and hemodiafiltration using bicarbonate vs acetate buffers. *Klin Wochenschr* 62:911-919, 1984.
26. SPANGANO M, SANTORO A, FERARI G, BADIALI F, ROSSI M, PARRINO A, LAMBERTI C, SARTI E, ZUCCHELI P: Continuous computerized monitoring of hemodynamic parametes during acetate dialysis, bicarbonate dialysis, and acetate-free biofiltration. *Artif Organs* 12:476-481, 1988.
27. HENRICH WL, HUNT JM, NIXON JV: Increased ionized calcium and left ventricular contractility during hemodialysis. *N Engl J Med* 310:19-23, 1984.
28. FELLNER SK, LANG RM, NEUMANN A, SPENCER KT, BUSHINSKY DA, BOROW KM: Physiological mechanisms for calcium-induced changes in systemic arterial pressure in stable dialysis patients. *Hypertension* 13:213-218, 1989.
29. MARONE C, BERETTA-PICCOLI C, WEIDMANN P: Acute hypercalcemic hypertension in man: Role of hemodynamics, catecholamines, and renin. *Kidney Int* 20:92-96, 1980.
30. SHERMAN RA, BIALLY GB, GAZINSKI B, BERNHOLC AS, EISINGER RP: The effect of dialysate calcium levels on blood pressure during hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 8:244-247, 1986.
31. MAYNARD J, CRUZ C, MEISTER J, ZASUWA G, VALADE D, LEVIN NW, KLEEREKOPER M: Blood pressure response to changes in serum calcium during hemodialysis. (abstract) *Kidney Int* 23:156, 1983.
32. BROW JJ, CURTIS JR, LEVER AF, ROBERTSON JIS, DE WARDENER HE, WING AJ: Plasma renin concentration and the control of blood pressure in patients on maintenance haemodialysis. *Nephron* 6:329-349, 1969.
33. SCHALEKAMP MADH, SCHALEKAMP-KUYKEN MPA, DE MOOR-FRUYTIER M, MEININGER T, VAANDRAGER-KRANENBURG DJ, BIRKENHÄGER WH: Interrelationships between blood pressure, renin, renin substrate and blood volume in terminal renal failure. *Clin Sci Mol Med* 45:417-428, 1973.
34. VAN BEAUMONT W: Evaluation of hemoconcentration from hematocrit measurements. *J Appl Physiol* 32:712-713, 1972.
35. CASTRO MCM: Sistemas pressores na hemodinâmica da ultrafiltração em pacientes com insuficiência renal crônica e hipertensão arterial. *Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina*, 1995.
36. LEENEN FHH, GALLA SJ, GEYSKES GG, MURDAUGH Jr HV, SHAPIRO AP: Effects of hemodialysis and saline loading on body fluid compartments, plasma renin activity and blood pressure in patients on chronic hemodialysis. *Nephron* 18:93-100, 1977.
37. TEXTOR SC, GAVRAS H, TIFFT CP, BERNARD DB, IDELSON B, BRUNNER HR: Norepinephrine and renin activity in chronic renal failure. Evidence for interacting roles in hemodialysis hypertension. *Hypertension* 3:294-299, 1981.
38. IZZO Jr JR, IZZO MS, STERNS RH, FREEMAN RB: Sympathetic nervous system hyperactivity in maintenance hemodialysis patients. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 28:604-607, 1982.
39. RATGE D, AUGUSTIN R, WISSER H: Catecholamines, renin, aldosterone and arterial pressure in patients on chronic hemodialysis treatment. *Int J Artif Organs* 6:255-260, 1983.
40. CORDER CN, SHARMA J, MCDONALD Jr RH: Variable levels of plasma catecholamines and dopamine beta-hydroxylase in hemodialysis patients. *Nephron* 25:267-272, 1980.
41. NAIK RB, MATHIAS CJ, REID JL, WARREN DJ: Effect of haemodialysis on the control of the circulation in patients with chronic renal failure. *Am J Nephrol* 5:96-102, 1984.
42. ELIAS AN, VAZIRI ND, MASKY M: Plasma norepinephrine, epinephrine and dopamine levels in end-stage renal disease. *Arch Intern Med* 145:1013-1015, 1985.
43. KSIAZE A, SOLSKI J: Effect of dialysate sodium on the dopamine, adrenaline and noradrenaline concentration in haemodialysis patients. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 21:225-229, 1984.
44. FREWIN DB, BARTHOLOMEUSZ FDL, CUMMINGS MF, CLARKSON AR, BARRY LA, FURBER B, DE LORENZO C, JONSSON JR, TAYLOR WB: Changes in plasma catecholamine levels during hemodialysis. *Aust N Z J Med* 14:31-34, 1984.

45. ZUCCHELLI P, CATIZONE L, ESPOSTI ED, FUSAROLI M, LIGABUE A, ZUCCALÁ A: Influence of ultrafiltration on plasma renin activity and adrenergic system. *Nephron* 21:317-324, 1978.
46. BALDAMUS CA, ERNST W, FARSBINDER W, KOCH KM: Differing haemodynamic stability due to differing sympathetic response: comparison of ultrafiltration, haemodialysis and haemofiltration. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 17:205-210, 1980.
47. HENRICH WL, WOODARD TD, BLACHLEY JD, GOMEZ-SANCHEZ C, PETTINGER W, CRONIN RE: Role of osmolality in blood pressure stability after dialysis and ultrafiltration. *Kidney Int* 18:480-488, 1980.
48. D'AMORE TF, WAITERS JP, WAEBER B, BRUNNER HR: Salt subtraction in patients on maintenance hemodialysis. Efficacy and limitations. *Am J Nephrol* 5:275-281, 1985.
49. CANNELLA G, PICOTTI GB, MIONI G, CRISTINELLI L, MAIORCA R: Blood pressure behavior during dialysis and ultrafiltration. A pathogenic hypothesis on hemodialysis – induced hypotension. *Int J Artif Organs* 1:69-74, 1978.
50. WALLIN BG, SUNDLOF G, ERIKSSON BM, DOMINIAK P, GROBECKER H, LINDBALD LE: Plasma noradrenaline correlates to sympathetic muscle nerve activity in normotensive man. *Acta Physiol Scand* 111:69-73, 1981.
51. SEALS DR, VICTOR RG, MARK AL: Plasma norepinephrine and muscle sympathetic discharge rhythmic exercise in humans. *J Appl Physiol* 65:602-621, 1988.
52. WALLIN BG, MORLIN C, HJEMDAHL P: Muscle sympathetic activity and venous plasma noradrenaline concentration during static exercise in normotensive and hypertensive subjects. *Acta Physiol Scand* 129:489-497, 1987.
53. GOLDSTEIN DS, MCCARTY R, POLINSKY RJ, KOPIN IJ: Relationship between plasma norepinephrine and sympathetic neural activity. *Hypertension* 5:552-559, 1983.
54. CONVERSE RL, JACOBSEN TN, JOST CMT, TOTO RD, GRAYBURN PA, OBREGON TM, FOUAD-TARAZI F, VICTOR RG: Paradoxical withdrawal of reflex vasoconstriction as a cause of hemodialysis – induced hypotension. *J Clin Invest* 90:1657-1665, 1992.
55. ALTURA B, ALTURA B: Vascular smooth muscle and neurohypophyseal hormones. *Fed Proc* 36:1853-1860, 1977.
56. BARTELSTONE HS, NASMYTH PA: Vasopressin potentiation of catecholamines action in dog, rat, cat, and rat aortic strip. *Am J Physiol* 208:754-759, 1965.
57. PALLER MS, LINAS SL: Role of angiotensin II, α-adrenergic system and arginine vasopressin on arterial pressure in rat. *Am J Physiol* 246:H25-H30, 1984.
58. ISHIKAWA S, GOLDBERG JP, SCHRIER DM, AISENBREY GA, SCHRIER RW: Interrelationship between subpressor effects of vasopressin and other vasoactive hormones in the rat. *Miner Eletrol Metab* 10:184-189, 1984.
59. JOHNSTON CI: Vasopressin in circulatory control and hypertension. *J Hypertension* 3:557-569, 1985.
60. DUNN FL, BRENNAN TJ, NELSON AE, ROBERTSON GL: The role of blood osmolality and volume in regulation vasopressin secretion in the rats. *J Clin Invest* 52:3212-3219, 1973.
61. CLAYBAUGH JR, SHARE L: Vasopressin, renin, and cardiovascular responses to continuous slow hemorrhage. *Am J Physiol* 224:519-523, 1973.
62. SHIMAMOTO K, MIYAHARA M: Effect of norepinephrine infusion on plasma vasopressin levels in normal human subject. *J Clin Endocrinol Metab* 43:201-204, 1976.
63. BERL T, CADNAPAPHORNCHAL P, HARBOTTE JA, SCHRIER RW: Mechanism of suppression of vasopressin release during alpha-adrenergic stimulation with norepinephrine. *J Clin Invest* 53:219-227, 1974.
64. SHIMAMOTO K, WATERAI I, MIYAHARA M: A study of plasma vasopressin in patients undergoing chronic hemodialysis. *J Clin Endocrinol Metab* 45:714-720, 1977.
65. SHIMAMOTO K, ANDO T, NAKAO T, WATARAI I, MUYHARA M: Permeability of antidiuretic hormone and other hormones through the dialysis membrane in patients undergoing chronic hemodialysis. *J Clin Endocrinol Metab* 45:818-820, 1977.
66. ROSANSKY SJ, RHINEHART R, SHADE R: Effect of osmolar changes on plasma argenine vasopressin (PAVP) in dialysis patients. *Clin Nephrol* 35:158-164, 1991.
67. LINDBERG JS, COPLEY JB, MELTON K, WADE CE, ABRAMS J, GOODE D: Lysine vasopressin in the treatment of refractory hemodialysis induced hypotension. *Am J Nephrol* 10:269-275, 1990.
68. HEINTZ B, REINERS K, GLADZIWA U, KIRSTEN R, NELSON K, WIELAND D, RIEHL J, MANN H, SIEBERTH HG: Response of vasoactive substances to reduction of blood volume during hemodialysis in hypotensive patients. *Clin Nephrol* 39:198-204, 1993.
69. JAWADI MH, HO LS, DIPETTE D, ROSS DL: Regulation of plasma arginine vasopressin in patients with chronic renal failure maintained on hemodialysis. *Am J Nephrol* 6:175-181, 1986.
70. ZOCCALI C, MALLAMACI F, CICCARELLI M, PARLONGO S, SALNITRO F, CURATOLA A: The reflex control of vasopressin in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 6:631-636, 1991.
71. YANAGISAWA M, KURIHARA H, KIMURA S, TOMOBE Y, KOBAYASHI M, MITSUI Y, YASAKI Y, GOTO K, MASAKI T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332:411-415, 1988.
72. KOYAMA H, TABATA T, NISHIZAWA Y, INOUE T, MORRI H, YAMAJI T: Plasma endothelin levels in patients with uraemia. *Lancet* 1:991-992, 1989.
73. SHICHIRI M, HIRATA Y, ANDO K, EMORI T, OHTA K, KIMOTO S, OGURA M, INOUE A, MARUMO F: Plasma endothelin levels in hypertension and chronic renal failure. *Hypertension* 15:493-496, 1990.
74. TOTSUNE K, TAKAHASHI K, SONE M, MURAKAMI O, YOSHINAGA K, MOURI T: Immunoreactive endothelin in uraemia: relationship with blood pressure. *Nephrol Dial Transplant* 7:176-177, 1992.
75. TOTSUNE K, MOURI T, TAKAHASHI K, OHNEDA M, SONE M, SAITO T, YOSHINAGA K: Detection of immunoreactive endothelin in plasma of hemodialysis patients. *FEBS Lett* 249:239-242, 1989.
76. WARRENS AN, CASSIDY MJD, TAKAHASHI K, GHATEI MA, BLOOM SR: Endothelin in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 5:418-422, 1990.
77. NIWA T, FUJISHIRO T, VEMA K, TSUZUKI T, TOMINAGA Y, EMOTO Y, MIYAZAKI T, MAEDA K: Effect of hemodialysis on plasma levels of vasoactive peptides: endothelium, calcitonin gene-related peptide and human atrial natriuretic peptide. *Nephron* 64:552-559, 1993.
78. CURRIE MG, GELLER DM, COLE BR, BOYLAN JC, YUSHENG W, HOLENBERG SW, NEEDLEMAN P: Bioactive cardial substances: Potent vasorelaxant activity in mammalian atria. *Science* 221:71-73, 1983.
79. KLEINERT HD, MAACK T, ATLAS SA, JANURZEWICZ A, SEALEY JE, LARAGH JH: Atrial natriuretic factor inhibits angiotensin-norepinephrine, and potassium induced vascular contractility. *Hypertension* 6(Suppl 1):I143-I147, 1984.
80. WINQUIST RJ, FAISON EP, WALDMAN SA, SCHWARTZ K, MURAD F, RAPOPORT RM: Atrial natriuretic factor elicits an endothelium independent relaxation and activates particulate guanylate cyclase in vascular smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:7661-7664, 1984.
81. MAACK T, MARION DN, CAMARGO MJF, KLEINERT HD, LARAGH JH, VAUGHAN Jr ED, ATLAS SA: Effect of auriculin (atrial natriuretic factor) on blood pressure, renal function and the renin-aldosterone system in dogs. *Am J Med* 77:1069-1075, 1984.

82. BUSSIEN JP, BIOLLAZ J, WAEBER B, NUSSBERGER J, TURINI GA, BRUNNER HR, BRUNNER-FERBER F, GOMEZ HJ, OTTERBEIN ES: Dose-dependent effect of atrial natriuretic peptide on blood pressure, heart rate, and skin blood flow of normal volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol* 8:216-220, 1986.
83. RICHARDS AM, IKRAM H, YANDLE TG, NICHOLS MG, WEBSTER MWI, ESPINER EA: Renal, hemodynamic, and hormonal effects of human atrial natriuretic peptide in healthy volunteers. *Lancet* 1:545-549, 1985.
84. DERAY G, MAISTRE G, BESSET JY, COCOUB P, CARAYON A, ANOUAR M, BAUMELOU A, LEGRAND JC, ANCRI D, JACOBS C: Plasma levels of atrial natriuretic peptide in chronically dialyzed patients. *Kidney Int* 34 (Suppl 25):S86-S88, 1988.
85. VIRON N, DUSSAULE JC, ROGER V, WOLF JP, ARDAILLOU R, MIGNON F: Plasma atrial natriuretic factor and blood pressure drops during hemodialysis. *Nephron* 68:301-307, 1994.
86. TONOLO G, MCMILLAN M, RICHARDS AM, MONTORSI P, POLONIA J, SORO A, TROFFA C, GLORIOSO N: Changes in plasma atrial natriuretic factor during sequential fluid removal and biochemical correction in end-stage chronic renal failure patients. *Nephron* 55:58-62, 1990.
87. MORISSEY EC, WILNER KD, BARAGER RR, WARD DM, ZIEGLER MG: Atrial natriuretic factor in renal failure and posthemodialytic postural hypotension. *Am J Kidney Dis* 12:510-515, 1988.
88. LAMAS S, MARSDEN PA, LI GK, TEMPST P, MICHEL T: Endothelial nitric oxide synthase: Molecular cloning and characterization of a distint constitutive enzyme isoform. *Proc. Natl Acad Sci USA* 89:6348-6352, 1992.
89. REES DD, PALMER RMJ, MONCADA S: Role of endothelium – derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:3375-3378, 1989.
90. SHALDON S, DESCHODT G, BRANGER B, GRANOLLERAS C, BALDAMUS CA, KOCH KM, LYSAGHT MJ, DINARELLO CA: Haemodialysis hypotension: the interleukin hypothesis restated. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 22:229-243, 1985.
91. HERBELIN A, NGUYEN AT, ZINGRAFF J, UREÑA P, DESCAMPS-LATSCHA B: Influence of uremia and hemodialysis on circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor α. *Kidney Int* 37:116-125, 1990.
92. NORIS M, BENIGNI A, BOCCARDO P, AIELLO S, GASPARI F, TODESCHINI M, FIGLIUZZI M, REMUZZI G: Enhanced nitric oxide synthasis in uremia: Implications for platelet dysfunction and dialysis hypotension. *Kidney Int* 44:445-450, 1993.
93. BEASLEY D, BRENNER BM: Role of nitric oxide in hemodialysis hypotension. *Kidney Int* 42(Suppl 38):S96-S100, 1992.
94. DODD NJ, PARSON V, WESTON MJ: Leukocyte occlusion of cuprophan membranes as a cause of reduced hemodialysis efficiency. *Intern J Artif Organs* 5:272-276, 1982.
95. BINGEL N, LONNEMANN G, KOCH KM, DINARELLO CA, SHALDON S: Enhancement of in-vitro human interleukin-1 production by sodium acetate. *Lancet* 1:14-16, 1987.
96. CHENOWETH DE, CHEUNG AK, HENDERSON LW: Anaphylotoxin formation during hemodialysis. Effects of different dialyser membranes. *Kidney Int* 24:764-769, 1983.
97. YOKOKAWA K, MANKUS R, SAKLAYEN MG, KOHNO M, YASUNARI K, MINAMI M, KANO H, HORIO T, TAKEDA T, MANDEL AK: Increased nitric oxide production in patients with hypotension during hemodialysis. *Ann Intern Med* 123:35-37, 1995.
98. MORRIS HR, PANICO M, ETIENNE T, TIPPINS J, GIRGIS SI, MACINTYRE I: Isolation and characterization of human calcitonin gene-related peptide. *Nature* 308:746-748, 1984.
99. ZAIDI M, BREIMER LH, MACINTYRE I: Biology of peptides from the calcitonin genes. *Q J Exp Physiol* 72:371-408, 1987.
100. GENNARI C, FISCHER JA: Cardiovascular action of calcitonin gene-related peptide in humans. *Calcif Tissue Int* 37:581-584, 1985.
101. ODAR-CEDERLÖF I, THEODORSSON E, ERIKSSON CG, KJELLSTRAND CM: Plasma concentrations of calcitonin gene-related peptide increase during haemodialysis: Relation to blood pressure. *J Intern Med* 226:177-182, 1989.
102. ODAR-CEDERLÖF I, KJELLSTRAND CM, THEODORSSON E: Is calcitonin gene-related peptide (CGRP) a regulator of blood pressure in hemodialysis patients? *Int J Artif Organs* 13:134-137, 1990.

30

RESPOSTA IMUNOLÓGICA NA UREMIA

Myrthes Toledo Barros
João Egidio Romão Júnior

INTRODUÇÃO

A associação entre uma grande variedade de distúrbios imunológicos e a insuficiência renal terminal (IRT) permitiu que se estabelecesse um elo entre o estado urêmico e a presença de imunodepressão. Assim a denominada "imunodeficiência da uremia" pode ser caracterizada por vários aspectos: sobrevida prolongada a enxertos cutâneos; suscetibilidade aumentada a micobactérias e outros patógenos intracelulares como *Legionella pneumophilia* e *Listeria monocytogenes*; anergia cutânea detectada por testes intradérmicos de resposta tardia; prevalência aumentada de neoplasias; remissão espontânea de doenças autoimunes; maior suscetibilidade a infecções bacterianas, principalmente a *Staphylococcus* e *Escherichia coli*; supressão da resposta à vacinação contra agentes virais, incluindo influenza e hepatite[1-3].

Anteriormente ao advento dos métodos dialíticos, os processos infecciosos constituíam complicações terminais ou pré-terminais freqüentes em pacientes com IRT. Entretanto, mesmo com os avanços terapêuticos, as infecções bacterianas constituem ainda hoje a principal causa de morbidade e mortalidade em pacientes dialisados[2-5]. Embora o risco aumentado de infecções seja devido parcialmente à necessidade de um acesso venoso, existem outros fatores que freqüentemente ocorrem em pacientes urêmicos e que podem estar envolvidos, tais como: 1. desnutrição[6-8]; 2. sobrecarga de ferro[7]; 3. deficiência de zinco[7]; 4. transfusões sangüíneas[8,10]; 5. distúrbios imunológicos que não são corrigidos ou até mesmo podem ser acentuados pelo tratamento dialítico[2-5].

Numerosos trabalhos na literatura mundial têm caracterizado uma grande variedade de distúrbios imunológicos que acompanham o estado urêmico. Estas alterações, que serão analisadas neste capítulo, abrangem praticamente todos os compartimentos do sistema imunológico, incluindo a imunidade humoral, os linfócitos T, a produção de citocinas e a atividade fagocitária de neutrófilos, monócitos e macrófagos.

IMUNIDADE HUMORAL

Em relação à imunidade humoral, tem sido amplamente investigada a presença de alterações numéricas ou de ativação de linfócitos B, assim como de defeitos da síntese de anticorpos e sua possível contribuição para a imunodeficiência observada em pacientes com IRT.

Geralmente, os níveis de IgG, IgA e IgM, com a possível exceção de IgE[5], têm sido descritos como normais[2,3,10] em pacientes urêmicos sob tratamento hemodialítico e com estado nutricional adequado. A alta prevalência de anticorpos IgE antióxido de etileno utilizado para a esterilização do equipamento de diálise[12] é sugestiva de que possa ocorrer sensibilização anormal destes pacientes, embora este achado varie muito entre os centros de diálise. Também tem sido relatada com freqüência a presença de auto-anticorpos, tais como anticorpos antinucleares, atribuídos à exposição repetida a materiais nucleares capturados pelas membranas dialisadoras, embora eles também possam ser detectados durante a diálise peritoneal contínua[1-3].

Estudos recentes demonstraram que pacientes urêmicos, dialisados ou não, apresentam níveis séricos elevados da forma solúvel do receptor de baixa afinidade para IgE (sCD23). Desde que este receptor encontra-se predominantemente expressado em linfócitos B ativados, estes achados parecem sugerir que pacientes urêmicos

possam apresentar ativação de linfócitos B em condições basais, embora sejam incapazes de manter uma resposta de anticorpos adequada após estimulação antigênica[10].

Também é comum a diminuição da população de células B em pacientes urêmicos, que pode ser corrigida com o início da diálise[2,3]. Embora os níveis de imunoglobulinas estejam normais e alguns estudos iniciais de resposta à vacinação com toxóides tetânico e diftérico tenham sugerido respostas de anticorpos próximas ao normal, experimentos recentes têm sido indicativos de que na uremia crônica ocorra uma resposta de anticorpos diminuída a alguns antígenos, tanto *in vivo* como *in vitro*. Assim, após padronização da vacina pneumocócica, puderam ser detectados anticorpos na maioria dos pacientes com IRT, embora com títulos mais baixos e menos duradouros do que em controles normais, o que tem levado alguns centros a recomendarem a revacinação antipneumocócica com baixa prevalência de reações adversas mesmo a imunizações repetidas[2,3].

Respostas subnormais ou diminuídas também foram observadas com vacinas virais, como antiinfluenza[3,5] e anti-hepatite B[12]. Pacientes urêmicos produzem títulos baixos de anticorpos neutralizantes contra antígenos de superfície do HBV[12], o que explica a alta prevalência de portadores crônicos do vírus. Em alguns pacientes, a resposta anticórpica pode estar até mesmo ausente, sendo que recentemente foi relatada detecção de DNA viral através da PCR em pacientes soronegativos[13].

Imunização ativa com vacinas mais eficientes e esquemas de vacinação repetida com uso de doses mais freqüentes e/ou mais elevadas têm sido preconizados, com resultados nem sempre satisfatórios[3]. Estudos atuais têm avaliado possíveis fatores genéticos implicados na variabilidade individual da resposta de anticorpos à vacinação contra HBV em pacientes hemodialisados, tendo sido encontrada resposta diminuída em indivíduos HLA-DR2, sugerindo o controle de resposta imunológica contra agentes virais por genes do HLA[15].

Em resumo, a resposta humoral em pacientes urêmicos está comprometida, existindo evidências tanto de exacerbação como de depressão. Evidências laboratoriais de exacerbação incluem a detecção de anticorpos IgE contra óxido de etileno (ETO), de auto-anticorpos e de níveis elevados de receptores solúveis para CD23, enquanto a imunodepressão pode ser caracterizada pela resposta diminuída e/ou pouco duradoura à vacinação. A resposta diminuída de anticorpos a estímulos específicos na IRT pode ser secundária a um defeito intrínseco de linfócitos B e/ou a uma cooperação alterada entre linfócitos T e B.

LINFÓCITOS T

A hipersensibilidade tardia avaliada através de testes cutâneos intradérmicos está diminuída a diversos antígenos em pacientes urêmicos, dialisados ou não[3], podendo até mesmo ser observados testes cutâneos negativos ao PPD em pacientes com tuberculose ativa[2]. A anergia cutânea pode ser secundária à desnutrição e não a uma imunodisfunção, havendo evidências sugestivas de que a ausência de reatividade *in vivo* não seja devida a uma falha no reconhecimento antigênico específico, uma vez que pacientes urêmicos com anergia cutânea podem apresentar uma resposta celular normal *in vitro* para os mesmos antígenos testados *in vivo*[3].

Na IRT tem sido observada linfopenia moderada, sugerindo que ela possa contribuir para a depressão da imunidade celular[2,3]. O mecanismo exato da diminuição de linfócitos na IRT não está esclarecido, sendo que o tratamento dialítico prolongado pode corrigir a linfopenia[3]. Uma hipótese possível é a de que a desnutrição calórico-protéica, que caracteristicamente produz linfopenia, possa ser parcialmente responsável pela linfopenia observada na IRT.

Na Unidade de Hemodiálise da Disciplina de Nefrologia do HC-FMUSP avaliamos a imunidade celular *in vivo* através de testes cutâneos em 33 pacientes com insuficiência renal crônica, correlacionando-os ao estado nutricional. Para os testes intradérmicos de leitura tardia foram utilizados os antígenos PPD, tricofitina e candidina, e o estado nutricional foi avaliado por parâmetros antropométricos (índice de massa corpórea e medida da prega cutânea tricipital) e dosagem de albumina sérica[6]. Anergia cutânea para os três testes foi observada em 27 pacientes, dos quais 18 estavam nutridos; apenas 6 pacientes apresentaram ao menos um teste positivo, sendo 4 nutridos. Os níveis médios de uréia sangüínea pré-dialíticos em todos os subgrupos estudados foram semelhantes. Nossos resultados foram sugestivos de que o estado nutricional provavelmente não constituiu fator determinante do padrão de anergia cutânea tardia observada na maioria dos pacientes estudados[14].

Diversos índices indicativos da atividade funcional de linfócitos T estão alterados na uremia. A resposta blastogênica diante dos mitógenos ou linfócitos alogênicos está diminuída em pacientes urêmicos, linfopênicos ou não[1,3]. Vários estudos

têm demonstrado que estas alterações parecem estar mais acentuadas na presença de soro autólogo e que o plasma urêmico reduz a resposta proliferativa *in vitro* de linfócitos T normais[1,10]. Na maioria dos estudos, o plasma urêmico suprime respostas normais de linfócitos T *in vitro* e as células urêmicas estão funcionalmente alteradas mesmo quando cultivadas em plasma não urêmico. Melhora das respostas após diálise ou transplante sugere que estas alterações sejam devidas à presença de fatores séricos supressores no microambiente urêmico, tais como moléculas médias (exemplo: derivados de guanidina) ou lipoproteínas de baixa densidade[3], assim como ferro e/ou desferroxiamina ou eritropoetina recombinante, administradas para a correção da anemia[1]. Estas evidências são sugestivas da existência de efeitos inibitórios do plasma urêmico e de defeitos celulares intrínsecos levando à disfunção de células T. Adicionalmente, a interação com outras células, tais como monócitos, ou com citocinas por elas liberadas, pode também contribuir para as alterações funcionais de linfócitos T.

A fenotipagem de subpopulações de linfócitos T auxiliares (TCD4+) e T supressoras (TCD8+) está normal em pacientes com IRT e não é alterada por procedimentos dialíticos[2,3,10,13,15]. Tem sido sugerido que as células supressoras possam ser mais ativas, conforme observação *in vitro* em pacientes hemodialisados[3]. A natureza precisa da célula supressora ainda não foi esclarecida, sendo que a remoção de células T usando anticorpos monoclonais OKT8 parece melhorar a resposta mitogênica[3] do linfócito TCD4+. Adicionalmente, há evidências de que monócitos e macrófagos também possam apresentar atividade supressora.

É conhecido que a célula mononuclear desempenha um papel fundamental no sistema imunológico, sendo responsável não somente por uma parcela da atividade fagocítica, como também pela apresentação do antígeno aos linfócitos, além de atuar na imunomodulação[16]. Em relação a seu envolvimento no estado de imunodepressão associado à uremia, é possível que a diminuição da capacidade proliferativa de células T seja devida parcialmente à sua atividade supressora, conforme pode ser evidenciado *in vitro* através da substituição de monócitos autólogos por monócitos alogênicos normais[1].

Adicionalmente, os metabólitos do ácido araquidônico liberados por células monocíticas desempenham um papel imunomodulador na interação entre linfócitos e monócitos, existindo evidências de que a inibição da produção de prostaglandinas com indometacina possa alterar a proliferação de linfócitos *in vitro*[3]. Estes achados sugerem que o monócito possa ser um fator chave na supressão linfocitária, embora esta hipótese tenha sido contestada por alguns investigadores[3].

As evidências de um provável papel supressor da função linfocitária por monócitos na uremia são reforçadas pela demonstração de que freqüentemente o número de macrófagos está aumentado em pacientes com IRT[3]. É possível também que, ao lado desta função supressora, monócitos/macrófagos tenham capacidade diminuída de apresentar antígenos a células T, conforme foi sugerido pela demonstração de que a interiorização de partículas opsonizadas mediada pelo receptor FC de monócitos está profundamente alterada em pacientes hemodialisados[17].

A supressão da blastogênese de linfócitos T na uremia parece estar associada também à produção diminuída de citocinas que atuam na regulação do sistema imunológico. Desse modo, o interferon-gama (IFN-γ), necessário para a ativação de macrófagos, linfócitos B e células T citotóxicas, é produzido em quantidades reduzidas *in vitro* por linfócitos de pacientes urêmicos ou não[3]. A produção de interleucina-2 (IL-2), que atua na ativação de células B para a produção de anticorpos e na diferenciação de linfócitos T e células "natural killer" (NK), também está diminuída após estímulo antigênico[10].

Recentemente, a produção diminuída de IL-2 e IFN-γ em pacientes urêmicos foi confirmada também por meio de expressão gênica[18]. Adicionalmente, foi observado que a capacidade proliferativa de linfócitos T pode ser restaurada pela adição de IL-2 recombinante à cultura celular[10]. É importante notar que estas alterações de células T já estão presentes em pacientes com IRT não dialisados.

Uma observação mais recente e intrigante é a de que em pacientes urêmicos, dialisados ou não, ao lado da resposta funcional diminuída de linfócitos T coexiste um estado de ativação celular. Esta ativação pode ser evidenciada pela expressão aumentada do receptor de baixa afinidade para IL-2 (CD25) na superfície de linfócitos T[19] e pela presença de níveis séricos elevados da forma solúvel do receptor (sCD25), mesmo antes do início do tratamento hemodialítico[10], sugerindo que o estado urêmico seja suficiente para induzir a ativação celular. Tendo por base esta coexistência, aparentemente paradoxal, entre sinais fenotípicos de ativação celular e depressão da atividade funcional de linfócitos T, representada por diminuição da resposta proliferativa a mitógenos e da produção de IL-2, Chatenoud e cols[20] propuseram a hipótese de que o aumento do consumo de IL-2

por seu próprio receptor poderia levar a uma biodisponibilidade diminuída da IL-2 para participar da resposta proliferativa de células T.

Em resumo, existem numerosas evidências sugestivas da presença de alterações funcionais de linfócitos T em pacientes com IRT, que não são totalmente corrigidas ou podem até mesmo ser exacerbadas pelo tratamento dialítico. Estas disfunções podem ser devidas não somente a defeitos celulares intrínsecos e a fatores associados ao microambiente urêmico, como também podem estar relacionadas às interações anormais com monócitos ou à produção alterada de citocinas.

CITOCINAS INFLAMATÓRIAS

Conforme já mencionado anteriormente, existem evidências de que os monócitos possam estar implicados na imunodeficiência de células T observada em pacientes com IRT. Assim, em contraste com a diminuição de sua capacidade de apresentação de antígenos, tem sido demonstrado um estado de ativação de monócitos através da produção de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1, IL-6 e TNF. Destas, a IL-1 foi a primeira citocina a ser relacionada às reações inflamatórias agudas e crônicas associadas à hemodiálise, que refletem inteiramente os efeitos sistêmicos da IL-1 sobre os órgãos-alvo[1].

Mais recentemente, outras citocinas que apresentam muitos efeitos semelhantes aos da IL-1, como TNF-α e IL-6, também foram implicadas nos numerosos efeitos colaterais associadas à hemodiálise[21,22]. Finalmente, cabe lembrar que estas mesmas citocinas, através de seu papel na ativação celular, favorecem o aumento da produção de β_2-microglobulina, podendo participar no desenvolvimento da artropatia amiloidótica[23].

CÉLULAS NK

As células NK são consideradas importantes na vigilância antitumoral e antiviral inespecífica[24]. Há poucos estudos referentes à atividade de células NK em pacientes com IRT, mas estas células parecem estar numérica e funcionalmente alteradas em pacientes sob tratamento dialítico com membranas bioincompatíveis[25], o que poderia explicar parcialmente o maior risco para doenças malignas em pacientes urêmicos do que na população geral.

POLIMORFONUCLEARES

A função fagocitária de polimorfonucleares (PMN) no estado urêmico tem sido objeto de vários estudos nos últimos anos[2,3,4]. De um modo geral, os resultados têm sido conflitantes devido a uma série de fatores: 1. tipo de técnica empregada na avaliação da função fagocitária; 2. tipo de membrana dialítica; 3. número insuficiente de pacientes e variabilidade na composição dos vários grupos de estudo[4]. Os PMN são leucócitos que desempenham papel central na defesa contra infecções. O neutrófilo maduro caracteriza-se por ser uma célula em estágio final, cuja principal função é a eliminação de microrganismos extracelulares. Em um homem de 70kg existem aproximadamente $4,9 \times 10^{10}$ neutrófilos, que se movem reversivelmente entre um "pool" circulante de 3.000-4.000 células/ml de sangue e um "pool" marginal de células seqüestradas nos leitos capilares dos pulmões, fígado e baço[4]. A meia-vida dos neutrófilos no sangue é de 6-9 horas, período após o qual são substituídos por novas células liberadas pela medula óssea. No sangue periférico e nos espaços extravasculares, exercem seu efeito antimicrobiano por meio de uma interação complexa com anticorpos, componentes do sistema complemento e fatores quimiotáteis.

Os defeitos na função de neutrófilos podem ser classificados como quantitativos ou qualitativos. Nas neutropenias, o número total de neutrófilos funcionalmente normais está diminuído abaixo de um nível crítico (1.000/ml), não sendo suficiente para manter uma defesa adequada contra agentes infecciosos. Em pacientes com insuficiência renal crônica ou sob tratamento hemodialítico, o número de leucócitos e neutrófilos em geral está normal ou discretamente elevado, apesar da demonstração de um fator sérico inibidor da granulocitopoiese[2,3,4]. Por outro lado, este número normal contrasta com a profunda leucopenia mediada por complemento observada com freqüência, logo após o início da hemodiálise, principalmente quando são utilizadas membranas bioincompatíveis[1,4,10], como será abordado mais adiante.

Nos distúrbios qualitativos ou funcionais podem ocorrer alterações em uma ou mais fases do processo global da fagocitose, que é realizada através de uma série de eventos distintos, seqüenciais e cuidadosamente orquestrados: 1. motilidade; 2. aderência ao endotélio vascular; 3. migração através do endotélio para o local da infecção; 4. reconhecimento e adesão ao agente invasor; 5. ingestão da bactéria ou fagocitose propriamente dita; 6. desgranulação; 7. morte da bactéria pela geração de radicais reativos do oxigênio e liberação de enzimas microbicidas[26]. No estado urêmico, as funções dos PMN avaliadas *in vitro* em geral estão alteradas.

A membrana plasmática do neutrófilo expressa uma grande variedade de receptores para as substâncias que controlam os eventos relacionados à eliminação das bactérias. Os principais receptores e seus respectivos ligantes ou contra-receptores são: 1. receptores de adesão, como CD11a/CD18 (LFA-1) que se liga a ICAM-1 (CD54) e ICAM-2 e CD11b/CD18 que se liga a ICAM-1; 2. receptores quimiotáteis que se ligam a IL-8, peptídeos formilados, C5a, LTB4, PAF; 3. receptores fagocíticos, como FCγRI e FCγRIII que se ligam a IgG, FCγRII ligante de IgG complexada, CD11b/CD18 (CR3) e CD35 (CR1) que se ligam a C3bi e C3b, respectivamente; 4. receptores reguladores dos quais destacam-se CD14, que se liga ao complexo lipopolissacáride-proteína ligante de lipopolissacáride e o CD45, também conhecido como antígeno leucocitário comum, cujo ligante não está estabelecido. Em adição a estes receptores, os neutrófilos expressam outros grupos funcionais em sua membrana plasmática, como por exemplo o oligossacáride Lewis X, que age como ligante para as moléculas de adesão da família das selectinas[27].

A aderência de granulócitos, que constitui o evento inicial na migração de PMN, está preservada em pacientes urêmicos, dialisados ou não, embora esteja aumentada durante o procedimento intradialítico, conforme será discutido posteriormente[1,4,10]. Por outro lado, a resposta quimiotática de PMN e monócitos parece estar freqüentemente alterada na uremia, tanto em pacientes não tratados como naqueles sob terapia hemodialítica ou diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD)[1,10,28], com maior comprometimento no grupo de hemodialisados. Esta deficiência da resposta quimiotática de PMN tem sido atribuída tanto a um defeito celular intrínseco como a um fator inibidor sérico, dependente do componente quimiotático C5a do sistema complemento[3].

Existem evidências de que a resposta quimiotática dependente de complemento esteja alterada secundariamente à expressão diminuída do receptor para C5a na superfície de PMN[1,4,10], embora a uremia, a hiperfosfatemia, a desnutrição, os níveis de paratormônio, o excesso de ferro e o tipo de membrana dialítica também possam estar envolvidos.

Os estudos referentes à capacidade fagocitária de PMN na uremia são numerosos, conflitantes e inconclusivos[1,4,10,28,29]. Atividade fagocitária normal ou diminuída *in vitro* tem sido observada em pacientes urêmicos não tratados ou sob tratamento dialítico, tanto na presença de soros urêmicos como de soros normais[7], devendo ser enfatizado que os fagócitos constituem as únicas células cujas funções parecem estar realmente alteradas pela presença de fatores séricos no estado urêmico.

Finalmente, diversos estudos têm evidenciado também redução do metabolismo oxidativo levando à diminuição da geração de derivados reativos do oxigênio, com provável prejuízo da morte intracelular[3].

SISTEMA FAGOCÍTICO-MONONUCLEAR

Há poucos trabalhos na literatura referentes ao estado e à função do sistema fagocítico-mononuclear (SFM), que inclui monócitos circulantes, macrófagos ativados e macrófagos residentes em pacientes urêmicos sob tratamento dialítico ou não[30].

A ingestão de partículas recobertas por IgG *in vitro* parece estar diminuída, provavelmente devido a algum fator sérico, uma vez que a incubação de monócitos normais com soro urêmico resulta na inibição de sua atividade fagocitária[3]. À semelhança do que ocorre com PMN, os monócitos estão ativados durante o procedimento dialítico, podendo apresentar as funções quimiotática, fagocitária e bactericida diminuídas[30], embora o significado clínico destes achados ainda não tenha sido bem determinado. Também foi observada diminuição da ligação de monócitos à fração C5a do sistema complemento, tanto em pacientes em hemodiálise como naqueles sob diálise peritoneal. Esta observação é sugestiva de que a ativação crônica do sistema complemento (evidenciada por níveis séricos elevados de C3a) pode ativar os macrófagos e torná-los menos responsivos aos agentes infecciosos.

Recentemente, a CAPD tem permitido uma melhor avaliação da função de macrófagos teciduais presentes no peritônio e de sua possível contribuição para a peritonite que freqüentemente ocorre em pacientes sob tratamento. De um modo geral, a função fagocitária *in vitro* de macrófagos peritoneais assemelha-se àquela de PMN e monócitos normais[3]. Por outro lado, uma série de fatores que atuam *in vivo* poderia temporariamente inibir a ingestão de partículas, tais como níveis baixos de opsoninas (IgG e C3) presentes na cavidade peritoneal, além do pH ácido e da alta osmolaridade das soluções dialíticas[3]. Adicionalmente, existem evidências de que a morte intracelular de algumas cepas de *Staphylococcus aureus* e de *Staphylococcus epidermidis* também possa estar prejudicada[3].

Na Unidade de Diálise do Hospital das Clínicas da FMUSP avaliamos a função fagocitária de monócitos do sangue periférico em pacientes

portadores de insuficiência renal crônica em programa de CAPD[31]. Os métodos aplicados foram a contagem total de leucócitos, a fagocitose de partículas inertes ("zymosan") e a quimiotaxia dependente do fator quimiotático C5a, diante de soro autólogo ou homólogo. Os pacientes foram estudados em três fases do programa: a) fase prédialítica; b) no período de três a seis meses após o início da CAPD; c) no período de 9 a 12 meses após início da CAPD. No seguimento clínico foram detectados três episódios de peritonite em três pacientes, sendo que os parâmetros bioquímicos e nutricionais não diferiram daqueles apresentados pelos doentes sem infecção durante o programa de CAPD. Neste estudo observamos alterações da fagocitose diante de soro autólogo com resultados subnormais no início e na fase intermediária e posterior normalização no último período, enquanto a quimiotaxia foi normal nas três fases. Estes resultados foram sugestivos da presença de algum fator sérico inibidor da fagocitose de monócitos que foi corrigido ao longo do procedimento dialítico, embora não tenhamos observado correlação entre as alterações *in vitro* e a presença de peritonite.

BIOCOMPATIBILIDADE

Mesmo após 30 anos de experiência, a terapia hemodialítica aplicada a longo prazo no tratamento da IRT permanece empírica. Embora uma sobrevida longa possa ser alcançada por alguns pacientes, de um modo geral os resultados não têm sido muito satisfatórios. Assim, os indivíduos sob tratamento prolongado não podem ser considerados normais, uma vez que parecem perder massa muscular corpórea e envelhecer muito rapidamente[11], além de apresentarem risco aumentado de infecções, que constituem a principal causa de morte após doenças cardiovasculares[5]. Além disso, a sintomatologia intradialítica aguda, muitas vezes presente, parece retardar a reabilitação e, freqüentemente, afetar a qualidade de vida do doente. Desse modo, não restam dúvidas de que apesar de todos os avanços alcançados nos últimos anos o padrão de tratamento hemodialítico necessita ser aperfeiçoado.

Alguns investigadores acreditam que esta melhora possa ser alcançada através da redução dos efeitos indesejáveis decorrentes da interação entre a membrana dialisadora e os componentes do sangue do paciente, particularmente a ativação do sistema complemento. À interação ideal entre o sangue do paciente e a membrana dialisadora dá-se o nome de biocompatibilidade[11]. É evidente que a biocompatibilidade completa, que ocorre de modo fisiológico entre o sangue e o endotélio vascular, dificilmente será obtida, mesmo com o aperfeiçoamento das membranas dialíticas.

A hemodiálise imita a filtração glomerular e a membrana artificial, a membrana glomerular filtrante. Uma das principais preocupações dos hemodialisadores tem sido a de melhorar a biocompatibilidade através do aperfeiçoamento da estrutura físico-química das membranas dialíticas.

Existem quatro tipos de membranas utilizadas correntemente durante os procedimentos hemodialíticos: a) membrana de celulose, também denominada de cuprofano (CUP), que é uma membrana polissacarídica obtida de algodão prensado, rica em grupos hidroxila livres; b) membranas de celulose modificadas, obtidas pela ligação química de um determinado material aos grupos hidroxila, sendo o tipo mais comum o de acetato de celulose contendo grupos acetil; c) membranas sintéticas de celulose modificadas pela adição de materiais sintéticos, tais como os compostos aminoterciários na produção do "Hemophan", com o objetivo de liquefazer a celulose durante sua formação; d) membranas sintéticas "não-celulose", que apresentam maior permeabilidade, sendo mais biocompatíveis embora menos econômicas do que as membranas de celulose. Há uma variedade de tipos disponíveis, tais como as de poliacrilonitrila (PAN), polissulfona, policarbonato, poliamida e polimetilmetacrilato[32].

As noções atuais sobre as vias e os mecanismos da biocompatibilidade, assim como os parâmetros clínicos e métodos laboratoriais aplicados na sua avaliação, fundamentam-se em conhecimentos científicos bem estabelecidos. Entretanto, a virtual impossibilidade de se introduzir somente um parâmetro por vez dificulta a análise retrospectiva e/ou prospectiva, tornando inconclusiva a interpretação da maioria dos estudos clínicos.

Biocompatibilidade e sistema complemento

Os estudos iniciais sobre biocompatibilidade dirigiram-se principalmente para a ativação de vários sistemas de defesa, incluindo a fibrinólise, o sistema complemento e as plaquetas. Atualmente, está bem estabelecido que após a interação entre o sangue e a membrana dialítica pode ocorrer ativação do complemento pela via alternativa com geração dos componentes C5a e C3a. Adicionalmente, foi observado que a intensidade da ativação do complemento varia acentuadamente com o tipo de membrana dialítica, sendo que as membranas de celulose são mais ativadoras que as sintéticas[1,10,11,32].

O papel dos componentes C3a e C5a, inicialmente restrito ao seqüestro de neutrófilos em pulmão e alteração da atividade quimiotática destas células[1]; foi depois implicado também na ativação e na liberação de derivados reativos do oxigênio[1,10] e na ativação de monócitos com estímulo da transcrição de IL-1[33], conforme será abordado mais adiante.

Biocompatibilidade e imunidade humoral

O conceito de interação entre os componentes hemodialisadores e a resposta imune humoral surgiu somente ao final da década de 70. Basicamente, são descritos dois tipos de reações: A e B. Estas reações foram, no passado, agrupadas sob o termo "síndrome do primeiro uso" porque ocorriam principalmente durante o uso de dialisadores novos[32].

As reações do tipo A ou anafiláticas são raras (3,5 por milhão de tratamentos hemodialíticos) e costumam ocorrer nos primeiros minutos da diálise, embora eventualmente possam ser observadas até 30 minutos após o início do procedimento. Os casos leves associam-se à presença de uma grande variedade de sintomas, tais como prurido, urticária, tosse, espirros, cólicas abdominais, diarréia, cefaléia, dor torácica e lombar, náuseas, vômitos, febre e calafrios. Os casos graves são caracterizados por dispnéia, perda dos sentidos e potencialmente parada cardíaca e morte. Uma causa clássica destas reações anafiláticas é a hipersensibilidade ao ETO, que é utilizado na esterilização dos circuitos dialisadores. Estas reações, que são incomuns, ocorrem exclusivamente durante o primeiro uso, em geral quando os dialisadores não foram bem lavados previamente. Em alguns casos podem ser detectados anticorpos IgE contra ETO. As reações do tipo A também podem ser causadas por substâncias "aderidas" aos dialisadores ou por contaminação com peptídeos bacterianos. Raramente as reações anafiláticas são observadas durante o reuso de membranas. Quando presentes, têm sido associadas a formaldeído ou gluteraldeído (anafilaxia não mediada por IgE) ou ao uso de água contaminada por bactéria[1,10,11,32].

As reações do tipo B ou anafilactóides são mais comuns (5-10% dos pacientes dialisados com membrana de celulose), embora menos graves que as do tipo A. Os sintomas mais freqüentes são dor torácica e lombar, sendo o choque anafilático extremamente raro. A hipótese mais aceita é a de que as reações do tipo B sejam mediadas por complemento: os grupos hidroxil livres presentes na membrana dialisadora seriam responsáveis pela ativação da via alternativa do complemento, levando à ativação de neutrófilos e subseqüente seqüestro na circulação pulmonar. Estas alterações estão freqüentemente associadas à neutropenia transitória acentuada. Desse modo, a ativação do sistema complemento tem sido considerada como uma das principais causas de bioincompatibilidade[1,10,11,32].

Biocompatibilidade e imunidade celular

Na última década suspeitou-se de que não apenas o sistema complemento, como também os monócitos do sangue periférico pudessem desempenhar um papel chave na bioincompatibilidade. Dinarello[21] propôs a "hipótese da interleucina" sugerindo que na geração da bioincompatibilidade estariam envolvidos fatores iniciadores, tais como mecanismos moleculares e celulares, ao lado de fatores responsáveis pela síntese e liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF e IL-6), com suas possíveis implicações fisiopatológicas.

Baseados nesta hipótese, estudos recentes têm por objetivo avaliar como a hemodiálise e/ou os tipos de membranas utilizadas durante o procedimento hemodialítico podem levar à ativação de monócitos e à produção de IL-1, TNF, IL-6[21,22]. De um modo geral, os resultados têm sido sugestivos de que a biocompatibilidade do processo depende das características não só da membrana, como também do dialisado. Entre os fatores implicados na ativação de monócitos na interface sangue/membrana dialítica citam-se: 1. adesão à membrana; 2. ativação do sistema complemento com participação de C5a e/ou C3a; e, 3. endotoxinas bacterianas provenientes do dialisado capazes de atravessar a membrana. Adicionalmente, têm sido implicadas substâncias não fisiológicas presentes no dialisado, tais como acetato e partículas plásticas originadas do circuito dialisador, que também têm atividade indutora de citocinas.

Embora C3a e C5a tenham sido descritos inicialmente como indutores potentes da produção de IL-1, TNF, IL-6, ainda não foi estabelecido se esses componentes de ativação do sistema complemento podem isoladamente induzir a síntese e a liberação de citocinas por monócitos. Recentemente, Schindler e cols[34] apresentaram evidências altamente sugestivas de que a anafilaxia C5a estimula *in vitro* a transcrição (e não a translação) das citocinas IL-1 e TNF em monócitos normais do sangue periférico.

Estudos recentes têm analisado a produção de citocinas *in vitro* durante procedimentos dialíticos nos quais são utilizadas membranas ativado-

ras ou não do sistema complemento. De um modo geral, os resultados têm sido concordantes quanto às evidências de que a natureza da membrana hemodialisadora parece não interferir na produção das citocinas durante o processo da hemodiálise[1,10,11]. Por outro lado, os resultados referentes à influência da biocompatibilidade da membrana na alteração dos níveis de citocinas durante o processo de hemodiálise são controversos. Quando analisados em conjunto, os estudos *in vitro* são sugestivos de que os sinais de ativação de monócitos (evidenciados pelo aumento da produção espontânea de citocinas em pacientes há muito tempo sob tratamento hemodialítico) podem ser resultantes tanto da ativação do sistema complemento por membranas bioincompatíveis, como por interações diretas entre células e membranas ou passagem de endotoxinas originadas no dialisado[1,10,11]. Quanto a este aspecto, tem sido verificado que com a popularização da diálise de alto fluxo tem havido um aumento concomitante do potencial de transferência de substâncias capazes de atravessar as membranas mais permeáveis, que são utilizadas naquele processo dialítico e que são capazes de induzir a produção de citocinas. Recentemente, Schindler & cols[34] encontraram evidências fortemente sugestivas do papel primordial desempenhado pela contaminação do dialisado na bioincompatibilidade. Foram estudados pacientes dialisados durante quatro semanas com membranas de cuprofano, sem ou com um ultrafiltro no dialisado; os autores observaram que a combinação de uma membrana biocompatível com um dialisado contaminado pode ser mais bioincompatível do que a combinação de uma membrana bioincompatível com um dialisado purificado. É evidente que a situação ideal poderia ser alcançada se fosse utilizado um dialisado ultrapuro associado a uma membrana biocompatível.

Biocompatibilidade e função fagocitária

Os fagócitos circulantes são constituídos por dois tipos principais de células: neutrófilos e monócitos. A função primária destas células é a de eliminar bactérias invasoras. Pacientes sob tratamento dialítico crônico apresentam um risco aumentado de infecções, que constituem uma das principais causas de morte em pacientes hemodialisados[5]. Esta constatação, juntamente com a observação de que a hemodiálise com membranas de celulose causam leucopenia profunda, embora transitória, tem levado muitos autores a utilizarem a função fagocitária como um índice de biocompatibilidade[11].

Está bem estabelecido que a hemodiálise associa-se a uma relação profunda e transitória do número de neutrófilos e monócitos circulantes (fenômeno conhecido como leucopenia) durante a primeira hora de tratamento. O número de células começa a diminuir logo após o início da diálise, alcança seu nadir após 15-30 minutos, retorna a seus valores iniciais após 60 minutos e, freqüentemente, atinge valores maiores do que os pré-dialíticos ao final do tratamento[11]. Em 1977, Craddock e cols[35] já demonstraram que a leucopenia está associada à ativação da via alternativa do sistema complemento durante o uso de membranas bioincompatíveis, tais como as de celulose. Os grupos hidroxila livres presentes nestas membranas são responsáveis pela ativação do complemento, levando à ativação do neutrófilo e seu subseqüente seqüestro na circulação pulmonar. Também tem sido demonstrado que a ativação do complemento ocorre paralelamente às alterações da contagem de leucócitos: a formação de C3a começa imediatamente após a exposição à membrana dialisadora, atinge níveis máximos após 15 minutos e retorna a valores normais 10 minutos após o término da diálise.

Mais recentemente, foi demonstrado que neutrófilos que entram em contato com o dialisador apresentam um aumento da expressão de receptores de CD11b/CD18 e CD11c/CD18 e que o grau de leucopenia depende dos níveis de componentes ativados do sistema complemento presentes no plasma. Embora os níveis de C3a reflitam mais acuradamente a extensão da ativação do complemento, é amplamente aceito que o componente C5a seja o responsável pela expressão aumentada dos receptores de adesão, levando à agregação de neutrófilos e seqüestro no pulmão[1,10].

Muitos investigadores demonstraram a presença de alterações funcionais de leucócitos *in vitro* durante processos dialíticos. O teste da quimiotaxia analisa a capacidade de migração das células através de um filtro de millipore, simulando o que ocorre *in vivo*, quando os PMN e os monócitos saem do sangue e atravessam o endotélio vascular atingindo os tecidos periféricos atraídos por fatores quimiotáteis como C5a, peptídeos formilados, PAF e LTBA, que estimulam receptores na membrana celular[36].

A quimiotaxia de neutrófilos pode estar diminuída a uma série de estímulos, tais como *Escherichia coli* e C5a[5], em pacientes sob tratamento hemodialítico ou CAPD, embora o significado destas observações e sua relação com predisposição a infecções permaneçam controvertidos. Lewis e van Epps[37] propuseram que durante a he-

modiálise a geração de C5a causaria saturação de receptores para esta fração do sistema complemento presentes em PMN e monócitos, levando à deficiência da quimiotaxia. Do mesmo modo, durante a CAPD, a geração de C5a seria devida à presença contínua do cateter intraperitoneal.

A maioria dos estudos tem demonstrado redução da atividade fagocitária de neutrófilos em pacientes com IRT, que já está presente antes mesmo do início da diálise e é acentuada durante o uso de membranas bioincompatíveis[4]. O metabolismo oxidativo também está reduzido, causando diminuição da produção de superóxidos e outros radicais livres, podendo eventualmente contribuir para a redução da atividade fagocitária de PMN durante a hemodiálise[4]. Finalmente, os receptores para Fc de IgG presentes em macrófagos, que são importantes na captação de partículas recobertas por anticorpos, também parecem apresentar alterações funcionais que contribuem para a suscetibilidade aumentada a infecções[5].

Recentemente, avaliamos o comportamento qualitativo e funcional de leucócitos PMN do sangue periférico de pacientes sob tratamento hemodialítico, visando estabelecer parâmetros de biocompatibilidade comparando o primeiro uso da membrana de polissulfona ao primeiro uso da membrana de cuprofano. Estes pacientes, cujas causas de IRT eram devidas a nefropatias primárias, estavam sendo submetidos a três sessões semanais de hemodiálise com membrana de polissulfona. Para a investigação, a coleta de sangue foi realizada sempre no período pré-dialítico e 15 minutos após o início da diálise com membrana de polissulfona ou cuprofano. Nossos resultados demonstraram que o número total de leucócitos e de PMN dos pacientes avaliados estava normal ou aumentado antes da diálise e que sofreu redução significativa após 5 minutos de hemodiálise com membrana de celulose, quando comparado ao valor obtido em relação à membrana de polissulfona. Surpreendentemente, os níveis do componente C3 e C4 do sistema complemento não sofreram variações significantes após o início do tratamento dialítico, mesmo durante o uso de membranas de celulose, não ficando caracterizada portanto ocorrência do processo de ativação. Esta observação discorda dos dados da literatura, uma vez que é amplamente aceito o fato de que os dialisadores de cuprofano induzem a ativação do complemento e a conseqüente leucopenia. Por outro lado, estudos recentes têm questionado este papel ativador da membrana de cuprofano, principalmente no que se refere à sua capacidade de ativar complemento[38].

A atividade funcional de PMN foi analisada por três diferentes técnicas laboratoriais: quimiotaxia, fagocitose e morte intracelular de *Staphylococcus aureus* e teste de redução do "nitro-blue-tetrazolium" (NBT). Todos os testes foram realizados na presença de soro autólogo e soro homólogo ("pool" de 10 indivíduos normais pertencentes ao grupo sangüíneo AB).

Pelo teste da quimiotaxia avaliamos a migração celular como resposta ao estímulo quimiotático fornecido pelo componente C5a do complemento, após ativação deste sistema pela via alternativa com lipopolissacáride (LPS). Observamos que a média de migração celular não diferiu estatisticamente quando os pacientes foram dialisados com membranas de polissulfona ou de celulose, tanto na fase pré-dialítica como 15 minutos após o início do tratamento. Nossos resultados mostraram também que a capacidade intrínseca migratória das células estava normal, uma vez que a média de migração foi semelhante quando se utilizou soro homólogo ou autólogo. Estes dados estão parcialmente em desacordo com relatos da literatura, que têm demonstrado redução da quimiotaxia de PMN durante hemodiálise com membrana de cuprofano, esperando-se que ocorra ativação do sistema complemento e, conseqüentemente, inibição da resposta de neutrófilos, que é dependente de C5a. Por outro lado, estes resultados foram coerentes com a ausência de ativação do complemento sérico observada em nossos pacientes, mesmo na presença de membranas consideradas bioincompatíveis.

Avaliamos também o impacto da circulação extracorpórea sobre a produção de radicais de oxigênio por PMN após os primeiros minutos do tratamento hemodialítico, através do teste de redução do NBT sem ou após estímulo com LPS. O teste do NBT avalia o metabolismo oxidativo dos neutrófilos. Em fagócitos normais, esta via metabólica é ativada durante a fagocitose, com consumo aumentado de oxigênio e redução do ânion superóxido (O_2^-) seguido por uma rápida conversão de O_2^- a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em radicais livres, que por sua vez são potentes metabólitos microbicidas. A geração de O_2^- é dirigida pelo sistema NADPH-oxidase. O teste de redução do NBT é freqüentemente utilizado no diagnóstico de disfunções do metabolismo oxidativo devido a sua simplicidade e reprodutibilidade em qualquer laboratório de análises clínicas. O NBT é um composto solúvel em água e de coloração amarelada que no interior da célula fagocitária pode ser reduzido formando um precipitado azul-escuro. O mecanismo de redução do NBT

não está bem estabelecido, parecendo estar estritamente ligado aos eventos metabólicos que se seguem à explosão respiratória após a fagocitose. Este teste pode ser realizado na ausência de estímulos (teste de redução espontânea do NBT) ou após estímulo com LPS, PMA, látex ou "zymosan" (teste de redução do NBT estimulado)[36]. Observamos que as médias dos testes realizados durante o uso de membrana de polissulfona ou cuprofano não diferiram estatisticamente entre si, o mesmo ocorrendo quando foram comparadas as fases pré-dialítica e 15 minutos após o início da diálise para cada membrana em separado. Estes dados são sugestivos de que a capacidade de ativação dos neutrófilos parece estar plenamente conservada após a utilização de um fator estimulador como LPS, que ativa o sistema complemento por via alternativa. Adicionalmente, foram compatíveis com a aparente ausência de ativação do complemento durante o uso de membranas de celulose.

Finalmente, avaliamos simultaneamente a capacidade dos neutrófilos de fagocitar e destruir *in vitro* o *Staphylococcus aureus*, uma vez que a infecção esfafilocócica tem sido observada com freqüência em pacientes hemodialisados, sendo geralmente atribuída à contaminação externa dos acessos vasculares. A técnica empregada foi descrita recentemente por Bellinati-Pires e cols[39], que utiliza o corante alaranjado de acridina e permite que se faça uma avaliação simplificada de vários aspectos da fagocitose em um único teste: porcentagem de bactérias ingeridas por PMN (fagocitose propriamente dita) e porcentagem de bactérias mortas/PMN. Observamos que as atividades fagocitária e bactericida dos PMN estavam normais quando comparadas aos controles, e que não diferiram quando os pacientes foram dialisados com membranas de cuprofano ou polissulfona, tanto na fase pré-dialítica como 15 minutos após o início do procedimento, quando se poderia esperar ativação máxima do sistema complemento durante o uso de dialisadores bioincompatíveis. Também não detectamos diferença significativa entre os parâmetros analisados na presença de soro homólogo (congelado a –70°C) ou autólogo (fresco), uma vez que a ingestão do *Staphylococcus aureus* é dependente principalmente da presença de sistema complemento íntegro. Adicionalmente, a ingestão da bactéria via receptores C3b parece favorecer sua destruição por PMN, desde que o tratamento de bactérias com soro inativado a 56°C pelo calor leva a uma redução na porcentagem de bactérias mortas em relação ao número total de bactérias interiorizadas pelos PMN.

A análise conjunta de nossos resultados foi sugestiva de que os testes empregados para avaliação da função fagocitária de neutrófilos não se mostraram suficientemente sensíveis como parâmetros de biocompatibilidade de diferentes membranas dialisadoras. Por outro lado, a contagem total de leucócitos do sangue periférico revelou-se aparentemente útil para esta finalidade, o que está de acordo com dados da literatura[1,10,11,27]. Finalmente, não observamos correlação entre os testes realizados *in vitro* e alguns parâmetros clínicos analisados, tais como infecção estafilocócica, desnutrição ou níveis de uréia pré-dialíticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DESCAMPS-LATSCHA B, HERBELIN A: Long-term dialysis and cellular immunity. A critical survey. *Kidney Int* 43:S135-S142, 1993.
2. MILLER T, ORMROD D, COLLINS J: Host defence and infection in dialysis patients, in *Clinical Dialysis*, edited by Nissenson AR, Fine RN, Gentile DE, East Norwalk, Appleton & Lange, 1990, pp 559-578.
3. KEANE WF, MADDY, MF: Host defences and infectious complications in maintenance hemodialysis patients, in *Replacement of Renal Function by Dialysis*, edited by Maher JF, Boston, Kuwer, 1992, pp 865-880.
4. VANHOLDER R, RINGOIR S: Infectious morbidity and defects of phagocytic function in end-stage renal disease: a review. *J Am Soc Nephrol* 3:1541-1554, 1993.
5. KHAN IH, CATTO GRD: Long-term complications of dialysis: infection. *Kidney Int* 43:S143-S148, 1993.
6. MORREL MA, MITTMAN N: Malnutrition in uremia. *Semin Nephrol* 14:238-244, 1994.
7. HAAG-WEBER M, HORL WH: Uremia and infection: mechanisms of impaired cellular host defense. *Nephron* 63:125-131, 1993.
8. BERGSTRÖN J: Nutrition and adequacy of dialysis in hemodialysis patients. *Kidney Int* 43:S261-S267, 1993.
9. GAFTER U, KALECHMAN Y, SREDNI B: Induction of a subpopulation of supressor cells by a single blood transfusion. *Kidney Int* 41:143-148, 1992.
10. DESCAMPS-LATSCHA B, HERBELIN A, NGUYEN AT, ZINGRAFF J, JUNGERS P, CHATENOUD L: Immune system dysregulation in uremia. *Semin Nephrol* 14:253-260, 1994.
11. SHALDON S, KOCH KM: Biocompatibility in hemodialysis: clinical relevance in 1995. *Artif Organs* 19:395-397, 1995.
12. CROSNIER J, JUNGERS P, COUROUCÉ AM, LAPLANCHE A, BENHAMOU E, DEGOS F, LACOUR B, PRUNET P, CERISIER Y, GUESRY P: Randomised placebo-controlled trial of hepatitis B surface antigen vaccine in French haemodialysis units: II, haemodialysis patents. *Lancet* 1:797-800, 1981.
13. DUEYMES JM, BODÉNÈS-DUEYMES M, MAHÉ JL, HERMAN B: Detection of hepatitis viral B DNA by polymerase chain reaction in dialysis patients. *Kidney Int* 43(Suppl 41):S161-S166, 1993.
14. LOPEZ S, SHIMA M, BARROS RT, BARROS MT, FIDALGO S, ROMÃO MA, DUARTE A, ROMÃO Jr JE: Imunidade celular em pacientes urêmicos. (abstract) *Rev Bras Alerg Imunopatol* 17:160, 1994.
15. RASKA Jr K, RASKOVA J, SHEA SM, FRANKEL RM, WOOD RW, LIFTER J, GHOBRIAL I, EISINGER RP, HOMER L: T cell subsets and cellular immunity in end-stage renal disease. *Am J Med* 75:734-740, 1983.

16. ABBAS KA, LICHTMAN AM, POBER JS: Cells and tissues of the immune sistem, in *Cellular and Molecular Immunology*, edited by Abbas KA, Lichtman AM, Pober JS, London, Saunders, 1994, pp 14-30.
17. RUIZ PGF, SCHREIBER AD: Impaired function of macrophage. Fc gamma receptors in end-stage renal disease. *N Engl J Med* 322:717-722, 1990.
18. GEREZ L, MADAR L, SHKOLNIK T, KRISTAL B, ARAD G, RESHEF A, STEINBERGER A, KETZINEL M, SAYAR D, SHASHA S, KAEMPFER R: Regulation of interleukin-2 and interferon-γ gene expression in renal failure. *Kidney Int* 40:266-272, 1991.
19. ZAOUI P, GREEN W, HAKIN RM: Hemodialysis with cuprophane membrane modulate interleukin-2 receptor expression. *Kidney Int* 39:1020-1026, 1991.
20. CHATENOUD L, HERBELIN A, BEAURAIN G, DESCAMPS-LATSCHA B: Immune deficiency of the uremic patient. *Adv Nephrol* 19:259-274, 1990.
21. DINARELLO CA: Cytokines: agents provocateurs in hemodialysis? *Kidney Int* 41:683-694, 1992.
22. HERBELIN A, UREÑA P, NGUYEN AT, ZINGRAFF J, DESCAMPS-LATSCHA B: Elevated circulating levels of interleukin-6 in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 39:954-960, 1991.
23. KNUDSEN PJ, SHALDON S, FLOEGE J, KOCH M: Hemodialysis-related induction of β2-microglobulin synthesis and release by mononuclear phagocytes. *Artif Kidney Dial* 13:73-76, 1990.
24. KIMBODEN, JB: T lymphocytes and natural killer cells, in *Basic and Clinical Immunology*, edited by Stites DP, Terr AI, Parslow TG, London, Lange, 1994, pp 94-104.
25. ZAOUI P, HAKIM R: Natural killer-cell function in hemodialysis patients: effect of the dialysis membrane. *Kidney Int* 43:1298-1305, 1993.
26. PARSLOW TG: The phagocytes: neutrophils and macrophages, in *Basic and Clinical Immunology*, edited by Stites DP, Terr AI, Parslow TG, London, Lange, 1994, pp 9-21.
27. WARD RA: Phagocytic cell function as an index of biocompatibility. *Nephrol Dial Transplant* 9:46-56, 1994.
28. VANHOLDER R, DELL'AQUILA R, JACOBS V, DHONDT A, VEYS N, WATERLOSS MA, van LANDSCHOOT N, van BIESEN W, RINGOIR S: Depressed phagocytosis in hemodialysed patients: *in vivo* and *in vitro* mechanisms. *Nephron* 63:409-415, 1993.
29. VANHOLDER R, BIELSEN WV, RINGOIR S: Contribuing factors to the inhibition of phagocytosis in hemodialysed patients. *Kidney Int* 44:208-214, 1993.
30. GIBBONS RAS, MARTINEZ OM, GAROVOY MR: Altered monocyte function in uremia. *Clin Immunol Immunopathol* 56:66-80, 1990.
31. AKAGAWA Y, BARROS MT, VENDRAME CM, ROMÃO Jr JE, LEÃO RC, BARROS RT: Função leucocitária em pacientes submetidos à diálise peritoneal contínua (CAPD) *V Reunião Anual da FESBE*, Resumos, 1990, pp 21.14.
32. CHERUNG AK: Dialyser biocompatibility: practical considerations, in *Dialysis Therapy*, edited by Fine N, Philadelphia, Hanley and Belfus, 1993.
33. SCHINDLER R, LONNEMANN G, SHALDON S, KOCK KM, DINARELLO CA: Transcription, not synthesis, of interleukin-1 and tumor necrosis factor by complement. *Kidney Int* 37:85-93, 1990.
34. SCHINDLER R, LINNENWEBER S, SCHULZE M, OPPERMANN M, DINARELLO CA, SHALDON S, KOCH KM: Gene expression of interleukin-1 beta during hemodialysis. *Kidney Int* 43:712-721, 1993.
35. CRADDOCK PR, FEHR J, DALMASSO AP, BRIGHAM KL, JACOB HS: Hemodialysis leukopenia: pulmonary vascular leukostasis resultin from complement activation by dialyser cellophane membranes. *J Clin Invest* 59:879-888, 1977.
36. STITES DP: Clinical laboratory methods of detection of cellular immunity, in *Basic and Clinical Immunology*, edited by Stites DP, Terr AI, Parslow TG, London, Lange, 1994, pp 195-215.
37. LEWIS SL, van EPPS DE: Neutrophil and monocyte alterations in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 9:381-395, 1987.
38. LONNEMANN G, BINGEL M, KOCH KM, SHALDON S, DINARELLO CA: Plasma interleukin-1 activity in humans undergoing hemodialysis with regenerated cellulosic membranes. *Lymphokine Res* 6:63-70, 1987.
39. BELLINATI-PIRES R, MELKI SE, COLLETTO GM, CARNEIRO-SAMPAIO MMS: Evaluation of a fluorchrome assay for assessing the bactericidal activity of neutrophils in human phagocyte disfunctions. *J Immunol Methods* 119:189-196, 1989.

31

TOXICIDADE DA UREMIA

Vicente César Massola

INTRODUÇÃO

A síndrome urêmica manifesta-se por um grande número de sinais e sintomas inespecíficos e específicos que tornam relativamente fácil seu diagnóstico. Tais sinais ou sintomas podem manifestar-se precocemente na insuficiência renal crônica (IRC), ou surgir tardiamente, devido ao lento e progressivo agravamento e à falta de controle dietético, medicamentoso e dialítico.

Todavia, na atualidade, os sintomas mais graves não têm ocorrido, pois o tratamento dialítico é precocemente adotado. A diálise, desde que adequada[1,2], controla a maior parte dos sinais e sintomas clínicos. Contudo, o melhor método dialítico (diálise peritoneal ambulatorial contínua – CAPD – ou hemodiálise de alta eficiência) não remove inúmeros solutos tóxicos, particularmente aqueles ligados às proteínas do plasma[1,6], que determinarão várias disfunções celulares, originando a sintomatologia.

O paciente urêmico pode, ainda hoje, apresentar: anemia rebelde[7,8], hiperparatireoidismo secundário[8], níveis elevados de fosfato, hipertensão arterial[9], perfil lipídico alterado[10,11], miocardiopatia[12-14] e tendência às infecções e neoplasias[6,11], apesar de diálises adequadas ou mesmo de transplante renal, causados pela incompleta remoção das toxinas urêmicas.

Entende-se por adequação de diálise o método dialítico (CAPD, hemodiálise convencional, hemofiltração, hemodiafiltração, hemodiálise de alta eficiência, etc.), capaz de controlar a síndrome urêmica, mantendo o paciente clinicamente bem, principalmente do ponto de vista nutricional (albumina plasmática > 4g/dl). O paciente deve ter um hematócrito de 30% ou mais, hormônio paratireóideo, metabolismo ósseo e sistema cardiovascular controlados, e índices de diálise (KT/V) > 1,2 a 1,6 até 1,8, porcentagem de redução da uréia (URR) > 65%, uréia pré-diálise ou TACuréia 50 a 80mg/dl BUN, PCR de 0,8 a 1,2g/kg/dia[1,2]. Sob tais condições, o paciente apresentará morbidade e mortalidade igual a zero. Em casos ideais, como acima descrito, os eventuais sintomas poderão ser atribuídos à coexistência de outros estados mórbidos ou pela presença de níveis mínimos de solutos urêmicos, principalmente de solutos tipo indoxil-sulfato, ácido furancarboxílico, p-cresol, etc., que se prendem às proteínas do plasma[14-17], difíceis de remover, a não ser pelo transplante renal. Com a CAPD consegue-se removê-los sofrivelmente, ligados às proteínas perdidas na solução de diálise peritoneal drenada. Assim, é difícil para o paciente ficar inteiramente normal, mesmo sob o melhor método dialítico disponível, de modo que o paciente sempre será levemente hipertenso, terá hiperparatireoidismo secundário, apresentando sempre alguma agressão miocárdica, além de anemia e alguns distúrbios da imunidade geral.

Desse modo, analisaremos, a seguir, vários tópicos fisiopatológicos da sintomatologia urêmica.

QUEDA DA FILTRAÇÃO GOMERULAR E AUSÊNCIA DE TRABALHO TUBULAR DE REABSORÇÃO E SECREÇÃO (INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA OU CRÔNICA)

O resultado é o acúmulo de inúmeros solutos, destacando-se, primeiramente, a água cuja retenção, além de causar hemodiluição e hoponatremia com seus sintomas relacionados, sobrecarregará o coração, determinando edemas e, o que é pior, para os pacientes oligúricos ou anúricos, edema agudo de pulmão e/ou insuficiência car-

díaca congestiva. Daí a necessidade do controle rigoroso do peso corpóreo para os pacientes urêmicos, principalmente se já forem diálise-dependentes.

Junto com a água está a sódio cuja relação é mais importante que a sobrecarga de água na gênese da hipertensão arterial e da insuficiência cardíaca. Pode-se dizer que, com a água, o sódio é um soluto tóxico urêmico, pois seu acúmulo determina aquelas síndromes, além de outras, como quadros neurológicos graves. Não é sem razão que na insuficiência renal crônica, com a diminuição dos néfrons, passa a ser essencial o aumento da fração de excreção do sódio por vários mecanismos, principalmente pelo aumento da produção do fator natriurético atrial (FNA) e também de outros hormônios natriuréticos. Estes fatores natriuréticos são causa de hipotensão nas hemodiálises e de fadiga pós-dialítica, freqüentemente observada.

Outro soluto urêmico, cuja elevação pode ser perigosa, é o potássio, principalmente se associado à acidose e à hipocalcemia, provocando arritmias cardíacas descontroladas e até morte súbita, por parada cardíaca. Lembramos, também, como "toxina urêmica", os prótons (H^+) (da acidose metabólica da uremia), determinando um semnúmero de sintomas graves da síndrome urêmica descompensada, desde soluços, náuseas, vômitos, perda do apetite, câimbras e fraqueza muscular, até sinais de grave anergia celular, pois os níveis de ATP diminuem por inibição da sua produção diretamente pela ação dos prótons (H^+) nas células, particularmente nas mitocôndrias. Por outro lado, além da **hipocalcemia** que ocorre em todos os pacientes urêmicos, com seus sintomas próprios, o cátion Ca^{++}, devido às condições de anergia das células, passa a invadi-las, aumentando intensamente o seu nível intracelular, provocando sinais e sintomas neurológicos (convulsões, encefalopatia, deterioração mental), cardíacos (miocardiopatia) e vasculares (hipertensão arterial), além de outros que abordaremos na página 8 e seguintes.

A URÉIA (60 DALTONS) COMO TOXINA URÊMICA

A uréia é tóxica acima dos 200mg/dl. Este fato foi demonstrado por vários autores, inclusive, dialisando pacientes com uréia no dialisado. Os pacientes voltavam a apresentar náuseas, vômitos e outros sintomas mais graves. Em contrapartida, sem levar os pacientes à desnutrição, observa-se, em clínica o efeito benéfico da restrição protéica dietética, diminuindo os sintomas urêmicos e até melhorando a função renal residual dos pacientes, tal a toxicidade dos metabólitos das proteínas e dos aminoácidos.

$$\underset{\text{(metionina)}}{2C_5H_{11}NO_2S} + 15O_2 \geq 4(H^+) + 2SO_4^{=} + \underset{\text{(uréia)}}{CO(NH_2)2} + 7H_2O + 9CO_2$$

Nota-se que os aminoácidos mais tóxicos são aqueles que têm enxofre (S) na molécula, produzindo H_2SO_4 (metionina, cistina e cisteína) e acidose metabólica grave. Nota-se também que o metabolismo dos aminoácidos das proteínas exige grande quantidade de oxigênio, portanto, um quociente respiratório elevado que significa alto consumo energético e agressão demasiada para organismos anêmicos e combalidos. Enfim, além da uréia, gera-se grande quantidade de água endógena e ácidos voláteis que precisam ser eliminados pela função pulmonar. Os outros aminoácidos, como a lisina, produzem HCl e outros como os fosfoésteres e os ácidos nucléicos produzem ácido fosfórico (H_3PO_4).

A uréia acumulando-se intra e extracelularmente, por difusão homogênea, em geral acima dos 200mg/dl, passa a desnaturar as proteínas (reações de carbamilação), ocorrendo, particularmente, com a albumina, a hemoglobina e a insulina, e atinge enzimas como as ATPases. Carbamilação significa ineficiência funcional da proteína em questão, com o conseqüente sintoma urêmico. A carbamilação das proteínas ocorre através do ácido isociânico, segundo as reações que sofre a uréia:

1. $(NH_2)2\ CO$ (uréia) > $NH_4^+ + NCO^-$ (cianato)
2. HNCO (ácido isociânico) + $Hb{-}NH_2$ (hemoglobina) > $Hb{-}N{-}C{-}NH_2$ HO (hemoglobina carbamilada) = HO (Hb-carb)
3. (Hb-carb) + H_2O > carbamil valina > valina hidantoína (para dosar)

A dosagem do nível de hemoglobina carbamilada[18] é de alto interesse clínico, pois, se elevada, indica uremia descompensada e diálise inadequada. A dosagem da Hb-carb é mesmo superior aos índices de diálise normalmente utilizados. O maior problema é a complexidade do método (HPLC) usado que se baseia na dosagem da valina-hidantoína produzida pela Hb-carb (normalmente menor que 175µg/g Hb), e como a Hb glicosilada indica, no diabetes, mau controle da glicemia, na uremia indica mau controle pela diálise. Por outro lado, a amônia e o cianato, provindos da uréia, intracelularmente lesam as células e inibem os citocromos das mitocôndrias, inibindo a produção energética, com suas conseqüências.

FOSFATO E HIPERPARATIREOIDISMO SECUNDÁRIO

Os níveis elevados de hormônio paratireóideo (PTH) na uremia, para a maioria dos autores, representam a mais danosa das toxinas urêmicas[8], por si só e por ação sinérgica com outros fatores. O C-terminal do PTH, sem atividade na calcemia, afeta a migração leucocitária. Por outro lado, o N-terminal com vida média muito mais curta e com atividade na calcemia ocorre em níveis elevados muito precocemente na IRC. Havendo falta de produção de $1,25(OH)_2D_3$ na IRC, as glândulas paratireóides deixam de ser antagonizadas, passando a produzir PTH em níveis elevados, gerando atividade osteoclástica acelerada, conduzindo à osteíte fibrosa e à osteodistrofia, o que incapacita enorme porcentagem dos urêmicos, mesmo quando adequadamente dialisados. Assim, o PTH é considerado uma das piores toxinas urêmicas, com inúmeras ações maléficas.

O excesso de PTH é responsável inclusive pela deterioração mental, ao lado do estado préconvulsivo do urêmico. Na uremia, devido ao hiperparatireoidismo, o eletroencefalograma (EEG) apresenta várias anomalias originárias do acúmulo de cálcio intracelular no sistema nervoso, culminando com o estado de **desequilíbrio urêmico** observado após certas hemodiálises muito eficientes ou intempestivas. Note-se que estas alterações do EEG ocorrem também no **hiperparatireoidismo primário** relacionadas com o íon cálcio e o N-terminal do PTH. Ao mesmo tempo, o excesso de PTH contribui para a piora da anemia do urêmico, independentemente dos níveis de **eritropoetina** (EPO), provocando fibrose e atrofia da medula óssea, além de diminuir a vida média das hemácias. O excesso de PTH está também relacionado ao **prurido urêmico** que melhora após paratireoidectomia (PTX).

O nível elevado e rebelde de fosfato está relacionado à subdiálise, ao excesso de fosfato na dieta, além do próprio excesso de PTH. O fosfato elevado, associado ao nível baixo de cálcio, estimula cada vez mais as paratireóides com maiores níveis de PTH, deteriorando vários órgãos e sistemas, particularmente os ossos, os vasos e o miocárdio, até o ponto da irreversibilidade. Assim, um produto $Ca \times P \geq 65$ determina também indesejada calcificação metastática na pele, conjuntiva, cristalino ou vasos. Enfim, o hiperparatireoidismo está relacionado com neuropatia urêmica, fraqueza, diminuição da massa muscular, desnutrição, deficiência de L-carnitina, disfunção leucocitária[19], diminuição de migração neutrofílica, de quimiotaxia e de fagocitose, levando ao aparecimento de infecções[20].

Os linfócitos e a imunidade celular são também comprometidos pelos elevados níveis de PTH e de fosfato. O PTH e a calcificação a ele associada causam impotência, diminuição da produção de testosterona e calcificação dos testículos, da hipófise e do hipotálamo.

MIOCARDIOPATIA URÊMICA

Possivelmente pelo próprio PTH, como fator miocardiotóxico mais importante, o urêmico vai apresentar bem cedo (em 13 dias no rato nefrectomizado) fibrose intersticial no miocárdio, específica da uremia e com grandes possibilidades de reversão pelo transplante renal bem-sucedido, chamada **fibrose difusa intermiocardiocítica**[12-14], com características diferentes da fibrose hipertensiva ou da diabética e chamada pelos patologistas de fibrose "honey comb", afetando o ventrículo direito e depois o esquerdo, causando problemas na elasticidade e no estímulo elétrico do miocárdio, culminando na piora da função diastólica, já presente pela hipertrofia miocárdica inicial e precoce da uremia.

Devemos salientar que os eventos cardiovasculares são as principais causas de morte do paciente urêmico. As alterações metabólicas da síndrome urêmica hipertrofiam as células intersticiais perivasculares do miocárdio, promovendo a expansão do aparelho de Golgi e extrusão do colágeno que se deposita no interstício. O fator causal é uma toxina urêmica desconhecida, pois a ativação das células intersticiais ocorre até com 13 dias de nefrectomia subtotal. Inicialmente, o fator tóxico foi associado à aldosterona, que tem receptores nos fibroblastos cardíacos. Mas, os inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA) (ramipril) falham em impedir o aparecimento da fibrose. Hoje, mesmo sem provar a presença de receptores, sabe-se, com certeza, que o fator causal seria o PTH ou o PTHrp (peptídeo associado ao PTH) por experimentos com paratireoidectomia e por infusões de paratormônio, em ratos de experiência.

FATORES URÊMICOS DA HIPERTENSÃO ARTERIAL

A maioria dos pacientes urêmicos apresenta maior ou menor grau de hipertensão arterial, tanto volume como hormônio (sistema renina-angiotensina-aldosterona, SRAA) dependente. Quanto ao aspecto da dependência do volume, este se refere ao sódio intercambiável e ao volume do espaço extracelular. Há uma relação altamente significativa entre volemia e resistência periférica

total. Mas, nem todos os pacientes se enquadram neste comportamento. Observa-se uma relação volume *versus* pressão significativa em pacientes com hipertensão renopriva, sugerindo a presença de um fator renal que modifica a relação volume *versus* pressão. Ocorre aumento da sensibilidade pressórica relacionada à ingestão de sódio nos urêmicos. Esta hipersensibilidade deve estar relacionada ao acúmulo de cálcio citosólico na maior parte das células do organismo, especialmente no sistema nervoso, miocárdio, endotélios e musculatura lisa dos vasos.

É clara na literatura a relação entre PTH e hipertensão, mesmo sem uremia, e a hipertensão arterial nos pacientes não urêmicos com hiperparatireoidismo primário e a atenuação ou o retardamento da hipertensão arterial pela paratireoidectomia. Com ou sem uremia, a hipertensão no hiperparatireoidismo ocorre ao lado da elevação do cálcio citosólico. Por outro lado, foi descoberto um peptídeo produzido pelas glândulas paratireóides com atividade parácrina chamado PTHrp, inclusive em neoplasias que cursam com hipercalcemia (exemplo, mieloma múltiplo), sendo este peptídeo o fator hipertensivo relacionado com o PTH e o cálcio, como discutido antes. Seriam, porém, múltiplos os fatores humorais aqui envolvidos.

Assim, é preciso verificar o estado do sistema renina-angiotensina-aldosterona, que pode estar mais ou menos ativado pelo grau de expansão do volume extracelular: à medida que esta cresce, a ativação diminui. Considera-se que ocorre uma "down regulation" dos receptores vasculares para a angiotensina II, o que determina uma elevação crônica do seu nível sérico no urêmico, podendo elevar a pressão arterial via "slow pressor pathway" e, além de tudo, provocar também hipertrofia da parede vascular, com maior reatividade aos vários estímulos. Esta reatividade vascular aumentada ocorre também por ação da endotelina I produzida pelos endotélios, em detrimento da vasodilatação induzida pelo fator relaxante derivado do endotélio (EDRF) ou óxido nítrico (NO) produzido pelos mesmos endotélios.

Este último fator é produzido pela ação do NO-sintase endotelial sobre o substrato de arginina. Esta enzima pode, inclusive, estar inibida pela "assimetric dimethyl arginine" (ADMA), presente nos urêmicos em pequena quantidade, que pode, porém, ser suficiente para o aumento do tônus vascular nestes pacientes. Enfim, é preciso levar em conta também o sempre presente fator: hiperatividade simpática, com ou sem aumento da noradrenalina circulante, podendo-se reverter a hipertensão e a hiperatividade simpática pela nefrectomia bilateral. Assim, o rim precisa ser visto como produtor de substâncias pressóricas e, também, de fatores vasorrelaxantes.

As prostaglandinas PGE_2 e PGI_2 estão aumentadas na urina dos urêmicos, provavelmente como fatores que contrabalançam os efeitos dos sistemas vasoconstritores. Neste setor de fatores relaxantes encontra-se o fator FNA, também com nível plasmático elevado nos urêmicos, diretamente relacionado com a expansão do volume extracelular. Há também elevação do nível do fator natriurético hipotalâmico ou "digitalis-like" que, igualmente relacionado com a expansão do volume extracelular, inibe a atividade da Na^+-K^+-ATPase das células em geral, inclusive das hemácias, diminuindo a extrusão do sódio celular e contribuindo para a hiper-reatividade vascular.

Concluindo, note-se que o FNA é o principal fator da poliúria e da natriurese da insuficiência renal crônica, na fase compensada, e que tem a secreção acelerada mesmo na fase final quando não há mais diurese, podendo ser o principal fator ao lado do NO responsável pelas hipotensões nas hemodiálises.

DISTÚRBIOS LIPÍDICOS NA UREMIA

Vários estudos na literatura têm demonstrado que a elevada mortalidade cardiovascular na uremia está associada a níveis elevados dos lípides séricos[10,11].

O colesterol não se apresenta anormal, a não ser se analisado nas suas formas HDL e LDL. O HDL-colesterol está freqüentemente reduzido, principalmente o HDL-2, enquanto o LDL, o IDL e o VLDL-colesterol estão aumentados. O LCAT (lecitina colesterol aciltransferase), enzima necessária para a maturação do HDL, está reduzida na IRC final. A conseqüência é a redução de todos os tipos de HDL-colesterol. Os triglicérides estão aumentados na maioria dos pacientes dialisados ou não, em todas as frações lipoprotéicas.

As lipoproteínas apoA-I e A-II, associadas ao HDL, estão diminuídas na uremia, enquanto as apoB estão aumentadas. Por outro lado, constata-se uma elevação das Lp(a), que são lipoproteínas "LDL-like", com grande homologia com o plasminogênio, sendo fator de risco coronariano importante. O ácido nicotínico é uma das poucas drogas que podem reduzir o nível das Lp(a), lembrando-se aqui uma pró-droga do ácido nicotínico de grande valor no controle das Lp(a), o niceritrol. Saliente-se que a causa da hiperlipidemia é multifatorial.

A taxa catabólica lipoprotéica está reduzida na uremia por redução da atividade da lipase lipoprotéica (LPL) e aumento da concentração da

AC-III (inibidor específico da LPL), sendo também fator importante o hiperparatireoidismo secundário, o déficit de L-carnitina e a resistência à insulina na uremia.

A hiperlipidemia não é corrigida pela diálise, sendo mais elevados os seus níveis na CAPD, devido às altas taxas de absorção de glicose e à perda transperitoneal do HDL. Os produtos da peroxidação lipídica estão aumentados no plasma dos pacientes urêmicos, dialisados ou não, sendo bem maiores nos dialisados com cuprofano. Estas alterações lipídicas aumentam a fluidez das membranas celulares. As Lp(a) estão elevadas duas a três vezes na uremia, podendo chegar a seis vezes na síndrome nefrótica. Os níveis elevados nos hemodialisados e na CAPD podem sê-lo pela superprodução hepática. Os pacientes com níveis elevados de Lp(a) (> 30mg/dl) têm maior risco cardiovascular e aterogênese acelerada. Possivelmente, o niceritrol, a hemodiálise de alta eficiência e, talvez, os inibidores da ECA constituem-se nos recursos para diminuir os níveis plasmáticos das Lp(a).

INFECÇÕES NA UREMIA

A mortalidade por infecções nos urêmicos chega aos 36%, ultrapassando os níveis de mortalidade cardiovascular (15%). A infecção, especialmente pelo *Staphylococcus aureus* e por tuberculose, é importante, principalmente no jovem, até os 41 anos de idade. Na Espanha, a tuberculose tem sido relatada ser até oito vezes maior nos pacientes dialisados. Assim, sabe-se que as infecções são conseqüência da deterioração da imunidade do paciente e associada à desnutrição.

O déficit imunitário se refere ao déficit da função neutrofílica, dos monócitos e dos linfócitos. Os neutrófilos têm sua função prejudicada pela sobrecarga de ferro e/ou baixo nível do zinco. A sobrecarga de ferro (ferritina maior que 500mg/dl) provoca infecção por *Yersinia* e *Listeria*, bactérias não produtoras de sideróforos. O ferro inibe a fagocitose pelos neutrófilos. A terapia pela Epo-rH, diminuindo o nível de ferro, melhora a fagocitose pelos PMN (neutrófilos).

Por outro lado, tem sido demonstrado prejuízo da motilidade dos neutrófilos pelo déficit de zinco. Com relação aos linfócitos, nos hemodialisados ocorrem principalmente: linfopenia, anergia cutânea, respostas anormais aos mitógenos e aos antígenos T dependentes, expressão anormal dos genes das citocinas e do IL-2r, resposta alterada às infecções virais e aumento das infecções por tuberculose. De modo geral, as perturbações imunitárias dos linfócitos T e B ocorrem por aumento do cálcio citosólico das células devido ao hiperparatireoidismo secundário acelerado e até mesmo pelos níveis elevados de fosfato.

Na uremia ocorre um fator plasmático inibidor do C3 e do C5, aumento da fluidez das membranas das células imunitárias pela peroxidação lipídica, com déficit na migração neutrofílica, além do déficit na fagocitose. Por outro lado, recentemente foi isolada no soro urêmico uma nova proteína de 28kd, chamada de proteína inibidora dos granulócitos (GIP), responsável pela inibição quimiotáxica, do "uptake" da glicose pelos granulócitos e também da fagocitose. Além dela, há outras proteínas inibidoras: A DIP (14,4kd) ("degranulation inhibiting protein") responsável pela diminuição da lactoferrina, da colagenase e da gelatinase dos neutrófilos. Uma terceira proteína inibidora dos leucócitos é a GIP-II (9,5kd), inibidora das reações de oxidação ("oxidative burst"), sendo homóloga a um fragmento da β_2-microglobulina, responsável pela diminuição do "intracelular killing".

MOLÉCULAS MÉDIAS (MM)[3,4,20,21]

Na década de 70, Bergström e cols[4] demonstraram que muitos sinais e sintomas urêmicos, principalmente neurológicos e hematológicos, eram causados por acumulação plasmática e tecidual de solutos urêmicos de peso molecular de 300 a 2.000 daltons (filtração pelo sephadex G50 e cromatografia) a que chamaram de **moléculas médias**. Na cromatografia estes solutos apareciam sob a forma de picos, com toxicidades específicas. Entretanto, o pico 7 é miocardiotóxico, o pico P seria tóxico para a medula óssea, e assim por diante. A maioria destes solutos são glucoronides de peso molecular menor que 450 daltons. No grupo das MM, são tóxicas as **guanidinas**[22].

São 13 os compostos que podem ser isolados no soro urêmico, onde se encontram aumentados: ácido guanidinossuccínico (GSA), creatina, creatinina, guanidina, metilguanidina, taurocianina, arginina, homoarginina, ácido arginínico, ácido gama-guanidinobutírico e β-guanidinopropiônico. O GSA está relacionado ao sangramento urêmico por inibir o fator III plaquetário e é facilmente controlado pelas diálises. A metilguanidina e a guanidina (1.250 daltons) estão relacionadas à polineuropatia urêmica e às convulsões. Mas, em resumo, são centenas os solutos já identificados que se acumulam no plasma urêmico: uréia, creatinina, oxalatos, metilamônia, AMP-cíclico, mioinositol, guanidinas, glicóis, fenóis, indóis, ácidos alifáticos, ácidos aromáticos, aminas

alifáticas e aromáticas, purinas, pirimidinas, ácido úrico, hormônios intactos e restos hormonais, enzimas, citocinas e β_2-microglobulina[23].

Na adequação das diálises é importante poder oferecer um mínimo de "clearance" de moléculas médias, em geral mais ligado ao componente convectivo (UF e arraste) das diálises e das membranas empregadas. Este "clearance" pode ser medido pelo "clearance" da vitamina B_{12} (1.355 daltons) e principalmente pelo "clearance" das β_2-microglobulinas (11,5kd). As β_2-microglobulinas são moléculas tóxicas[24,25] que se originam do catabolismo celular (endotélios, monócitos, macrófagos) de onde se liberam pela ação das interleucinas – IL-1-β e fator de necrose tumoral – TNF-α provindos também daquelas células, inclusive pela interação deles com as membranas da diálise. As β_2-microglobulinas acumulam-se no sistema osteoarticular, causando a amiloidose das diálises[26] e nos ossos se glicosilam, formando os AGE[23] ("advanced glycosilated end products") que induzem maior produção das IL-1 e do TNF-α, inflamando o tecido ósseo, estimulando sua reabsorção e inibindo a formação do osso novo, contribuindo na gênese da osteodistrofia da uremia.

SOLUTOS URÊMICOS QUE SE LIGAM ÀS PROTEÍNAS DO PLASMA

Ultimamente tem sido cada vez mais importante a existência de compostos químicos, provindos do metabolismo das proteínas que se ligam à albumina do plasma, e que são eliminadas no líquido efluente das diálises peritoneais ligadas às proteínas que são por aí perdidas. Para Toru Shinzato e cols[16], o principal desses solutos seria o ácido propilurofânico, que pode ser retirado pela diálise peritoneal ou ser diminuído por alterações na composição protéica da dieta. Lowrie & Lew[1] concluíram que a menor morbidade ou mortalidade dos pacientes com albumina sérica > que 4g/l seria devida à adsorção e à neutralização dos solutos tóxicos pela albumina plasmática.

Dos vários solutos sob investigação destacam-se o 3-carboxi-4-metil-5-propil-2-furanpropiônico (CMPFA)[7], o indoxil-sulfato[17] e o ácido hipúrico. Todos eles se destacam pela capacidade de deslocar a teofilina e a hidantoína da sua ligação com a albumina sérica. O CMPFA foi isolado por Mabuchi & Nakahashi[6], sendo o pico P das moléculas médias o causador da anemia[6,7,24,25] ou da sua piora, inibindo a massa eritróide da medula óssea. O indoxil-sulfato é um estimulante da esclerose glomerular. Provém do metabolismo do triptofano da dieta que forma indol no trato digestivo. As bactérias do intestino grosso agem sobre o indol, formando o indoxil-sulfato, que é reabsorvido e excretado na urina. Na uremia é retido, deteriorando a função renal residual dos urêmicos via esclerose glomerular. Este soluto no cérebro e no líquor concorre pela disfunção cerebral e mental do urêmico. Um agente adsorvente, o AST-120, retira-o do intestino e elimina-o nas fezes, impedindo que o fígado produza o indoxil-sulfato, controlando, dessa forma, a esclerose glomerular dos ratos de experimentação[17]. Estes solutos provêm da proteína das dietas, principalmente das carnes e dos peixes. São plenamente ligados às proteínas séricas e somente são eliminados pela diálise peritoneal intermitente (DPI) e pela CAPD, associados às proteínas perdidas através da membrana peritoneal, não sendo removidos nem pela ultrafiltração.

A experiência definitiva foi feita por Stange e cols[27], que realizaram hemodiálises com a adição de albumina do dialisado. O dialisado com a albumina nele dissolvida consegue remover, por recirculação e adsorção, os solutos urêmicos igualmente presos à albumina do plasma, através da membrana dialisadora.

OUTROS SOLUTOS URÊMICOS

Homocisteína – é um aminoácido formado como intermediário pela dimetilação da metionina e implicado no risco coronariano do urêmico. O excesso de homocisteína ocorre pelo déficit de ácido fólico. Note-se que apenas 5mg por dia de ácido fólico controlam a homocisteína, transformando-o em metionina de novo.

Fator D do complemento – está aumentado 10 vezes na uremia, com aumento da atividade proteolítica, agindo num substrato de tripsina. Um dos seus inibidores é o mesilato de nafamostato, que pode ser usado como anticoagulante em vez da heparina.

AGE ("advanced glycosilated end products"[23]) – são solutos de 2 a 6kd que resultam da glicolisação não enzimática da glicose com as moléculas protéicas, que se acumulam principalmente nos vasos dos pacientes diabéticos, sabendo-se hoje que se acumulam na uremia. A função renal normal elimina os AGE, como também o transplante renal bem-sucedido. Os AGE promovem extensas ligações cruzadas com as proteínas e induzem respostas celulares complexas através dos receptores AGE específicos, induzindo aumento da permeabilidade vascular, ativação dos macrófagos, produção de citocinas (TNF-α e IL-1-β) e

fatores de crescimento: derivado de plaquetas (PDGF) e de insulina (16F-1). Todos os eventos vasculares poderiam ser prevenidos *in vivo* pela administração de um inibidor AGE específico, a aminoguanidina.

Déficit de L-carnitina – em geral, após três anos de hemodiálise, podem ocorrer sinais e sintomas como astenia, câimbras, arritmias relacionados ao déficit de L-carnitina[28]. Esta age na β-oxidação (acetil-CoA), diminuindo os triglicérides, aumentando o HDL-colesterol e melhorando os sintomas da musculatura esquelética e cardíaca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LOWRIE EG, LEW NL: Commonly measured laboratory variables in hemodialysis patient. Relationships among them and to death risk. *Semin Nephrol* 12:276-283, 1992.
2. LOWRIE EG, LAIRD NM, PARKER TF, SARGENT JA: Effect of the hemodialysis prescription on patient morbidity: report from the National Cooperative Dialysis Study. *N Engl J Med* 305-1176-1181, 1981.
3. BERGSTRÖM J, FÜRST P: Uremic toxin, in *Replacement of Renal Function by Dialysis*, edited by Drükker W, Parsons FM, Maher JH, Boston, Nijhoff, 1983, pp 354-390.
4. BERGSTRÖM J, FÜRST P, ZIMMERMAN L: Uraemic middle molecules exist and are biologically active. *Clin Nephrol* 11:229-238, 1979.
5. CHARRA, B: Control of blood pressure in long slow hemodialysis. *Blood Purif* 12:252-258, 1994.
6. MABUCHI H, NAKAHASHI H: Isolation and characterization of an endogenous drug-binding inhibitor present in uremic serum. *Nephron* 44:277-281, 1986.
7. NIWA T, YAZAWA T, MAEDA K, YAMADA K: Efficient removal of albumin-bound furancarboxylic acid, and inhibitor of erythropoiesis by CAPD. *Nephron* 56:241-245, 1990.
8. FEINFELD DA: The role of parathyroid hormone as a uremic toxin. Current concepts. *Semin Dial* 5:48-53, 1992.
9. LEEUW PW: Pathophysiology of hypertension in patiens on renal replacement therapy. *Blood Purif* 12:252-258, 1994.
10. KAYSEN GA: Hyperlipidemia of chronic renal failure. *Blood Purif* 12:60-67, 1994.
11. NAKAHAMA H, NAKANISHI T, SHIRAI D: Niceritrol reduces plasma lipoprotein(a) levels in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Ren Fail* 15(2):189-193, 1993.
12. PARFREY PS, HARNETT JD: Clinical aspects of cardiomyopathy in dialysis patients. *Blood Purif* 12:267-276, 1994.
13. RAMBAUSEK M, AMANN K, RITZ E: Structural causes of cardiac dysfunction in uremia. *Ren Fail* 15(3):421-428, 1993.
14. SCHNEIDER J, MALL G, HUTTER J, LUNDIN P, RITZ E: Diffuse intermyocardiocytic fibrosis in uremic patients. *Nephrol Dial Transplant* 5:39-44, 1990.
15. GULYASSY PF: Reversing uremic toxicity. *Semin Dial* 7:232-235, 1994.
16. SHINZATO T, MORITA H, MAEDA K: Metabolism and kinetics of propylurofuranic acid in end-stage renal failure. *ASAIO* 1:94-96, 1994.
17. NIWA T, ISE M, MIAYAZAKI T: Progression of glomerular sclerosis in experimental ureim rats by administration of indole, a precursor of indoxyl sulfate. *Am J Nephrol* 14:207-212, 1994.
18. KWAN JTC, CARR EC, NEAL AD, BENDING MR: Carbamylated haemoglobin urea kinetic modelling and adequacy of haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 6:38-43, 1991.
19. KELLY CJ: T cell function in chronic renal failure and dialysis. *Blood Purif* 12:60-67, 1994.
20. HAAG-WEBER M, HÖRL WH: Uremia and infection: mechanisms of impaired cellular host defense. *Nephron* 63:125-131, 1993.
21. GIOVANETTI S, BALESTRI PL, BARSOTTI G: Methylguanidine in uremia. *Arch Intern Med* 131:709-712, 1973.
22. De DEYN P, MARESCAU B, LOWENTHAL A: Guanidino compounds in uremic dialysed patients. *Clin Chem Acta* 157:143-150, 1986.
23. VLASSARA H: Serum advance glycosilation end products. A new class of uremic toxins? *Blood Purif* 12:54-59, 1994.
24. VANHOLDER R, de SMET R, RINGOIR S: Studies of protein bound substances in uremia. *ASAIO* 1:90-91, 1994.
25. DEL WICHE F, SEGAL G, ADAMSON J: Hematopoietic inhibitors in chronic renal failure. Lack of in vitro specificity. *Kidney Int* 29:641-648, 1986.
26. FLOEGE J, SCHAFFER J, KOCH KM, SHALDON S: Dialysis related amyloidosis. A disease of chronic retention and inflamation? *Kidney Int* 42(Suppl 38):S78-S85, 1992.
27. STANGE J, MITZNER S, KLINKMAN H: Dialysis against a recycled albumin solution enables the removal of albumin-bound toxins. *Artif Organs* 17:809-813, 1993.
28. WANNER C, HÖRL WH: Carnitine abnormalities in patients with renal insufficiency. *Nephron* 50:89-102, 1988.

32

HIPERTENSÃO ARTERIAL ESSENCIAL COMO CAUSA DE INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA

André Luís Balbi
Luís Cuadrado Martin
Pasqual Barretti
Francisco Habermann
Roberto Jorge da Silva Franco

INTRODUÇÃO

O V Registro Brasileiro de Diálise e Transplante[1] classifica a angiosclerose hipertensiva como segunda causa mais freqüente de insuficiência renal crônica terminal em nosso meio, responsável por 22% dos casos registrados. Esta doença supera o *Diabetes mellitus* como etiologia primária, que aparece em terceiro lugar com 17%, e somente é inferior às glomerulopatias com 26% dos casos. Nos Estados Unidos[2], a nefrosclerose hipertensiva é a segunda causa mais comum de insuficiência renal crônica terminal, sendo superada apenas pela nefropatia diabética.

EPIDEMIOLOGIA

Dados epidemiológicos pouco precisos subestimam a hipertensão arterial (HA) "benigna" como causa básica e fator de risco para o desenvolvimento de insuficiência renal[3,4].

A HA acomete predominantemente os órgãos-alvo providos de alto fluxo sangüíneo e circulação do tipo terminal, tais como cérebro, coração e rins. Na HA "benigna", evidências epidemiológicas estabelecem a associação linear e causal entre a elevação pressórica e a ocorrência de acidentes vasculares encefálicos, insuficiência cardíaca e, em menor escala, de doença arterial coronariana[5,6]. Outras evidências relacionam HA grave e retinopatia de Keith-Wagener grau III ou IV com deterioração rápida da função renal e quadro histológico caracterizado por endarterite obliterante e arteriolite necrosante, o que se convencionou denominar HA "maligna"[7].

As evidências epidemiológicas que podem implicar a HA "benigna" como fator de risco para o desenvolvimento de insuficiência renal podem ser: a) oriundas de relatórios de companhias de seguro; b) baseadas nas coortes populacionais, tais como as de Framingham ou Baltimore; ou c) nos estudos terapêuticos para a HA.

Relatórios de companhias de seguro

Estes relatórios tiveram o grande mérito de associar níveis pressóricos à mortalidade por doença hipertensiva. No entanto, não se especificou se esta mortalidade foi devido a causa renal, cardíaca ou cerebrovascular, sendo os dois últimos responsáveis pela grande maioria dos óbitos[8]. Deste modo, estes estudos tornam-se impróprios para testar a hipótese de que a HA esteja ou não associada ao desenvolvimento de insuficiência renal.

Coortes populacionais

Os dados populacionais de Framingham trouxeram inúmeras informações relevantes a respeito da associação de HA e doenças cardiovasculares. Entretanto, em razão da ocorrência de pequeno número de casos de insuficiência renal terminal naquela população, estes estudos pouco evoluíram no que se refere à associação entre fatores de risco e desenvolvimento da disfunção renal[9].

O "Baltimore Longitudinal Study on Aging" (BLSA) demonstrou correlação entre o aumento da pressão arterial (PA) média e o declínio da depuração de creatinina, avaliada em um período mínimo de pelo menos oito anos[10]. Esta correlação se manteve mesmo com a exclusão dos indivíduos com quaisquer doenças renais ou do trato urinário e dos hipertensos com medicação anti-hipertensiva. Quando os hipertensos sem medicação anti-hipertensiva foram excluídos, a correlação se perdeu, sugerindo que a aceleração do declínio da função renal foi decorrente do impacto exercido pelos indivíduos com PA mais elevada. A idade e a PA influenciam no declínio da função renal no decorrer do tempo, de modo independente, como demonstraram diversas análises.

No estudo de Washington DC (1974) para a detecção do câncer, "Clue Study", a PA também foi avaliada. Doze anos após, 4.025 moradores de Washington participaram do "Atherosclerosis Risk In Communities" (ARIC), que incluiu a dosagem de creatinina sérica. Destes, 1.410 incluíam-se na casuística do "Clue Study". Encontrou-se correlação entre a creatinina sérica atual e os níveis pressóricos em 1974, mesmo considerando-se níveis "normais" de PA. O risco de aumento da creatinina após 12 anos foi 1,5 vez maior para cada 20mmHg de acréscimo nos valores de PA em 1974. A creatinina normal ou alterada não se associou à PA atual[11]. Os achados destes estudos confirmam a hipótese de que acréscimos na PA podem produzir lesão renal, mesmo nos níveis pressóricos considerados normais.

Estudos terapêuticos para a HA

Se a hipertensão é fator de risco para o desenvolvimento de insuficiência renal, a redução artificial da PA pela terapêutica anti-hipertensiva deve reduzir o risco de desenvolvimento de insuficiência renal. A análise destes ensaios sugere que os anti-hipertensivos reduzem o risco de doença renal; todavia, os dados são controversos por não serem dirigidos para este objetivo específico, pelos critérios díspares para definir insuficiência ou lesão renal e pelo pequeno número de eventos renais ocorridos[5,6,12]. Os resultados do "Hypertension Detection and Follow-up Program"[13] sugerem que o tratamento anti-hipertensivo possa deter a evolução da insuficiência renal associada à HA, bem como evitar o seu aparecimento na população hipertensa. Assim, a nefrosclerose arteriolar acompanha o processo de envelhecimento humano e é acelerada pela HA; entretanto, a ocorrência de insuficiência renal crônica terminal entre a população hipertensa é um fenômeno relativamente incomum.

Alguns subgrupos de hipertensos apresentam predisposição mais acentuada ao desenvolvimento de doença renal progressiva: a) os que apresentam elevações mais marcadas de PA; b) os negros, os idosos e os indivíduos de sexo masculino que evoluem com maior freqüência para insuficiência renal, apesar de níveis pressóricos comparáveis aos brancos, jovens e de sexo feminino, ou com controle pressórico considerado adequado[14].

Nos Estados Unidos, a incidência de insuficiência renal é quatro vezes maior para negros em relação aos brancos; esta diferença está relacionada, em grande parte, à maior incidência de nefrosclerose hipertensiva. Nível sócio-econômico baixo, duração e intensidade da hipertensão e presença concomitante de diabetes são fatores de risco para o desenvolvimento de insuficiência renal associada à hipertensão primária. Todos estes fatores estão presentes com maior freqüência entre indivíduos de raça negra. Assim, é possível que a maior prevalência de nefrosclerose hipertensiva entre os negros seja explicada por estes co-fatores. Um trabalho que avaliou a prevalência de insuficiência renal em negros mostrou que, mesmo quando corrigidos para estes co-fatores, o risco relativo de insuficiência renal devido à hipertensão em negros com relação aos brancos reduziu-se de 5 a 6 vezes para 4 a 5 vezes, mostrando que a raça negra tem maior tendência ao desenvolvimento de nefrosclerose hipertensiva, independente de qualquer co-fator[14,15].

A elevação da creatinina plasmática provoca no hipertenso um aumento substancial no risco de morte, independente da insuficiência renal em si, uma vez que pacientes com disfunção renal de intensidade semelhante devido a outras doenças renais apresentam prognóstico sensivelmente melhor[15,16]. Além disso, as causas de óbito entre os hipertensos com insuficiência renal não são, na grande maioria dos casos, diretamente relacionadas à síndrome urêmica, mas sim de etiologia cardiovascular. Dessa forma, a elevação dos níveis de escórias nitrogenadas que ocorre na HA primária é resultante de lesão vascular renal e, portanto, marcador de lesão vascular *senso latu*.

FISIOPATOLOGIA

Os mecanismos pelos quais a hipertensão provoca danos renais, levando à insuficiência renal crônica, não estão definidos. Diversas possibilidades têm sido levantadas:

Mecanismos genéticos

Em ratos Dahl sensíveis ao sal (raça de ratos que desenvolvem HA quando ingerem dieta rica em

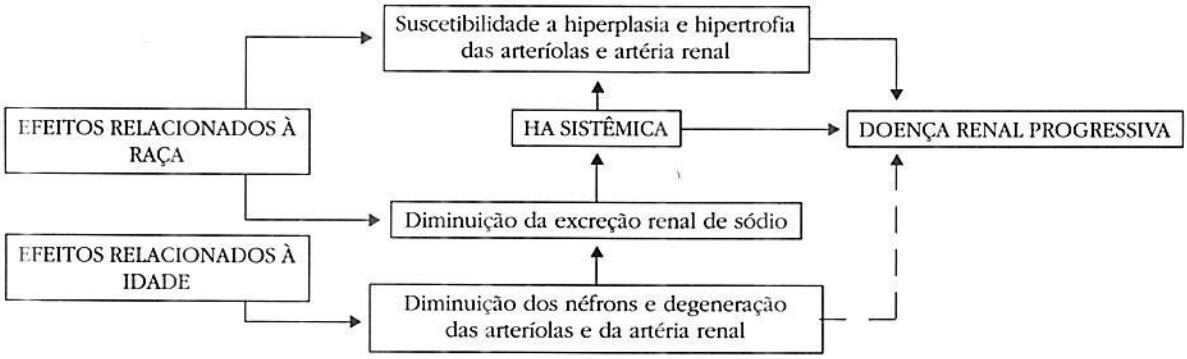


Figura 32.1 – Mecanismos genéticos relacionados à doença renal hipertensiva.

sal), assim como em humanos hipertensos negros, sugere-se que ocorra, por predisposição genética, um defeito na regulação da resistência vascular pré-glomerular com vasodilatação da arteríola aferente[17]. É possível que a interação de idade e fatores relacionados à raça possam exercer papel causal na doença renal hipertensiva (Fig. 32.1).

Mecanismos relacionados à diminuição de superfície filtrante glomerular

A alteração principal na gênese da HA essencial pode ser a diminuição da área de superfície filtrante (ASF) devido à redução do número de glomérulos e/ou diminuição na ASF por glomérulo, havendo retenção renal de sódio. Mais importante ainda, ocorre um aumento do fluxo plasmático e do ritmo de filtração por néfron isolado e da pressão capilar glomerular. Alguns destes eventos, isolados ou em combinação, produzem um declínio lento da função renal[18,19,20,21]. O aumento da pressão do capilar glomerular, iniciado a partir da hipertensão sistêmica, pode levar à esclerose glomerular que, por sua vez, diminui a ASF, perpetuando o círculo vicioso. Embora diversas evidências experimentais, em diferentes modelos animais[22], tenham mostrado que a preservação da hemodinâmica glomerular normal é fundamental para reduzir ou evitar a progressão do dano glomerular, a situação nos humanos ainda não está definida.

Mecanismos hemodinâmicos

Em modelos animais com características semelhantes à HA humana, tais como ratos espontaneamente hipertensos (ratos SHR)[23], demonstra-se que a hipertensão sistêmica não se transmite para o glomérulo devido a um aumento da resistência arteriolar. O mesmo ocorre em humanos com alta pressão de perfusão renal, através do aumento da resistência pré-glomerular na arteríola aferente[24] e/ou na artéria interlobular[25]. Dessa forma, na HA humana primária e em ratos SHR, o glomérulo fica protegido da elevação da PA. Teoricamente, um aumento causado por alterações estrutural e/ou funcional na resistência arteriolar aferente pode prevenir a hipertensão glomerular e ser nefroprotetora. Entretanto, este fato pode não ocorrer por três possíveis mecanismos: se o aumento na resistência for inadequado, se ocorrer vasoconstrição da arteríola eferente ou se a vasoconstrição renal for de intensidade suficiente para produzir isquemia renal levando à nefrosclerose[26]. Estudos de micropunção em ratos com ablação renal mostram pressão capilar glomerular elevada e lesões glomerulares predominando sobre as lesões da arteríola aferente, sugerindo que a hipertensão sistêmica possa ser transmitida para o glomérulo na presença de resistência arteriolar aferente reduzida, causando hipertensão capilar glomerular com eventual glomerulosclerose[20].

Mecanismos relacionados à isquemia glomerular

Pode ocorrer uma combinação de isquemia glomerular e hiperperfusão renal[27]. O colapso isquêmico de alguns glomérulos devido ao espessamento da íntima e do lúmen de pequenas artérias renais pode favorecer, em alguns pacientes, a vasodilatação compensatória de glomérulos remanescentes com hiperfluxo e a transmissão da PA elevada para dentro destes capilares glomerulares. Portanto, a perda da auto-regulação glomerular torna o glomérulo vulnerável aos efeitos da pressão capilar elevada[28].

Vasoconstrição renal primária

Alterações arterioloscleróticas são graves nos rins de pacientes hipertensos[29], o que é compatível com a hipótese da vasoconstrição renal primária[30]. Estudos recentes de vasos renais obtidos de

necropsias de adultos jovens hipertensos, vítimas de acidentes, mostram a íntima dos vasos arteriolares renais espessada[31]. Assim, a vasoconstrição renal primária pode levar tanto à HA devido à elevada ingestão de sal quanto à nefrosclerose.

Mecanismos relacionados a alterações metabólicas

Pode haver aparecimento de glomerulosclerose devido a alterações metabólicas envolvidas na aterosclerose, tais como dislipidemia, alterações na coagulação e resistência à insulina[27]. Dados experimentais, mas poucos dados clínicos, enfocam particularmente alterações no metabolismo das lipoproteínas como causa de dano glomerular[32].

Estudos experimentais sugerem que a hiperlipidemia, que freqüentemente acompanha a doença renal progressiva, contribui para a lesão glomerular. Duas principais linhas de evidências suportam esta hipótese: uma variedade de agentes farmacológicos tem reduzido os lípides circulantes, sendo associados com uma redução na lesão glomerular e melhora na função renal[33]. Na maioria destes estudos, a terapia foi administrada antes do desenvolvimento da lesão glomerular e a sua prevenção foi observada uniformemente. Além disso, a dieta hipercolesterolêmica isolada esteve associada com discreta lesão glomerular[34,35]. Entretanto, na presença de doença glomerular, hipertensão ou reduzida população de néfrons, a lesão pode ser agravada por excessiva ingestão de colesterol[34,36,37].

Tanto a dislipidemia quanto fatores vasoativos que regulam a PA influenciam o crescimento da célula glomerular[38]. Enquanto tem-se mostrado que a hipertensão pode piorar a lesão hiperlipidêmica, dados recentes sugerem que a hiperlipidemia pode influenciar a produção de fatores vasoativos envolvidos na manutenção do tônus vascular. Especificamente, a hipercolesterolemia reduz a produção de fatores dilatadores, enquanto a produção de fatores vasoconstritores apresenta-se, de modo relativo, aumentada[39]. Estudos recentes da microvasculatura renal de coelhos com dieta rica em colesterol indicam que a produção de prostaciclina está reduzida, sugerindo que a hipercolesterolemia modifica a produção vascular renal de eicosanóides vasoativos[40]. Aumento dos níveis de endotelina, vasoconstritor potente, foi observado em pacientes com aterosclerose e dislipidemia[41], o que foi correlacionado com aterosclerose extensa. Juntos, estes estudos sugerem que a hiperlipidemia pode modular a produção de substâncias vasoativas, tanto na microcirculação renal quanto na sistêmica.

A relação entre metabolismo dos carboidratos e dos lípides e HA foi estudada por Ferrari e cols[42]. Jovens normotensos com parentes hipertensos essenciais tendem a ter resistência à insulina e dislipidemia. Assim, uma história familiar de HA essencial pode coexistir com defeitos no metabolismo de carboidratos e lípides, que podem ser detectados num estágio precoce ou até mesmo antes do desenvolvimento dos altos níveis pressóricos[38].

A figura 32.2 sumariza as hipóteses levantadas.

CLÍNICA

São critérios clássicos para definir insuficiência renal crônica causada por HA benigna: a) história de HA prolongada; b) história familiar positiva para HA primária; c) presença concomitante de lesão em outros órgãos-alvo: retinopatia grau I ou II de Keith-Wagener e hipertrofia ventricular esquerda; d) início da hipertensão antes de qualquer lesão renal evidenciada e, a seguir, elevação lenta e progressiva dos níveis séricos de uréia e creatinina. A elevação do ácido úrico, na ausência de diuréticos, é um achado precoce da nefrosclerose e indica a presença de fluxo sangüíneo

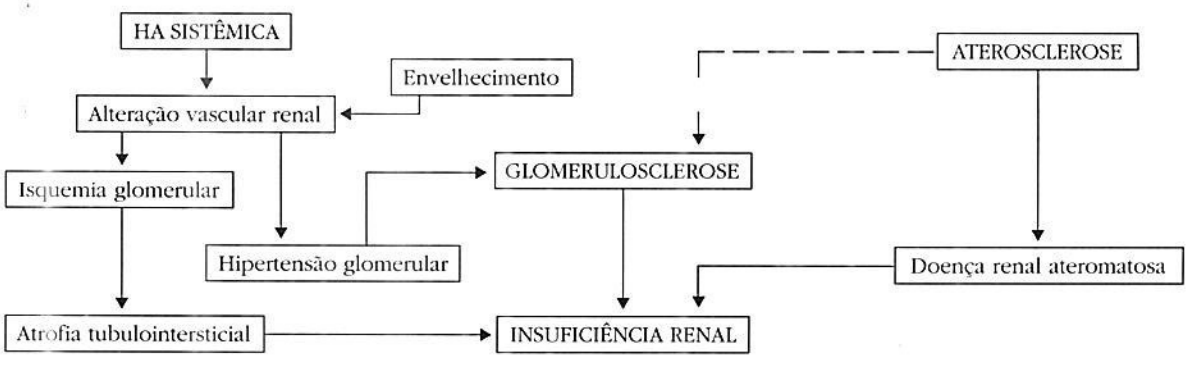


Figura 32.2 – Mecanismos prováveis de lesão renal na HA essencial.

renal reduzido pela vasculopatia hipertensiva. O sedimento urinário é inocente e a proteinúria é discreta, raramente excedendo 1g em 24 horas. Todavia, proteinúria em níveis nefróticos também podem existir. Os casos duvidosos devem ser submetidos à biopsia renal[27].

O diagnóstico diferencial deve ser feito com as glomerulopatias primárias e a doença isquêmica renal devido à obstrução aterosclerótica das artérias renais ou embolia arterial[27].

É de fundamental importância a documentação de que a hipertensão tenha precedido o desenvolvimento da insuficiência renal e/ou proteinúria, pois, na maioria dos casos, os portadores de doenças glomerulares primárias apresentam hipertensão no seu quadro clínico. Este dado, à primeira vista, parece facilmente disponível; entretanto, em um trabalho retrospectivo que avaliou 43 pacientes com diagnóstico clínico de insuficiência renal crônica terminal devido à nefrosclerose hipertensiva, este dado foi obtido em apenas 24 pacientes, dos quais, na verdade, 16 (67%) apresentavam evidência sugestiva de doença renal significante no início do seguimento clínico da HA[24].

A elevação abrupta de creatinina e a ausência completa de proteinúria devem alertar para a possibilidade da ocorrência de evento vascular agudo em artérias renais (trombose e embolia). No entanto, a elevação lenta e progressiva da creatinina não exclui completamente a possibilidade de doença vasculorrenal como causa ou agravante da deterioração da função. Deve-se enfatizar o diagnóstico diferencial com doença isquêmica renal, tendo em vista que esta é uma causa de disfunção renal passível de correção e potencialmente reversível, como extensamente documentado na literatura. Como a aterosclerose é uma doença sistêmica, a presença de lesões ateroscleróticas em uma região vascular pode predizer a ocorrência destas lesões em outros locais. Desse modo, a concomitância da elevação da creatinina sérica com a detecção de doença ateroclusiva em outros locais deve alertar para a possibilidade da presença de doença isquêmica renal[27,43].

Zuchelli e cols[27] avaliaram prospectivamente 56 portadores de disfunção renal com diagnóstico clínico presuntivo de nefrosclerose benigna segundo os seguintes critérios: 1. hipertensão de longa data com retinopatia grau I ou II; 2. hipertensão, sendo o único fator conhecido levando à insuficiência renal; 3. creatinina sérica maior ou igual a 1,8mg/dl ou depuração de creatinina menor ou igual a 40ml/min/1,73m^2 com rins contraídos e doença renal progressiva. A biopsia renal foi realizada em 40% e a angiografia renal em 25% dos pacientes, sendo encontrado nefrosclerose arteriolar benigna como causa para a insuficiência renal em apenas 40% dos casos. A grande maioria dos indivíduos, falsamente diagnosticados como tendo nefrosclerose arteriolar benigna, tinha doença renovascular ateromatosa causando isquemia renal por estenose ou embolização crônica por colesterol. Uma pequena fração dos casos apresentava outras doenças renais tais como glomerulopatias e nefropatias tubulointersticiais.

PATOLOGIA

Rins de pacientes com HA essencial tipicamente mostram alterações vasculares que são chamadas de nefroangiosclerose. Os vasos mais suscetíveis a estas alterações são as pequenas artérias (interlobulares e arqueadas) e arteríolas (predominantemente pré-glomerulares), como demonstrado em humanos[44,45] e em modelos de HA em ratos[17,46], apresentando duas características principais: hialinose arteriolar e espessamento fibroelástico intimal e medial.

A hialinose arteriolar tem papel central na patologia da HA[47]. Ultra-estruturalmente, a deposição de material hialino está associada com atrofia das células musculares, espessamento irregular da membrana e presença de material homogêneo denso que, na imunofluorescência, contém proteínas plasmáticas, tais como imunoglobulinas e complemento. Este material hialino parece ser composto de glicoproteínas misturadas com matriz de colágeno e lípides. A origem deste material não está bem estabelecida. São mecanismos possíveis: a filtração de substâncias do sangue e do plasma com poder de atravessar e lesar o endotélio da parede arteriolar[48]; a infiltração focal de componentes do sangue e fibrina no endotélio das arteríolas[49]; a degeneração ou necrose de células musculares com liberação de componentes para a camada média dos vasos[50]; ou a coalescência de quantidades aumentadas de material da membrana basal sintetizadas pelas células musculares e endoteliais[50,51]. O resultado é o espessamento da parede vascular que resulta em diminuição da luz, levando ao aumento da resistência periférica e à isquemia relativa das regiões mantidas por estes vasos.

As hiperplasias das células musculares e da íntima das artérias e das arteríolas estão geralmente associadas à elevação persistente ou aguda da PA e são vistas tanto na HA maligna (mais comumente), quanto na essencial. Ocorrem também em pequenos e grandes vasos e os mecanismos são desconhecidos, podendo estar envolvidos fatores de crescimento e/ou hiperatividade simpática.

Uma vez que as lesões vasculares da HA afetam primariamente as pequenas artérias e arteríolas, o glomérulo e as estruturas pós-glomerulares estão sujeitos a alterações isquêmicas e, mais tarde, à lesão hipertensiva direta[19,52]. O tufo capilar glomerular gradualmente sofre um grau de colapso, no qual o glomérulo parece sólido e o núcleo concentrado, apresentando hipercelularidade. A condensação é seguida por esclerose glomerular que inicialmente é segmentar e gradualmente se torna global. Há também alterações na cápsula de Bowman, com espessamento pela deposição de colágeno que se estende para o espaço urinário, particularmente na região hilar. Pode ocorrer esclerose global do glomérulo.

Os túbulos também são afetados pela isquemia e gradualmente tornam-se atróficos. Há colapso ou dilatação, com acúmulo de depósito hialino na luz tubular. Esta atrofia dos túbulos é acompanhada por aumento de colágeno intersticial e, às vezes, por infiltrado linfoplasmocitário, cujo significado não está definido.

PROGNÓSTICO E IMPLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

Há evidências de que o tratamento anti-hipertensivo possa reduzir ou mesmo deter a progressão da lesão renal. Em alguns subgrupos de pacientes, particularmente negros, idosos e indivíduos do sexo masculino, o declínio da função renal pode persistir apesar do controle pressórico satisfatório. Para estes subgrupos é possível que o nível de pressão de controle obtido com a terapêutica seja ainda elevado e, talvez, se fosse menor, os resultados seriam melhores[53]. Esta hipótese deve ser testada em estudos terapêuticos de grande abrangência. É possível que estes subgrupos apresentem desvios na hemodinâmica glomerular com hipertensão intraglomerular persistente, apesar da redução da pressão sistêmica devido à vasoconstrição arteriolar predominante em arteríola eferente. Nestes casos, é possível que o tratamento com drogas que induzam a vasodilatação predominante em arteríola eferente tais como os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA)[18,54,55,56] ou bloqueadores de cálcio não diidropiridínicos (como diltiazem ou verapamil)[57], que reduzem a pressão intraglomerular, possam deter a lesão renal. Já os bloqueadores de cálcio diidropiridínicos, por produzirem vasodilatação predominante em arteríola aferente, têm pouco efeito na hipertensão intraglomerular, apesar da diminuição da pressão sistêmica.

O tratamento anti-hipertensivo afeta, tanto aguda como cronicamente, a função renal e estes dois efeitos devem ser avaliados isoladamente ao se instituir e monitorizar o tratamento anti-hipertensivo em portadores de disfunção renal. Na fase inicial da HA, a influência aguda do tratamento anti-hipertensivo sobre a função rênal é discreta, exceto em subgrupos de pacientes que cursam com vasoconstrição intensa e redução precoce da função renal. Nestes, a introdução tanto de IECA como de bloqueadores dos canais de cálcio podem normalizar este desvio da hemodinâmica renal, elevando a filtração glomerular. Em portadores de disfunção renal, a instituição do tratamento anti-hipertensivo pode induzir redução aguda e transitória da função renal, apesar de apresentar benefício a longo prazo[9]. Esta redução pode ocorrer mais freqüentemente em pacientes com depleção da volemia, com redução muito intensa de PA (geralmente mais que 25mmHg) ou com o uso de IECA. Quanto a este último, seu uso pode provocar mais freqüentemente redução aguda de filtração glomerular em portadores de estenose de artéria renal bilateral; entretanto, a nefrosclerose arteriolar (ou seja, estenose difusa da microcirculação renal) é um caso particular desta situação. Os níveis reduzidos de PA, se mantidos por períodos prolongados, poderão levar à regressão da hiperplasia vascular e apresentar cronicamente o retorno da creatinina aos níveis basais ou, eventualmente, aos níveis inclusive mais baixos do que antes da instituição da terapêutica anti-hipertensiva.

É assunto controverso a possibilidade de diferentes drogas anti-hipertensivas apresentarem variações nas capacidades de prevenir a deterioração da função renal. Nifedipina e captopril possuem padrões hemodinâmicos renais distintos. Em estudo realizado nos portadores de HA com função renal normal e reserva renal diminuída, a administração aguda de nifedipina, após sobrecarga protéica oral, elevou a excreção urinária de proteína, enquanto o captopril mostrou tendência para reduzi-la[58].

Outro estudo relacionando o tipo de terapêutica anti-hipertensiva convencional *versus* IECA não obteve diferença quanto ao prognóstico renal entre portadores de insuficiência renal de diversas etiologias. No entanto, pequeno número de pacientes tratados com IECA, com etiologia da insuficiência renal imputada à nefrosclerose hipertensiva benigna, apresentou melhor evolução, sugerindo que algumas drogas possam ter vantagens sobre outras classes de anti-hipertensivos, retardando a evolução para insuficiência renal[56].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. V REGISTRO BRASILEIRO DE DIÁLISE E TRANSPLANTE RENAL, Sociedade Brasileira de Nefrologia, 1993.
2. US RENAL DATA SYSTEM: USRDS 1991 Annual Data Report. Bethesda, MD, The National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, August 1991.
3. KLAHR S: The kidney in hypertension – villain and victim. *N Engl J Med* 320:731-733, 1989.
4. NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION PROGRAM: National High Blood Pressure Education Program Working Group Report on Hypertension and Chronic Renal Failure. *Arch Intern Med* 151:1280-1287, 1991.
5. VETERANS ADMINISTRATION COOPERATIVE STUDY GROUP ON ANTI-HYPERTENSIVE AGENTS: Effects of treatment on morbidity in hypertension: results in patients with diastolic blood pressures averaging 115 through 129mmHg. *JAMA* 202:1028-1034, 1970.
6. VETERANS ADMINISTRATION COOPERATIVE STUDY GROUP ON ANTI-HYPERTENSIVE AGENTS: Effects of treatment on morbidity in hypertension: II Results in patients with diastolic blood pressures averaging 90 through 114mmHg. *JAMA* 213:1143-1151, 1970.
7. KINCAID-SMITH P, McMICHAEL J, MURPHY EA: The clinical course and pathology of hypertension with papilledema (malignant hypertension). *Q J Med* 27:117-152, 1958.
8. BUILD AND BLOOD PRESSURE STUDY, 1959. Chicago, Society of Actuaries, vols. I and II, 1959.
9. WALKER WG, NEATON JD, CUTLER JA, NEUWIRTH R, COHEN JD: Renal function change in hypertensive members of the multiple risk factor intervention trial: racial and treatment effects. *JAMA* 268:3085-3091, 1992.
10. LINDEMAN RD, TOBIN JD, SHOCK NW: Association between blood pressure and the rate of decline in renal function with age. *Kidney Int* 26:861-868, 1984.
11. PERNEGER TV, JAVIER NIETO F, WHELTON PK, KLAGUE MJ, CONSTOCK GW, SZKLO M: A prospective study of blood pressure and serum creatinine results from the "clue" study and the ARIC Study. *JAMA* 269:488-493, 1993.
12. REPORT BY THE MANAGEMENT COMMITTEE: The Australian Therapeutic Trial in Mild Hypertension. *Lancet* 1:1261-1267, 1980.
13. SCHULMAN NB, FORD CE, HALL WD, BLAUFOX MD, SIMON D, LANGFORD HG, SCHNEIDER KA: Prognostic value of serum creatinine and the effect of treatment of hypertension on renal function: results from the Hypertension Detection and Follow-up Program. *Hypertension* 13 (Suppl I):I-80-I-93, 1989.
14. LOPES AAS, HORNBUCKLE K, JAMES SA, PORT FK: The joint effects of race and age on the risk of end-stage renal disease attributed to hypertension. *Am J Kidney Dis* 24:554-560, 1994.
15. WHITTLE JC, WHELTON PK, SEIDLER AJ, KLAG MJ: Does racial variation in risk factors explain black-white differences in the incidence of hypertensive end-stage renal disease? *Arch Intern Med* 151:1359-1364, 1991.
16. BIGAZZI R, BIANCHI S, BALDARI D, SGHERRI G, BALDARI G, CAMPESE VM: Microalbuminuria in salt-sensitive patients: a marker for renal and cardiovascular risk factors. *Hypertension* 23:195-199, 1994.
17. KHAN NA, HAMPTON JA, LACHER DA, RAPP JP, COHARA AF, GOLDBLATT PJ: Morphometric evaluation of the renal arterial system of Dahl salt sensitive and salt resistant rats on high salt. *Lab Invest* 57(6):714-723, 1987.
18. ANDERSON S, RENKE HG, BRENNER BM: Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat. *J Clin Invest* 77:1993-2000, 1986.
19. ANDERSON S, MEYER TW, RENKE HG, BRENNER BM: Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest* 76:612-619, 1985.
20. BRENNER BM, GARCIA DL, ANDERSON S: The renal abnormality in hypertension: a proposed defect in glumerular filtration surface area. *Am J Hyperten* 6:335-347, 1988.
21. HOSTETTER TH, OLSON JL, RENKE HG, VENKATACHALAM MA, BRENNER BM: Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 242:F85-F93, 1981.
22. ANDERSON SH, BRENNER BM: The critical role of nephron mass and of intraglomerular pressure for initiation and progression of experimental hypertensive renal disorder, in *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management*, edited by Laragh JH, Brenner BM, New York, Raven Press, 1990, pp 1163-1176.
23. ARENDSHORST WJ, BEIERWALTERS WH: Renal and nephron hemodynamics in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 236:F246-F251, 1979.
24. REUBI FC, WEIDMANN P, HODLER J, COTTIER PT: Changes in renal function in essential hypertension. *Am J Med* 64:556-563, 1978.
25. OFSTAD J, IVERSEN BN: The interlobular artery: its possible role in preventing and mediating renal disorders. *Nephrol Dial Transplant* 2:123-129, 1988.
26. CAMPESE VM, KARUBIAN F, BIGAZZI R: Hemodynamic alterations and urinary albumin excretion in patients with essential hypertension. *Am J Kid Dis* 21(5 Suppl 2):15-21, 1993.
27. ZUCCHELLI P, ZUCCALÀ A: The diagnostic dilemma of hypertensive nephrosclerosis: the nephrologist's view. *Am J Kidney Dis* 21(Suppl 2) 5:87-91, 1993.
28. BAUER JH, REANS GP: Do calcium antagonists protect the human hypertensive kidney? *Am J Hypertens* 2:173S-178S, 1989.
29. SOMMERS SC, McLAUGHLIN RJ, McAULEY RL: Pathology of dialtolic hypertension as generalized vascular disease. *Am J Cardiol* 9:653-658, 1962.
30. LUKE RG: Essential hypertensial: a renal disease? A review and update of the evidence. *Hypertension* 21:380-390, 1993.
31. TRACY RE, MALCOM GR, OALMANN MC, OURESHI V, ISHII T, VELEZ-DURAN M: Renal microvascular features of hypertension in Japan, Guatemala and United States. *Arch Pathol Lab Med* 116:50-55, 1992.
32. EL NAHAS AM: Glomerulosclerosis. Insights in to pathogenesis and treatment. *Nephrol Dial Transplant* 4:843-853, 1989.
33. KEANE WF, MULCAHY WS, KASISKE BL, KIM Y, O'DONNELL MP: Hyperlipidemia and progressive renal disease. *Kidney Int* 39(Suppl 31):S41-S48, 1991.
34. KASISKE BL, O'DONNEL MP, SCHMITZ PG, KIM Y, KEANE WF, PHILIPS F, DANIELS F, HOLDEN G: The renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Kidney Int* 37:880-894, 1990.
35. KASISKE BL, KIM Y, O'DONNEL MP, LEE HS, KEANE WF: Cholesterol mediated glomerular injury: Influence of age, glomerular macrophages, growth and mesangial matrix (MM) (abstract). *J Am Soc Nephrol* 2:682, 1991.
36. DIAMOND JR, KARNOVSKY MJ: Exacerbation of chronic aminonucleoside nephrosis by dietary cholesterol. *Kidney Int* 32:671-677, 1987.
37. KASISKE BL, O'DONNEL MP, COVARDIN N, KEANE WF: Lipids and the kidney. *Hypertension* 15:443-450, 1990.
38. KEANE WF, KASISKE BL, O'DONNEL MP, KIM Y: Hypertension, hyperlipidemia and renal damage. *Am J Kid Dis* 21(Suppl 2):43-50, 1993.
39. HENRY PD, BUCAY M: Hyperlipidemic arterial disease. *Curr Opin Cardiol* 6:739-744, 1991.
40. KAMANNA US, SAIED SI, EVANS-HEXDALL L, KIRSCHENBAUN MA: Cholesterol esterase in preglomerular microvessels from normal and cholesterol-fed rabbits. *Am J Physiol* 261:F163-F168, 1991.

41. LERMAN A, EDUARDS BS, HALLETT JW, HEUBLEIN DM, SANDERBERG SM, BURNETT JC: Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *N Engl J Med*, 325:997-1001, 1991.
42. FERRARI P, WEIDMANN P, SHAW S, GIACHINO D, RIESEN W, ALLEMANN Y, HEYNEM G: Altered insulin sensitivity, hyperinsulinemia and dyslipidemia in individuals with a hypertensive parent. *Am J Med* 91:589-596, 1991.
43. ZUCCHELLI P, ZUCCALÀ A: Primary hypertension – how does it cause renal failure? *Nephrol Dial Transplant* 9:223-225, 1994.
44. FISHBERG G, DITSCHERLENI G: Renal histopathology in hypertensive diabetic patients. *Hypertension* 7:II29-II32, 1985.
45. TRACY RE, MERCANTE DE, MONDADA A, BERENSON G: Quantitation of hypertensive nephrosclerosis on an objective rational scale of measure in adults and children. *Am J Clin Pathol* 85:312-318, 1986.
46. MILLER BC, CONNORS BA, BOHLEN HG, EVAN AP: Cell and wall morphology of intestinal arterioles from 4 to 6 and 17 to 19 veese old Wistar-Kyoto and Spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 9:59-68, 1987.
47. ZOLLINGER HV: Niere und Ableitende Harswege, in *Spezielle Pathogishe Anatomie Band 3*, edited by Boerr W, Vehlinger E, Berlin, Springer-Verlag, 1966, p 577.
48. FISHER ER, PEREZ SE, PARDO V: Ultrastructural studies in hypertension. *Lab Invest* 15:1409-1433, 1966.
49. CUENOUD HF, JORIS I, LANGER RS, MAGNO G: Focal arteriolar insudation. *Am J Pathol* 127:592-604, 1987.
50. McGEL WF, ASHWORTH CT: Fine structure of chronic hypertensive arteriopathy in the human kidney. *Am J Pathol* 43:273-299, 1963.
51. WIENER J, SPIRO D, LATTES RG: The cellular pathology of experimental hypertension II. Ateriolar hyolinosis and fibrinoid change. *Am J Pathol* 47:457-485, 1963.
52. DWORKIN LD, FEINER HO: Glomerular injury in uninephrectomized spontaneously hypertensive rats. *J Clin Invest* 77:797-809, 1986.
53. ROSTAND SG, BROWN G, KIRK KA, RUTSKY EA, DUSTAN HP: Renal insufficiency in treated essential hypertension. *N Engl J Med* 320:684-688, 1989.
54. BAUER JH, REAMS PG, LAL SM: Renal protective effect of strict blood pressure with enalapril therapy. *Arch Intern Med* 147:1397-1400, 1987.
55. BEDOGNA V, VALVO E, CASAGRANDE P, BRAGGIO P, FONTANAROSA C, Dal SANTO, ALBERTI D, MASCHIO G: Effects of ACE inhibition in normotensive patients with chronic glomerular disease and normal renal function. *Kidney Int* 38:101-107, 1990.
56. HEEG JE, JONG PE, van der HEM GK, ZEEUW D: Reduction of proteinuria by angiotensin converting enzyme inhibition. *Kidney Int* 32:78-83, 1987.
57. WEE PM, DeMICHELI AG, EPSTEIN M: Effects of calcium antagonists on renal hemodinamics and progression of nondiabetic chronic renal disease. *Arch Intern Med* 154:1185-1202, 1994.
58. ERLEY CM, HAEFELE U, HEYNE N, BRAUN N, RISLER T: Microalbuminuria in essential hypertension: reduction by different antihypertensive drugs. *Hypertension* 21:810-815, 1993.

33

LESÕES HISTOLÓGICAS HEPÁTICAS EM PACIENTES RENAIS CRÔNICOS COM HEPATITE B E C

Miguel Cendoroglo Neto
Valéria Pereira Lanzoni
Antonio Eduardo Silva

INTRODUÇÃO

Foi somente no final dos anos 50 que o desenvolvimento das técnicas de diálise tornou possível o tratamento a longo prazo dos indivíduos portadores de insuficiência renal crônica terminal. A sobrevida mais prolongada destes pacientes resultou na descrição de novas complicações e no aparecimento de condições clínicas associadas, tais como as hepatites virais do tipo B e não A-não B. Desde então, a história da diálise vem mantendo estreita relação com a história destas hepatites[1,2].

HEPATITE B

Já a partir de 1965, vários autores passaram a relatar epidemias de hepatite em unidades de diálise. As múltiplas transfusões de sangue recebidas pelos pacientes poderiam estar implicadas na transmissão dos agentes causadores dessas hepatites[3-5]. Em 1966, Blumberg e cols[6] correlacionaram um antígeno recém-descoberto ("antígeno Austrália") à hepatite sérica, ou hepatite transmitida pelo sangue. Essa forma de hepatite seria mais tarde denominada hepatite B. Três anos mais tarde, London e cols[7] relataram o encontro do antígeno Austrália em vários pacientes de uma unidade de diálise durante surto epidêmico de hepatite. Estes últimos autores também demonstraram que tais pacientes tinham tendência a ter curso clínico oligossintomático de hepatite e que eram muito predispostos à cronificação da infecção. Devido a essas características, tais pacientes apresentavam-se como fonte insuspeita de infecção para outros pacientes e também para as equipes médica e paramédica. De fato, a incidência em funcionários de unidades de diálise também era alarmante, e estes, por sua vez, apresentavam quadro clínico mais característico[5]. Imaginava-se então que um dos principais mecanismos de transmissão eram as transfusões de sangue e, com a melhora da técnica de diálise, estas seriam menos necessárias, o que implicaria uma redução da incidência de hepatite B[5,8]. Porém, a despeito da redução do número de transfusões sangüíneas, observou-se um aumento da incidência de hepatite B, sugerindo assim a existência de outros mecanismos de transmissão[5,9,10].

Na figura 33.1 podemos observar a evolução habitual dos marcadores na hepatite B aguda com evolução para a cura. Durante o período de incubação, o HBsAg é o primeiro marcador a aparecer no sangue. Esse período inicial caracteriza-se por uma acentuada replicação do vírus no fígado. Nesta fase, também podemos detectar no sangue os marcadores de replicação: HBeAg, HBV-DNA e DNA-polimerase[8,11-15]. Quando se inicia o quadro clínico de hepatite, o título de HBsAg está no seu pico máximo ou em fase decrescente. Ao procurar o médico, mais da metade dos pacientes já negativou o HBV-DNA e a DNA-polimerase, sugerindo que o quadro de hepatite aguda se deva a uma resposta imunológica intensa do hospedeiro, na tentativa de eliminar o vírus[14].

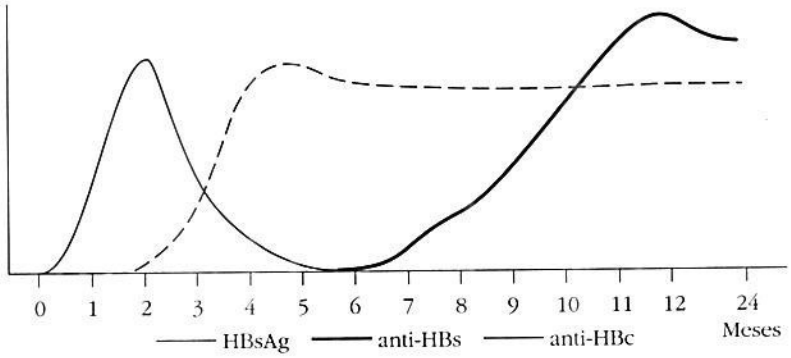


Figura 33.1 – Evolução dos marcadores do HBV em pacientes que evoluem para a cura.

O HBsAg persiste detectável no soro e se negativará apenas na convalescença, podendo persistir por meses em alguns pacientes[14,16]. O anti-HBc tem um aumento de seus títulos pouco antes ou concomitantemente ao início da doença[8,11-13,17-19]. Inicialmente, o anti-HBc encontrado é composto por suas frações IgM e IgG. Com a recuperação, o título de IgG aumenta e o título de IgM diminui, tendendo a desaparecer antes do primeiro ano[11,12,18,19]. O anti-HBc da classe IgG pode ser o único marcador presente após a cura, sendo assim considerado o melhor marcador de contato prévio com o HBV[11,12,19].

O anti-HBs geralmente aparece no período de recuperação, poucas semanas após o desaparecimento do HBsAg[8,11-13,18,20]. Uma pequena porcentagem dos pacientes (5 a 10%) com hepatite aguda, por razões desconhecidas, nunca desenvolverá títulos de anti-HBs após a cura[12].

Com base na evolução descrita acima, pode-se dividir a hepatite aguda pelo HBV em duas fases: uma fase inicial replicativa, na qual o HBsAg, o HBeAg e o HBV-DNA estão presentes; uma fase não-replicativa, onde o HBsAg ainda está presente mas não há evidências de replicação viral (HBeAg e HBV-DNA ausentes)[11].

Metade dos pacientes apresenta evolução subclínica na fase aguda, sendo que somente 30% apresentam icterícia. A evolução para a cura ocorre em 90 a 95% dos indivíduos[12,20]. Os 5 a 10% restantes não apresentarão clareamento sorológico do HBsAg antes do sexto mês, sendo então considerados portadores crônicos do vírus[11,13,20,21].

Dos pacientes que evoluem com cronificação da infecção, a maioria apresenta quadro histológico hepático com pouca ou nenhuma alteração, e alguns deles podem evoluir para a cura tardiamente[14,22]. Porém, aproximadamente 20% evoluem para hepatite crônica, que pode ser classificada em três formas: hepatite crônica lobular, hepatite crônica persistente e hepatite crônica ativa. Histologicamente, a hepatite crônica lobular caracteriza-se por importante inflamação lobular e acentuadas alterações hepatocelulares, quadro muito semelhante ao da hepatite aguda, porém com duração superior a um ano. A hepatite crônica persistente é caracterizada por infiltrado inflamatório linfoplasmocitário periportal, sem invasão da placa limitante lobular. A hepatite crônica ativa caracteriza-se pela invasão da placa limitante lobular e necrose de hepatócitos periportais (necrose em "saca-bocado"). Todas as formas histológicas podem evoluir para a cirrose hepática, porém este fato ocorre com maior freqüência na hepatite crônica ativa[12,20,33].

Na infecção crônica, inicialmente os marcadores de replicação viral (HBeAg, HBV-DNA e DNA-polimerase) persistem positivos, sendo este período denominado "fase de replicação"[14,20], onde, em nível histológico, encontram-se as formas de hepatite crônica ou lesões mínimas associadas ao "estado de portador assintomático". Posteriormente, pode ocorrer o fim da replicação viral, com o conseqüente desaparecimento do HBeAg, DNA-polimerase e HBV-DNA do soro. Nesta fase, não encontramos qualquer partícula do vírus nos hepatócitos, com exceção do HBV-DNA, encontrado somente no núcleo, integrado ao genoma do hospedeiro. Esta é a "fase de integração"[14,20]. Histologicamente, a fase de integração está relacionada à cirrose e ao carcinoma hepatocelular[20,24].

A figura 33.2 ilustra a evolução dos marcadores na hepatite crônica HBV.

HEPATITE NÃO A-NÃO B (NANB) E HEPATITE C

Além do HBV, existem várias outras causas de lesão hepática em hemodialisados, tais como hemossiderose[25], depósitos de partículas de silicone desprendidas dos condutos de sangue[26], hepato-

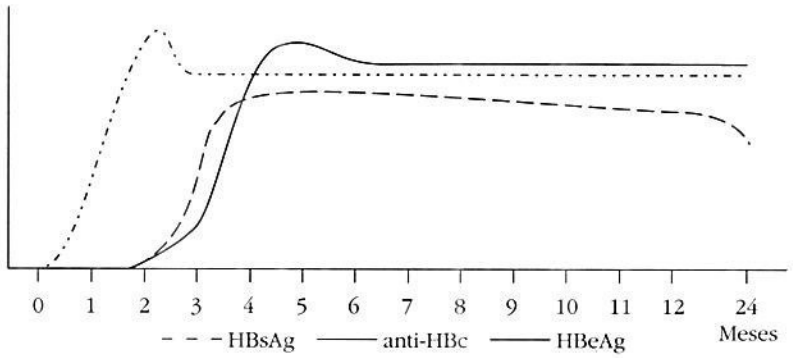


Figura 33.2 – Evolução dos marcadores do HBV em pacientes que cronificam a infecção.

toxicidade por drogas[27] e infecções por outros patógenos, tais como vírus Epstein-Barr[28], citomegalovírus[27,29], vírus da hepatite A[27], etc. No entanto, acredita-se que os principais agentes causadores de hepatite em hemodialisados, excluindo-se a hepatite B, sejam os vírus da hepatite NANB[8,15,25]. Este tipo de hepatite foi descrito em meados da década de 70[19,30,31], a partir da observação de casos de hepatite nos quais se descartou a hipótese de hepatite A ou B. A ocorrência deste tipo de hepatite em unidades de diálise foi inicialmente relatada por Galbraith e cols em 1975[32]. Mais tarde, surgiram evidências de que as hepatites NANB eram causadas por mais de um tipo de vírus, pelo menos um de transmissão fecal-oral e um de transmissão parenteral[11]. Dentre as hepatites NANB de transmissão parenteral, observou-se que alguns casos não apresentavam antecedente transfusional, sendo estes casos classificados como hepatites esporádicas.

Até recentemente, o diagnóstico de hepatite NANB era feito excluindo-se todas as outras causas de hepatite já citadas[8,15]. Em 1989, um grupo de pesquisadores[33] conseguiu o isolamento e a clonagem de um segmento do RNA de um dos vírus responsáveis pela hepatite NANB. Este vírus foi então denominado vírus da hepatite C (HCV), possibilitando o desenvolvimento de um teste para a detecção de anticorpos contra uma proteína do vírus (anti-HCV)[34]. As prevalências iniciais de anti-HCV positivo, obtidas por esta técnica de primeira geração, em casos de hepatite NANB de vários países, foram de 50 a 80%[34]. Embora haja evidências da existência de mais de um agente causador de hepatite NANB[35], o emprego de técnicas mais sofisticadas de diagnóstico confirmou que a maioria dos casos de hepatite NANB de transmissão parenteral era devida ao HCV[34]. Os estudos iniciais também revelaram prevalências elevadas em populações de risco para infecções virais de transmissão parenteral, como drogados e hemofílicos. Da mesma forma, as primeiras prevalências obtidas em unidades de diálise mostraram-se elevadas[36,37].

A estrutura do HCV ainda não é tão amplamente conhecida como a do HBV. A estrutura genômica consiste de uma fita única de RNA orientada positivamente, com aproximadamente 9.400 nucleotídeos[38]. Esta seqüência apresenta uma única janela aberta de leitura ("open reading frame") que codifica uma poliproteína de aproximadamente 3.010 aminoácidos[38]. A seqüência próxima ao terminal 5' é altamente conservada. Partindo deste terminal, a seqüência de genes (conhecidos ou prováveis) é a seguinte: um gene codificador da proteína nucleocapsular ligadora do RNA, dois genes codificadores de glicoproteínas provavelmente do envelope (gp33 e gp72) e cinco genes (NS1 a NS5) que codificam proteínas não-estruturais, sendo que o último provavelmente codifica uma RNA-polimerase[38,39]. A poliproteína sintetizada provavelmente é clivada por proteases codificadas pelo hospedeiro e pelo vírus. As proteínas não-estruturais provavelmente têm papel na replicação viral. A cápsula do vírus é de natureza lipídica, sendo o seu tamanho pequeno (30-60nm)[38,39]. Esta estrutura só se assemelha à dos flavivírus (febre amarela, dengue e outros arbovírus), grupo no qual o HCV deverá ser classificado definitivamente[35,38,39]. Assim como em outros grupos de flavivírus, existe ampla variação genômica, determinando subtipos diferentes de vírus. Uma das classificações propostas divide os vírus isolados em três grupos principais: o HCV I, encontrado em todo o mundo, o HCV II e o HCV III, por enquanto só encontrado no Japão e em outros países asiáticos[38].

Atualmente, só estão disponíveis comercialmente os testes para a detecção de anticorpos contra antígenos do vírus e testes para a detecção do RNA do HCV. Por enquanto, não estão disponíveis comercialmente testes para a detecção de antígenos em soro ou tecido hepático. O primei-

ro teste para a detecção de anticorpos consistia de um imunoensaio enzimático que utilizava um antígeno não-estrutural (c100-3)[34]. Com este teste foi possível caracterizar o HCV como o agente mais importante na etiologia das hepatites NANB pós-transfusionais e esporádicas[33,34,39]. Por outro lado, uma segunda geração de testes do tipo imunoensaio enzimático mostrou-se mais sensível, aumentando o percentual de casos detectados de hepatite C entre as hepatites NANB[40,41]. A especificidade também melhorou com os testes de segunda geração[42]. Mais recentemente, têm sido utilizados testes de imunoensaio enzimático que empregam peptídeos sintéticos[43]. Tais testes também têm-se mostrado muito sensíveis e específicos[44].

A técnica de "immunoblot" também tem sido empregada para a detecção de anticorpos anti-HCV, obtendo-se melhora da especificidade. De fato, foi demonstrada uma baixa especificidade dos testes de imunoensaio enzimático de primeira geração, ao se utilizar um "immunoblot" de primeira geração ("recombinant immunoblot assay" ou RIBA-1) com três antígenos (dois virais e um controle – superóxido-dismutase)[35,38,45]. Uma segunda geração de "immunoblot" (RIBA-2, com quatro antígenos) revelou-se tão específica quanto o "immunoblot" de primeira geração, sendo porém mais sensível[46]. Apesar disso, a sensibilidade do imunoensaio enzimático de segunda geração parece ser equiparável à do "immunoblot" de segunda geração[44].

A pesquisa do HCV-RNA por técnica de PCR ("polymerase chain reaction") possibilita a detecção de um produto direto do vírus, sendo assim um marcador direto de replicação viral[47,48]. Este teste possibilitou a detecção de pacientes infectados pelo HCV, com anti-HCV negativo por outros métodos[47]. Alter e cols[49] encontraram 82% de HCV-RNa e/ou anti-HCV de segunda geração positivos em 130 pacientes com hepatite NANB pós-transfusional. Neste estudo, a sensibilidade do anti-HCV, quando comparado ao HCV-RNA, foi de 90%. Talk e cols[50], estudando prospectivamente uma população de hemodialisados, encontraram anti-HCV negativo em apenas um de nove pacientes com HCV-RNA positivo, sendo que este paciente positivou o anti-HCV durante o seguimento.

Pacientes infectados pelo HCV com anti-HCV negativo podem estar na chamada "janela imunológica". De fato, os testes de primeira geração revelaram uma janela imunológica prolongada, em média de 15 semanas, chegando a mais do que 12 meses[34,39]. Por outro lado, estes anticorpos nem sempre são permanentes, podendo ocorrer a sua negativação. Alter e cols[49], estudando casos de hepatite C da forma esporádica, observaram uma taxa de negativação do anti-HCV de 0,6/100 pacientes/ano.

Apesar das limitações do anti-HCV na detecção de pacientes infectados, o seu rastreamento em bancos de sangue levou a uma dramática redução na incidência de hepatites pós-transfusionais no Japão[51] e Estados Unidos da América. Neste último país, Donahue e cols observaram redução do risco de transmissão do HCV de 0,19% para 0,03 por unidade de sangue[52].

A partir da identificação do HCV e do desenvolvimento de métodos específicos e sensíveis para a sua detecção, foram surgindo trabalhos comparando aspectos histológicos entre pacientes portadores de hepatite pelo vírus C.

As alterações histológicas que têm sido apontadas como sendo de potencial valor diagnóstico desta infecção são: lesão de ductos biliares, agregados e/ou folículos linfóides nos espaços-porta, esteatose, material hialino de Mallory e infiltrado de mononucleares nos sinusóides hepáticos[53-55].

Ao comparar os achados histopatológicos de biopsias hepáticas de pacientes anti-HCV positivos oriundos de bancos de sangue de hemodiálise, Lanzoni[56] observou que a presença de folículos e/ou agregados linfóides nos tratos portais, lesão de ductos biliares e esteatoses foram importantes marcadores teciduais de infecção pelo vírus da hepatite C nos grupos estudados.

HEPATITE B EM HEMODIALISADOS E TRANSPLANTADOS RENAIS

Em 1969, London e cols[7] observaram que pacientes hemodialisados que desenvolviam hepatite B geralmente não apresentavam icterícia e tinham discreta elevação das aminotransferases. Mais tarde, os mesmos autores[57] observaram uma elevada taxa de cronificação da hepatite B em hemodialisados (62,8%). O risco de cronificação encontrado por London e cols[57] aumentava para 88,5% naqueles indivíduos com HBsAg positivo por mais de cinco meses. Estas taxas de cronificação são maiores do que as da população geral[21].

Em transplantados renais, a taxa de cronificação também é maior do que a encontrada em hemodialisados[58,59]. Ianhez e cols[60,61], estudando 408 pacientes transplantados em nosso meio, observaram que 8% tinham HBsAg positivo desde o pré-transplante e 10% positivaram o HBsAg no pós-transplante.

Ao se analisar a repercussão desta infecção em termos de sobrevida, observa-se que portadores crônicos do HBsAg em hemodiálise não apresentam pior sobrevida do que hemodialisados com HBsAg negativo[62]. Por outro lado, vários estudos demonstraram que a sobrevida de portadores do vírus da hepatite B submetidos a transplante

renal é menor do que a encontrada em transplantados não portadores do HBV[63], principalmente após o quinto ano de transplante[64-67]. Em estudos com menor tempo de seguimento, tal diferença não foi encontrada[68,69], o que pode ser explicado pelo fato de que a hepatopatia é mais importante como causa de óbito no pós-transplante tardio[70].

Os achados em nível de sobrevida têm correspondência com os achados em nível histológico. As taxas de hepatite crônica ativa são maiores nos transplantados[71,72] e hemodialisados com infecção crônica[59,73] do que em portadores crônicos da população geral[74].

Ao se avaliar a replicação viral através do HBeAg e HBV-DNA, observa-se que os pacientes hemodialisados tendem a apresentar maiores níveis destes marcadores do que a população geral[59,75]. No tecido hepático, a replicação viral pode ser avaliada através da detecção do HBcAg nos hepatócitos, utilizando-se o método da imunoperoxidase.

Um dos padrões de expressão dos antígenos do HBV no tecido, descrito por Gudat e cols[17], caracterizado por abundante imunodemonstração do HBcAg no núcleo das células hepáticas e por moderada expressão do HBsAg, é encontrado em pacientes imunossuprimidos e tende a acompanhar quadros de hepatite inicialmente silenciosa, com função hepática normal e discreta inflamação tecidual.

Lanzoni[56] observou maior expressão do HBcAg nas células hepáticas de pacientes hemodialisados, ao comparar as biopsias hepáticas deste grupo de pacientes com as de portadores crônicos do HBsAg, oriundos de bancos de sangue. Este achado sugere que portadores de insuficiência renal crônica, em tratamento hemodialítico, apresentam maior replicação do HBV e dificuldade de sua eliminação, provavelmente devido à depressão imunológica.

Após o transplante este quadro piora, como observado por Debure e cols[76]. Portanto, a evolução da lesão histológica parece ser devida ao alto grau de replicação viral no hemodialisado, o que aumenta após a imposição da imunossupressão pelo transplante renal. Além disso, a infecção pelo HBV pode persistir, mesmo com a ausência de marcadores de replicação, vindo a reativar-se em situações de imunossupressão, assemelhando-se à infecção pelos vírus do tipo herpes[71,76].

Pode-se concluir que a replicação do HBV é maior em pacientes dialisados e transplantados, o que leva a uma piora do quadro histológico e à evolução para cirrose. Em decorrência, a infecção pelo HBV tem um impacto negativo, principalmente na sobrevida de pacientes renais[58].

HEPATITE C EM HEMODIALISADOS E TRANSPLANTADOS RENAIS

Recentemente, Seeff e cols[77] confirmaram achados pregressos de elevada taxa de cronificação das hepatites C na população geral, porém com evolução indolente, levando a óbito por causa hepática mais raramente do que o que ocorre com a infecção pelo HBV. Em pacientes renais crônicos tratados com hemodiálise, com anti-HCV positivo, ainda não há dados de sobrevida; entretanto, vários autores encontraram formas crônicas de hepatite na maioria das biopsias destes pacientes[32,78]. Em nosso meio, Ruzany[79] encontrou hepatite crônica persistente ou hepatite crônica ativa em 4 de 13 pacientes (31%) com anti-HCV positivo biopsiados.

Em transplantados renais, um estudo recente não revelou qualquer impacto negativo da infecção do HCV em nível de sobrevida do paciente ou do enxerto[80]. Neste tipo de população, Ruzany[79] encontrou hepatite crônica persistente ou hepatite crônica ativa em três de dez pacientes (30%).

Sabe-se que pacientes com insuficiência renal crônica, em tratamento hemodialítico e transplantados renais apresentam alto risco para infecção pelos vírus B e C (co/superinfecção). No Brasil, a associação de ambas as infecções é bastante freqüente (10% em transplantados renais).

Lanzoni e cols[81], estudando biopsias hepáticas de 27 pacientes com IRC em tratamento dialítico, portadores crônicos do HBsAg e soropositivos para o anti-HCV, observaram infecção pelos dois vírus em cinco pacientes (todos com HCV-RNA e HBV-DNA positivos). Todos os pacientes exibiam quadro histopatológico de hepatite crônica com intensa atividade, sugerindo maior agressividade das lesões nesta população com este tipo de co-infecção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DRUKKER W: Haemodialysis: a histological review, in *Replacement of Renal Function by Dialysis*, edited by Drukker W, Parsons FM, Parsons JF, Boston, Kluwer, 1983, pp 3-52.
2. CASTRO-FIGUEIREDO JF, MOYSÉS NETO M, GOMES JA, SPALINI-FERRAZ A, NARDINI-BATISTA MEP, COIMBRA-GASPAR AM, TASHIBANA-YOSHIDA CF: Hepatitis B virus infection in hemodialysis unit: clinical features, epidemiological markers and general control measures. *Brazil J Med Biol Res* 19:735-742, 1986.
3. FRIEDMAN EA, THOMSON GE: Hepatitis complicating chronic haemodialysis. *Lancet* 2:675-678, 1966.
4. HOOFNAGLE JH, GERETY RJ, BARKER LF: Antibody to hepatitis-B-virus core in man. *Lancet* 2:869-873, 1973.
5. MARMION BP, TONKIN RW: Control of hepatitis in dialysis units. *Br Med Bull* 28(2):169-197, 1972.
6. BLUMBERG BS, GERSTLEY BJS, HURGERFORD DA, LONDON WT, SUTRICH A: A serum antigen (Australia antigen) in Down's Syndrome, leukemia and hepatitis. *Ann Intern Med* 66(5):924-931, 1967.

7. LONDON WT, DIFIGLIA M, SUTNICK AL, BLUMBERG BS: An epidemic of hepatitis in a chronic-hemodialysis unit. *N Engl J Med* 281(11):571-578, 1969.
8. POLAKOFF S: Dialysis associated hepatitis, in *Replacement of Renal Function by Dialysis*, edited by Drukker W, Parsons FM, Parsons JF, Boston, Kluwer, 1983, pp 659-678.
9. ALTER MJ, FAVERO MS, MAYNARD JE: Impact of infection control strategies on the incidence of dialysis-associated hepatitis in the United States. *J Infect Dis* 153(6):1149-1151, 1986.
10. POLAKOFF S, COSSART YE, TILLETT HE: Hepatitis in dialysis units in the United Kingdom. *Br Med J* 3:94-99, 1972.
11. DEINDHARDT F, GUST ID: Viral hepatitis. *Bull World Health Organ* 60(5):661-691, 1982.
12. HOOFNAGLE JH, SCHAFER DF: Serologic markers of hepatitis B virus infection. *Semin Liver Dis* 6(1):1-10, 1986.
13. Organizacion Mundial de la Salud: Tecnicas serológicas para la hepatitis B, in *Progresos en el Estudio de la Hepatitis Virica*, Série de informes técnicos – 602, Genebra, 1977, pp 31-37.
14. SEEFF LB, KOFF RS: Evolving concepts of the clinical and serologic consequences of hepatitis B virus infection. *Semin Liver Dis* 6(1):11-22, 1986.
15. SHUSTERMAN N, SINGER I: Infection hepatitis in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 9(6):447-455, 1987.
16. DELANO BG: Regular dialysis treatment, in *Replacement of Renal Function by Dialysis*, edited by Drukker W, Parsons FM, Parsons JF, Boston, Kluwer, 1983, pp 391-409.
17. GUDAT F, BIANCHI L, SONNABERD W, THIEL G, AENISHAENSLIN W, STADLER GA: Pattern of core and surface expression in liver tissue reflects states of specific immune response in hepatitis B. *Lab Invest* 32:1-9, 1975.
18. GUIMARÃES RX, VILELA MP: Marcadores sorológicos da hepatite. *AMB Rev Assoc Med Brasil* 27(10):281-284, 1981.
19. HOOFNAGLE JH: Serologic markers of hepatitis B virus infection. *Annu Rev Med* 32:1-11, 1981.
20. SHERLOCK S: The natural history of hepatitis B. *Postgrad Med J* 63(Suppl 2):7-11, 1987.
21. NIELSEN JO, DIETRICHSON D, ELLING P, CHRISTOFFERSEN S: Incidence and meaning of persistence of Australia antigen in patients with acute viral hepatitis: development of chronic hepatitis. *N Engl J Med* 285(21):1157-1160, 1971.
22. KING J: A clinical approach to hepatitis B. *Arch Intern Med* 142:925-928, 1982.
23. FERRAZ MLG, LANZONI VP, SILVA AEB, ALBERTINI VN, PEREIRA CA, CHIFERI Jr V, GUIMARÃES RX: Relação entre marcadores do vírus da hepatite B (HBV) no soro e no tecido hepático em pacientes portadores crônicos do HBsAg. *AMB Rev Assoc Med Brasil* 35(2):63-66, 1989.
24. ZUCKERMAN AJ, HARRISON TG: Hepatitis B virus chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Postgrad Med J* 63(Suppl 2):13-19, 1987.
25. CROSNIER F, DEGOS, F, JUNGERS P: Dialysis associated hepatitis, in *Replacement of Renal Function by Dialysis*, edited by Maher JF, Boston, Kluwer, 1989, p 881.
26. LEONG ASY, PATH MRC, DISNEY APS, GOVE DW: Spallation and migration of silicone from blood pumps tubing in patients on haemodialysis. *N Engl J Med* 306(3):135-140, 1982.
27. MATESANZ R, TERUEL JL, SAINZ JG, BUENO R, MARCEN R, QUEREDA R, ORTUÑO J: Incidence diagnosis and evolution of non-A, non-B hepatitis in haemodialysis units. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 20:675-677, 1983.
28. COREY L, STANM WE, FEORINO PM, BRYAN JA, WESLEY S, GREGA MB, SOLANGI K: HBsAg-negative hepatitis in a hemodialysis unit – relation to Epstein-Barr virus. *N Engl J Med* 293(25):1273-1278, 1975.
29. TEGTMEIER GE: Cytomegalovirus infection as a complication of blood transfusion. *Semin Liver Dis* 6(1):82-95, 1986.
30. FEINSTONE MS, ZOPIKIAN AZ, PURCELL RH, ALTER HJ, HOLLAND PV: Transfusion associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 292(15):767-770, 1975.
31. PRINCE AM, BROTMAN B, GRADY GF, KUHNS WJ, HAZZI C, LEVINE RW, MILLIAN SJ: Long incubation post-transfusion hepatitis without sorological evidence of exposure to hepatitis-B virus. *Lancet* 2:241-246, 1974.
32. GALBRAITH RM, PORTMANN B, EDDLESTON ALWF, WILLIAMS R: Chronic liver disease developing after outbreak of HBsAg-negative hepatitis in haemodialysis unit. *Lancet* 2:886-889, 1975.
33. CHOO QL, KUO G, WEINER AJ, OVERBY LR, BRADLEY DW, HOUGTON M: Isolation of a DNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244:359-364, 1989.
34. KUO G, CHOO QL, ALTER HJ, GITNICK GL, REDECKER AG, PURCELL RH, MIYAMURA T, DIENSTAG JL, ALTER MJ, STEVENS CE, TEGTMEIER GE, BONINO F, COLOMBO M, LEE WS, KUO C, BERGER K, SHUSTER JR, OVERBY LR, BRADLEY DW, HOUGTON M: An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244:362-364, 1989.
35. The A to F of viral hepatitis. (editorial) *Lancet* 336:1158-1160, 1990.
36. ESTEBAN JI, ESTEBAN R, VILADOMIOU L, LOPES JCT, GONZALES A, HERNANDEZ JM, ROGET M, VARGAS V, GENESCA J, BUTTI M, GUARDIA J, HOUGHTON M, CHOO QL, KUO G: Hepatitis C virus antibody among risk groups in Spain. *Lancet* 2:294-296, 1989.
37. MONDELLI MU, SMEDILLE V, PIAZZA V, VILLA G, BARBIERI C, GATTARELLO G, MANCINI F, RAIMONDO G: Abnormal alanine aminotransferase activity reflects exposure to hepatitis C virus in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 6(7):480-483, 1991.
38. HOUGHTON M, WEINER A, HAN J, KUO G, CHOO QL: Molecular biology of the hepatitis C viruses. Implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology* 14(2):381-388, 1991.
39. CHOO QL, WEINER AJ, OVERBY LR, KUO G, HOUGHTON M, BRADLEY DW: Hepatitis C virus: the major causative agent of viral non-A, non-B hepatitis. *Br Med Bull* 46(2):423-441, 1990.
40. AACH RD, STEVENS CE, HOLLINGER B, MOSLEY JW, PETERSON DA, TAYLOR PE, JOHNSON RG, BARBOSA LH, NEMO GJ: Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis – An analysis with first and second generation assays. *N Engl J Med* 325(19):1325-1329, 1991.
41. SUGITANI M, INCHOUSPÉ G, SHINDO M, PRINCE AM: Sensitivity of sorological assays to identify blood donors with hepatitis C viremia. *Lancet* 339:1018-1019, 1992.
42. CRAXI A, FIORENTINO G, Di MARCO V, MARINO L, MAGRIN S, FABRIANO C, PAGLIARO L: Second generation tests in diagnosis of chronic hepatitis C. (letter) *Lancet* 337:1354, 1991.
43. HOSEIN B, CHIANG TF, POPOVSKY MA, YE J, ZHANG M, WANG CY: Improved serodiagnosis of hepatitis C virus infection with sinthetic peptide antigen from capsid protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:3647-3651, 1991.
44. SILVA AE, HOSEIN B, BOYLE RW, FANG CT, SHINDO M, WAGGONER JG, HOOFNAGLE JH, DI BISCEGLIE AM: Diagnosis of chronic hepatitis C: comparison of immunoassays and the polymerase chain reaction. *Am J Gastroenterol* 89(4):493-496, 1994.
45. MENITOVE JE, RICHARDS WA, DESTREE M: Early US experience with anti-HCV kit in blood donors. (letter) *Lancet* 336:244-245, 1990.
46. Van der POEL CL, CUYPERS HT, REESINK HW, WEINER AJ, QUAN S, Di NELLO R, Van BOVEN JJ, WINKEL I, MULDERFOLKERTS D, EXEL-OEHLERS PJ et al: Confirmation of hepatitis C virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet* 337:317-319, 1991.

47. GARSON JA, RING C, TURKE P, TEDDER RS: Enhanced detection by PCR of hepatitis C virus RNA. (letter) *Lancet* 336:878-879, 1990.
48. ZANETTI AR, TANZI E, ZEHENDER G, MAGNI E, INCARBONE C, ZONARO A, PRIMI D, CARIANI E: Hepatitis C virus RNA in symptomless donors implicated in post-transfusion non-A, non-B hepatitis. (letter) *Lancet* 336:448, 1990.
49. ALTER MJ, MARGOLIS HS, KRAWCZYNSKI K, JUDSON FN, MARES A, ALEXANDER WJ, HU PY, MILLER JK, GERBER MA, SAMPLINER RE, MEEKS EL, BEACH MG: The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med* 327(27):1899-1905, 1992.
50. TAK MC, LOK ASF, CHENG IKP, CHAN RT: Prevalence of hepatitis C virus infection in haemodialysis patient: a longitudinal study comparing the results of RNA and antibody assays. *Hepatology* 17(1):5-8, 1993.
51. Japanese Red-Cross non-A, non-B Hepatitis Research Group: Effect of screening for hepatitis C virus antibody and hepatitis B virus core antibody on incidence of post-transfusion hepatitis. *Lancet* 337:1040-1041, 1991.
52. DONAHUE JG, MUÑOZ A, NESS PM, BROWN DE, YAWN DH, Mc ALLISTER HA, RETZ BA, NELSON KE: The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus hepatitis. *N Engl J Med* 327(6):369-373, 1992.
53. POULSEN H, CHRISTOFFERSEN P: Abnormal bille duct epithelium in chronic aggressive hepatitis and cirrhosis – a review of morphology and clinical, biochemical and immunologic features. *Hum Pathol* 3(2):217-225, 1972.
54. LEFKOWITCH JH, SCHIFF ER, DAVIS GL, PERRILLO RP, LINDSAY K, BODENHEIMER Jr HC, BALART LA, ORTEGA TJ, PAYNE J, DIENSTAG JL, GIBAS A, JACOBSON IM, TAMBURRO CH, CAREY W, O'BRIEN C, SAMPLINER R, VAN THIEL DH, FEIT D, ALBRECHT J, MESCHIEVITZ C, SANGHVI B, VAUGHAN RD, and the HEPATITIS INTERVENTIONAL THERAPY: Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: a Multicenter Comparative Study with Chronic Hepatitis B. *Gastroenterology* 104:595-603, 1993.
55. RUGGE M, VANSTAPEL MJ, NINFO U, REALDI G, TRERMOLADA F, MONTANARI PG, VANDAME B, FEVERY J, DE GROOTE J, DESMET U: Comparative histology of acute hepatitis B and non-A, non-B in Leuven and Padova. *Virchows Arch* [A] 401:275-288, 1983.
56. LANZONI VP: Estudo comparativo das lesões hepáticas em biópsias de pacientes portadores crônicos do HBsAg e/ou soropositivos para o anti-HCV, oriundos de unidades de diálise e bancos de sangue. São Paulo, 1994 [Tese de Doutorado – Escola Paulista de Medicina].
57. LONDON WT, DREW JS, LUSTBADER ED, WERNER BG, BLUMBERG BS: Host responses to hepatitis B infection in patients and a chronic hemodialysis unit. *Kidney Int* 12:51-58, 1977.
58. HARNETT JD, ZELDIS JB, PARFREY PS, KENNEDY M, SIRCAR R, STEIRMANN TJ, GUTTMANN RD: Hepatitis B disease in dialysis and transplant patients. *Transplantation* 44(3):369-376, 1987.
59. PARFREY PS, FORBES RDC, HUTCHNSON TA, BEAUDAIN JG, DANPHIREE WD, HOLLANBY DJ, GUTTMANN RD: The clinical and pathological course of hepatitis B liver disease in renal transplant recipients. *Transplantation* 37(5):461-466, 1984.
60. IANHEZ LE, CUELAR MKS, LEAL L, SALDANHA LB, ROMÃO Jr JE, SABBAGA E: Prognóstico hepático em pacientes transplantados com HBsAg positivo pré-transplante. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 40(2):53-57, 1985.
61. IANHEZ LE, CUELAR MKS, ROMÃO Jr JE, CHOCAIR PR, FONSECA JA, SABBAGA E: Hepatopatia em pacientes transplantados que adquiriram o vírus B da hepatite pós-transplante. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 40(2):58-61, 1985.
62. JOSSELSON J, KYSER BA, WEIN MR, SADLER JH: Hepatitis B surface antigenemia in a chronic hemodialysis program: lack of influence on morbidity and mortality. *Am J Kidney Dis* 4(6):456-461, 1987.
63. PIRSON Y, ALEXANDER GPJ, CHARLES VAN YPERSELE DE STRIHOU: Long-term efect of HBs antigenemia on patients survival after renal transplantation. *N Engl J Med* 296(4):194-196, 1977.
64. HILLIS WD, HILLIS A, WALKER WG: Hepatitis B surface antigenemia in a renal transplant recipients. *JAMA* 242(4):329-332, 1979.
65. LA QUAGLIA MP, TOLKOFF-RUBIN NE, DIENSTAG JL, COSIMI AB, HERVIN JT, KELLY M, RUBIN RH: Impact of hepatitis on renal transplantation. *Transplantation* 32(6):504-507, 1981.
66. MAGGIONE Q, CATALANO C: Viral hepatitis in dialysis units: a changing scenario. *Contrib Nephrol* 61:240-253, 1981.
67. SENGAR DPS, COUTURE RA, LAZOROVITY AI, JINDA SC: Long-term patient and renal allograft survival in HBsAg infection. A recent update. *Transplant Proc* 21(2):3358-3359, 1989.
68. CHATTERJEE SN, PAYNE JE, BISCHEL MD, REDEKER AG, BERRE TV: Successful renal transplantion in patients positive for hepatitis B antigen. *N Engl J Med* 291(2):62-65, 1974.
69. SENGAR DPS, COUTURE RA, JINDAR SC: Renal allograft outcome patient survival, and infection. *Transplant Proc* 16(4):1106-1108, 1984.
70. KIRKMAN RL, STROM TB, WEIR MR, TILNEY NL: Late mortality and morbidity in recipients of long-term renal allografts. *Transplantation* 34(6):347-351, 1982.
71. DEGOS F, LUGASSY C, DEGOTT C, DEBURE A, CARNOT F, THIERS V, TIOLLAIS P, KREIS H, BRECHOT C: Hepatitis B virus and hepatitis B-related viral infection in renal transplant recipients. *Gastroenterology* 94(1):151-156, 1988.
72. GALIZZI-FILHO J, LASMAR EP, ANDRADE MO, OLIVEIRA JP, TAVORA ER, MOREIRA JB, ANDRADE JS: Hepatology in renal transplant recipients. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 39:113-117, 1984.
73. DEGOS F: Hepatitis virales an cours de l'hemodialyse chronique et de la transplantation rénale. *Gastroenterol Clin Biol* 7:923-929, 1983.
74. POPPER H, SHAFRITZ DA, HOOFNAGLE JH: Relation of the hepatitis B virus carrier state to hepatocelular carcinoma. *Hepatology* 7(4):764-772, 1987.
75. SZMUNESS W, NEURATH AR, STEVENS CE, STRICK N, HARLEY EJ: Prevalence of hepatitis B "e" antigen and its antibody in various HBsAg carrier populations. *Am J Epidemiol* 113(2):113-121, 1981.
76. DEBURE A, DEGOS F, POL S, DEGOTT C, CARNOTT F, LUGASSY C, LACOMBE M, KREIS H: Liver disease and hepatic complications in renal transplant patients. *Adv Nephrol* 175:375-400, 1988.
77. SEEFF LB, BUSKELL-BALES Z, WRIGHT EC, DURAK SJ, ALTER HJ, IBER FL, HOLLINGER FB, GITNICK G, KNODELL RG, PERRILLO RP, STEVENS CE, HOLLINGSWORTH CG: Long term mortality after transfusion-associated non-A non-B hepatitis. *N Engl J Med* 327(27):1906-1911, 1992.
78. ALFURAYH O, SOBH M, BUALI A, ALI MA, BARRI Y, QUNIBI W, TAHER S: Hepatitis C virus infection in chronic haemodialysis patients, a clinicopathologic study. *Nephrol Dial Transplant* 7(4):327-332, 1992.
79. RUZANY F: Hepatopatias em pacientes submetidos à hemodiálise e ao transplante renal. São Paulo, 1991 [Tese – Doutorado – Escola Paulista de Medicina].
80. PEREIRA BJ, MILFORD EL, KIRKMAN RL, LEVEY AS: Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. *N Engl J Med* 325(7):454-460, 1991.
81. LANZONI VP, CENDOROGLO MN, SILVA AEB, FERRAZ MLG, MANZANO SIR, PACHECO-SILVA AF, PESTANA JOM, RAMOS OL: Impact of replication of hepatitis B virus and/or hepatitis C virus on the liver histology of haemodialysis patients, XIII International Congress of Nephrology, Madrid, 1995, p 516.

34

TERAPIA IMUNOSSUPRESSORA E TECIDO ÓSSEO

Virgílio Gonçalves Pereira Júnior
Vanda Jorgetti

INTRODUÇÃO

Desde a síntese dos glicocorticóides nos anos 50 estas drogas vêm sendo utilizadas em larga escala pelos seus efeitos antiinflamatórios e imunossupressores. Novas drogas imunossupressoras foram desenvolvidas mais recentemente. Entre estas, as mais utilizadas são a azatioprina, a ciclosporina e o metotrexate; outras ainda estão sob investigação clínica como o FK 506, a rapamicina e o brequinar. Apesar da grande eficácia das drogas imunossupressoras e da crescente experiência no seu uso, os efeitos colaterais ainda representam um grande obstáculo para a prática clínica.

Os transplantes de órgãos são situações onde a terapia imunossupressora é imprescindível e, como regra, de longa duração. Um dos maiores problemas da imunossupressão crônica são as doenças do tecido ósseo e do metabolismo mineral. É crescente a preocupação com a osteoporose como uma das principais complicações do transplante de órgãos. Osteopenia grave bem como fratura de vértebras são descritas entre 18 e 50% dos pacientes no pós-transplante cardíaco[1,2,3]. Estudos longitudinais documentaram índices de perda óssea de 5 a 20% no primeiro ano pós-transplante cardíaco, dependendo do método de avaliação empregado[4,5,6]. A ocorrência de fraturas vertebrais nestes pacientes se dá mais freqüentemente nos primeiros seis meses após o transplante[5]. Os índices de fraturas parecem ser ainda maiores nos pacientes submetidos a transplante hepático[7,8], em contraste com dados de pacientes transplantados de rim, que aparentemente apresentam menor incidência de perda óssea e fraturas no pós-transplante[9]. A menor incidência de fraturas nos transplantados de rim provavelmente ocorre devido ao melhor manejo das drogas imunossupressoras secundárias, à larga experiência e à monitorização mais acessível dos processos de rejeição. Em alguns casos, dependendo da existência de osteodistrofia renal prévia, ocorre aumento da massa óssea, principalmente cortical, no pós-transplante renal, muito embora a densidade dos ossos trabeculares bem como das vértebras tendem a diminuir[9].

CORTICOSTERÓIDES

Os glicocorticóides são os mais antigos e mais estudados imunossupressores, e continuam sendo a base da maior parte dos esquemas de imunossupressão utilizados hoje em dia. São sabidamente drogas causadoras de osteoporose em pacientes seguidos na prática clínica. A gênese da osteoporose causada pelos glicocorticóides é complexa e multifatorial. Os glicocorticóides inibem diretamente a função dos osteoblastos, diminuindo a produção de colágeno e a neoformação óssea[10]. Também inibem a síntese da osteocalcina, produto dos osteoblastos e marcador da formação óssea, por inibirem diretamente o gene promotor da osteocalcina. Este efeito sobre os osteoblastos se reflete laboratorialmente pela diminuição dos níveis séricos de osteocalcina[11,12,13]. Por outro lado, os glicocorticóides inibem diretamente a absorção intestinal de cálcio[14], além de estimularem a sua excreção renal, o que pode resultar em hiperparatireoidismo secundário e aumento da reabsorção óssea pelos osteoclastos[15]. Os glicocorticóides também atuam inibindo a produção de fatores de crescimento ósseo, como o fator de crescimento transformante B (TGF-B) e o fator insulina-símile I (IGF-I), e alteram o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, levando a um estado de hipogonadismo[14].

A maioria dos pacientes fazendo uso crônico de glicocorticóides apresentam algum grau de osteopenia. Na literatura, a prevalência de fraturas nestes pacientes varia de 30 a 50%[14,16,17]. O osso trabecular é mais afetado pelos glicocorticóides, pois apresenta maior velocidade de remanejamento ósseo[18]. Já as fraturas mais comuns são de quadril, vértebras e porção distal de ossos longos.

A incidência e a gravidade da osteoporose estão diretamente relacionadas à dose e à duração do tratamento com glicocorticóide. A maior perda óssea ocorre nos primeiros 12 meses de tratamento e mesmo doses relativamente pequenas como 7,5mg de prednisona ou equivalente estão associadas à osteoporose. Pacientes acima dos 50 anos, crianças, mulheres na menopausa, caucasianos e asiáticos, baixa estatura, história familiar e osteopenia prévia à introdução da corticoterapia são fatores predisponentes à ocorrência de fraturas patológicas associadas ao uso de glicocorticóides.

Recentemente vem sendo relatado menor efeito osteopenizante com o emprego de um derivado oxazolínico da prednisona, o deflazacort[19,20]. O deflazacort é um dos glicocorticóides mais hidrossolúveis. Sua penetração na barreira hematoencefálica é muito pequena e sua ligação com os receptores de glicocorticóides é estável e de longa duração; mas as razões pelas quais o deflazacort seria menos tóxico ao tecido ósseo não estão estabelecidas.

CICLOSPORINA

A ciclosporina é um decapeptídeo extraído do fungo *Tolypocladium inflatum*. A droga se liga a uma família de proteínas intracelulares chamadas ciclofilinas, formando um complexo isomérico de calcineurina A e B, cálcio e calmodulina. Estes complexos interferem na ativação das células T inibindo a produção celular de interleucina-2 (IL-2).

A ciclosporina tem sido utilizada em uma ampla gama de doenças do sistema imunológico, mas sem dúvida a sua maior aplicação se dá nos transplantes de órgãos, onde seu emprego alterou dramaticamente os índices de rejeição e a sobrevida dos enxertos. Como toda droga, a ciclosporina também tem seus efeitos colaterais que hoje em dia já são bem conhecidos; mas um dos seus efeitos colaterais é pouco comentado na literatura: a osteopenia. Os efeitos da ciclosporina no esqueleto foram primeiramente descritos em ratos, com doses equivalentes às usadas em humanos nos transplantes de órgãos, e mesmo em períodos tão curtos quanto 7 dias[21,22,23]. Os achados no tecido ósseo são compatíveis com uma osteoporose de remanejamento ósseo aumentado (formação e reabsorção), principalmente nos ossos trabeculares. Níveis séricos aumentados de 1,25-diidroxivitamina D_3 $1,25(OH)_2D_3$[24] e osteocalcina acompanham as alterações ósseas que são prevenidas com o uso de medicações inibidoras da reabsorção óssea como estrógeno e calcitonina[25,26]. É interessante salientar que os derivados não imunossupressores da ciclosporina A não exercem a mesma atividade sobre o metabolismo ósseo. Além da ação direta, a ciclosporina exerce ação indireta sobre o tecido ósseo por meio de supressão da produção gonadal de testosterona em roedores[27] e em humanos[28,29,30].

É difícil transportar os dados experimentais para a prática clínica, principalmente pela pequena quantidade de pacientes que fazem uso de ciclosporina isoladamente sem associação com outras drogas imunossupressoras. Uma referência preliminar do uso isolado de ciclosporina em transplante renal mostrou elevação dos níveis séricos de fosfatase alcalina e osteocalcina, enquanto o estudo histomorfométrico do tecido ósseo mostrou sinais de aumento da remodelação óssea[31].

Como o uso de corticosteróides, geralmente, acompanha a ciclosporina no pós-transplante, fica difícil esclarecer o papel da ciclosporina no desenvolvimento da osteoporose na prática clínica. Entretanto, existem evidências consistentes que suportam a hipótese da ação osteopenizante da ciclosporina. O efeito inibidor de osteoblastos pelos corticosteróides é bem conhecido, os quais acarretam diminuição da osteocalcina sérica, mesmo em doses tão baixas quanto 2,5mg[32]. Em contraste com o uso de ciclosporina em transplantes de coração, fígado ou rim, os níveis de osteocalcina sérica apresentam-se normais ou aumentados[9,33,34,35]. Estes achados são confirmados na histologia óssea de pacientes recebendo ciclosporina e corticosteróide, na qual o número de osteoclatos e o ritmo de formação óssea estão aumentados, ao contrário do observado em pacientes com osteoporose induzida por corticosteróide[15]. Logo, por períodos curtos de tempo, a ciclosporina pode até contrabalançar o efeito supressor dos corticosteróides sobre os osteoblastos; mas, a longo prazo e com a redução progressiva da dose de corticosteróide e a permanência da ciclosporina em doses imunossupressoras, este efeito "protetor" tende a desaparecer.

AZATIOPRINA

A azatioprina é uma análogo de purina que interfere na síntese do DNA, apresentando efeito citostático sobre as células linfóides. Há muito tempo a azatioprina vem sendo utilizada como imunossupressor em transplantes e no tratamento de

doenças do sistema imune, como a artrite reumatóide. Alguns levantamentos confirmaram maior incidência de necrose óssea avascular em pacientes transplantados de rim recebendo azatioprina, mas um estudo baseado em histomorfometria óssea um ano pós-transplante de rim não mostrou alteração significativa da remodelação óssea destes pacientes[36,37]. Estudos experimentais em ratos também não mostraram alterações no volume ósseo de animais tratados com azatioprina[38].

METOTREXATO

É um antagonista dos folatos, comumente utilizado em altas doses no tratamento de neoplasias e em doses menores no tratamento da artrite reumatóide e do lúpus eritematoso sistêmico, entre outras doenças auto-imunes. Estudos clínicos realizados em pacientes tratados com altas doses de metotrexato por neoplasias mostraram o desenvolvimento de dor óssea, osteopenia e fraturas[39,40]. Experimentalmente em ratos, o metotrexato causou diminuição do volume e da formação ósseos por meio da inibição da atividade de osteoblastos e aumento da atividade de osteoclastos, sendo que este efeito perdurou por até 170 dias após a interrupção da droga[41].

FK 506

O FK 506 é um macrolídeo derivado do fungo *Streptomyces tsukubaensis*. Apesar de estruturalmente diferente da ciclosporina A (CsA) o FK 506 apresenta mecanismo de ação semelhante por meio das imunifilinas intracelulares, resultando na inibição da ativação dos genes que codificam as linfocinas. No sistema esquelético, o FK 506 apresenta os mesmos efeitos que a CsA, causando osteopenia de remanejamento ósseo aumentado[42,43].

RAPAMICINA

É um novo imunossupressor, também um macrolídeo derivado de fungo, mas que apresenta mecanismos de ação diferente da CsA e do FK 506. O uso da rapamicina ainda é restrito, pois a droga está em fase experimental. Um estudo com rapamicina em ratos não detectou alterações histológicas no osso dos animais com ela tratados em período curto de tempo, mas detectou diminuição dos níveis séricos de $1,25(OH)_2D_3$ com altas doses da droga, o que, a longo prazo, pode acarretar alterações ósseas[44].

TRATAMENTO

O tratamento da osteoporose secundária à terapia imunossupressora é mais efetivo quando feito profilaticamente. Antes, ou concomitantemente com o início da terapêutica imunossupressora, os pacientes devem ser avaliados clínica e laboratorialmente para se conhecer o seu risco potencial de desenvolver osteoporose e fraturas ósseas. A densitometria óssea apresenta reprodutibilidade aceitável e deve ser mensurada nas vértebras lombares e no quadril, pois pode ser feita seqüencialmente para monitorizar os efeitos da imunossupressão sobre a massa óssea no decorrer do tratamento. Raios X da coluna torácica e lombar devem ser feitos no início do tratamento para averiguar a presença de fraturas vertebrais. Os pacientes que de início já apresentaram densitometria óssea diminuída ou fraturas devem ser avaliados para averiguação da existência de doenças osteopenizantes como hipertireoidismo, hiperparatireoidismo (principalmente nos transplantados de rim), mieloma múltiplo e deficiência de vitamina D. A avaliação deve incluir função tireoidiana, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, uréia, creatinina, eletroforese de proteínas, hormônio paratireóideo (PTH) intacto, vitamina D, osteocalcina e excreção urinária de cálcio e de oxipiridinolina. Funções gonodais também devem ser avaliadas nos homens e também nas mulheres na perimenopausa com alterações menstruais.

Várias medidas podem ser tomadas para prevenir a perda óssea em pacientes recebendo drogas imunossupressoras: diminuição das doses dos imunossupressores o mais breve possível, até a menor dose compatível com o controle da doença de base ou da prevenção dos episódios de rejeição (corticosteróides em dias alternados não parecem trazer benefícios para a perda óssea[45]); descontinuar o hábito de fumar tabaco e a ingestão de álcool; suplementação oral de cálcio, uma vez que os corticosteróides inibem a sua absorção intestinal; suplementação de vitamina D em doses fisiológicas ou até farmacológicas com calcitriol, principalmente em pacientes com níveis baixos de vitamina D secundários à insuficiência renal. Um trabalho recente demonstrou papel preventivo do calcitriol na perda óssea relacionada aos corticosteróides[46]. No entanto, deve-se ter muito cuidado com os efeitos secundários da terapia com calcitriol como a hipercalcemia e a hipercalciúria, controlando os níveis de cálcio sérico e urinário. Um maior número de estudos sobre a eficácia e a segurança do uso preventivo da vitamina D serão importantes para a sua normatização.

Em mulheres na menopausa ou na perimenopausa com amenorréia ou irregularidade menstrual que vão iniciar terapia imunossupressora deve-se considerar seriamente a reposição estrogênica, a menos que seja especificamente contraindicada. Nas mulheres com útero patente é ne-

cessário um agente progestagênico. O estrógeno aumenta a metabolização hepática da CsA diminuindo seu nível sérico, o que aumenta o risco de rejeições. Para evitar flutuações nos níveis séricos de CsA é recomendado utilizar o estrógeno de maneira contínua e monitorizar os seus níveis sangüíneos até o estabelecimento de um novo patamar.

O hipogonadismo, tanto por falência testicular como por disfunção hipotalâmico-pituitária, é comum em homens recebendo corticosteróides ou no pós-transplante. Apesar do hipogonadismo masculino por si só contribuir para a perda óssea, seu papel em associação a drogas imunossupressoras sobre o metabolismo ósseo não está definido, assim como faltam dados sobre a terapêutica de reposição hormonal com testosterona para estes pacientes.

Futuras perspectivas no tratamento da osteoporose em relação às drogas imunossupressoras são visualizadas por meio de estudos em animais ou em alguns protocolos em humanos ainda em andamento. O uso de calcitonina já se mostrou eficaz clinicamente na prevenção da osteoporose induzida por corticosteróides, e em fase experimental também apresentou sucesso na prevenção da osteoporose de remanejamento ósseo elevado no modelo de ratos tratados com CsA[26,47]. Estudos controlados com o uso de calcitonina "spray" nasal em pacientes com osteoporose secundária a corticosteróides e transplantes estão em andamento.

Os chamados bisfosfonatos, drogas que inibem a reabsorção óssea, podem ter um papel importante no tratamento da osteoporose induzida por imunossupressores, principalmente na osteoporose secundária a CsA. Um estudo preliminar mostrou bons resultados na prevenção da osteoporose induzida por corticosteróide com o uso em regime cíclico do etidronato[48]. Outro bisfosfonato, o pamidronato, levou a um aumento da densidade óssea vertebral em pacientes em uso de corticosteróides[49].

Outras drogas como fluoreto de sódio, que estimula a formação óssea, e novas propostas terapêuticas com derivados estrogênicos, IGF-I, PTH, prostaglandina E_2 e análogos da vitamina D podem vir a ter um futuro promissor na terapêutica da osteoporose causada por imunossupressores. A alternativa de uso de novos imunossupressores como a rapamicina, que em fase experimental mostrou-se menos tóxica ao tecido ósseo, também constitui um campo de pesquisa a ser explorado.

Como não existe um esquema terapêutico estabelecido para a osteoporose induzida por imunossupressores, os pacientes devem ser monitorizados de maneira criteriosa e reprodutível. A densitometria óssea é útil como forma de acompanhamento destes pacientes, e deve ser feita no início da terapêutica, 6 a 12 meses após o transplante, uma vez que a perda óssea mais acentuada ocorre nos primeiros seis meses. A densitometria também deve ser usada como método de acompanhamento da eficácia terapêutica da osteoporose nestes pacientes. O paciente também deve ser seguido com marcadores bioquímicos do remanejamento ósseo, como a osteocalcina sérica e deoxipiridinolina urinária, embora estes marcadores sejam prejudicados devido à presença de insuficiência renal significativa.

A clássica biopsia de crista ilíaca após marcação *in vivo* com tetraciclina, analisada segundo os padrões técnicos de histomorfometria, continua sendo o "gold standart" para o diagnóstico preciso e indicação terapêutica dos casos mais complexos de osteoporose associados a imunossupressores, principalmente nos esquemas múltiplos de drogas, e nos pacientes com doença óssea prévia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RICH GM, MUDGE, GH, LAFFEL GL, LeBOFF MS: Cyclosprine A and prednisone associated osteoporosis in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 11:950-958, 1992.
2. SHANE E, RIVAS MC, SILVERBERG SJ, KIM TS, STARON RB, BILEZIKIAN JP: Osteoporosis after cardiac transplantation. *Am J Med* 94:257-264, 1993.
3. LEE AH, MULL RL, KEENAN GF: Osteoporosis and bone morbidity in cardiac transplant recipients. *Am J Med* 96:35-41, 1994.
4. MUCHMORE JS, COOPER DK, YE Y, SCHLEGEL VT, ZUHDI N: Loss of vertebral bone density in heart transplant patients. *Transplant Proc* 23:1184-1185, 1991.
5. RIVAS M, KIM TS, STARON RS, BILEZIKIAN JP, SHANE E: Bone loss and fractures occur within 6 months of heart transplantation. [abstract] *J Bone Miner Res* 7:358A, 1992.
6. RIVAS M, SILVERBERG SJ, KIM TS, SHANE E: Femoral neck bone loss predominates one year after cardiac transplantation. [abstract] *J Bone Miner Res* 8:205A, 1993.
7. McDONALD JA, DUSTAN CR, DILWORTH P: Bone loss after liver transplantation. *Hepatology* 14:613-619, 1991.
8. ESTELL R, DICKSON ER, HODGSON SF: Rates of bone loss before and after liver transplantation in women with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 14:296-300, 1991.
9. JULIAN BA, LASKOW DA, DUBOVSKY J, DUBOVSKY EV, CURTIS JJ, QUARLES LD: Raid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. *N Engl J Med* 325:544-550, 1991.
10. CANALIS E: Effects of glucocorticoids on type I collagen synthesis, alkaline phosphatase activity, and deoxyribonucleic acid content in cultured rat calvariae. *Endocrinology* 112:931-939, 1983.
11. BROWN J, MALAVAL L, CHAPUY M, DELMAS P, EDOUARD C, MUNIER P: Serum bone GLA-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 1:1091-1093, 1984.
12. PRUMMEL MF, WIERSINGA WM, LIPS P, SANDERS GTP, SAUERWEIN HP: The course of biochemical parameters of

bone turnover during treatment with corticosteroids. *J Clin Endocrinol Metab* 72:382-386, 1991.
13. KOTOWICZ MA, HALL S, HUNDER GG, CEDEL SL, MANN KG, RIGGS BL: Relationship of glucocorticoid dosage to serum bone GLA-protein concentration in patients with rheumatologic disorders. *Arthritis Rheum* 33:1487-1492, 1990.
14. LUKERT BP, RAISZ LG: Glucocorticoid induced osteoporosis pathogenesis and management. *Ann Intern Med* 112:352-364, 1990.
15. DEMPSTER DW: Perspectives: bone histomorphometry in glucocorticoid induced osteoporosis. *J Bone Miner Res* 4:137-141, 1989.
16. ADINOFF AD, HOLLISTER JR: Steroid-induced fractures and bone loss in patients with asthma. *N Engl J Med* 309:265-268, 1983.
17. RUEGSEGGER P, MEDICI TC, ANLIKER M: Corticosteroid-induced bone loss: a longitudinal study of alternate day terapy in patients with bronchial asthma using quantitative computed tomography. *Eur J Clin Pharmacol* 25:615-620, 1983.
18. Lo CASCIO V, BONUCCI E, IMBIMBO B: Bone loss after glucocorticoid therapy. *Calcif Tiss Int* 36:435-438, 1984.
19. GENNARI C, IMBIMBO B, MONTAGNANI M, NARDI P, AVIOLI LV: Effects of prednisone and deflazacort on mineral metabolism and parathyroid activity in humans. *Calcif Tiss Int* 36:245-252, 1984.
20. BALSAN S, STERU D, BOURDEAU A, GRIMBERG R, LENOIR G: Effects of long-term maintenance therapy with a new glucocorticoid, deflazacort, on mineral metabolism and statural growth. *Calcif Tiss Int* 40:303-309, 1987.
21. MOVSOWITZ C, EPSTEIN S, FALLON M, ISMAIL F, THOMAS S: Cyclosporin A in vivo produces severe osteopenia in the rat: effect of dose and duration of administration. *Endocrinology* 123:2571-2577, 1988.
22. MOVSOWITZ C, EPSTEIN S, FALLON M, ISMAIL F, THOMAS S: Cyclosporin A in the oophorectomized rat: unexpected severe bone resorption. *J Bone Miner Res* 4:393-398, 1989.
23. SCHLOSBERG M, MOVSOWITZ C, EPSTEIN S, FALLON M, ISMAIL F, THOMAS S: The effect of cyclosporin A administration and its withdrawal on bone mineral metabolism in the rat. *Endocrinology* 124:2179-2184, 1989.
24. STEIN B, HALLORAN BP, REINHART T: Cyclosporin A increses synthesis of 1,25 dihydroxyvitamin D_3 in rat and mouse. *Endocrinology* 128:1369-1373, 1991.
25. JOFFE I, KATZ I, JACOBS T: 17 Beta-estradiol prevents osteopenia in oophorectomized rat treated with cyclosporin A. *Endocrinology* 130:578-586, 1992.
26. STEIN B, TAKIZAWA M, JOFFE I, BERLIN J, PALLON M, KATZ I: Salmon calcitonin prevents cyclosporin-A induced high turnover bone loss. *Endocrinology* 129:92-98, 1991.
27. SEEKTHALAKSHMI L, MENON M, MALHOTRA RK, DIAMOND DA: Effect of cyclosporin A on male reproduction in rats. *J Urol* 138:991-995, 1987.
28. NIESZPOREK T, GRZESZCZAK W, KOKOT F, ZUKOWKSA-SZCZECHOWSKA E, KUSMIERSKI S, SZOKODNY A: Influence of type of immunossupressive therapy on secretion of somatotropin and function of the pituitary-adrenal and pituitary-gonadal axis in patients with kidney transplant. *Nephron* 52:65-69, 1989.
29. RAMIREZ G, NAVARTE J, BITTLE PA, AYERS-CHASTAIN C, DEAN SE: Cyclosporin induced alterations in the hypothalamic-hypophyseal-gonadal axis in transplant patients. *Nephron* 58:27-32, 1991.
30. RIVAS M, HEMBREE WC, KIM TS, SHANE E: Hypogonadism, bone mass and fractures in men after heart transplantation. [abstract] *J Bone Miner Res* 8:601A, 1993.
31. BOURBIGOT B, MOAL MC, CLENDER J: Bone histology in renal transplant patient receiving cyclosporin. *Lancet* 1:1048-1049, 1988.
32. NEILSEN HK, CHARLES P, MOSEKILDE L: The effect of single oral doses of prednisone on the cicardian rhythm of serum osteocacin in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 67:1025-1030, 1988.
33. SHANE E, RIVAS M, KIM TS, OTT SM: Bone histomorphometry after cardiac transplantation. [abstract] *J Bone Miner Res* 8:446A, 1993.
34. WATSON RGP, COULTON L, KANIS JA: Circulating osteocalcin in primary biliary cirrhosis following liver transplantation and during treatment with ciclosporin. *Hepatology*, 11:354-358, 1990.
35. KELLY P, SAMBROOK PN, EISMAN JA: Potential protection by cyclosporin against glucocorticoid effects on bone. [letter] *Lancet* 2:1388, 1989.
36. AUBIA J, MSRAMON J, SERRANO S, LLOVERAS J, MARINOSO LL: Bone histology in renal transplant patient receving cyclosporin. *Lancet* 1:1048-1049, 1988.
37. CONTORRUELO JG, De FRANCISCO ALM, CANGA E: The influence of immunosupression on the prevalence of aseptic bone necrosis after renal transplantation. *Transplant Proc* 23:2199-2200, 1991.
38. BRYER HP, ISSEROW JA, ARMSTRONG EC, MANN GN, RUCINSKI B, BUCHINSKY FJ, ROMERO DF, EPSTEIN S: Azathioprine alone is bone sparing and does not alter cyclosporin A-induced osteopenia in the rat. *J Bone Miner Res* 10:132-138, 1995.
39. SCHWARTZ AM, LEONIDAS JC: Methotrexate osteopathy. *Skeletal Radiol* 11:13-16, 1984.
40. GNUDI S, BUTTURINI L, RIIPAMONTI C, AVELLA M, BACCI G: The effects of methotrexate (MTX) on bone: a densitometric study conduced on 59 patients with MTX administered at different doses. *Ital J Orthop Traumatol* 14:227-231, 1988.
41. WHEELER DL, VANDER GRIEND RA, WRONSKI TJ, MILLER GJ, KEITH EE, GRAVES JE: The short-and long-term effects of methotrexate on the rat skeleton. *Bone* 16:215-221, 1995.
42. KATZ IA, TAKIZAWA M, JAFFE II, STEIN B, FALLON MD, EPSTEIN S: Comparison of the effects of FK 506 and cyclosporine on bone mineral metabolism in the rat. A pilot study. *Transplantation* 52:571-574, 1991.
43. CVETKOVIC M, GARY NM, ROMERO DF, LIANG XG, MA Y, JEE W, EPSTEIN S: The deleterious effects of long-term cyclosporine A, cyclosporine G, and FK 506 on bone mineral metabolism in vivo. *Transplantation* 57:1231-1237, 1994.
44. JOFFE I, KATZ I, SEHGAL S: Lack of change of calcellous bone volume with short-term use of the new immunosuppressant rapamycin in rats. *Calcif Tissue Int* 53:45-52, 1993.
45. MITCHELL DR, LYLES KW: Glucocorticoid induced osteoporosis: mechanisms for bone loss evaluation of strategies for prevention. *J Gerontol* 45:153-158, 1990.
46. SAMBROOK P, BIRMINGHAM J, KELLY P, KEMPLER S, NGUYEN T, POCOCK N, EISMAN J: Prevention of corticosteroid osteoporosis. A comparision of calcium, calcitriol, and calcitonin. *N Engl J Med* 328:1747-1752, 1993.
47. MONTEMURRO L, SCHIRALDI G, FRIAOLI P, RIZZATO G: Prevention of corticosteroid induced osteoporosis with salmon calcitonin. *Calcif Tissue Int* 49:71-76, 1991.
48. MULDER H, SMELDER WAA: Effect of cyclical etidronate regimen on prophylaxis of bone loss of glucocorticoid therapy in postmenopausal women. [abstract] *J Bone Miner Res* 7:955A, 1992.
49. REID IR, SCHOOLER BA, STEWART AW: Prevention of glucocorticoid induced osteoporosis. *J Bone Miner Res* 5:619-623, 1990.

35

DOENÇA ÓSSEA NA HIPERCALCIÚRIA

Ita Pfeferman Heilberg
Lígia Araújo Martini
Heloísa Cattini Perrone
Nestor Schor

INTRODUÇÃO

A hipercalciúria idiopática, definida como uma síndrome de elevada excreção urinária de cálcio, na vigência de normocalcemia associada à hipofosfatemia[1], é um distúrbio metabólico freqüentemente encontrado em nefrolitíase, acometendo em média até 50% dos pacientes[2,3]. Sua etiologia ainda hoje é controversa, apesar de vários mecanismos fisiopatogênicos serem continuamente propostos. São eles o aumento primário na absorção intestinal de cálcio, redução na reabsorção tubular renal de cálcio, perda renal primária de fosfato, aumento primário na síntese de vitamina D, distúrbios tubulares renais combinados e por fim o aumento primário na reabsorção óssea.

HIPERCALCIÚRIA IDIOPÁTICA

O aumento primário na reabsorção óssea, que leva à hipercalciúria denominada reabsortiva, e classicamente atribuída ao hiperparatireoidismo primário, diferia dos demais subtipos de hipercalciúria idiopática devido à presença de hipercalcemia. Entretanto, recentemente tem sido proposto que a hipercalciúria idiopática tem origem primariamente óssea mesmo na ausência de hiperparatireoidismo ou hipercalemia[4,5]. Esta hipótese se baseia no achado de elevada produção de interleucina-1, em cultura de monócitos de sangue periférico de pacientes com hipercalciúria idiopática[6]. A interleucina-1, potente estimulante da reabsorção óssea *in vitro*[7] e *in vivo*[8], seria a responsável pela elevada reabsorção óssea nesses pacientes, resultando em hipercalciúria subseqüente. Estes achados são suportados também pelas observações de que pacientes com hipercalciúria idiopática apresentam, com freqüência, osteopenia, conforme relatado em alguns estudos[4,6,9,10,11,12] e também em nosso Serviço[13]. O aumento da reabsorção óssea, evidenciado pela elevada excreção de hidroxiprolina urinária[4,6,14], também tem sido reconhecido com freqüência entre pacientes portadores de litíase cálcica.

A ingestão de cálcio, bem como a de proteína animal potencialmente afetam a integridade óssea[4,15]. A ingestão de cálcio modula a absorção intestinal deste íon, por meio das ações da vitamina D e do hormônio da paratireóide (PTH)[16,17,18,19], interferindo com a excreção de cálcio. O consumo de proteína de origem animal é maior entre pacientes litiásicos e produz, entre outros efeitos, elevação da calciúria[20,21,22,23]. A proteína animal é rica em aminoácidos sulfurados, como a metionina e a cistina, que são oxidados a sulfato. Esta oxidação gera uma carga fixa de ácidos, produzindo acidose metabólica leve. Em resposta a esta acidose, ocorre aumento da reabsorção óssea com liberação de cálcio do osso para o tamponamento dos íons H^+, além de redução da reabsorção tubular renal de cálcio, por efeito direto, ambos os efeitos contribuindo para a hipercalciúria.

Apesar de vários investigadores relatarem redução de densidade mineral óssea em pacientes litiásicos[4,6,9,10,11,12,24], os métodos empregados assim como as populações estudadas diferem muito entre si, dificultando as comparações. Além disso, os dados coletados de mulheres e de homens são agrupados e os dados individuais não são geralmente mostrados. Alguns estudos envol-

vendo medidas de densidade mineral óssea (DO) no rádio e utilizando técnica de densitometria por emissão única de fótons demonstraram redução da DO apenas em pacientes com hipercalciúria renal (HCaR) e hiperparatireoidismo secundário associado[10,12,24]. Entretanto, vários estudos revelam que os pacientes portadores de hipercalciúria renal ou que estão em jejum geralmente apresentam valores de PTH normais ou até mesmo suprimidos[17,25,26]. Adicionalmente, outros autores observaram redução de DO em pacientes com hipercalciúria absortiva ou até mesmo com normocalciúria[11].

INVESTIGAÇÃO METABÓLICA

Em vista destes achados, a investigação metabólica na hipercalciúria hoje envolve também uma pesquisa voltada ao metabolismo ósseo, incluindo a determinação de marcadores bioquímicos e a medida da massa óssea por meio de densitometria. A biopsia óssea não descalcificada com análise histomorfométrica tem contribuído para um melhor entendimento da fisiopatologia desta entidade.

Os ossos são formados por duas arquiteturas estruturais básicas – cortical ou osso compacto e osso trabecular[27]. Aproximadamente 80% do esqueleto é composto por osso cortical, localizado principalmente na diáfise apendicular, enquanto 20% é osso trabecular. Como muitos outros tecidos, o osso precisa ser reposto ou renovado continuamente[28]. A remodelação óssea refere-se ao processo osteoclástico de reabsorção óssea e osteoblástico de formação óssea. A remodelação começa pela ativação da *célula progenitora*, a qual prolifera em um grupo de *osteoclastos* recém-formados. Estes osteoclastos reabsorvem osso. Todo esse processo é chamado de *ativação*. Estudos recentes sugerem que o osteoclasto sofre alterações mostrando diminuição de sua atividade de degradação óssea na presença de aumento do cálcio extracelular[27]. Desta forma, o aumento da concentração do cálcio extracelular, durante todo o processo de reabsorção óssea, pode servir como um sinal para cessar a atividade osteoclástica. Após esta fase, ocorre uma fase inativa reversa, quando parece que os osteoclastos se degeneram em várias células mononucleares. Essa fase reversa é seguida pelo aparecimento dos *osteoblastos* no foco reabsorvido. Os osteoblastos então depositam matriz óssea em volume semelhante ao do osso previamente removido pelo osteoclasto. Após a mineralização, o balanço total do esqueleto é mantido[27].

Em condições normais, o balanço da massa do esqueleto é mantido até a terceira década de vida, período após o qual a quantidade de osso reabsorvido durante o processo de remodelação excede o subseqüente depositado, devido à diminuição da massa do esqueleto pelo envelhecimento. A mineralização do osteóide requer concentrações adequadas de cálcio, fósforo, regiões de nucleação e uma matriz calcificável, livre de substâncias inibidoras. Proteínas não-colágenas, assim como a osteocalcina e a osteonectina, parecem participar no controle da deposição mineral na matriz óssea. Além disso, os osteoblastos contêm também grande quantidade de fosfatase alcalina.

Marcadores de formação e reabsorção óssea

Muito se tem investigado nos últimos anos na tentativa de desenvolvimento de novos marcadores para o diagnóstico e o manuseio de doenças ósseas metabólicas. Passo crucial na evolução clínica das doenças ósseas metabólicas e na monitorização dos efeitos do tratamento é a existência de marcadores sensíveis e específicos de reabsorção óssea[29,30,31]. Os principais marcadores de formação e reabsorção óssea estudados até o momento são:

Marcadores de formação (medidos no plasma) – osteocalcina, fosfatase alcalina (fração óssea e total) e pró-colágeno.

Marcadores de reabsorção (medidos no plasma) – fosfatase ácida tartarato-resistente, *pyridolinium* e *pyridolinium*-peptídeo.

Marcadores de reabsorção (medidos na urina) – cálcio/creatinina (Ca/Cr) de jejum, pró-colágeno, hidroxiprolina, hidroxilisina, piridinolina e desoxipiridolina.

Marcadores urinários de reabsorção óssea

Dentre os marcadores urinários de reabsorção óssea, a determinação da calciúria corrigida pela creatinina urinária (Ca/Cr) em amostra isolada de urina em jejum é, sem dúvida, o parâmetro mais simples e barato para a detecção da reabsorção óssea. É bom marcador, porém com sensibilidade e especificidade muito baixa. A presença de Ca/Cr de jejum em níveis elevados, superiores a 0,11, sugere que a dieta não deva estar interferindo de modo importante na produção de hipercalciúria. Entretanto, diante da elevação da Ca/Cr, é difícil diferenciar se existe redução na reabsorção tubular renal de cálcio, aumento da reabsorção óssea ou ambos. Tampouco se pode, por meio da calciúria de jejum, determinar qual é o mecanismo primário, ou seja, se a perda óssea é causa ou conseqüência da hipercalciúria.

Hidroxiprolina

É um aminoácido derivado quase que exclusivamente da estrutura do colágeno protéico, que constitui a matriz protéica do osso, tendões e tecidos conectivos. Tendo em vista que metade do colágeno humano encontra-se no osso, onde o "turnover" é maior do que nos tecidos moles, a excreção de hidroxiprolina na urina é considerada um marcador de reabsorção óssea[30]. Quando o osso é reabsorvido, os osteoclastos secretam enzimas que degradam o colágeno, liberando minerais e vários produtos de degradação do colágeno na circulação. Uma vez liberada do colágeno, a hidroxiprolina não pode ser reincorporada no novo colágeno sintetizado. Entretanto, durante a formação do colágeno, assim como na sua degradação, pode ser liberada na circulação. Dessa forma, a hidroxiprolina não é marcador específico de reabsorção óssea, podendo em alguns casos estar sendo liberada na circulação devido à *formação* óssea. Vários fatores alteram a sua excreção urinária, como idade, dieta, ritmo circadiano, etc. Em crianças em fase de crescimento, elevados níveis de hidroxiprolina podem refletir formação óssea assim como reabsorção[32]. A hidroxiprolina urinária é dosada por método colorimétrico, e o nível normal em adultos, para a hidroxiprolina total, deve estar entre 5 e 65mg/24h, e para a fração livre, ≤ 4mg/24h[29,32].

Hidroxilisina

É outro aminoácido exclusivo do colágeno. Diferentemente da hidroxiprolina, a hidroxilisina pode ser modificada pela adição de carboidratos, galactose ou glicose, formando galactosil-hidroxilisina e glucosilgalactosil-hidroxilisina. Tem sido postulado que o "turnover" do colágeno ósseo pode ser monitorizado por meio da quantificação da relação entre essas duas formas de hidroxilisina, excretadas na urina. Esse marcador urinário foi estudado somente em pacientes com doença de Paget, doença óssea caracterizada pelo alto "turnover" ósseo, onde os valores urinários de hidroxilisina aumentam significantemente[27].

Piridinolina e desoxipiridolina

Também conhecidas como "cross-links" de piridinolina (Pyr) e desoxipiridinolina (D-Pyr), correspondem a ligações cruzadas covalentes de piridina entre cadeias adjacentes de colágeno[33] que têm por função estabilizar a matriz extracelular. Em contraste à ampla distribuição dos colágenos dos tipos I e II, os "cross-links" de piridina estão presentes apenas no osso e na cartilagem, estando ausentes na pele, ligamentos e fáscias. Durante a quebra do colágeno pela colagenase, produtos desta hidrólise são excretados na urina ligados a estes "cross-links", incluindo a Pyr e a D-Pyr. Portanto, a Pyr e a D-Pyr são liberadas da matriz óssea durante sua degradação pelo osteoclasto. Elas não são reutilizadas na síntese do colágeno, mas excretadas sob a forma de peptídeos protéicos (60%), sendo possível a medida do total excretado através de fluorometria após fase reversa tipo "high performance liquid chromatography" (HPLC). Assim, a Pyr e a D-Pyr urinárias são marcadores mais específicos da reabsorção óssea, especialmente em crianças[34,35]. A medida dos "cross-links" urinários é potencialmente mais satisfatória do que a de hidroxiprolina por ser relativamente específica de "turnover" ósseo. Estes compostos parecem não ser metabolizados *in vivo* antes de sua excreção na urina, não sendo absorvidos pela via intestinal, o que permite coleta de urina sem restrição dietética. A excreção de Pyr e D-Pyr sofre influência do ritmo circadiano, com pico durante a noite, de padrão similar à osteocalcina, o que talvez seja reflexo do aumento do "turnover" ósseo e da reabsorção à noite. Sua excreção diminui em 30% entre 8 e 11 horas, sendo portanto importante referir o horário da coleta de urina para uma maior reprodutividade do estudo.

Caso os estudos clínicos validem essas substâncias como marcadores de "turnover" ósseo aumentado, será de grande importância na investigação das doenças ósseas metabólicas. Estudos clínicos iniciais têm utilizado a dosagem da Pyr e da D-Pyr para a monitorização do tratamento com drogas como os difosfonatos[29].

DENSITOMETRIA ÓSSEA

Existem várias técnicas desenvolvidas nestes últimos anos com o objetivo de avaliar quantitativamente a massa óssea. Na densitometria por emissão única de fótons, a atenuação causada pelas partes moles não é corrigida, o que limita o seu emprego no esqueleto apendicular, sendo utilizada para o estudo de ossos pequenos como o rádio, no qual a quantidade de tecidos moles é mínima. As primeiras avaliações de pacientes hipercalciúricos, utilizando esta técnica, demonstraram redução da densidade mineral óssea[10,12,24]. A técnica da tomografia computadorizada quantitativa (TCQ) analisa pequenos volumes de osso, separando o osso cortical do trabecular, porém, tem a desvantagem de se utilizar de alta dose de radiação.

A técnica da densitometria por emissão dupla de fótons (DPA) baseia-se na análise da atenuação de um feixe puntiforme de radiação gama de

uma fonte externa de gadolínio (^{153}Gd) com dois níveis de energia, mais recentemente substituída por uma fonte de raios X (DEXA), que possibilita um exame mais rápido e preciso, com melhor resolução das imagens. A relação entre a atenuação dos dois picos de energia possibilita a correção da contribuição das partes moles, permitindo acesso às medidas em coluna lombar e fêmur. A coluna vertebral é composta principalmente de osso trabecular, representado nos corpos vertebrais, e por pequena quantidade de osso cortical apenas nos prolongamentos posteriores. Devido à sua maior relação superfície/volume, o osso trabecular tem um "turnover" aproximadamente oito vezes maior que o osso cortical, sendo altamente responsivo a estímulos metabólicos[36]. Este alto "turnover" faz com que o osso trabecular seja o local primário para a detecção de perdas ósseas precoces. Na prática, são analisadas e valorizadas as medidas de coluna lombar, nas vértebras L_2, L_3 e L_4, e no fêmur são medidas três regiões: colo, trocanter maior e triângulo de Wards.

Na análise do corpo total, tem-se a medida de densidade óssea de crânio (DO), membros superiores e inferiores e tronco, além do valor do "pool" de cálcio do organismo. Os resultados da DO de cada área são expressos em valores absolutos, na unidade g/cm^2 (gramas de mineral ósseo por cm^2 de área analisada). Os resultados são plotados num gráfico de referência em função da idade. Assim sendo, os valores da DO nas várias regiões são comparados aos de indivíduos jovens (com 20 a 40 anos de idade), do mesmo sexo e raça. Em termos absolutos, valores de DO inferiores a 0,98g/cm^2 na região da coluna lombar e inferiores a 0,78g/cm^2 em colo de fêmur, que correspondem a dois desvios-padrão abaixo do adulto jovem, indicam risco significativo de fratura[37,38]. Valores de DO inferiores a 0,90g/cm^2 e 0,70g/cm^2, para a coluna e colo, respectivamente, correspondendo a três desvios-padrão abaixo do adulto jovem, sugerem osteoporose[28].

Adicionalmente, os valores de DO são também comparados com um controle do mesmo sexo, raça, idade e peso do paciente em questão[39]. Admite-se que a perda óssea esperada para a mulher após a menopausa é de 1% ao ano[39]. Quando se compara o valor de DO do paciente com o padrão normal para sua idade, sexo, peso e raça e se observam cifras superiores a 10 ou 15% na região da coluna, sugere-se que existe osteopenia. Mais recentemente, tem-se atribuído muito valor ao denominado Z-escore (diferença entre a média de DO normal e a anormal, divididas pelo desvio-padrão). A osteopenia é definida quando Z-escore em relação ao adulto jovem tem valor situado entre –1,0 e –2,5, osteoporose, quando este valor é inferior a –2,5 e osteoporose estabelecida quando o valor é inferior a –2,5 associado à presença de fraturas ósseas[40].

Em nosso Serviço, foi avaliada a DO de 75 pacientes litiásicos com hipercalciúria, sendo 48 com hiperabsorção intestinal de cálcio (HAInt) e 27 com hipercalciúria renal (HCaR). Do total, 42 eram homens e 33 eram mulheres, todas em fase de pré-menopausa, a fim de se evitar que outros fatores interferissem com a interpretação dos resultados. A DO foi determinada em aparelho Lunar Modelo DPX (Lunar Radiation Corporation, Madison, WI) com emissão de dois fótons e fonte de raios X. Foram realizadas medidas em coluna lombar, nível L_2-L_4, e colo de fêmur, sendo os resultados expressos em g/cm^2. Estes pacientes foram comparados com um outro grupo controle de 180 indivíduos normais, brasileiros, brancos, do mesmo sexo, idade e peso corpóreo. A média de idade e peso bem como das medidas de DO de coluna lombar, nível L_2-L_4, nos homens e nas mulheres dos três grupos são mostradas na tabela 35.1. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as médias de DO de coluna lombar e colo para os três grupos de mulheres, com idade e peso corpóreo semelhantes, e todas na pré-menopausa.

Entre os homens, com idade e peso semelhantes, observou-se que os grupo HCaR e HAInt apresentaram médias de DO significantemente menores do que o do grupo controle em nível de colo de fêmur, 0,948 *vs.* 1,074g/cm^2, e 0,981 *vs.*1,074g/cm^2, respectivamente. Na análise dos valores individuais das medidas de DO em nível de colo de fêmur, observou-se que 62% dos homens com HCaR e 31% dos com HAInt apresentaram perdas percentuais de massa óssea superiores a 15% em relação ao controle pareado.

A razão de maior osteopenia entre os homens permanece desconhecida. Em outras séries que avaliaram a DO de pacientes hipercalciúricos, também houve preponderância do sexo masculino[4,6,41,42]. A avaliação do consumo de cálcio foi em torno de 558 ± 329mg/dia entre as mulheres e 564 ± 220mg/dia entre os homens[13]. Os homens consumiram mais proteína de origem animal e purinas do que as mulheres (53 ± 17 *vs.* 35 ± 13g/dia e 166 ± 71 *vs.* 114 ± 66g/dia, respectivamente, $p < 0,05$). É possível que o balanço negativo de cálcio tenha sido mais importante para os homens, devido ao reduzido consumo de cálcio associado a um maior consumo protéico animal[43], contribuindo assim para a osteopenia. Os pacien-

Tabela 35.1 – Densidade mineral óssea (DO) em coluna lombar (L_2-L_4) e colo de fêmur (colo) de mulheres e homens litiásicos com hiperabsorção intestinal de cálcio (HAInt), hipercalciúria renal (HCaR) e controles sadios.

	Controle	HAInt	HCaR
Mulheres (n)	140	25	8
Idade (anos)	36 ± 8	37 ± 5	37 ± 10
Peso (kg)	59 ± 7	61 ± 10	63 ± 14
DO L_2-L_4 (g/cm²)	1,151 ± 0,128	1,216 ± 0,154	1,138 ± 0,056
DO colo (g/cm²)	0,916 ± 0,103	0,969 ± 0,135	0,892 ± 0,078
Homens (n)	40	23	19
Idade (anos)	39 ± 14	45 ± 12	41 ± 15
Peso (kg)	79 ± 13	74 ± 11	72 ± 8
DO L_2-L_4 (g/cm²)	1,209 ± 0,130	1,138 ± 0,115	1,089 ± 0,185
DO colo (g/cm²)	1,074 ± 0,135	0,981 ± 0,095*	0,948 ± 0,173*

$\bar{X}$ ± DP; * *vs.* controle

tes com HCaR, com maior tendência à osteopenia, também consumiam mais purinas do que os com HAInt (170 ± 21 *vs.* 124 ± 9g/dia, p < 0,05). Apesar da existência provável de uma relação entre ingestão de cálcio e conteúdo mineral ósseo, ainda permanece controverso o papel do cálcio dietético como causador de osteopenia[15,44]. Durante a vida adulta são necessários pelo menos 950mg de cálcio por dia para que se atinja um balanço positivo[45,46], que não é atingido quando as ingestões deste nutriente são muito reduzidas como a da presente série.

Em estudo prospectivo em nosso Serviço[47], avaliamos a variação da DO de 46 crianças com hipercalciúria, sendo 19 com nefrolitíase e 27 com hematúria, por um período de 18 a 60 meses. As crianças foram subdivididas em três grupos: 1. *controladas* (C, n = 22), que apresentavam hipercalciúria apenas na primeira determinação de cálcio urinário; 2. *irregularmente controladas* (IC, n = 16), crianças que apresentaram períodos de hiper e normocalciúria; e 3. *não-controladas* (NC, n = 8), crianças constantemente com hipercalciúria. No nível da coluna lombar observamos nos grupos C e IC elevação dos valores de DO em relação ao grupo NC (p < 0,05). Não verificamos diferenças entre os grupos na análise da variação da DO no nível do colo de fêmur e no do corpo total. Quando os resultados foram expressos em função do Z-escore, corrigindo-se por meio da idade e do sexo, verificamos nos grupos C e IC aumento significativo da DO de L_2-L_4 em relação ao grupo NC (p < 0,05). Com relação ao colo do fêmur, essa diferença só foi significativa entre os grupos C *versus* NC (p < 0,05). Não houve diferença na variação da DO de corpo total entre os três grupos estudados.

HISTOMORFOMETRIA ÓSSEA

Apesar de a medida da DO ter a grande vantagem de ser um método não-invasivo, somente a análise histomorfométrica do tecido ósseo é capaz de fornecer dados esclarecedores sobre a origem da osteopenia, como excesso de reabsorção óssea, redução de formação óssea ou ambos. Adicionalmente, através da marcação pela tetraciclina oral, torna-se possível conhecer as condições da mineralização óssea.

Em nosso Serviço, foi realizada a biopsia em 10 pacientes hipercalciúricos, todos homens, que apresentavam osteopenia detectada pela densitometria óssea.

Os parâmetros histomorfométricos foram comparados com controles masculinos pareados por idade. Como os controles foram obtidos de material *post-mortem*, os parâmetros referentes à dupla marcação pela tetraciclina foram comparados com controles relatados pela literatura internacional[48,49,50]. Os resultados obtidos são mostrados na tabela 35.2.

Em relação à avaliação histomorfométrica, os resultados confirmaram a osteopenia, detectada pela DO. Em média, o volume ósseo (BV/TV) esteve reduzido de maneira significante em relação ao controle (12,4 ± 1,0 *vs.* 22,4 ± 1,2%, p < 0,05). Exceto pelo paciente 4 dessa tabela, todos os pacientes apresentaram redução importante do BV/TV. Mesmo apresentando volume ósseo não tão reduzido quanto os demais, o paciente 4 apresentava DO em L_2-L_4 de 0,837g/cm², e um volume osteóide baixo e não alto como seria em caso de osteomalacia. Outra alternativa para explicar o seu BV/TV seria a de que, eventualmente, sua biopsia tenha sido realizada muito próximo à crista ilíaca, na transição entre o osso cortical e o trabecular, no qual o volume ósseo é maior que o volume trabecular.

Tabela 35.2 – Parâmetros histomorfométricos em 10 pacientes hipercalciúricos.

Pt nº	BV/TV %	OV/BV %	OS/BS %	ES/BS %	ObS %	OcS %	BFR/BS μ^3/μ^2/dia	MLT dias
1	12,3	0	13,9	20,6	0	0	0	∞
2	12,6	0	0	50,4	0	0	0	∞
3	11,9	2,6	10,9	16,8	0,5	0,5	0	∞
4	19,3	1,8	8,1	17,5	0,6	0,3	0	∞
5	8,3	1,9	16,8	14,3	0	0	0,01	118
6	10,8	3,2	20,1	14,0	1,1	0	0,02	118
7	13,9	0,9	3,9	14,4	0	0,3	0,02	21
8	15,1	5,1	34,4	8,9	0	0	0,03	92
9	9,1	1,4	24,9	14,4	0,3	0,3	0,03	80
10	10,3	4,0	23,5	23,4	0	0	0,03	71
$\bar{X}\pm$	12,4*	2,1	15,7	19,1*	0,3	0,10	0,01	83
EP	1,0	0,5	3,3	3,7	0,1	0,03	0,00	11
Controle								
$\bar{X}\pm$	22,4	1,3	9,0	2,2	1,0	0	0,13	21
EP	1,2	0,2	1,7	0,6	0,4		0,07	2

$p < 0,001$: * *vs.* controle.

BV/TV = volume ósseo; OV/BV = volume osteóide; OS/BS = superfície osteóide; ES/BS = superfície de erosão; ObS = superfície osteoblástica; OcS = superfície osteoclástica. *Parâmetros fornecidos pela dupla marcação pela tetraciclina*: BFR/BS = taxa de formação óssea; MLT = tempo para mineralização (em dias).

Na tabela 35.2 o volume (OV/BV) e a superfície osteóides (OS/BS) não foram significantemente diferentes do controle. A superfície osteoblástica (ObS) encontrava-se reduzida na maioria dos pacientes, embora a média não tenha atingido significância estatística em comparação ao controle (0,3 ± 0,1 *vs.* 1,0 ± 0,4%). A taxa de formação óssea, determinada pela marcação com a tetraciclina, esteve extremamente reduzida em 70% dos pacientes, que apresentaram valores de BFR/BS (paciente 1 até o 7) abaixo de 1,5 desvio-padrão da média referida pela literatura[48,49,50], 0,13 ± 0,07μ^3/μ^2/dia. A importante redução deste parâmetro indica defeito grave de mineralização e que a osteoporose identificada é de baixo remanejamento. É provável que nestes pacientes haja maior proporção de osteóide inativo, não recoberto por osteoblastos, e que, portanto, não incorpora tetraciclina num padrão de dupla marcação.

As superfícies de erosão (ES/BS), indicativas de reabsorção óssea, estavam marcadamente elevadas em 100% dos pacientes, com uma média significantemente elevada em relação ao controle (19,1 ± 3,7 *vs.* 2,2 ± 0,6%, $p < 0,05$).

Estes achados não sugerem presença de hiperparatireoidismo secundário, que habitualmente se caracteriza pela presença de fibrose e aumento concomitante das superfícies osteóides e de reabsorção, refletindo condição de elevado "turnover". O aumento na reabsorção óssea evidenciado no presente estudo foi também descrito por Steiniche e cols[42]. Já Malluche e cols[41], que estudaram apenas pacientes com hipercalciúria absortiva, não verificaram reabsorção óssea elevada. O achado de remodelação óssea normal, com grave defeito de mineralização na presente avaliação, já foi descrito por outros autores[10,41,42]. De acordo com Steiniche e cols[42], uma perda renal primária de fosfato poderia resultar neste tipo de padrão histomorfométrico. Na presente série, 5/10 (50%) dos pacientes apresentaram hipofosfatemia. Entretanto, uma investigação mais acurada seria necessária para explicar este defeito de mineralização nos pacientes com cálcio e fósforo séricos normais, considerando-se também que a $1,25(OH)_2D_3$ sérica se mostrou normal ou até elevada na maioria destes pacientes. É possível que reduções de fósforo sérico, ainda que dentro dos limites da normalidade, acarretem estímulo da vitamina D, determinando redução na formação óssea nestes pacientes[51,52].

Recentemente, foi demonstrada redução na síntese de DNA em cultura de células osteoblásticas de homens osteoporóticos com defeito na formação óssea[53]. Esta diminuição de síntese de DNA era responsável pela redução na proliferação celular e na formação óssea, consistentes com um menor recrutamento dos osteoblastos.

Entretanto, ainda está por ser esclarecido se o presente envolvimento ósseo, também continuamente relatado pela literatura, é causa ou conseqüência de hipercalciúria[4,6,13,41,54].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBRIGHT F, HENNEMAN P, BENEDICT PH, FORBES AP: Idiopathic hypercalciuria: a preliminary report. *Proc R Soc Med* 46:1077-1081, 1953.
2. COE FL, PARKS JH, ASPLIN JR: The pathogenesis and treatment of kidney stones. *N Engl J Med* 327(16):1141-1151, 1992.
3. PAK CYC: Etiology and treatment of urolithiasis. *Am J Kidney Dis* 18(6):624-637, 1991.
4. BATAILLE P, ACHARD JM, FOURNIER A, BOUDAILLIEZ B, WESTEEL PF, ESPER NE, BERGOT C, JANS I, LALAU JD, PETIT J, HENON G, JEANTET MAL, BOUILLON R, SEBERT JL: Diet, vitamin D and vertebral mineral density in hypercalciuric calcium stone formers. *Kidney Int* 39:1193-1205, 1991.
5. BATAILLE P, FOURNIER A, BOUDAILLIEZ B, WESTEEL PF, EL ESPER N, ACHARD JM, BERGOT C, BOUILLON R: Idiopathic hypercalciuria: proposal for a new cascade, in *Nephrology, Vol II, Proceedings of the XIth International Congress of Nephrology*, edited by Hatano M, Tokyo, Springer-Verlag, 1990, pp 1028-1042.
6. PACIFICI R, ROTHSTEIN M, RIFAS L, LAU KW, BAYLINK DJ, AVIOLI LV, HRUSKA K: Increased monocyte interleukin-1 activity and decreased vertebral bone density in patients with fasting idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* 71:138-145, 1990.
7. GOWEN M, MUNDY GR: Actions of interleukin-1, interleukin-2 and interferon-gamma on bone resorption in vitro. *J Immunol* 136:2478-2482, 1986.
8. BOYCE BF, AUFDEMORTE TB, GARRET IR, YATES AJP, MUNDY GR: Effects of interleukin-1 on bone turnover in normal mice. *Endocrinology* 125:1142-1150, 1989.
9. ALHAVA EM, JUUTI M, KARJALAINEN P: Bone mineral density in patients with urolithiasis. *Scand J Urol Nephrol* 10:154-156, 1976.
10. BORDIER P, RYCKEWART A, GUERIS J, RASMUSSEN H: On the pathogenesis of so-called idiopathic hypercalciuria. *Am J Med* 63:398-409, 1977.
11. FUSS M, GILLET C, SIMON J, VANDEWALLE JC, SCHOUTENS A, BERMANN P: Bone mineral content in idiopathic renal stone disease and in primary hyperparathyroidism. *Eur Urol* 9:32-34, 1983.
12. LAWOYIN S, SISMILICH S, BROWNE R, PAK CYC: Bone mineral content in patients with calcium urolithiasis. *Metabolism* 28(12):1250-1254, 1979.
13. HEILBERG IP, MARTINI LA, SZEJNFELD VL, CARVALHO AB, DRAIBE SA, AJZEN H, RAMOS OL, SCHOR, N: Bone disease in calcium stone forming patients. *Clin Nephrol* 42(3):175-182, 1994.
14. SUTTON RAL, WALKER VR: Bone resorption and hypercalciuria in calcium stone formers. *Metabolism* 35(6):485-488, 1986.
15. MARCUS R: Calcium intake and skeletal integrity: is there a critical relationship? *J Nutr* 117:631-635, 1986.
16. BROADUS AE, LANG R, KLIGER A: The influence of calcium intake and the statuts of intestinal absorption on the diagnostic utility of measurements of 24-hour cyclic adenosine 3'5' monophosphate excretion. *J Clin Endocrinol Metab* 52(6):1085-1089, 1981.
17. COE FL, FLAVUS MJ, CROCKETT T, STRAUSS AL, PARKS JH, PORAT A, GANTT CL, SHERWOOD LM: Effects of low calcium diet on urine calcium excretion, parathyroid function and serum $1,25(OH)_2D_3$ levels in patients with idiopathic hypercalciuria and in normal subjects. *Am J Med* 72:25-32, 1982.
18. MacFADYEN IJ, NORDIN BEC, SMITH DA, WAYNE DJ, RAE SL: Effect of variation in dietary calcium on plasma concentration and urinary excretion of calcium. *Br Med J* 1:161-164, 1965.
19. PEACOCK M, KNOWLES F, NORDIN BEC: Effect of calcium administration and deprivation on serum and urine calcium in stone forming and control subjects. *Br Med J* 2:729-731, 1968.
20. BRESLAU NA, BRINKLEY L, HILL KD, PAK CYC: Relationship of animal protein-rich diet to kidney stone formation and calcium metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 66:140-146, 1988.
21. FELLSTROM B, DANIELSON B, KARLSTROM B, LITHELL H, LJUNGHALL S, VESSBY B, WIDE L: Effects of high intake of dietary animal protein on mineral metabolism and urinary supersaturation of calcium oxalate in renal stone formers. *Br J Urol* 56:263-269, 1984.
22. GOLDFARB S: Dietary factors in the pathogenesis and prophylaxis of calcium nephrolithiasis. *Kidney Int* 34:544-555, 1988.
23. IGUCHI M, UMEKAWA T, ISHIKAWA Y, KATAYAMA Y, KODAMA M, TAKADA M, KATOH Y, KATAOKA K, KOHRI K, KURITA T: Dietary intake and habits of japanese renal stone patients. *J Urol* 143:1093-1095, 1990.
24. PAK CYC, OHATA M, LAWRENCE EC, SNYDER W: The hypercalciurias: causes, parathyroid functions and diagnostic criteria. *J Clin Invest* 54:387-400, 1974.
25. BURCKHARDT P, JAEGER P: Secondary hyperparathyroidism in idiopathic renal hypercalciuria: fact or theory? *J Clin Endocrinol Metab* 53(3):550-555, 1981.
26. OLMER M, BERLAND Y, ARGEMI B: Absence of secondary hyperparathyroidism in most patients with renal hypercalciuria. *Kidney Int* 24(16):S175-S179, 1983.
27. ZERWEKH JE: Bone metabolism. *Semin Nephrol* 12:79-90, 1992.
28. BARON R: Anatomy and ultrastructure of bone, in *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders*, edited by Favus MJ, New York, Raven Press, 1993, pp 3-9.
29. DELMAS PR, SCHLEMMER A, GYNUYTS E, RIIS B, CHRISTIANSEN C: Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crist biopsy in patients with vertebral osteoporosis. *J Bone Mineral Res* 6:639-644, 1991.
30. KIVIRIKKO KI, LAITENEN O, PROCKOP DJ: Modifications of a specific assay for hydroxyproline in urine. *Anal Biochem* 19:249-255, 1967.
31. ROBINS SP, BLACK D, PATERSON CR, REID DM, DUNCAN A, SEIBELS MJ: Evaluation of urinary hydroxypyridinium crosslink measurements as resorption markers in metabolic bone diseases. *Eur J Clin Invest* 21:310-315, 1991.
32. UEBELHART D, GINUYTS E, CHAPUY MC, DELMAS PD: Urinary excretion of pyridinium crosslinks: a new marker of bone resorption in metabolic bone disease. *Bone Mineral* 8:87-96, 1990.
33. BLACK D, DUNCAN A, ROBINS SP: Quantitative analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in urine using ion-paired reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 169:197-203, 1988.
34. BEARDSWORTH LJ, EYER DR, DICKSON IR: Changes with age in the urinary excretion of lysil-and-hydroxylysylpyridinoline, two new markers of bone collagen turnover. *J Bone Miner Res* 5:671-676, 1990.
35. BRANCA F, ROBINS SP, FERRO-LUZZI A, GOLDEN MHN: Bone tunover in malnourished children. *Lancet* 340:1493-1496, 1992.
36. BIANCO AC: Regulação endócrina da homeostase do cálcio, in *Fisiologia Humana*, edited by Ayres MM, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991, pp 1525-1553.
37. NORDIN BEC: The definition and diagnosis of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 40:57-58, 1987.
38. WAHNER HW: Single-and dual-photon absorptiometry in osteoporosis and osteomalacia. *Semin Nucl Med* 17(4):305-315, 1987.

39. MARONE MMS, LEWIN S, BIANCO AC, CORREA PHS: Diagnóstico precoce de osteoporose através da densitometria de dois fótons. *Rev Assoc Med Bras* 35:57-62, 1989.
40. KANIS JA, MELTON III LJ, CHRISTIANSEN C, JOHNSTON CC, KHALTAEV N: The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 9(8):1137-1141, 1994.
41. MALLUCHE HH, TSCHOEPE W, RITZ E, MEYER-SEBELLEK W, MASSRY S: Abnormal bone histology in idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* 50:654-658, 1980.
42. STEINICHE T, MOSELKIDE L, CHRISTENSEN MS, MELSEN F: A histomorphometric determination of iliac bone remodeling in patients with recurrent renal stone formation and idiopathic hypercalciuria. *APMIS* 97:309-316, 1989.
43. LINKSWILER HM, JOYCE CL, ANAND CR: Calcium retention of young adult males as affected by level of protein and of calcium intake. *Trans NY Acad Sci* 36:333-340, 1974.
44. WARDLAW G: The effects of diet and life-style on bone mass in women. *J Am Diet Assoc* 88(1):17-22, 1988.
45. MATKOVIC V: Calcium intake and peak bone mass. *N Engl J Med* 327:119-120, 1992.
46. MATKOVIC V, HEANEY RP: Calcium balance during human growth: evidence for threshold behavior. *Am J Clin Nutr* 55:992-996, 1992.
47. PERRONE HC, MARONE MMS, BIANCO AC, MALVESTITI LF, TOPOROVSKI J, SCHOR N: Densidade mineral óssea em crianças com hipercalciuria: 5 anos de seguimento. *Anais do XVII Congresso Brasileiro de Nefrologia*, Fortaleza, 20-23 junho de 1994 (abstract).
48. MELSEN F, MOSEKILDE L: Tetracycline double-labeling of iliac trabecular bone in 41 normal adults. *Calcif Tiss Res* 26:99-102, 1978.
49. MEUNIER PJ, COURPRON P: Iliac trabecular bone volume in 236 controls – Representativeness of iliac samples, in *Proceedings of the first Workshop on Bone Morphometry*, edited by Jaworski ZFG, Ottawa, University of Ottawa Press, 1973, pp 100-105.
50. MEUNIER PJ, EDOUARD C, COURPRON P: Morphometric analysis of trabecular resorption in normal iliac bone, in *Proceedings of the first Workshop on Bone Morphometry*, edited by Jaworski ZFG, Ottawa, University of Ottawa Press, 1973, pp 156-160.
51. MAIERHOFER WJ, GRAY RW, CHEUNG HS, LEMANN Jr J: Bone resorption stimulated by elevated serum $1,25(OH)_2$-vitamin D concentrations in healthy men. *Kidney Int* 24:555-560, 1983.
52. MAIERHOFER WJ, GRAY RW, LEMANN Jr J: Phosphate deprivation increases serum $1,25(OH)_2$-vitamin D concentrations in healthy men. *Kidney Int* 25:571-575, 1984.
53. MARIE PJ, DE VERNEJOUL MC, CONNES D, HOTT, M: Decreased DNA synthesis by cultured osteoblastic cells in eugonadal osteoporotic men with defective bone formation. *J Clin Invest* 88:1167-1172, 1991.
54. MESSA P, MIONI G, MONTANARO D, ADORATI M, ANTONUCCI F, FAVAZZA A, MESSA M, ENZMANN G, PAGANINI L, NARDINI R: About a primitive osseous origin of the so-called "renal hypercalciuria". *Contrib Nephrol* 58:106-110, 1987.

36

ABORDAGEM DE FAMILIARES NA DOAÇÃO DE ÓRGÃOS DE CADÁVERES

Flávio Jota de Paula
Frederico Castelo Branco Cavalcanti

◆

INTRODUÇÃO

Na maioria dos países ocidentais os cidadãos adultos têm o direito de decidir quanto à utilização de seus órgãos ou tecidos *post-mortem* com fins de transplante ou outros. Na falta da manifestação em vida desta decisão, os familiares mais próximos são responsáveis pela doação ou recusa de órgãos e tecidos[1]. Alguns estudos mostram que até 50% das potenciais doações de órgãos podem não se realizar por recusa dos familiares[2]. Em nossa experiência pessoal na abordagem de familiares com a finalidade de doação de órgãos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, o índice de recusa familiar não ultrapassa 20% dos casos.

Dois importantes fatores podem contribuir para baixos índices de doação e para uma pior qualidade de órgãos de cadáveres para transplante: a) falha dos profissionais de saúde em identificar potenciais doadores; e b) falha destes na abodagem para a solicitação da doação[3]. Vários levantamentos demonstram haver relutância entre médicos em discutir morte encefálica e doação de órgãos com parentes de potenciais doadores[4].

O momento da doação constitui-se, dentro da seqüência operacional dos transplantes de órgãos de doador-cadáver, etapa da mais fundamental importância. A sua complexidade, por envolver sentimentos, aspectos éticos e legais, a torna extremamente delicada, impondo para exercê-la profissionais treinados e familiarizados nos aspectos acima mencionados.

Sem a concretização correta desta etapa, nenhum dos avanços médicos poderia ser executado, além de se colocar em eventual risco todo um programa Institucional e/ou Nacional de transplante de órgãos.

ASPECTOS LEGAIS

A retirada de órgãos e tecidos de cadáver para a realização de transplantes foi regida até 18/11/1992 pela Lei nº 5479 do Congresso Nacional promulgada em 10/08/1968, em conseqüência dos primeiros transplantes realizados na década de 60.

No momento está em vigor a lei promulgada em 18/11/1992 de nº 8489, regulamentada pelo decreto nº 879. No seu artigo 3º, a disposição de uma ou mais partes do corpo *post-mortem* para fins terapêuticos e científicos é permitida na forma desta lei, mediante a satisfação das seguintes condições:

I – por desejo expresso do disponente manifesto em vida, através de documento pessoal ou oficial;
II – na ausência do documento referido no inciso I deste artigo, o artigo 7º, no seu parágrafo único, determina que a retirada de órgãos só será procedida se não houver manifestação em contrário por parte do cônjuge, ascendente ou descendente.

Duas são as situações que consideramos merecedoras de uma abordagem diferenciada:

A primeira, quando se tratar de um *adulto desconhecido*. Neste caso, se após utilizarem-se todos os métodos e meios disponíveis ficar caracterizada a falta de responsáveis pelo doador, a retirada e a utilização dos seus órgãos poderão ser efetuadas com a autorização do Diretor Executivo da Instituição ou, na sua ausência, pelo seu substituto imediato ou pelo médico chefe de equipe do serviço de pronto-socorro, clínico ou cirúrgico, precedida da declaração de morte encefálica assinada pelo neurologista responsável,

devidamente comprovada e registrada por exames subsidiários, de acordo com a resolução nº 1346/91 do Conselho Federal de Medicina.

A segunda, no caso de *menor desconhecido*, a retirada só poderá ser efetuada após doação judicial, precedida da declaração de morte encefálica assinada pelo neurologista responsável, devidamente comprovada e registrada por exames subsidiários, de acordo com a resolução nº 1346/91 do Conselho Federal de Medicina.

Estabelecido, portanto, o diagnóstico de morte encefálica, em bases dos critérios técnicos-científicos estipulados pela resolução nº 1346/91 de 17/10/1991 do Conselho Federal de Medicina, estamos liberados para atuar diante dos familiares ou doadores legais, de forma a proceder a solicitação dos órgãos, seguida da assinatura pelo responsável e por duas testemunhas (não participantes das equipes: de captação neurológica e de transplante) do termo de doação.

Nesta mesma resolução, em seu artigo 11º, fica obrigatória a notificação em caráter de emergência, em todos os casos de morte encefálica clínica comprovada ou não por métodos subsidiários, tanto para o hospital público, como para a rede privada, à Central de Notificação da Secretaria da Saúde do Estado, passo importantíssimo para a organização de um serviço ativo de captação de órgãos.

Encontra-se atualmente em fase de tramitação no Congresso Nacional projeto de lei que objetiva tornar a doação de órgãos e tecidos em nosso País de consentimento presumido, ou seja, a sua retirada poderá ser procedida caso não houver manifestação contrária oficial em vida.

ROTINA OPERACIONAL

O momento de proceder à solicitação de doação deverá ocorrer apenas após concluídos todos os passos médicos e legais necessários para a correta confirmação da morte encefálica, já tendo sido portanto assinada a Declaração de Morte Encefálica, salvo algumas exceções que serão comentadas à frente.

O médico ou profissional treinado para a solicitação deverá, antes de iniciar a solicitação formal aos familiares, checar: a existência do diagnóstico clínico de morte encefálica na folha de evolução que acompanha o prontuário do potencial doador, devidamente assinada pelo neurologista assistente responsável, cirúrgico ou clínico; a presença do relatório do exame utilizado para a confirmação diagnóstica e, por fim, do termo de Declaração de Morte Encefálica corretamente preenchido e assinado pelo neurologista responsável. O solicitante deverá, portanto, estar preocupado e a par dos aspectos legais do ato que realiza, sendo ele e não a Instituição o responsável pelos seus atos.

Em nenhum outro momento, anterior a estes passos acima enumerados, os familiares deverão ser abordados, principalmente por outros que não os do grupo de captação. Abordagens e/ou diálogos aleatórios precoces levam, em nossa experiência, a resultados insatisfatórios na maioria das vezes, se não, a situações difíceis de serem contornadas ou enfrentadas no momento da doação.

Esta regra poderá ser quebrada apenas pelos profissionais treinados e/ou médicos do "staff" de captação, após ser analisada por eles, de uma necessidade imperiosa de antecipar o momento do diálogo, procurando assim evitar situações complexas futuras: convocação fora de hora de profissionais responsáveis pela confirmação diagnóstica (em que haja intenção dos familiares em proceder a doação para os pacientes internos), e, no caso da existência de dois ou mais doadores viáveis, buscando assim priorizar, diante da intenção maior ou menor de doar, o melhor caso a ser investido de imediato.

Todo caso de uma intenção espontânea por parte dos familiares em doar, mesmo antes de qualquer abordagem, deve ser prontamente respondido pelos profissionais treinados e/ou médicos responsáveis com palavras de agradecimento, e de que todos os esforços serão feitos neste sentido, ou descartados com justificativas claras, do por que da sua não aceitação como doador (doença associada, condições clínicas, idade, não caracterização clínica e/ou legal como doador, etc.).

É importante ressaltar que sem doadores legais não há doação. Dessa forma, a localização dos responsáveis legais e as suas convocações pelo Serviço Social Médico tornam-se imperiosas, devendo ser agilizadas o mais precocemente possível. O tempo de espera pode ser suficiente para que as condições clínicas do potencial doador se deteriorem, inviabilizando os órgãos a serem extraídos.

Portanto, o diagnóstico de morte encefálica escrito e assinado na folha de evolução clínica que acompanha o prontuário do potencial doador, e aberto o Registro de Potencial Doador (RPD), inicia-se a convocação das equipes de transplante e a localização e a convocação dos familiares (doadores legais). Neste primeiro momento, os familiares deverão apenas ser inteirados da necessidade de se apresentarem ao hospital, em caráter de urgência, para dialogar com o médico a respeito do estado clínico do paciente, impondo apenas um caráter protocolar médico a ser cumprido.

Da mesma forma, é importante que os profissionais do Serviço Social Médico estejam conscientizados de que o fator tempo é o nosso principal inimigo, e os profissionais treinados e/ou médicos do "staff" de captação de órgãos, a par das dificuldades que possam estar enfrentando para a localização e a convocação, para poderem colaborar, associando, se for o caso, com outros profissionais.

Outro ponto fundamental a cargo do Serviço Social Médico é a checagem da documentação daqueles que se apresentam como responsáveis pela doação, preocupando-se assim em colocar diante dos profissionais solicitantes os corretos responsáveis legais, conforme a lei nº 5479.

ABORDAGEM

A abordagem deverá seguir alguns princípios que consideramos básicos. É importante lembrar que a cada solicitação o responsável irá se defrontar com novas e diferentes situações, pertinentes a cada caso e a cada contexto familiar. Estas diferentes situações impõem que os solicitantes possuam características pessoais que os habilitem a ultrapassar obstáculos de entendimento entre ambas as partes, sem ultrapassar os limites da ética e do legal.

O solicitante deverá ser capaz de manter a calma durante todo o procedimento, evitando assim alterar o seu tom de voz ou se contrapor aos desejos dos familiares, a não ser através de uma conscientização em bases técnico-científicas e legais. Respeitando-se os argumentos dos doadores legais, poderá se fazer que os seus possam ser ouvidos e finalmente respeitados, compreendidos e aceitos.

O solicitante deverá identificar-se desde o início, repetindo o seu nome, cargo e função que exerce, mantendo o crachá à vista de todos. A autoridade do solicitante será analisada apenas em base da sua presença e da sua exposição clara, objetiva e calma. Esta presença acabará por transferir conforto e tranqüilidade, mas principalmente segurança aos que o ouvem.

No curso de toda a abordagem, o solicitante deverá estar sempre em sintonia com os sentimentos dos familiares e com suas dificuldades para aceitar e/ou compreender a situação de morte em indivíduos que na maioria das vezes estavam hígidos. Também deverá estar sempre consciente de que está representando uma Instituição, cujos objetivos merecem ser alcançados, respeitadas suas bases legais e éticas. Nenhuma das partes poderá sentir-se agredida ou desconfortável na exposição de suas idéias. Caso contrário, as perdas futuras acumulativas serão maiores do que a totalidade dos objetivos anteriormente já alcançados.

O trabalho do solicitante deverá ser mediado pela presença de outros profissionais médicos e paramédicos (Serviço Social Médico), assim como pela presença de duas testemunhas por parte do responsável legal. Esta atitude conduzirá o solicitante a uma sensação de segurança, criando também um ambiente desfavorável para que ocorram desvios de conduta pessoal, ética ou legal. Por outro lado, dará aos familiares a similar sensação de segurança e confiança. É importante que a solicitação ocorra em um ambiente apropriado: calmo, privado e em condições para que todos possam pelo menos sentar confortavelmente.

Nenhuma dúvida deve ser deixada sem resposta, incluindo: a *causa mortis*, o significado de morte encefálica, porque o coração ainda bate, se existe alguma possibilidade ou milagre na recuperação, o tempo de espera para a liberação do corpo após a doação, os procedimentos após a extração dos órgãos, a reconstituição do corpo, as conseqüências estéticas secundárias à extração dos órgãos, principalmente no caso da pele, da córnea e dos ossos, etc. No entanto, é importante frisar que as dúvidas devem ser respondidas sempre objetivamente e apenas quando colocadas pelos familiares.

As respostas devem ser claras e precisas, evitando-se a utilização de termos e expressões que possam ter mais de um significado para os que ouvem, como: morte real, morte clínica, "nos parece...", "eu acho...", "pode ser...", "quem sabe...", e sim utilizar-se de frases objetivas, como: "o paciente morreu", "o paciente está definitivamente morto", "o óbito ocorreu há tantas horas", "o óbito foi constatado há tantas horas", "a causa da morte foi...", sim, não, claro, etc.

Não é o momento para falsas promessas, como: "o corpo será entregue em tantas horas", "prometo ver se é possível...", "tentarei fazer com que...", "quanto ao funeral verei se...", etc. Para os familiares deverá ficar claro apenas que o procedimento ora autorizado por eles é complexo, que envolve múltiplas equipes, sendo de grande responsabilidade para a Instituição e para todos os envolvidos, e que, portanto, deve ser realizado com calma, para que o ato da família e o esforço dos profissionais envolvidos, assim como dos futuros receptores, possam ser coroados de sucesso. Deve-se esclarecer os familiares de que o tempo de espera dos familiares para o recebimento do corpo será apenas aquele necessário, e que varia de caso a caso.

Consideramos pessoalmente importante ser lida a Declaração de Morte encefálica diante de todos, em voz alta e na íntegra, e ao final discutida no seu significado, enfatizando:

1. Esta declaração equivale, de direito e de fato, a verificação de óbito.
2. Após a emissão deste documento, estará legalmente autorizada a interrupção das medidas que mantêm artificialmente a respiração e a circulação sangüínea, podendo o corpo ser entregue à família para providências póstumas, submetido, se for o caso, à necropsia ou, se autorizado, à retirada de órgãos com finalidade de transplante.

Observadas todas estas normas, o médico solicitante tem condições de obter a doação dos órgãos sem necessitar usar de argumentos como:

- "se não doar..., vai perder órgãos", "vai deixar de ajudar", "vai deixar morrer", "vai impedir que se realize", etc.
- "pacientes estão morrendo..." (para eles o importante no momento é a perda que ora enfrentam).
- "Deus, inferno, céu, milagre...", saindo da área do entendimento técnico-científico.

O solicitante deve ainda lembrar-se de que usando formas de pressão poderá estar criando culpas ou remorsos futuros, pois muitas vezes estes já são sentimentos presentes dentro de um relacionamento familiar que desconhecemos.

TERMO DE DOAÇÃO

Concluída a doação, esta deverá ser preenchida na frente de todos os presentes, lembrando que o doador legal deverá assinar diante de cada órgão ou grupo de órgãos doados. As testemunhas deverão ser pessoas não ligadas à Instituição ou aos grupos transplantadores, de preferência familiares e/ou conhecidos do doador legal que irá com eles assinar a doação. Ao término, é prudente que o termo de doação seja lido em voz alta perante todos, para que todos tomem ciência do seu conteúdo, antes de proceder à obtenção das assinaturas do doador legal e das testemunhas. O termo de doação deverá ainda ser assinado pelo médico chefe de equipe do serviço de pronto-socorro, após concluído o seu preenchimento.

PRINCÍPIOS BÁSICOS

1. Colocar-se com os familiares em um ambiente compatível, calmo, privado e em que possam estar sentados.
2. Identificar-se sempre e desde o início (nome, função e com o crachá sempre à vista de todos).
3. Ter em mente que cada caso será diferente dos demais, mais difícil ou mais fácil, quanto menor ou maior é o seu preparo.
4. Deve haver um único solicitante, podendo ser quebrada esta regra apenas por um outro com mais experiência, após um pedido claro ao solicitante.
5. Não proceder à solicitação na ausência de testemunhas de ambas as partes, e após todos terem se identificado.
6. Todos os movimentos e olhares na sala devem ser precisos e objetivos, sempre enfocando os familiares.
7. Ter em mente que os familiares estão mais preocupados com a doença e a morte do familiar do que a respeito de morte encefálica e de transplantes de órgãos. Estas informações devem ser fornecidas de forma objetiva, quando solicitadas.
8. Ser sempre calmo, claro e objetivo.
9. Responder a todas as dúvidas, sempre objetivamente, com o uso de frases, termos ou expressões precisos.
10. Manter a tranqüilidade ao longo de todo o procedimento, podendo no entanto se envolver emocionalmente, mas com o cuidado de preservar a sua autoridade e os princípios éticos e legais, da Instituição e os seus pessoais.
11. Saber ouvir e contra-argumentar, mas sempre com serenidade, impondo um ambiente de respeito e confiança mútua e apenas em bases técnico-científicas.
12. Saber aceitar o não como resposta, no momento exato, antes de avançar o tênue limite que envolve o ético e o legal.
13. Não prometa o que não pode ou não deve fazer, pois será efetivamente cobrado de você e da Instituição.
14. Lembre-se, você é o responsável pelos seus atos profissionais, e não a Instituição.
15. Não os pressione, convença-os. Você dispõe de conhecimentos para isto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. VEATCH RM: Routine inquiry about organ donation – an alternative to presumed consent. *N Engl J Med* 325:1246-1249, 1991.
2. GARRISON RN, BENTLEY FR, RAQUE GH, POLK Jr HC, SLADEK LC, EVANISKO MJ, LUCAS BA: There is an answer to the shortage of organs donors. *Surg Gynecol Obstet* 173:391-396, 1991.
3. NATHAN HM, JARRELL BE, BROZNIK B, KOCHIK R, HAMILTON B, STUART S, ACKROID T, NELL M: Estimation and characterization of the potencial renal organ donor pool in Pennsylvania. *Transplantation* 51:142-149, 1991.
4. IVATURY RR, GREWAL H, SIMON RJ, SAUNDERS W, STAHL WM: Analysis of organ procurement failure at an urban trauma center and the impact of HIV on organ procurement at a regional transplantation center. *J Trauma* 33:424-428, 1992.

37

CAPTAÇÃO E MANUTENÇÃO DE DOADORES CADÁVERES

Flávio Jota de Paula
Frederico Castelo Branco Cavalcanti

INTRODUÇÃO

Há aproximadamente três décadas, o desenvolvimento técnico-científico envolvendo a utilização de órgãos vascularizados e não-vascularizados de doadores em morte encefálica tem contribuído para um crescente aumento na sobrevida e na qualidade de vida de pacientes portadores de doenças crônicas terminais. No entanto, o número de órgãos disponíveis para transplante de longe é superado pela demanda de órgãos transplantáveis. Enquanto o desenvolvimento da Medicina permitiu um grande aumento no número e na sobrevida de pacientes portadores de doenças crônicas aguardando em listas de espera por um órgão de doador-cadáver, o número de potenciais doadores disponíveis tem permanecido estável em várias estatísticas. Só nos EUA, este número tem-se mostrado de crescimento limitado desde 1986[1,2]. Este perfil é também evidente em países europeus[3] e em nosso meio[4,5].

Esta escassez de potenciais doadores é decorrente principalmente de dois pontos: a) falta de estrutura e interesse por parte dos sistemas de saúde, gerando, em decorrência, falhas na identificação dos potenciais doadores, em mantê-los em condições adequadas e, especialmente em nosso meio, em referenciá-los em tempo hábil aos centros transplantadores; e b) outro grave problema, não menos importante, é o fato de que na comunidade médica são freqüentes a desinformação e a falta de interesse em manter um adequado suporte clínico em pacientes neurológicos de mau prognóstico[6-9], principalmente em decorrência de uma deficiência do ensino específico em nível de graduação[10,11]. Por outro lado, apesar da falta de uma adequada política de informação específica à sociedade, a nossa população sempre demonstrou, na experiência do nosso serviço, índices de doação altamente satisfatórios, em torno de 90%.

Em relação ao crescente número de pacientes nas listas de espera, também são múltiplos os fatores envolvidos. Em se tratando de candidatos a transplante renal, observa-se crescente número de inscrições nas listas de espera a cada ano. Na Unidade de Transplante Renal do HC-FMUSP, foram registradas, em 1992, 501 novas inscrições para transplante renal em seu sistema de cadastro de potenciais receptores, guardando uma relação de 4:1 entre os inscritos para transplante com doador-cadáver e com doador-vivo, respectivamente. Em 1979, apenas 150 inscrições foram realizadas, embora na mesma proporção de 4:1. Estes números correspondem a um aumento de 234% no número de inscrições/ano[4]. Outro fator envolvido é o constante ingresso de pacientes portadores de um alto e amplo espectro de anticorpos anti-HLA pré-formados (hipersensibilizados)[12,13] e de pacientes candidatos a retransplante, número este que tenderá sempre a crescer proporcionalmente à atividade transplantadora do centro. Este caráter acumulativo e não-renovável das listas de espera contribui de forma importante para o agravamento do problema[4].

Em vista destes fatores, esforços deverão ser empreendidos para se aumentar a disponibilidade de órgãos. A organização de serviços de captação de órgãos hospitalares, supra-institucionais ou nacionais, tomou um grande impulso nos últimos anos nos países desenvolvidos[14-17]. Apenas a organização da captação de órgãos em bases pro-

fissionais e não-aleatórias ou casuais pode trazer resultados satisfatórios[1,18-20]. Em nível de cada unidade hospitalar também faz-se necessário estabelecer meios eficazes de detecção e seguimento de potenciais doadores. A determinação de profissionais específicos para esta tarefa, os *coordenadores de transplante*, mostra-se benéfica pelo amadurecimento profissional que esta requer. Caberia ainda a este profissional médico o acompanhamento e a resolução dos problemas relacionados ao transplante e aos aspectos práticos, médicos, legais e sociais da atividade captadora[21,22].

No entanto, paralelamente a estas ações, o desenvolvimento de condições de progressiva conscientização dos profissionais de saúde para o tema deverá se dar para que no futuro mais pessoas possam estar envolvidas com a atividade captadora. Em especial os profissionais médicos poderão ser o agente efetor das ações de abordagem precoce dos potenciais doadores. A conscientização ainda durante a formação médica, através de um contato mais amplo entre organizações de captação e alunos de graduação, contribuirá para a formação de profissionais capazes de colaborarem nos seus futuros locais de trabalho com as atividades de captação e transplante de órgãos[1,19,23].

ACOMPANHAMENTO DO DOADOR-CADÁVER

O principal objetivo da atividade captadora de órgãos, além de incrementar o número de doadores, é o de obter órgãos nas melhores condições possíveis de perfusão e oxigenação até a sua extração. Esta necessidade ganhou importância nos últimos anos com o advento de novas drogas imunossupressoras e conseqüente impulso dos múltiplos setores de transplante (cardíaco, hepático, pancreático e pulmonar), o que imprimiu ao doador-cadáver o conceito de "doador de múltiplos órgãos"[24,25].

ABORDAGEM INICIAL

O contato inicial com o potencial doador poderá acontecer até antes do seu diagnóstico de morte encefálica, ao se abordar pacientes neurológicos com mau prognóstico em suas clínicas de origem. O contato com a equipe médica responsável pelo paciente e a orientação no intuito de se manter adequadas condições de hidratação e hemodinâmicas, sem interferir na rotina do serviço, podem ser realizados. No entanto, esta primeira abordagem ocorre, mais freqüentemente, após o diagnóstico clínico de morte encefálica, momento em que o paciente passa a ser efetivamente acompanhado pelo sistema de captação. A partir deste momento, cuidados fundamentais são necessários; a) estabelecimento de vias de acesso venoso; b) avaliação das condições volêmica e hemodinâmica, com a monitorização da pressão arterial, da freqüência cardíaca e da pressão venosa central; c) coleta de exames iniciais.

Vias de acesso vascular

Devemos manter o paciente com pelo menos dois acessos venosos para infusão de soluções e drogas, sendo um deles central. Pela facilidade de realização e poucos riscos, preferimos a veia jugular interna. A cateterização da artéria radial é benéfica para a coleta de gasometrias seriadas e para a monitorização da pressão arterial média.

"Status" clínico e hemodinâmico

As medidas iniciais da pressão arterial, da freqüência cardíaca, da pressão venosa central e do débito urinário são os primeiros dados objetivos da condição clínica do potencial doador. A reposição volêmica com soluções cristatóides e a introdução de drogas vasoativas já nesta fase poderão ser necessárias, devendo ser inciadas o mais precocemente possível, após a obtenção de uma via de acesso eficaz[26]. Outros dados clínicos devem ser avaliados como: tempo de internação hospitalar, causa da lesão cerebral, tempo sob ventilação mecânica, hábitos (alcoolismo, uso de drogas), antecedentes pessoais pregressos (uso crônico de medicações, hipertensão arterial, diabetes, doenças sistêmicas, neoplasias, etc.), infecção atual (sepse, infecção intra-abdominal) e história de intoxicação medicamentosa[27] ou de hipotermia[28]. Tempos de internação maiores que três dias costumam ser prejudiciais ao transplante hepático, sendo o fator de correlação mais significativo com a insuficiência do órgão pós-transplante[29]. São critérios de exclusão importantes a infecção bacteriana com septicemia não responsiva a tratamento[30], infecções fúngicas sistêmicas[31], infecção pelo HIV ou pacientes pertencentes a grupos de risco e portadores dos vírus das hepatites B ou C, estes salvo em casos de transplante de emergência[32]. A presença ou a história pregressa de doenças malignas também excluem o uso de um paciente como doador, com exceção dos tumores primários do sistema nervoso central[33]. Portadores de hipertensão arterial ou de *Diabetes mellitus* podem ser doadores de rins, desde que não haja comprometimento de função[34].

Exames iniciais

Gasometrias arteriais, hemograma, uréia, creatinina, sódio, potássio, transaminases, bilirrubinas, osmolaridade sérica, osmolalidade urinária, tipagem sangüínea, sorologias (anti-HIV, HbsAg, anti-HCV, Chagas, VDRL, citomegalovírus, HTLV-I).

DIAGNÓSTICO DE MORTE ENCEFÁLICA

Historicamente, o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo foi o primeiro centro médico em nosso meio a definir os critérios de morte encefálica. A Disciplina de Neurologia da FMUSP, por solicitação da Comissão de Transplantes de Órgãos e Tecidos (CTOT), na época presidida pelo Prof. Dr. Emil Sabbaga, estabeleceu critérios que, após os pareceres da Procuradoria Jurídica e da Comissão de Normas Éticas e Regulamentares, foram aprovados pelo Conselho Deliberativo do Hospital das Clínicas da FMUSP, em sua reunião de 12/07/1983.

Os critérios clínicos de morte encefálica são baseados na ausência de função do tronco cerebral[35], desde que o exame das funções hemisféricas cerebrais seja falho para tal finalidade. Segundo os critérios então definidos na época, em todo paciente com traumatismo cranioencefálico ou com graves problemas neurológicos clínicos, o diagnóstico de morte encefálica deverá basear-se nos seguintes critérios:

1. Paciente com coma arreativo e aperceptivo por mais de 6 horas de observação, tendo sido excluídas condições de hipotermia e de uso de drogas depressoras do sistema nervoso central, sendo obrigatório o conhecimento da causa da lesão cerebral, quer por lesão estrutural quer metabólica[36,37].
2. O conceito clínico de morte encefálica deve ser respaldado por um exame complementar que demonstre inequivocamente ausência da atividade cerebral ou ausência de perfusão sangüínea cerebral. Podendo utilizar para isso o eletroencefalograma, a carotidoangiografia, as medidas de fluxo cerebral radioisotópico, o Doppler transcraniano e o potencial evocado, este último somente agora utilizado em nosso meio com este fim[38-41].
3. Preenchidas as condições acima, a Declaração de Morte Encefálica deverá ser assinada pelo neurologista clínico ou neurocirurgião responsável pela avaliação.

A Lei Nº 8489 de 18/11/1992 do Congresso Nacional, em vigor e que dispõe sobre a retirada de uma ou várias partes do corpo *post mortem* para fins terapêuticos e científicos, dispõe em seu artigo 3º, inciso V, que tal retirada deverá ser precedida de prova incontestável de morte encefálica, através de método complementar, conforme a resolução nº 1346/91 do Conselho Federal de Medicina.

O Conselho Federal de Medicina aceita o conceito de que a morte encefálica equivale à morte, e no sentido de normatizar os seus critérios diagnósticos estabeleceu, através da resolução nº 1346/91, os critérios clínicos clássicos e a necessidade de ausência de atividade ou perfusão encefálica comprovada por exames complementares, após um período de 6 horas de observação. Recomendou também, por princípio, que, constatada a parada total e a irreversibilidade das funções encefálicas do paciente, o médico imediatamente deveria comunicar tal fato aos responsáveis legais, antes de adotar qualquer medida adicional.

Apesar de ser puramente clínico o diagnóstico de morte encefálica, faz-se necessário por lei a comprovação e o registro gráfico através de exames subsidiários, sendo também obrigatório mantê-los em arquivo. Faz parte do seu próprio conceito a necessidade também de se conhecer a causa e a de se afastar condições que possam levar a um falso diagnóstico (hipotermia, intoxicação barbitúrica, uso de drogas depressoras do sistema nervoso central). O cérebro pode ser deprimido por drogas até níveis afuncionais, não perdendo entretanto a capacidade de recuperação, como por exemplo em anestesia. Em muitos centros neurotraumatológicos se usa de rotina, em casos de contusão cerebral grave, induzir coma barbitúrico iatrogênico terapêutico, e o paciente nestas condições apresenta-se arreativo e com traçado eletroencefalográfico isoelétrico. Acredita-se que a hipotermia possa reproduzir este mesmo quadro. Em casos de coma barbitúrico, após proceder com as medidas clássicas para desintoxicação, monitorizadas por dosagens séricas periódicas e observado um período não inferior de 24 horas, o médico fica liberado para prosseguir com exames clínicos e subsidiários para a confirmação de morte encefálica.

Diagnóstico clínico neurológico

Os exames clínicos realizados para o diagnóstico de morte encefálica baseiam-se na investigação de atividade de tronco cerebral, sendo os seguintes achados:

1. **Pupilas paralíticas** – devem estar fixas e arreativas diante de um estímulo luminoso.
2. **Arreatividade supramedular.**

3. **Ausência do reflexo corneopalpebral.**
4. **Ausência de reflexos oculovestibulares** – pesquisando pela movimentação lateral ou vertical da cabeça ou então pela irrigação dos condutos auditivos com 50cm de água gelada.
5. **Prova da apnéia** – é o exame mais importante. Entretanto, deve-se lembrar que a maioria dos pacientes comatosos encontra-se em hipocapnia e hiperventilada. Por isso, deve-se realizar a prova de apnéia. No paciente em coma, o nível sensorial de estímulo para desencadear a respiração está elevado, necessitando-se de uma $PaCO_2$ de até 55mmHg, fenômeno que pode determinar um tempo de vários minutos entre a desconexão do respirador e o aparecimento dos movimentos respiratórios, caso a região pontobulbar ainda esteja íntegra. A prova de apnéia é realizada de acordo com o seguinte protocolo:
   a) ventilar o paciente com FiO_2 a 100%;
   b) desconectar o aparelho de ventilação pulmonar;
   c) instalar cateter traqueal de oxigênio com fluxo de 6 litros/min;
   d) observar os movimentos respiratórios por 10 minutos, visto que a cada minuto de apnéia a $PaCO_2$ aumenta 3mmHg, portanto após 10 minutos teremos um aumento da $PaCO_2$ de 30mmHg. A ausência de movimentos respiratórios nestas condições configura a situação de morte encefálica.

Exames complementares

Dentre os exames gráficos subsidiários para a confirmação legal exigida de morte encefálica, destacam-se os *métodos de fluxo cerebral*, como arteriografia cerebral, Doppler transcraniano, fluxo cerebral radioisotópico, e os *métodos de atividade encefálica*, como eletroencefalografia e potencial evocado multimodal auditivo e somatossensitivo. A princípio, todos são satisfatórios, dependendo primariamente da disponibilidade da Instituição. No entanto, diferem entre si em vários aspectos importantes a serem analisados: custo, invasibilidade, precocidade e praticidade. O método considerado ideal deveria ser de diagnóstico precoce, o mais próximo ao diagnóstico clínico, de baixo custo, não invasivo, de baixa complexidade, podendo ser executado em qualquer local com a utilização de equipamento portátil, mas principalmente seguro e sem falsos-negativos.

Com um sistema de captação de órgãos estruturado em bases profissionais, a precocidade na localização do potencial doador e o início das medidas de suporte fizeram com que o eletroencefalograma e os métodos de fluxo cerebral viessem a ser métodos tardios na confirmação diagnóstica de morte encefálica, diante do momento do diagnóstico clínico. O potencial evocado multimodal auditivo e somatossensitivo, capaz de confirmar precocemente a ausência de atividade de tronco cerebral, estabeleceu um conceito diagnóstico confirmatório ainda mais precoce, o de morte encefálica infratentorial. Este método, além de mais precoce, preenche diversos outros critérios: seguro, com total sensibilidade e especificidade, de fácil manuseio e baixo custo, não invasivo e utilizando-se de equipamento portátil de preço acessível, nos levou a implementá-lo como nosso método de escolha. O treinamento necessário para executá-lo é possível de ser realizado em curto prazo de tempo por um profissional médico capacitado.

Portanto, o eletroencefalograma, tardio na confirmação diagnóstica, perdeu o seu lugar de muitos anos como o exame de escolha, não sendo da mesma forma confiável em crianças e em casos de suspeita de uso de drogas depressoras do sistema nervoso central. A arteriografia cerebral dos quatro vasos (carótidas e vertebrais), pela sua característica invasiva, pelo alto custo e necessidade de equipamento fixo de alto preço, precisando para a sua realização de profissionais altamente qualificados, deixou de ser um método prático, sem considerar a sua precocidade diagnóstica intermediária. Dentre os métodos de fluxo cerebral com a sua precocidade intermediária entre o potencial evocado e o eletroencefalograma, é importante citar o Doppler transcraniano, por sua total especificidade, baixo custo operacional e equipamento portátil e não-invasivo. Outro método a ser considerado é o de fluxo cerebral por radioisótopos com DTPA marcado com tecnécio, que, além de ter uma precocidade também intermediária, precisa de profissionais altamente qualificados e equipamentos fixos e de alto custo operacional, e, devido ao manuseio de substâncias radioativas, necessita, pela atividade de fundo após o primeiro exame, de um período mínimo de 12 horas para ser repetido com segurança.

Pelo exposto acima, o potencial evocado multimodal tem-se mostrado o exame de escolha, extremamente útil para os captadores de órgãos que buscam a maior precocidade no diagnóstico de morte encefálica, evitando desta forma o risco de um agravamento progressivo e irreversível dos parâmetros hemodinâmicos do potencial doador, contribuindo com um maior número de órgãos viáveis por doador.

Como já descrito no item "Abordagem Inicial", o ponto fundamental é a manutenção das condições ventilatórias, hemodinâmicas, eletrolíticas e acidobásicas, desde o momento mais precoce da abordagem[42]. Devemos usar soluções de expansão como o soro fisiológico a 0,9%, o soro glicosado a 5%, a solução de Ringer simples e a solução de Ringer-lactato. Esta última não deve ser usada de forma excessiva, pois pode contribuir, em alguns casos, para o desenvolvimento de acidose láctica, muitas vezes já presente. As soluções coloidais só devem ser usadas em casos restritos, já que podem provocar uma sobrecarga excessiva da volemia, com sobrecarga atrial direita e congestão hepática. Havendo manutenção das condições de choque após a correção do balanço hídrico, devemos iniciar o uso da dopamina. Iniciar com dose dopaminérgica (até 5µg/kg/min) e tentar não ultrapassar o limite de 12µg/kg/min (dose beta-adrenérgica), corrigindo simultaneamente os distúrbios hidroeletrolíticos (hiponatremia, hipernatremia, hipocalemia, hipercalemia), acidobásicos (alcalose respiratória é condição freqüente e, quando presente, responsável em parte pelo choque; acidose metabólica) e endócrinos (*Diabetes insipidus* central; "sick euthyroid syndrome")[43]. Sendo necessária a introdução de outra droga, usar a dobutamina. A necessidade de introdução de noradrenalina é vista com reservas, já que seu uso poderá ser um critério de exclusão do doador[34]. Outra medida de importância nesta fase é a administração de manitol na dose de 1g/kg antes da extração dos órgãos, como diurético e varredor de radicais livres de oxigênio[44]. Uma abordagem de fundamental importância é a correção dos distúrbios hormonais que ocorrem nestes pacientes. Um que é conhecido há mais tempo e que ocorre com freqüência aproximada de 70% é o *Diabetes insipidus* central. Seu tratamento consiste na correção da hipernatremia (Na > 150mEq/l), da hipocalemia (K < 3,5mEq/l), da hiperosmolaridade sérica (Sosm > 290mOsm/l), da hiposmolalidade urinária (Uosm < 700mOsm/l) e da hipovolemia através da reposição hormonal com a utilização do análogo sintético da pitressina, a desmopressina ou dDAVP. Sua administração endovenosa na dose de 10 a 20µg de 6/6h costuma ser satisfatória[45,46].

Os distúrbios dos hormônios tireoidianos passaram a ser descritos na década de 80, principalmente baseados em dados experimentais de morte cerebral. Aparentemente, estes pacientes desenvolvem uma "sick euthyroid syndrome", situação em que ocorrem níveis baixos de T3 e de T4 com TSH normal, ou seja, sem hipotireoidismo, provavelmente por um desvio da conversão periférica de T4 para T3 reverso preferencialmente. A literatura oferece alguns protocolos de tratamento com T3 ou T4 associados a cortisol e insulina. No entanto, seu valor clínico é ainda duvidoso[47-51].

De todos os pontos acima discutidos, é importante frisar que a precocidade na identificação de um potencial doador e no início das medidas de suporte é o ponto fundamental para a obtenção de órgãos viáveis para transplante. Esta identificação, no entanto, só será possível com uma estrutura médica composta de médicos captadores, cientes de sua responsabilidade e importância na era atual dos transplantes de múltiplos órgãos, apoiados por uma política institucional que lhes ofereça as condições necessárias para a realização de suas tarefas. Por outro lado, às Escolas Médicas cabe a formação de profissionais conscientes da importância social e médica de um paciente em morte encefálica, que possam contribuir nas suas diferentes especialidades, na localização, na comunicação e na manutenção clínica dos eventuais prováveis doadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. EVANS RW, ORIANS CE, ASCHER, NL: The potencial supply of organ donors: an assessment of the efficiency of organ procurement efforts in the United States. *JAMA* 267(2):239-246, 1992.
2. SANFILIPPO FP, VAUGHN WK, PETERS TG, SHIELD CF, ADAMS PL, LORBER MI, WILLIAMS GM: Factors affecting the waiting time of cadaveric kidney transplant candidates in the United States. *JAMA* 267(2):247-252, 1992.
3. PERSIJN GC, COHEN B: 1991 *Eurotransplant Annual Report*, Leiden, 1990.
4. PAULA FJ, CAVALCANTI FCB, SABBAGA E, ARAP S: Acúmulo em lista de espera para transplante renal: um grave problema. *in press*.
5. MOCELIN AJ: Transplante de órgãos de doador cadáver: organização de centros de procura e distribuição. *Rev Assoc Med Brasil* 33:197-198, 1987.
6. MERZ B: The organ procurement problem: many causes, no easy solutions. *JAMA* 254:3285-3288, 1985.
7. HIBBERD AD, PEARSON IY, McCOSKER CJ, CHAPMAN JR, MACDONALD GJ, THOMPSON JF, O'CONNELL DL, MOHACSI PJ, McLOUGLIN MP, SPRATT PM, COMPTON JS, BROWN MA: Potential for cadaveric organ retrieval in New South Wales. *BMJ* 304(6838):1339-1343, 1992.
8. YOUNGNER SJ, LANDEFELD CS, CAULTON CJ, JUKNIALIS BW, LEARY M: Brain death and organ retrieval. A cross-sectional survey of knowledge and concepts among health professionals. *JAMA* 261:2205-2210, 1989.
9. RANDALL T, MARWICK C: Physicians attitudes and approaches are pivotal in procuring organs for transplantation. *JAMA* 265:1227-1228, 1991.
10. GORE SM, TAYLOR RM, WALLWORK J: Availability of transplantable organs from brain stem dead donors in intensive care units. *BMJ* 302(6769):149-153, 1991.

11. POLLAK R: Medical student education and organ donation – a medical School Survey. *Clin Transpl* 6:372-374, 1992.
12. PAULA FJ, PANAJOTOPOULOS N, RODRIGUES H, KALIL JE, SABBAGA E, ARAP S: Hyperreactivity against panel: a risk factor for renal transplant. *Transplant Proc* 24(5):1745, 1992.
13. TARDIF GN, McCALMON Jr RT: Renal transplantation in highly sensitized patients uring the regional organ procurement crossmatch tray: the SEOPF kidney sharing system experience. *Transplant Proc* 25:1571-1573, 1993.
14. BUSSON M, FOISSAC MN, VIALLE E, KORMANN P, CABROL C, HORS J: France-transplant: the French Network for organ procurement and transplantation. *Transplant Proc* 23(5):2548-2549, 1991.
15. Transplant co-ordination Services in Europe 1989. A survey by the EDTA Registry. Data from the EDTA Registry. *Nephrol Dial Transplant* 5:559-562, 1990.
16. MATESANZ R, MIRANDA B, FELIPE C: Organ procurement in Spain: impact of transplant coordination. *Clin Transpl* 8:281-286, 1994.
17. PIERCE GA: Organization of sharing in the United States and its relevance to the Middle East (UNOS). *Transplant Proc* 25(3):2261-2263, 1993.
18. PAULA FJ, CAVALCANTI FC, KALIL JE, SABBAGA E, ARAP S: Organ harvesting program improves cadaver renal transplant at São Paulo University, Brazil. *Transplant Proc* 24(5):1807, 1992.
19. KITTUR DS, HOGAN MM, THUKRAL VK, McGAW LJ, ALEXANDER JW: Incentives for organ donation? The United Network for Organ Sharing Ad Hoc Donations Committee. *Lancet* 338(8780):1441-1443, 1992.
20. KEYSERLINGK EW: Human dignity and donor altruism are they compatible with efficiency in cadaveric human organ procurement? *Transplant Proc* 22(3):1005-1006, 1990.
21. WIGHT C: Role of the transplant co-ordinators and multiple organ donation in the UK. *Transplant Proc* 21:1398-1399, 1989.
22. KREMER GD, KROM RAF, SMITH PJH, SWIESTRA RP, STOFF JH: The enhancing influence of a transplant coordinator on the results of organ procurement. *Transplant Proc* 16:206-207, 1984.
23. NATHAN HM, JARRELL BE, BROZNIK B, KOCHILK R, HAMILTON B, STUART S, ACKROYD T, NELL M: Estimation and characterization of the potential organ donor pool in Pennsylvania. Report of the Pennsylvania Statewide Donor Study. *Transplantation* 51:142-149, 1991.
24. MOREL P, TROPPMANN C, ALMOND PS, SCHLUMPF R, GILLINGHAM KJ, SUTHERLAND DER, DUMN DC, PAYNE WD, NAJARIAN JS: Multiorgan procurement does not affect the immediate outcome of kidney transplants. *Clin Transpl* 5:381-385, 1991.
25. STARZL TE, HAKEHE TR, SHAW BW, HARDESTY RL, ROSENTHAL TJ, ERIFFITH BP, IWATZUKI S, BAHNSON HB: A flexible procedure for multiple cadaveric organ procurement. *Surg Gynecol Obstet* 158:223-230, 1984.
26. TEPLAN V, SCHUECK O, NADVORNIKOVA H, KOCANDRLE V: Metabolic disorders in cadaveric kidney donors and initial nonfunction of the kidney graft. *Transplant Proc* 23(5):2619, 1991.
27. MOLLARET P, GOULON M: Le coma – dépassé. *Rev Neurol* (Paris) 101:3-15, 1959.
28. MACHADO C: A multimodal evoked potential and electroretinography test battery for the early diagnosis of brain death. *Int J Neurosc* 49:241-242, 1989.
29. GRUENBERGER T, SAUTNER T, WAMSER P, MITTLBOCK M, STEININGER R, MULBACHER F: Impact of donor criteria on postoperative graft function in liver transplantation. *Transplant Proc* 25:3156-3157, 1993.
30. BALDWIN JC, ANDERSON JL, BOUCEK MM: Task Force 2: donor guidelines. *J Am Coll Cardiol* 22:15-20, 1993.
31. KRON IL, TRIBBLE CG, KERN JA: Successful transplantation of marginally acceptable thoracic organs. *Ann Surg* 217:518-522, 1993.
32. GUERRATY A, WECHSLER AS: Defining the limits of suitability of cardiac allografts. *Ann Thorac Surg* 50:1-2, 1990.
33. PENN I: Donor transmitted disease: cancer. *Transplant Proc* 23:2629-2631, 1991.
34. ALEXANDER JW, ZOLA JC: Expanding the donor pool: use of marginal donors for solid organ transplantation. *Clin Transpl* 10:1-19, 1996.
35. PALLIS C: Brainstem death: the evolution of a concept. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2(2):135-152, 1990.
36. ROTHSTEIN TL: Redefining brain death. *Lancet* 341(8849): 855-858, 1993.
37. WIKLER D: Brain – related criteria for the beginning and end of life. *Transplant Proc* 22(3):989-990, 1990.
38. KIMURA J, GERBER HW, Mc CORMICK WF: The isoelectric electroencephalogram. Significance in establisshing death in patients maintained on mechanical respirators. *Arch Intern Med* 121:511-517, 1968.
39. BROCK M, SCHURMANN K, HADJIDIMOS A: Cerebral blood flow and cerebral death. *Acta Neurochir (Wien)* 20:195-209, 1969.
40. GOODMAN JM, MISHKIN FS, DYKEN M: Determination of brain death by isotope angiography. *JAMA* 209:1869-1872, 1969.
41. GOLDIE WD, CHIAPA KH, YOUNG RR: Brainstem auditory and short-latency somatosensory evoked responses in brain death. *Neurology* 31:248-256, 1981.
42. TURCOTTE JC: Conventional management of the brain – dead potential multiorgan donor. *Transplant Proc* 20(5):5-8, 1988.
43. NOVITZKY D, COOPER DK: Hemodynamic and metabolic responses to hormonal therapy in brain – dead potential organ donors. *Transplantation* 43(6):852-856, 1987.
44. VALENBERG PLJ: Mannitol as an indispensable constituent of an intraoperative hydration protocol for the prevention of acute renal failure after renal cadaveric transplantation. *Transplantation* 44(6):784-790, 1987.
45. BLAINE EM: Vasopressin supplementation in a porcine model of brain – dead potential organ donors. *Transplantation* 38(5):459-463, 1984.
46. DEBELAK L, POLLAK R, RECKARD C: Arginine vasopressín versus desmopressin for the treatment of diabetes insipidus in the brain dead organ donor. *Transplant Proc* 22(2):351-352, 1990.
47. AUN F, BIROLINI D: The effect of major trauma on the pathways of thyroid hormone metabolism. *J Trauma* 23(12):1048-1054, 1983.
48. NOVITZKY D, COOPER DK, MORRELL D, ISAACS S: Change from aerobic to anaerobic metabolism after brain death, and reversal following triiodothyrinine therapy. *Transplantation* 45(1):32-36, 1988.
49. NOVITZKY D, COOPER DK, CHAFFIN JS, GREER AE, DEBAULT LE, ZUHDI N: Improved cardiac allograft function following triiodothyronine therapy to both donor and recipient. *Transplantation* 49(2):311-316, 1990.
50. ORLOWSKI JP: The use of thyroxine (T4) to promote hemodynamic stability in the vascular organ donor: a preliminary report on the Colorado experience. *J Transplant Coordination* 1:19-22, 1991.
51. PIENAAR H: Function of kidney grafts from brain – dead donor pigs. The influence of dopamine and triiodothyronine. *Transplantation* 50(4):580-582, 1990.

38

TRANSPLANTE RENAL EM SITUAÇÕES UROLÓGICAS ESPECIAIS

William Carlos Nahas
Eduardo Mazzucchi
Elias David Neto
Sami Arap

INTRODUÇÃO

A ocorrência de anomalias urológicas congênitas ou adquiridas, as quais freqüentemente contra-indicavam ou postergavam a realização do transplante, não mais se constitui em empecilho à sua realização; com a experiência adquirida em vários centros realizam-se transplantes renais em crianças e adultos portadores de doenças urológicas complexas e em outras situações especiais. A seguir enumeramos algumas destas situações e as condutas tomadas antes, durante e após a cirurgia, na Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

PREPARO DO RECEPTOR

As doenças urológicas constituem causa freqüente de insuficiência renal terminal; cerca de 30% das crianças[1] e 5% dos adultos[2] submetidos a transplante renal em nosso meio evoluíram para um quadro de insuficiência renal causada por doença urológica. Sobretudo nestes casos, a investigação urológica prévia ao ato cirúrgico é de importância capital, contribuindo decisivamente para o sucesso do transplante.

A avaliação se inicia com uma história cuidadosa do paciente enfocando sobretudo dados sobre qualidade da micção na fase pré-urêmica, característica do jato urinário, à ocorrência de urgência miccional, incontinência urinária com ou sem esforço e infecções urinárias prévias. O exame físico deve avaliar a presença de cicatrizes de cirurgias prévias, estomas e malformações genitais; a palpação abdominal mostra a presença de massas abdominais (hidronefrose) ou bexigoma. Sempre que possível, deve-se observar a micção destes pacientes.

A ultra-sonografia do trato urinário e a uretrocistografia retrógrada e miccional (em homens) e miccional (em mulheres) devem ser realizadas em todos os pacientes candidatos a transplante, sem exceção. A ultra-sonografia permite avaliar a ocorrência de rins hidronefróticos, pielonefríticos ou de tumores renais incidentais cuja freqüência é aumentada em pacientes mantidos em diálise[3]. A uretrocistografia é fundamental na avaliação de todo o trato urinário inferior, pois evidencia a presença de refluxo vesicoureteral e o seu grau, permite o estudo morfológico da bexiga e da uretra.

O estudo urodinâmico, o qual fornece dados precisos sobre a capacidade funcional da bexiga, sua pressão no enchimento máximo (complacência), pressão durante a micção, resíduo urinário e ainda perfil pressórico uretral, é reservado apenas para os casos com suspeita de disfunção vesical neurogênica primária ou secundária, quando uma análise funcional da bexiga é indispensável.

Nos pacientes portadores de derivações urinárias continentes ou incontinentes é útil a obtenção de radiografia contrastada do conduto urinário, pois pode auxiliar no planejamento de uma possível desderivação do trato urinário[4].

Deve-se lembrar que o eventual substituto da bexiga deve possuir boa capacidade de armazenamento com alta complacência, esvaziamento eficiente e se possível de forma voluntária; como tal reservatório é de difícil criação e o urologista envolvido com pacientes portadores de anomalias vesicais graves deve fazer o possível para aproveitar a bexiga nativa e utilizar as derivações somente caso esta seja absolutamente inaproveitável. Temos optado sempre pela tentativa de reconstrução do trato urinário empregando-se segmento intestinal, o qual deve ser destubularizado a fim de evitar as contrações peristálticas inerentes.

DISFUNÇÃO VESICAL NEUROGÊNICA

Um grande número de pacientes candidatos a transplante renal permanece por longo tempo em anúria durante o período dialítico; tal fato faz com que a bexiga sofra um processo de redução de sua capacidade funcional, sendo conhecida como "bexiga desfuncionalizada"; nestes casos, apesar da pequena capacidade de armazenamento, a pressão intravesical no enchimento máximo é normal ou muito próxima da normalidade. Tais casos não configuram uma alteração neurogênica da bexiga; os pacientes portadores de tal alteração funcional podem ser transplantados sem qualquer procedimento prévio, notando-se rápida recuperação da sua capacidade funcional e normalização de todos os parâmetros urodinâmicos algumas semanas após o transplante.

A disfunção vesical neurogênica em portadores de insuficiência renal crônica é secundária a doenças congênitas do sistema nervoso ou do trato urinário em cerca de 80% dos casos[4], sendo mais freqüente em nosso meio a mielomeningocele, válvula de uretra posterior e agenesia sacral. Nestes casos, a bexiga apresenta baixa capacidade de armazenamento associada à alta pressão em seu interior durante a fase de enchimento vesical (baixa complacência). Segundo McGuire[5], pressões intravesicais sustentadas acima de 40cm de água causam lesão do trato urinário superior por dificuldade de drenagem ureteral: muitas vezes, a hipertonia vesical encontra-se associada à dissinergia vesicoesfincteriana (contração do esfíncter uretral concomitante à contração detrusora), o que torna a micção muito difícil ou até mesmo impossível; o paciente freqüentemente é obrigado a urinar com grande esforço, utilizando a manobra de Valsalva. Nestes casos encontramos pressões intravesicais e resíduo urinário pós-miccional muito elevados, os quais são ainda mais prejudiciais à drenagem ureteral. Este fato leva à ocorrência de uretero-hidronefrose e conseqüente atrofia do parênquima renal[5,8,10]. Nos portadores de *Diabetes mellitus* de longa duração ocorre bexiga neurogênica flácida devido à lesão da inervação sensitiva e motora ao nível do arco reflexo da micção[9]; a pressão intravesical durante o enchimento é baixa, ocorre falta de sensibilidade e ausência da sensação de plenitude vesical, muitas vezes associada à dificuldade para esvaziamento por deficiência de contração detrusora.

Em pacientes portadores de disfunção vesical neurogênica, é obrigatória a realização de estudo urodinâmico previamente ao transplante.

Alguns pacientes portadores de hipertonia vesical podem ser tratados através do emprego de anticolinérgicos e cateterismo vesical intermitente conseguindo-se reduzir a pressão intravesical com sucesso[6], porém outros necessitarão de tratamento cirúrgico prévio com a finalidade de ampliar a capacidade de armazenamento e reduzir a pressão intravesical durante o seu enchimento.

A conduta pré-operatória depende fundamentalmente dos achados urodinâmicos; nos casos com má capacidade vesical (inferior a 200ml) e pressão intravesical no enchimento máximo superior a 35cm de água, realiza-se ampliação vesical prévia ao transplante renal. O procedimento pode ser realizado utilizando-se segmento de alça ileal ou de sigmóide destubularizados, geralmente entre 8 e 12 semanas antes do transplante[13]. A destubularização da alça intestinal consiste na abertura longitudinal da sua porção contramesenterial e sutura de suas bordas em sentido perpendicular ao da abertura. Tem por finalidade reduzir o peristaltismo normal da alça e conseqüentemente evitar perdas urinárias quando da sua contração, bem como aumentar sua capacidade.

O acesso cirúrgico é realizado através de laparotomia mediana, a qual possibilita a realização de nefrectomia ou nefroureterectomia concomitante quando necessário.

Na casuística do Hospital das Clínicas de São Paulo, temos realizado o programa com sucesso; seis pacientes portadores de disfunção vesical neurogênica foram submetidos à ampliação vesical com segmento ileal destubularizado, previamente ao transplante; sendo o período médio de seguimento atual de 28 meses.

Os pacientes portadores de dissinergia vesicoesfincteriana ou que apresentam resíduo urinário pós-miccional elevado após o transplante devem ser mantidos em regime de cateterismo intermitente em geral quatro vezes ao dia; tal procedimento exige a instituição concomitante de quimioprofilaxia contra infecções urinárias (utilizam-se drogas tais como: sulfametoxazol-trimetoprima, ácido pipemídico ou nitrofurantoína em baixa dose).

Nos casos de pacientes portadores de derivações urinárias continentes (Indiana Pouch, Mainz Pouch, Koch Pouch etc.), ou incontinentes (Bricker), o transplante pode ser realizado, porém o cirurgião deve estar atento para alguns detalhes técnicos envolvidos na realização do reimplante ureteral[16]. Na Clínica Urológica do Hospital das Clínicas de São Paulo foram realizados quatro transplantes em portadores de ureteroileostomia cutânea (Bricker), com evolução satisfatória[15].

A sobrevida do enxerto nos casos de derivação urinária incontinente é de 75% aos cinco anos pós-transplante para doador vivo e 80% para doador cadáver[7]. Entre as principais complicações citam-se as infecções urinárias e pielonefrites (34% dos casos)[1].

Os pacientes portadores de *Diabetes mellitus* com comprometimento neurogênico da bexiga não necessitam de procedimentos cirúrgicos prévios ao transplante; devem realizar micção de horário a cada 3 horas e, caso apresentem resíduo pós-miccional elevado, também devem ser submetidos a cateterismo intermitente com intervalos variáveis.

TUBERCULOSE DO TRATO GENITURINÁRIO

A tuberculose do trato geniturinário provoca a ocorrência de várias seqüelas: entre estas cita-se a bexiga contraída, devido à fibrose cicatricial. Muitas vezes, a capacidade vesical fica reduzida a 20ml. Também é fundamental a avaliação pré-operatória através da uretrocistografia e do estudo urodinâmico, o qual muitas vezes fica prejudicado devido à capacidade vesical mínima. A ampliação vesical é o procedimento de eleição nestes casos. A nefrectomia dos rins primitivos é freqüentemente necessária, uma vez que estes se encontram acometidos pela doença e podem ser fonte de reinfecção após o transplante.

Nos últimos seis anos realizaram-se cinco transplantes em doentes com destruição do trato urinário, cujas bexigas foram previamente ampliadas com sigmóide em dois casos e segmento ileocecal em três[13]; um único doente apresentou complicação cirúrgica; os demais encontram-se em seguimento com boa evolução até o momento.

Nos casos de tuberculose, por não haver lesão neurológica, os pacientes geralmente não necessitam de cateterismo vesical intermitente no pós-operatório, apresentando micção espontânea através de manobra de Valsalva com resíduo muito baixo[13].

REFLUXO VESICOURETERAL

O refluxo vesicoureteral (RVU) é a causa urológica mais comum de insuficiência renal terminal em crianças na Clínica Urológica do Hospital das Clínicas de São Paulo, sendo responsável por 33,5% dos casos de insuficiência renal crônica terminal em crianças transplantadas entre 1979 e 1993[1]. A conduta com relação ao refluxo presente em candidatos a transplante renal depende do seu grau. Em pacientes portadores de RVU graus I e II, sem dilatação ureteral, a conduta é expectante; observou-se que na maioria destes casos o refluxo desaparece espontaneamente após o transplante[11,13]; quando o RVU é de grau III, com dilatação leve ou moderada do ureter, ipsolateral à fossa onde se realizará o transplante, realiza-se plástica anti-refluxo concomitante; nos casos de refluxo contralateral à fossa utilizada no transplante realiza-se nefroureterectomia prévia ou observa-se sua evolução com a refuncionalização da bexiga. Dessa forma, preserva-se um ou ambos os ureteres, os quais podem ser úteis em casos de complicações urológicas posteriores[11,13]. Em casos de refluxo maciço (graus IV e V), opta-se sempre por nefroureterectomia prévia ao transplante[11], para minimizar os riscos de infecção do trato urinário em paciente imunossuprimido.

RINS POLICÍSTICOS

Rins policísticos de grande volume muitas vezes impedem a realização do transplante por ocuparem a fossa ilíaca do paciente. Nestes casos opta-se pela nefrectomia uni ou bilateral prévia ao transplante; devido ao grande tamanho destes rins, utilizamos como via de acesso a laparotomia transversa subcostal bilateral, a qual proporciona ótimo acesso à cavidade peritoneal facilitando a cirurgia, porém a lombotomia clássica também pode ser utilizada; tem-se observado que estes pacientes apresentam tanto no intra como no pós-operatório hipotensão grave, a qual requer grande reposição volêmica. A necessidade de reposição sangüínea no intra-operatório pode levar à sensibilização do receptor, obrigando à postergação do transplante por alguns meses com a finalidade de diminuir a reatividade contra possíveis doadores.

ARTERIOPATIAS GRAVES

A ocorrência de arteriopatias graves no período pré-transplante (arterite de Takayasu e aterosclerose grave) não é fator impeditivo à realização do

transplante, porém aumenta a ocorrência de complicações vasculares. Uma radiografia simples do abdome pode auxiliar na identificação destes pacientes, notando-se calcificação dos vasos ilíacos. Nesses casos, pode-se discutir a realização de arteriografia da região aortoilíaca do receptor. Opta-se pela realização das anastomoses em artérias mais proximais (aorta e artéria ilíaca comum), evitando-se sobretudo a artéria ilíaca interna, a qual é sede freqüente de placas de ateroma que dificultam a realização da anastomose vascular e aumentam a ocorrência de trombose. Além disso, o cirurgião deve ter cuidado redobrado na realização da anastomose, fixando as placas de ateroma existentes e realizando-a com pontos separados, os quais levam à menor incidência de estenose[8]. A utilização de drogas antiagregantes plaquetárias é rotina nestes doentes.

TUMOR RENAL EM RINS PRIMITIVOS

A identificação de tumores renais incidentais vem aumentando, sobretudo em portadores de doença cística adquirida do rim terminal, graças à realização rotineira de ultra-sonografia[16]; estima-se que sua incidência seja de 5% entre os doentes mantidos cronicamente em diálise[3,16]. A ocorrência de nefroblastoma (tumor de Wilms) bilateral (estágio V), ou de adenocarcinoma renal em rim único ou bilateral, também pode levar à insuficiência renal terminal. A indicação de nefrectomia bilateral em tumor de Wilms tem diminuído nos últimos anos; a utilização de esquemas de quimioterapia múltiplos tem permitido a realização de cirurgias parciais com controle satisfatório da doença, evitando-se freqüentemente a necessidade de transplante renal.

Em doentes portadores de tumor de Wilms, 91% das recorrências ocorrem nos primeiros dois anos após a realização da cirurgia[17,18]; para o adenocarcinoma renal, a chance de recorrência nos primeiros dois anos é de 58% e entre 2 e 5 anos, de 3%[17,18]. Os fatores que contribuem para esta maior recorrência são: remoção incompleta do tumor e presença de metástase única removida cirurgicamente.

Baseando-se nos dados expostos, adota-se como regra geral: portadores de tumores incidentais e completamente removidos podem ser transplantados imediatamente após o tratamento cirúrgico; portadores de adenocarcinoma renal sintomático ou tumor de Wilms bilateral devem aguardar dois anos para a realização do transplante renal.

RINS ANÔMALOS E RINS DE DOADORES DO GRUPO PEDIÁTRICO

O acúmulo de doentes que aguardam um transplante nos vários centros transplantadores obriga o aproveitamento máximo dos doadores disponíveis; as equipes captadoras de órgãos devem estar preparadas para aproveitar rins anômalos, com lesões do pedículo vascular e mesmo de crianças com peso inferior a 15 quilos.

Dentre os rins anômalos, o mais utilizado para transplante é o rim "em ferradura". A fim de que estes rins sejam aproveitados, é importante que durante a sua retirada do doador não ocorra lesão do seu pedículo vascular, o qual é constituído por várias artérias e veias. Tais rins podem ser utilizados com sucesso, e há vários casos descritos[19]. Na Clínica Urológica do Hospital das Clínicas de São Paulo já foram realizados três transplantes utilizando-se rins anômalos, sendo dois rins "em ferradura" e um rim multicístico.

A utilização de doadores com menos de dois anos ou com peso inferior a 20 quilos envolve alguns detalhes técnicos; tais rins podem ser utilizados em bloco, utilizando-se a veia cava e a aorta do doador para a realização das anastomoses ou após separação de cada uma das suas unidades onde devem ser mantidos junto à veia e à artéria renal retalhos da veia cava inferior e de aorta, respectivamente; segundo a maioria dos autores, a utilização de rins em bloco diminui a incidência de complicações vasculares e oferece maior quantidade de tecido renal para o receptor[20]. Entretanto, o tema é controverso e há grupos que preferem utilizar os rins em separado. No Hospital das Clínicas de São Paulo foram realizados quatro transplantes com doadores com idade inferior a dois anos utilizando-se os rins em bloco com evolução favorável em dois deles.

A incidência de complicações é sabidamente maior quando se utilizam doadores com idade inferior a 5 anos[22,23]. Entre estas complicações cita-se a maior ocorrência de tromboses vasculares, fístulas urinárias e perdas por problemas imunológicos[1]. Entretanto, vários autores relatam melhor sobrevida do enxerto e menor incidência de complicações cirúrgicas quando se utilizam ambos os rins, em bloco, para um mesmo receptor[22,23]. Nesses casos, as anastomoses vasculares são realizadas diretamente na porção distal da aorta e da veia cava inferior do doador e nos vasos ilíacos do receptor. Inicialmente não há normalização do nível de creatinina, o que ocorre em média três meses após o transplante, em decorrência de hipertrofia do parênquima renal.

Com a utilização de doadores de múltiplos órgãos e com a padronização da retirada em bloco dos rins de doador-cadáver minimizaram-se as lesões iatrogênicas dos vasos renais. Entretanto, tal ocorrência não deve impedir a utilização dos rins. O reparo e a reconstrução vascular são realizados em "banco" sob hipotermia; no caso da ocorrência de artérias polares pode-se realizar anastomose término-lateral quando houver desproporção de calibre entre os vasos ou látero-lateral quando forem de calibre semelhante. O objetivo é deixar para o momento do transplante uma única anastomose arterial e outra venosa, a fim de minimizar o tempo de isquemia quente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAP S, MAZZUCCHI E, NAHAS WC, TANURE LH, DAVID NETO E, ANTONOPOULOS IM, SABBAGA E: Complicações cirúrgicas de 78 transplantes renais em crianças. *J Bras Urol* (no prelo).
2. SABBAGA E: *1000 Transplantes renais: vinte anos de experiência*. Tese de Livre-Docência, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1987, p 236.
3. MARCIN R, PASCUAL J, SERRANO P, OROFINO L, BURGOR FJ, TEWEL JL, ORTOÑO J: Renal cell carcinoma of the native kidney in a female renal allograft patient without acquired cystic kidney disease. *Nephron* 61:238-241, 1991.
4. HATCH DA: Kidney transplantation in patients with an abnormal lower urinary tract. *Urol Clin North Am* 21(2):311-320, 1994.
5. McGUIRE EJ, WOODSIDE JR, BORDEN RA: Prognostic value of urodynamic testing in myelodisplatic patients. *J Urol* 126:205-207, 1981.
6. GILL IS, HAYES JM, HODGE EE: Clean intermitent catheterization in the management of renal transplant recipients with lower urinary tract disfunction. *J Urol* 141:1397-1399, 1992.
7. HATCH DA, BELITSKY P, BARRY JM, NOVICK AC, TAYLOR RJ, JORDAN ML, SAGALOWSKY AI, ZAONTZ MR: Fate of renal allografts transplanted in patients with urinary diversion. *Transplantation* 56:838-842, 1993.
8. KHAULI RB: Surgical aspects of renal transplantation: new approaches. *Urol Clin North Am* 21(2):321-341, 1994.
9. KAPLAN SA, TE AE, BLAIVAS JG: Urodynamyc findings in patients with diabetic cistopathy. *J Urol* 153:342-344, 1995.
10. McGUIRE EJ: Factors affecting bladder compliance. *Dialog Pediatr Urol* 13:2-6, 1990.
11. NAHAS WC, MITRE AI, ARAP S, GOES GM: Refluxo vésico-ureteral e nefropatia do refluxo. *Pediatria* 6:189-191, 1985.
12. NAHAS WC, MAZZUCCHI E, LUCON AM, ANTONOPOULOS I, DAVID NETO E, ARAP S: Bladder augmentation in renal transplantation candidates: urodynamic evaluation and outcome. (abstract-1209). *J Urol* 153:531A, 1995.
13. MOSCONI CEV, IANHEZ LE, BORRELI M, SABBAGA E, GÓES GM: Vesicoureteral reflux in patients in end-stage chronic renal failure. *Urol Int* 30:357-361, 1975.
14. NAHAS WC, ANTONOPOULOS IM, HENRIQUE A, ARAP S: Transplante renal em pacientes com ampliação de bexiga ou derivação urinária (abstract). *Abstracts do Congresso da Confederación Americana de Urologia e Associación Española de Urologia*, Madrid, 1992, p 187.
15. LUCON AM, SABBAGA E, IANHEZ LE, CHOCAIR PR, PESTANA JOM, ARAP S: Renal transplantation using external continent urinary diversion. *J Urol* 151:406-408, 1994.
16. QUERFELD U, SCHNEBLE F, WRADZIDLO W, WALDHERR R, TRÖGER J, SCHÄRER K: Acquired cystic kidney disease before and after renal transplantation. *J Pediatr* 121:61-64, 1992.
17. PENN I: Primary kidney tumors before and after renal transplantation. *Transplantation* 59:480-485, 1995.
18. PENN I: The effect of imunosupression on pre-existing cancers. *Transplantation* 55:742-747, 1993.
19. KLÄN R, HIRNER A, FIEDLER U, OFFERMANN G: Transplantation of a horseshoe kidney en bloc: report of a case. *J Urol* 139:571-572, 1988.
20. CHURCHILL BM, SHELDON CA, McLORIE GA, ARBUS GS: Factors influencing patient and graft survival in 300 cadaveric pediatric renal transplants. *J Urol* 140:1129-1133, 1988.
21. BROWN WE, BANOWSKY LH, STRAFFON RA, NOVICK AC: Transplantation cadaver kidneys from pediatric donors. *Clin Transpl* 2:87-90, 1988.
22. HAYES JM, NOVICK AC, STREEM SB, HODGE EE, BRETAN PN, GRANETO D, STEINMULLER DR: The use of single pediatric cadaver kidneys for transplantation. *Transplantation* 45:106-110, 1988.
23. SCHNEIDER JR, SUTHERLAND DER, SIMMONS RL, FRYD DS, NAJARIAN JS: Long-term success with double pediatric cadaver donor renal transplants. *Ann Surg* 197:439-442, 1983.

39

NEFROTOXICIDADE POR CICLOSPORINA

José Mauro Vieira Júnior
Emmanuel de Almeida Burdmann

INTRODUÇÃO

A ciclosporina A (CsA) é um polipeptídeo cíclico, neutro e lipofílico produzido pelo metabolismo do fungo *Tolypocladium inflatum Gams*. As suas importantes propriedades imunossupressoras manifestam-se através da inibição seletiva da ativação do linfócito T e dos eventos mediados pela interleucina-2. A sua molécula, extremamente hidrófoba e lipofílica, é responsável pelo seu largo volume de distribuição e concentrações teciduais elevadas em pâncreas, fígado e células gordurosas. A CsA é metabolizada no fígado pelo sistema enzimático do citocromo P-450, fazendo com que pacientes com disfunção hepática necessitem de correção de sua dosagem. Da mesma forma, drogas que interferem com o sistema do citocromo P-450 podem alterar o metabolismo da CsA. Por exemplo, cetoconazol, eritromicina, verapamil e diltiazem aumentam a sua concentração sangüínea por inibirem este sistema enzimático. A excreção renal de CsA e de seus metabólitos é pequena, e normalmente ajustes de dosagem não são necessários em pacientes com insuficiência renal. No sangue, a maior parte da CsA está ligada às hemácias e às lipoproteínas, com apenas 5 a 10% circulando como "droga livre"[1,2].

A introdução da CsA na prática clínica no final da década de 70 revolucionou o transplante de órgãos sólidos e medula óssea associando-se à significativa melhora da sobrevida dos enxertos. Posteriormente, sua eficácia foi demonstrada no campo das doenças auto-imunes como uveítes, psoríase, asma brônquica, diabetes de início recente e síndromes nefróticas de etiologias diversas, aumentando de forma importante o número de pacientes expostos à sua ação[3].

O entusiasmo pela eficiência desta nova droga imunossupressora foi contrabalançado pelo surgimento de efeitos colaterais: toxicidade renal, hepática, neurológica e óssea, hipertensão arterial, alterações eletrolíticas, alterações do metabolismo da glicose, dos lípides e do ácido úrico[1,4]. Destes efeitos adversos, o mais importante é sem dúvida a nefrotoxicidade que, associada à hipertensão e às alterações histológicas renais, pode causar comprometimento renal crônico e evolutivo. Mais de uma década de intenso uso clínico e investigação experimental com CsA não foram suficientes para resolver ou elucidar de forma definitiva o problema do comprometimento renal decorrente do seu uso[5,6].

A nefrotoxicidade induzida pela CsA pode-se manifestar como disfunção renal aguda ou nefropatia crônica. O rótulo de nefrotoxicidade aguda deve ser reservado a situações em que o comprometimento renal induzido por CsA é de natureza funcional e reversível, sem alterações histológicas renais significativas. Por outro lado, a nefrotoxicidade crônica manifesta-se por queda da filtração glomerular acompanhada por lesões estruturais irreversíveis em parênquima renal, que eventualmente podem evoluir para insuficiência renal crônica terminal[3-5].

NEFROTOXICIDADE AGUDA

Na prática clínica podem-se encontrar três síndromes de disfunção renal aguda associadas ao uso de CsA: função retardada do enxerto renal, disfunção renal reversível e síndrome hemolítico-urêmica.

Função retardada do enxerto renal

Com o advento do uso de CsA no transplante renal vários grupos relataram aumento da incidência de insuficiência renal oligoanúrica no período pós-transplante imediato, assim como um tempo de recuperação de função renal pós-transplante maior do que o habitualmente visto com a "imunossupressão convencional", sem CsA[7]. Apesar desta disfunção renal estar provavelmente associada em muitos casos às altas doses de CsA endovenosa utilizadas quando da introdução da droga na prática clínica, parece bem estabelecido que a CsA prolonga a duração da insuficiência renal aguda (IRA) pós-transplante. Apesar de a maioria dos pacientes restabelecer boa função do enxerto, esta lesão renal não é benigna, pois aumenta o tempo de internação hospitalar e dificulta o manuseio clínico do paciente quanto à interpretação de possíveis episódios de rejeição celular aguda, podendo levar a altas doses cumulativas de corticosteróide[6]. Estas alterações da função renal não foram uniformemente observadas em séries de pacientes descritas por autores diferentes a despeito de protocolos de imunossupressão semelhantes[8,9]. Com o uso de doses menores da droga no período inicial do transplante e com a introdução de protocolos de imunossupressão que aguardam o bom funcionamento do enxerto para iniciar CsA, este problema tem sido minimizado.

Disfunção renal reversível

Quando métodos suficientemente sensíveis de avaliação da função renal são utilizados, fica claro que o uso de doses clínicas ou farmacologicamente relevantes de CsA está sempre associado a maior ou menor grau de alterações hemodinâmicas renais. Num estudo extremamente elegante, Perigo e cols demonstraram quedas transitórias da filtração glomerular e fluxo plasmático renal após as doses diárias de CsA em recipientes de enxerto renal que recebiam cronicamente a droga[10]. Da mesma forma, Curtis e cols notaram melhora significativa da função renal em pacientes transplantados renais "estáveis", sem evidências clínicas de nefrotoxicidade, que necessitaram suspender o uso de CsA por razões econômicas[11].

Quedas importantes da filtração glomerular levando a quadros clínicos de insuficiência renal aguda (IRA) podem ocorrer com doses elevadas de CsA, raramente utilizadas nos transplantes renais nos dias de hoje, ou em transplantes cardíacos, hepáticos, pulmonares ou de medula óssea[12-15], situações onde freqüentemente coexistem outras drogas nefrotóxicas e condições hemodinâmicas adversas ou ainda quando a CsA é administrada em conjunto com outras drogas que podem provocar queda da filtração glomerular como os antiinflamatórios não hormonais[16,17], os bloqueadores da enzima de conversão[18,19], os antibióticos nefrotóxicos, etc. A insuficiência renal muitas vezes ocorre abruptamente, podendo estar associada com hipertensão arterial, hiperpotassemia e hiperuricemia. Caracteristicamente, há oligúria e sódio urinário reduzido (menor do que 10mEq/l). Na maioria das vezes, a falência renal coincide com níveis sangüíneos elevados de CsA e a regra é o rápido retorno da função renal quando a dose de ciclosporina é reduzida ou a droga suspensa, confirmando o caráter funcional da lesão[20]. A IRA, que ocorre após a administração endovenosa de CsA, parece estar relacionada à ação conjugada da droga e do seu veículo "cremophor". Dados recentes de nosso laboratório mostraram que a substituição de "cremophor" por uma solução de ácidos graxos como veículo de CsA parenteral preveniu a queda da filtração glomerular provocada pela CsA sem diminuir seu efeito imunossupressor *in vitro*[21]. A histologia renal da IRA por CsA é pouco característica: pode ser praticamente normal ou apresentar somente alterações tubulares inespecíficas, sendo raros os casos de histologia compatível com necrose tubular aguda.

A outra forma pela qual a nefrotoxicidade aguda da CsA pode-se apresentar é a de elevações moderadas da creatinina sérica em pacientes clinicamente assintomáticos. Apesar da toxicidade por CsA raramente ser observada com níveis sangüíneos da droga inferiores a 200ng/ml (radioimunoensaio monoclonal), os níveis séricos da CsA não são um marcador diagnóstico sensível ou específico para a sua nefrotoxicidade. Quedas reversíveis da função renal podem claramente ocorrer com níveis de CsA considerados "terapêuticos". É importante notar que, mesmo após administração experimental ou clínica prolongada, a suspensão da droga implica melhora significativa ou mesmo normalização da filtração glomerular[11,22].

Outro fato de grande importância relativo à ação da droga sobre a função renal diz respeito à difícil diferenciação na prática clínica entre nefrotoxicidade por CsA e rejeição aguda de enxerto renal. Alguns critérios devem ser observados, como o período pós-transplante em que ocorre a elevação da creatinina, o grau desta elevação, a presença de sinais sugestivos de rejeição como ganho de peso e febre e os níveis sangüíneos da droga. Infelizmente os dados clínicos têm baixa sensibilidade e especificidade e muitas vezes é

obrigatório recorrer-se à histologia para o diagnóstico correto. Os parâmetros histológicos que sugerem toxicidade por CsA como vacuolização isométrica tubular, microcalcificações e mitocôndrias gigantes também são pouco específicos, pois podem ocorrer sem disfunção renal evidente, assim como, por serem focais, podem estar ausentes na presença de toxicidade. Assim, o diagnóstico histológico de nefrotoxicidade aguda por CsA muitas vezes será feito por exclusão, afastando-se a presença de rejeição aguda na biopsia. Em contrapartida, vale comentar que infiltrado intersticial inflamatório focal pode ser encontrado em enxertos renais com função estável em pacientes tratados com CsA[6,23].

Síndrome hemolítico-urêmica (vasculopatia aguda)

Existem relatos na literatura de um comprometimento renal causado pela CsA diverso dos que foram citados acima. Trata-se de uma vasculopatia aguda, com características clínicas de síndrome hemolítico-urêmica[24]. Inicialmente, esta doença foi descrita em transplantes de medula óssea[25], porém logo surgiram casos em transplantes de fígado[26] e de rim[27,28]. O quadro clínico compreende insuficiência renal aguda fulminante associada à trombocitopenia, com mau prognóstico em relação à evolução do enxerto renal. Do ponto de vista histológico, em tudo se assemelha a outras microangiopatias trombóticas, com graus variados de trombose capilar glomerular e necrose fibrinóide. Não houve, até o momento, reprodução experimental desta lesão de maneira consistente, exceto em animais pré-tratados com endotoxina bacteriana e então submetidos ao tratamento com CsA[29,30]. Os dados experimentais disponíveis apontam para o aumento da agregação plaquetária induzido pela CsA[31]. A ocorrência desta situação dramática em pacientes transplantados levanta obrigatoriamente a questão da retirada e/ou troca da CsA por outro agente imunossupressor, porém em alguns casos obteve-se reversão da síndrome apenas com redução da dose de CsA (Sabbaga E, comunicação pessoal).

PATOGÊNESE DA NEFROTOXICIDADE AGUDA CAUSADA PELA CsA

Do ponto de vista patogenético muito tem-se pesquisado a respeito da nefrotoxicidade aguda induzida pela CsA. Inicialmente, postulou-se que o principal efeito tóxico da droga seria tubular. Porém, mesmo quando são utilizados métodos sofisticados de estudo, como a análise da função mitocondrial, verifica-se apenas lesão tubular discreta, a menos que doses extremamente altas de CsA sejam usadas[32,33]. Além disso, muitas vezes ocorre dissociação entre as alterações tubulares e a queda da filtração glomerular[34]. Por exemplo, a hipomagnesemia causada pela CsA tem sido apontada como possível fator patogenético das alterações hemodinâmicas renais desencadeadas pela droga[35]. No entanto, a suplementação de magnésio na dieta protegeu a lesão tubular aguda mas não a alteração da filtração glomerular em ratos tratados com ciclosporina[36]. Estudos mais recentes sugerem que a CsA pode interferir com a síntese protéica normal da célula e suprimir as alterações compensatórias diante de determinada lesão[37,38]. Estes dados podem ter relevância clínica quando a CsA é utilizada em situações de isquemia renal, porém as evidências sugerem que a lesão tubular não é um fator patogenético importante na queda de filtração glomerular causada pela CsA[5].

Atualmente está bem estabelecido que a CsA produz intensa vasoconstrição da arteríola aferente com conseqüente aumento da resistência vascular renal e diminuição do fluxo sangüíneo renal, causando assim queda da filtração glomerular[34,39]. O mecanismo preciso desta vasoconstrição renal permanece indeterminado. Vários modelos experimentais foram criados com o intuito de se estudar os possíveis mediadores envolvidos nesta lesão. Existem evidências implicando vários sistemas, porém o bloqueio isolado de nenhum deles protege completamente a função renal. É portanto provável que a patogênese da vasoconstrição causada pela CsA seja complexa e multifatorial, ocorrendo através de lesão endotelial e desbalanço entre sistemas vasodilatadores e vasoconstritores. Analisaremos a seguir o possível papel dos mediadores que têm sido mais consistentemente relacionados às alterações renais induzidas pela CsA:

Sistema nervoso simpático

É bem conhecido o papel da estimulação nervosa simpática na indução do aumento do tônus da arteríola aferente e trabalhos clínicos e experimentais demonstram ativação deste sistema pela CsA[40-42]. Com base nestes fatos, o papel do sistema nervoso simpático (SNS) tem sido avaliado em diversos modelos de toxicidade renal aguda induzida por CsA. A administração experimental concomitante de antagonistas alfa-adrenérgicos e CsA atenuou a queda do fluxo sangüíneo renal provocada por esta[43]. Por outro lado, a desnervação renal não preservou consistentemente a fil-

tração glomerular e o fluxo plasmático renal em ratos tratados com CsA, com alguns autores encontrando proteção e outros não[44-46]. Experimentalmente, rins transplantados em ratos tratados com CsA desenvolveram nefrotoxicidade na mesma intensidade que os rins nativos[47] e na situação clínica de transplante renal nefrotoxicidade aguda pode ocorrer precocemente, numa fase em que o rim ainda está desnervado, sugerindo que outros fatores, além do SNS, devem estar envolvidos na gênese da lesão renal. Além disso, apesar de a CsA causar aumento da atividade nervosa simpática, até o momento não existem evidências de que seu uso provoque também aumento de catecolaminas circulantes[48-50].

Sistema renina-angiotensina

Este sistema tem sido bastante implicado à fisiopatogênese da nefrotoxicidade da CsA[51]. Estudos *in vitro* mostram liberação de renina aumentada em fatias de córtex renal ou células justaglomerulares incubadas com CsA[52,53]. Ratos tratados com CsA têm aumento significativo da atividade de renina plasmática, apresentam hiperplasia do aparelho justaglomerular e aumento do conteúdo renal de renina[51,54,55]. Em contrapartida, em humanos submetidos à terapia com CsA a atividade plasmática da renina está normal ou diminuída e o achado de hiperplasia do aparelho justaglomerular é inconstante[56,57]. No entanto, elevações das concentrações plasmáticas de pró-renina, renina total e mesmo aumento da atividade plasmática da renina já foram descritos em recipientes de transplantes cardíacos e hepáticos tratados com CsA[57-59].

Recentemente, Gardiner e cols encontraram evidências de ativação intra-renal do sistema renina-angiotensina pela CsA em pacientes transplantados renais, demonstrando que a conversão do esquema imunossupressor de CsA para azatioprina diminuiu a quantidade de células contendo renina em biopsias destes enxertos[60].

Tentativas de prevenção da nefrotoxicidade aguda induzida pela CsA através do bloqueio do sistema renina-angiotensina tem-se mostrado pouco promissoras. Experimentalmente, apesar de alguns autores terem demonstrado certo grau de proteção com o uso de captopril ou enalapril[39,61], a maioria dos trabalhos não demonstrou prevenção dos efeitos indesejáveis da CsA sobre a hemodinâmica renal com o uso de bloqueadores de enzima de conversão ou antagonistas competitivos da angiotensina II[44,55,62,63]. Clinicamente, não só não se evidenciaram efeitos benéficos com o bloqueio do sistema, como também o uso de bloqueadores da enzima de conversão em pacientes recebendo CsA tem sido associado a casos de IRA, provavelmente por vasodilatação da arteríola eferente em presença de queda do fluxo sangüíneo renal e vasoconstrição fixa da arteríola aferente[18,19]. Assim, apesar de sugestivas evidências de ativação deste sistema pela CsA, o seu bloqueio tem-se mostrado pouco efetivo na prevenção da nefrotoxicidade aguda da ciclosporina, indicando que o sistema renina-angiotensina deve desempenhar papel pouco importante nas alterações agudas de função renal induzidas pela droga.

Sistema prostaglandina/tromboxano

O papel das prostaglandinas vasoconstritoras e vasodilatadoras na modulação da nefrotoxicidade aguda pela CsA tem sido amplamente investigado e todos os dados indicam que estas possuem grande importância clínica e experimental. Alguns trabalhos mostraram diminuição da síntese de PGE_2 e $PGF_{2\alpha}$ com o tratamento com CsA[64,65] e a administração exógena de PGE_2 atenuou a disfunção renal aguda induzida pela droga[66]. Do mesmo modo, a administração de óleo de peixe contendo ácido eicosapentanóico, um inibidor dos metabólitos da cicloxigenase, melhorou a função renal e diminuiu a excreção de tromboxano em animais tratados com CsA[66]. Outro dado relevante é o acúmulo de resultados clínicos e experimentais apontando para a piora da hemodinâmica e função renal quando se associam inibidores da cicloxigenase e CsA[16,17,44]. A análise da concentração urinária de metabólitos das prostaglandinas em animais e pacientes recebendo ciclosporina originou dados conflitantes, porém a crítica que se faz é que a excreção dos produtos do metabolismo das prostaglandinas não reflete necessariamente os seus níveis teciduais[67]. Por outro lado, a excreção de tromboxano está aumentada com o uso de CsA em vários modelos experimentais[67,68] e sua inibição através de antagonistas específicos ou de inibidores da tromboxano-sintetase induziu proteção contra a nefrotoxicidade aguda causada pela CsA[67-73].

Atividade vasoconstritora intrínseca

Alguns autores postulam que a CsA tem atividade vasoconstritora direta na parede vascular[74]. Nesse sentido, o íon cálcio parece ter papel de destaque uma vez que se tem documentado alterações da homeostase intracelular de cálcio relacionadas ao uso da CsA[75,76]. Não está claro o mecanismo preciso através do qual ocorreria a liberação citosólica deste íon de suas reservas. Inúmeros trabalhos

clínicos e experimentais têm demonstrado o papel de drogas antagonistas dos canais de cálcio na prevenção da lesão hemodinâmica aguda renal causada pela CsA, o que provavelmente ocorre através de seu efeito de vasodilatação preferencial na arteríola aferente[77-80].

Endotelinas e óxido nítrico

Nos últimos anos descobriu-se um potente vasoconstritor, a endotelina, cujos efeitos sobre a hemodinâmica renal podem, em determinadas situações, ser semalhantes aos da CsA: queda da filtração glomerular e do fluxo plasmático renal associada a aumento da resistência vascular renal. Este fato associado ao conhecido efeito lesivo da CsA sobre o endotélio tem levado a especulações sobre o papel da endotelina na nefrotoxicidade da CsA[81]. Trabalhos clínicos e experimentais recentes demonstraram aumento dos níveis sistêmicos e renais de endotelina associados ao uso de CsA[10,82,83]. O uso de anticorpos antiendotelina atenua a disfunção renal aguda causada pela CsA[82,84]. No entanto, a utilização de antagonistas competitivos dos receptores de endotelina tem originado resultados conflitantes em termos de proteção renal, talvez devido a diferenças farmacocinéticas entre os diferentes antagonistas utilizados[85,86].

Outra questão ainda não esclarecida e associada aos efeitos lesivos da CsA sobre o endotélio é a possível interferência da droga na produção de óxido nítrico (NO). Estudos em vasos isolados demonstram a inibição da vasodilatação mediada por acetilcolina com o emprego da CsA, provavelmente por inibição da síntese de NO[87-89].

Em trabalho recente, utilizou-se um inibidor da síntese de NO em um modelo experimental de toxicidade por CsA constatando-se que a produção de NO não está diminuída, porém é insuficiente para prevenir a vasoconstrição induzida pela CsA[90]. O autor postula que a célula endotelial lesada estaria impossibilitada de aumentar a produção de NO quando solicitada pelos estímulos adequados. Da mesma forma, a administração de L-arginina conferiu certo grau de proteção renal em modelos experimentais de nefrotoxicidade por CsA[91-93].

NEFROTOXICIDADE CRÔNICA

Insuficiência renal e lesões estruturais irreversíveis têm sido bem documentadas em receptores de órgãos sólidos que recebem CsA cronicamente ou em pacientes que recebem esta droga para tratamento de doenças auto-imunes[57,94-100]. Estas alterações não parecem ser influenciadas pelos níveis séricos ou pela dosagem diária ou cumulativa da droga, ocorrendo mesmo em pacientes que recebem doses pequenas de CsA[101-104].

Esta forma de nefrotoxicidade crônica caracteriza-se por perda progressiva da função renal, freqüentemente acompanhada por hipertensão arterial. Embora incomum, pode ocorrer evolução para insuficiência renal terminal dependente de diálise[57,105]. Enquanto este risco parece estar justificado em situações críticas como transplantes de rim, coração, fígado ou pulmão, a avaliação da relação risco/benefício do tratamento é menos clara com o uso da CsA nas doenças autoimunes como uveítes ou psoríases.

Histologicamente, esta síndrome caracteriza-se por alterações tubulointersticiais inespecíficas e por uma arteriolopatia, que, embora não seja exclusiva, tem sido considerada como o sinal mais característico da nefrotoxicidade crônica induzida pela CsA[106]. Mihatsch e cols foram os primeiros a descrever a lesão que consiste de atrofia e dilatação tubular e fibrose intersticial com aspecto em faixas, comprometendo os raios medulares, associadas a alterações das camadas musculares e íntima das arteríolas aferentes e de pequenas artérias, que vão desde depósitos nodulares de material hialino até necrose de parede, causando diminuição do lúmen ou mesmo oclusão arteriolar[27,107].

Alguns autores sugerem que a patogênese da nefropatia crônica causada pela CsA estaria ligada à vasoconstrição crônica e as lesões das arteríolas aferentes induzidas pela droga provocando isquemia do néfron e do tecido renal a jusante[108].

O estudo da patogênese da toxicidade crônica da CsA foi dificultado durante muito tempo pela falta de um modelo experimental adequado que reproduzisse os achados descritos em humanos. Recentemente foi descrito um modelo de nefrotoxicidade crônica pela CsA em ratos depletados em sal que mimetiza as alterações histológicas encontradas na clínica, inclusive a fibrose intersticial em faixa e a lesão anteriolar característica[22,109,110]. Com a interrupção da administração da droga nota-se melhora da filtração glomerular, mas não das lesões estruturais[22]. As doses usadas de CsA aproximam-se daquelas utilizadas clinicamente em transplantes[111]. Inicialmente, sugeriu-se mais uma vez que a hipoperfusão crônica decorrente das alterações hemodinâmicas pré-glomerulares teria um papel fundamental na gênese das lesões, já que estas ocorrem predominantemente em áreas do parênquima renal com baixa disponibilidade de oxigênio[109,112]. Porém, mais recentemente, tentativas farmacológicas de prevenção da lesão renal associada à CsA têm encontrado

resultados que evidenciam dissociação dos mecanismos causadores das alterações de hemodinâmica glomerular e das lesões estruturais desencadeadas pela droga.

O uso de bloqueadores dos canais de cálcio ou de endotelina protegeu contra a queda de filtração glomerular, porém não atenuou o aparecimento das lesões histológicas em ratos tratados com CsA[113-115]. Por outro lado, o uso de enalapril e/ou losartan preveniu de maneira significante o desenvolvimento de fibrose intersticial sem proteger, e até mesmo piorando, a queda de filtração glomerular em ratos recebendo CsA[55,114]. Esta proteção estrutural pode ser decorrente da melhora do fluxo medular, regulado por receptores de angiotensina II na região da *vasa recta*, ou mesmo ocorrer através da inibição dos efeitos proliferativos da angiotensina II. De fato, existem diversas evidências na literatura de uma participação direta da CsA estimulando a proliferação celular e a produção de colágeno tanto *in vivo* como *in vitro*. Vale lembrar que a CsA também aumenta a produção de fibloblastos e matriz extracelular em outros tecidos, como o gengival[116]. Assim, observou-se que a CsA estimula a transcrição e a secreção de pró-colágeno em culturas de células renais tubulointersticiais humanas ou de animais de experimentação[117,118] e estimula diretamente a proliferação de fibroblastos em cultura[119].

Foram também demonstrados níveis elevados de ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) para o pró-colágeno alfa-1 no córtex renal de ratos tratados com CsA durante apenas uma semana[120]. O uso de losartan atenuou de maneira significante este aumento de RNAm em animais tratados com CsA durante quatro semanas[55].

Estudos recentes mostraram, através de imuno-histoquímica, que a administração experimental de CsA provocou precocemente proliferação celular e influxo de macrófagos em região medular renal, precedendo a fibrose intersticial e a queda da depuração de creatinina[54,121].

Finalmente, começam a surgir evidências na literatura de que a CsA estimula a produção *in vivo* e *in vitro* de fator de crescimento tumoral beta (TGF-β), citocina com importantes propriedades fibrinogênicas, anticolagenases e deposição de matriz extracelular, cuja liberação e ação tecidual podem estar vinculadas aos níveis teciduais e/ou circulantes de angiotensina II, colaborando com a gênese da fibrose intersticial e lesão arteriolar associadas à CsA[122,123].

Em síntese, embora até o momento não existam evidências experimentais conclusivas mostrando produção de lesões estruturais crônicas com CsA sem alterações de hemodinâmica glomerular, vários autores têm encontrado resultados fortemente sugestivos de que os mecanismos de lesão estrutural podem ser distintos daqueles, causando a queda do fluxo sangüíneo renal e da filtração glomerular. É possível que, em associação aos efeitos deletérios da isquemia pré-glomerular, a CsA desencadeie outros mecanismos geradores de fibrose intersticial, como isquemia causada por vasoconstrição da *vasa recta* e/ou estimulação de fibroblastos e incremento de deposição de matriz extracelular mediados através de angiotensina II ou de outros fatores de crescimento e citocinas, como TGF-β.

CONCLUSÕES

Apesar do crescente volume de pesquisas clínicas e experimentais realizadas sobre os mecanismos de ação da CsA sobre a função renal, a nefrotoxicidade continua sendo o principal efeito adverso desta droga, bem como impedimento para ampliação de seu uso em indicações não ligadas a transplantes de órgãos sólidos. A nefrotoxicidade aguda está ligada a alterações hemodinâmicas glomerulares, não origina lesões estruturais permanentes e pode ser facilmente revertida com a diminuição das doses diárias da droga ou sua interrupção. A nefrotoxicidade crônica é insidiosa, evolutiva, gera alterações irreversíveis no parênquima renal e ainda tem a sua fisiopatogênese mal definida. Mesmo considerando-se o aparecimento recente de várias novas drogas imunossupressoras, a CsA permanece com papel de destaque na terapêutica imunossupressora atual e o estudo dos mecanismos envolvidos na sua nefrotoxicidade e das medidas capazes de atenuar ou evitar estas lesões continua relevante e com grande aplicação clínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. KAHAN BD: Cyclosporine. *N Engl J Med* 321:1725-1738, 1989.
2. BENNETT WM, BURDMANN EA, ANDOH TF, HOUGHTON DC, LINDSLEY J, ELZINGA LW: Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs. *Nephrol Dial Transplant* 9(Suppl 4):141-145, 1994.
3. STURROCK ND, STRUTHERS AD: Hormonal and other mechanisms involved in the pathogenesis of cyclosporin-induced nephrotoxicity and hypertension in man. *Clin Sci Colch* 86:1-9, 1994.
4. BENNETT WM, BURDMANN E, ANDOH T, ELZINGA L, FRANCESCHINI N: Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs. *Miner Electrolyte Metab* 20:214-220, 1994.
5. McNALLY PG, FEEHALLY J: Pathophysiology of cyclosporin A nephrotoxicity: experimental and clinical observations. *Nephrol Dial Transplant* 7:791-804, 1992.
6. RACUSEN LC, SOLEZ K: Nephrotoxicity of cyclosporine and other immunosuppressive and immunotherapeutic agents, in *Toxicology of the Kidney*, edited by Hook JB, Goldestein RS, New York, Raven Press, 1993, pp 319-360.

7. Canadiam Multicentre Transplant Study Group: A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. *N Engl J Med* 309:809-815, 1983.
8. European Multicentre Trial Group: Cyclosporin in cadaveric renal transplantation: one-year follow-up of a multicentre trial. *Lancet* 2:986-989, 1983.
9. MILFORD EL, KIRKMAN RL, TILNEY NL, STROM TB, CARPENTER CB: Clinical experience with cyclosporin and azathioprine at Brigham and Women's Hospital. (abstract) *Am J Kidney Dis* 5:313, 1986.
10. PERICO N, RUGGENENTI P, GASPARI F, MOSCONI L, BENIGNI A, AMUCHASTEGUI CS, GASPARINI F, REMUZZI G: Daily renal hypoperfusion induced by cyclosporine in patients with renal transplantation. *Transplantation* 54:56-60, 1992.
11. CURTIS JJ, LUKE RG, DUBOVSKY E, DIETHELM AG, WELCHEL JD, JONES P: Cyclosporin in therapeutic doses increases renal allograft vascular resistance. *Lancet* 2:477-479, 1986.
12. POWLES RL, BARRET AJ, CLINK H, KAY HE, SLOANE J, McELWAIN TJ: Cyclosporin A for the treatment of graft-versus-host disease in man. *Lancet* 2:1327-1331, 1978.
13. POWELL-JACKSON PR, YOUNG B, CALNE RY, WILLIAMS R: Nephrotoxicity of parenterally administered cyclosporine after orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 36:505-508, 1983.
14. GREENBERG A, EGEL JW, THOMPSON ME, HARDESTY RL, GRIFFITH BP, BAHNSON HT, BERNSTEIN RL, HASTILLO A, HESS ML, PUSCHETT JB: Early and late forms of cyclosporin nephrotoxicity: studies in cardiac transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 9:12-22, 1987.
15. PLATZ KP, MUELLER AR, BLUMHARDT G, BACHMANN S, BECHSTEIN WO, KAHL A, NEUHAUS P: Nephrotoxicity following orthotopic liver transplantation. A comparison between cyclosporine and FK506. *Transplantation* 58:170-178, 1994.
16. ALTMAN RD, PEREZ GO, SFAKIANAKIS GN: Interaction of cyclosporine A and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on renal function in patients with rheumatoid arthritis. *Am J Med* 93:396-402, 1992.
17. VIEIRA Jr JM, FUJIHARA C, ZATZ R, de NUCCI G, BURDMANN EA: Efeitos de um antiinflamatório não hormonal (AINH) sobre a nefrotoxicidade aguda da ciclosporina A (CSA). (abstract) *J Bras Nefrol* 17(Suppl I):S25, 1995.
18. MURRAY BM, VENUTO RC, KOHLI R, CUNNINGHAM EE: Enalapril-associated acute renal failure in renal transplants: possible role of cyclosporine. *Am J Kidney Dis* 16:66-69, 1990.
19. GARCIA TM, da-COSTA JA, COSTA RS, FERRAZ AS: Acute tubular necrosis in kidney transplant patients treated with enalapril. *Ren Fail* 16:419-423, 1994.
20. HENNY FC, KLEINBLOESEM CH, MOOLENAAR AJ, PAUL LC, BREIMER DD, van-ES LA: Pharmacokinetics and nephrotoxicity of cyclosporine in renal transplant recipients. *Transplantation* 40:261-265, 1985.
21. BURDMANN EA, ANDOH TF, PRADO EAB, FRANCESCHINI N, FUJIHARA C, ZATZ R, BENNETT WM: Renal, immunosuppressive and pharmacokinetic effects of the substitution of intralipid (LIP) for cremophor (CRE) as vehicle for parenteral cyclosporine (CSA) administration. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 6:995, 1995.
22. ELZINGA LW, ROSEN S, BENNETT WM: Dissociation of glomerular filtration rate from tubulointerstitial fibrosis in experimental chronic cyclosporine nephropathy: role of sodium intake. *J Am Soc Nephrol* 4:214-221, 1993.
23. SOLEZ K, McGRAW DJ, BESCHORNER WE, KONE BC, RACUSEN LC, WHELTON A, BURDICK JF: Reflections on use of the renal biopsy as the "gold standard" in distinguishing transplant rejection from cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc* 17:123-133, 1985.
24. REMUZZI G, BERTANI T: Renal vascular and thrombotic effects of cyclosporine. *Am J Kidney Dis* 13:261-272, 1989.
25. SHULMAN H, STRIKER G, DEEG HJ, KENNEDY M, STORB R, THOMAS ED: Nephrotoxicity of cyclosporin A after allogeneic marrow transplantation: glomerular thromboses and tubular injury. *N Engl J Med* 305:1392-1395, 1981.
26. BONSER RS, ADU D, FRANKLIN I, McMASTER P: Cyclosporin-induced haemolytic uraemic syndrome in liver allograft recipient. [letter] *Lancet* 2:1337, 1984.
27. MIHATSCH MJ, THIEL G, SPICHTIN M, OBERHOLZER M, BRUNNER FP, HARDER F, OLIVIERI V, BREMER R, RYFFEL B, STÖCKLIN E, TORHORST J, GUDAT F, ZOLLINGER HU, LOERTSCHER R: Morphological findings in kidney transplant after treatment with cyclosporine. *Transplant Proc* 15:2821-2835, 1983.
28. Van-BUREN D, Van-BUREN CT, FLECHNER SM, MADDOX AM, VERANI R, KAHAN BD: De novo hemolytic uremic syndrome in renal transplant recipients immunosuppressed with cyclosporine. *Surgery* 98:54-62, 1985.
29. COSIO FG, INNES JT, NAHMAN Jr NS, MAHAN JD, FERGUSON RM: Combined nephrotoxic effects of cyclosporine and endotoxin. *Transplantation* 44:425-428, 1987.
30. FARACO PR, HEWITSON TD, KINCAID-SMITH P: An animal model for the study of the microangiopathic form of cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 51:1129-1131, 1991.
31. GRACE AA, BARRADAS MA, MIKHAILIDIS DP, JEREMY JY, MOORHEAD JF, SWENY P, DANDONA P: Cyclosporine A enhances platelet aggregation. *Kidney Int* 32:889-895, 1987.
32. STRZELECKI T, KUMAR S, KHAULI R, MENON M: Impairment by cyclosporine of membrane-mediated functions in kidney mitochondria. *Kidney Int* 34:234-240, 1988.
33. ELZINGA LW, MELA-RIKER LM, WIDENER LL, BENNETT WM: Renal cortical mitochondrial integrity in experimental cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 48:102-106, 1989.
34. ENGLISH J, EVAN A, HOUGHTON DC, BENNETT WM: Cyclosporine-induced acute renal dysfunction in the rat. Evidence of arteriolar vasconstriction with preservation of tubular function. *Transplantation* 44:135-141, 1987.
35. FANDREY J, ROB PM, JELKMANN W: Theophylline and magnesium inhibit the contraction elicited with ciclosporin and angiotensin II in mesangial cell cultures. *Nephron* 57:94-98, 1991.
36. BURDMANN EA, ANDOH TF, LINDSLEY J, HOUGHTON DC, BENNETT WM: Effects of oral magnesium supplementation on acute experimental cyclosporin nephrotoxicity. *Nephrol Dial Transplant* 9:16-21, 1994.
37. BATLLE DC, GUTTERMAN C, KEILANI T, PECES R, LaPOINTE M: Effect of cyclosporin A on renal function and kidney growth in the uninephrectomized rat. *Kidney Int* 37:21-28, 1990.
38. BUSS WC, STEPANEK J: Characterization of the inhibition of renal translation in the Sprague-Dawley rat following in vivo cyclosporin A. *Int J Immunopharmacol* 15:63-76, 1993.
39. BARROS EJ, BOIM MA, AJZEN H, RAMOS OL, SCHOR N: Glomerular hemodynamics and hormonal participation on cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 32:19-25, 1987.
40. MOSS NG, POWELL SL, FALK RJ: Intravenous cyclosporine activates afferent and efferent renal nerves and causes sodium retention in innervated kidneys in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:8222-8226, 1985.
41. SCHERRER U, VISSING SF, MORGAN BJ, ROLLINS JA, TINDALL RS, RING S, HANSON P, MOHANTY PK, VICTOR RG: Cyclosporine-induced sympathetic activation and hypertension after heart transplantation. *N Engl J Med* 323:693-699, 1990.

42. LYSON T, McMULLAN DM, ERMEL LD, MORGAN BJ, VICTOR RG: Mechanism of cyclosporine-induced sympathetic activation and acute hypertension in rats. *Hypertension* 23:667-675, 1994.
43. MURRAY BM, PALLER M: Beneficial effects of renal denervation and prazosin on GFR and renal blood flow after cyclosporine in rats. *Clin Nephrol* 25(Suppl 1):S37-S39, 1986.
44. MURRAY BM, PALLER MS, FERRIS TF: Effect of cyclosporine administration on renal hemodynamics in conscious rats. *Kidney Int* 28:767-774, 1985.
45. McNALLY PG, BAKER F, MISTRY N, WALLS J, FEEHALLY J: Influence of nifedipine on cyclosporin A nephrotoxicity after unilateral nephrectomy in the spontaneously hypertensive rat. *Clin Sci Colch* 81:271-279, 1991.
46. ELZINGA LW, ROSEN S, BURDMANN EA, LINDSLEY J, HATTON DC, BENNETT WM: Effects of renal denervation in a model of chronic cyclosporine (CsA) nephropathy. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 5:920, 1994.
47. CHURCHILL MC, CHURCHILL PC, BIDANI AK: The effects of cyclosporine in Lewis rats with native and transplanted kidneys. *Transplantation* 55:1256-1260, 1993.
48. BELLET M, CABROL C, SASSANO P, LEGER P, CORVOL P, MENARD J: Systemic hypertension after cardiac transplantation: effect of cyclosporine on the renin-angiotensin-aldosterone system. *Am J Cardiol* 56:927-931, 1985.
49. THOMPSON ME, SHAPIRO AP, JOHNSEN AM, ITZKOFF JM, HARDESTY RL, GRIFFITH BP, BAHNSON HT, McDONALD Jr RH, HASTILLO A, HESS M: The contrasting effects of cyclosporin-A and azathioprine on arterial blood pressure and renal function following cardiac transplantation. *Int J Cardiol* 11:219-229, 1986.
50. GERKENS JF: Cyclosporine treatment of normal rats produces a rise in blood pressure and decreased renal vascular responses to nerve stimulation, vasoconstrictors and endothelium-dependent dilators. *J Pharmacol Exp Ther* 250:1105-1112, 1989.
51. MASON J, MULLER-SCHWEINITZER E, DUPONT M, CASELLAS D, MIHATSCH M, MOORE L, KASKEL F: Cyclosporine and the renin-angiotensin system. *Kidney Int* (Suppl 32):S28-S32, 1991.
52. DUGGIN GG, BAXTER C, HALL BM, HORVATH JS, TILLER DJ: Influence of cyclosporine A (CSA) on intrarenal control of GFR. *Clin Nephrol* 25(Suppl 1):S43-S45, 1986.
53. KURTZ A, DELLA-BRUNA R, KUHN K: Cyclosporine A enhances renin secretion and production in isolated juxtaglomerular cells. *Kidney Int* 33:947-953, 1988.
54. YOUNG B, BURDMANN EA, JOHNSON RJ, ALPERS CE, GIACHELLI CM, ENG E, ANDOH T, BENNETT WM, COUSER WG: Cellular proliferation and macrophage influx precede interstitial fibrosis in cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 48:439-448, 1995.
55. BURDMANN EA, ANDOH TF, NAST CC, EVAN A, CONNORS BA, COFFMAN TM, LINDSLEY J, BENNETT WM: Prevention of experimental cyclosporin-induced interstitial fibrosis by losartan and enalapril. *Am J Physiol* 269:F491-F499, 1995.
56. BANTLE JP, NATH KA, SUTHERLAND DE, NAJARIAN JS, FERRIS TF: Effects of cyclosporine on the renin-angiotensin-aldosterone system and potassium excretion in renal transplant recipients. *Arch Intern Med* 145:505-508, 1985.
57. MYERS BD, SIBLEY R, NEWTON L, TOMLANOVICH SJ, BOSHKOS C, STINSON E, LUETSCHER JA, WHITNEY DJ, KRASNY D, COPLON NS, PERLROTH MG: The long-term course of cyclosporine-associated chronic nephropathy. *Kidney Int* 33:590-600, 1988.
58. RUTAN GH, SHAPIRO AP, THOMPSON ME, NIGALYE RL, McDONALD Jr RH, JOHNSEN AM, TRENTO A, KORMOS RL: Hypertension, creatinine, and plasma renin activity in heart transplant recipients. *J Hum Hypertens* 4:659-664, 1990.
59. JULIEN J, FARGE D, KREFT-JAIS C, GUYENE TT, PLOUIN PF, HOUSSIN D, CARPENTIER A, CORVOL P: Cyclosporine-induced stimulation of the renin-angiotensin system after liver and heart transplantation. *Transplantation* 56:885-891, 1993.
60. GARDINER DS, WATSON MA, JUNOR BJ, BRIGGS JD, MORE IA, LINDOP GB: The effect of conversion from cyclosporin to azathioprine on renin-containing cells in renal allograft biopsies. *Nephrol Dial Transplant* 6:363-367, 1991.
61. LAFAYETTE RA, MAYER G, MEYER TW: The effects of blood pressure reduction on cyclosporine nephrotoxicity in the rat. *J Am Soc Nephrol* 3:1892-1899, 1993.
62. DIEPERINK H, LEYSSAC PP, STARKLINT H, JORGENSEN KA, KEMP E: Antagonist capacities of nifedipine, captopril, phenoxybenzamine, prostacyclin and indomethacin on cyclosporin A induced impairment of rat renal function. *Eur J Clin Invest* 16:540-548, 1986.
63. KASKEL FJ, DEVARAJAN P, ARBEIT LA, PARTIN JS, MOORE LC: Cyclosporine nephrotoxicity: sodium excretion, autoregulation, and angiotensin II. *Am J Physiol* 252:F733-F742, 1987.
64. BUNKE M, WILDER L, McLEISH K: Effect of cyclosporine on glomerular prostaglandin production. *Transplant Proc* 20:646-649, 1988.
65. STAHL RA, ADLER S, BAKER PJ, JOHNSON RJ, CHEN YP, PRITZL P, COUSER WG: Cyclosporin A inhibits prostaglandin E2 formation by rat mesangial cells in culture. *Kidney Int* 35:1161-1167, 1989.
66. MAKOWKA L, LOPATIN W, GILAS T, FALK J, PHILLIPS MJ, FALK R: Prevention of cyclosporine (CyA) nephrotoxicity by synthetic prostaglandins *Clin Nephrol* 25(Suppl 1):S89-S94, 1986.
67. COFFMAN TM, CARR DR, YARGER WE, KLOTMAN PE: Evidence that renal prostaglandin and thromboxane production is stimulated in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 43:282-285, 1987.
68. PERICO N, BENIGNI A, ZOJA C, DELAINI F, REMUZZI G: Functional significance of exaggerated renal thromboxane A2 synthesis induced by cyclosporin A. *Am J Physiol* 251:F581-F587, 1986.
69. SPURNEY RF, MAYROS SD, COLLINS D, RUIZ P, KLOTMAN PE, COFFMAN T: Thromboxane receptor blockade improves cyclosporine nephrotoxicity in rats. *Prostaglandins* 39:135-146, 1990.
70. ROSSINI M, BELLONI A, REMUZZI G, PERIGO N: Thromboxane receptor blockade attenuates the toxic effect of cyclosporine in experimental renal transplantation. *Circulation* 81:I61-I67, 1990.
71. PERICO N, PASINI M, GASPARI F, ABBATE M, REMUZZI G: Co-participation of thromboxane A2 and leukotriene C4 and D4 in mediating cyclosporine-induced acute renal failure. *Transplantation* 52:873-878, 1991.
72. BENNETT WM: Therapeutic implications of arachidonic acid metabolism in transplant-associated acute renal failure. *Ren Fail* 14:261-265, 1992.
73. SMITH SR, CREECH EA, SCHAFFER AV, MARTIN LL, RAKHIT A, DOUGLAS FL, KLOTMAN PE, COFFMAN TM: Effects of thromboxane synthase inhibition with CGS 13080 in human cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 41:199-205, 1992.
74. XUE H, BUKOSKI RD, McCARRON DA, BENNET WM: Induction of contraction in isolated rat aorta by cyclosporine. *Transplantation* 43:715-718, 1987.
75. SKORECKI KL, RUTLEDGE WP, SCHRIER RW: Acute cyclosporine nephrotoxicity-prototype for a renal membrane signalling disorder. *Kidney Int* 42:1-10, 1992.
76. BOKEMEYER D, FRIEDRICHS U, BACKER A, KRAMER HJ, MEYER-LEHNERT H: Cyclosporine A enhances total cell calcium independent of Na-K-ATPase in vascular smooth muscle cells. *Clin Investig* 72:992-995, 1994.

77. PROPPER DJ, WHITING PH, POWER DA, EDWARD N, CATTO GR: The effect of nifedipine on graft function in renal allograft recipients treated with cyclosporin A. *Clin Nephrol* 32:62-67, 1989.
78. McNALLY PG, WALLS J, FREEHALLY J: The effect of nifedipine on renal function in normotensive cyclosporin-A-treated renal allograft recipients. *Nephrol Dial Transplant* 5:962-968, 1990.
79. SORENSEN SS, SKOVBON H, EISKJAER H, THOMSEN K, PEDERSEN EB: Effect of felodipine on renal haemodynamics and tubular sodium handling in cyclosporin-treated renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 7:69-78, 1992.
80. NEUMAYER HH, KUNZENDORF U, SCHREIBER M: Protective effects of calcium antagonists in human renal transplantation. *Kidney Int* (Suppl 36):S87-S93, 1992.
81. CAIRNS HS, ROGERSON M, FAIRBANKS LD, WESTWICK J, NEILD GH: Endothelin and cyclosporin nephrotoxicity. [letter] *Lancet* 2:1496-1497, 1988.
82. KON V, SUGIURA M, INAGAMI T, HARVIE BR, ICHIKAWA I, HOOVER RL: Role of endothelin in cyclosporine-induced glomerular dysfunction. *Kidney Int* 37:1487-1491, 1990.
83. GRIEFF M, LOERTSCHER R, SHOHAIB SA, STEWART DJ: Cyclosporine-induced elevation in circulating endothelin-1 in patients with solid-organ transplants. *Transplantation* 56:880-884, 1993.
84. PERICO N, DADAN J, REMUZZI G: Endothelin mediates the renal vasoconstriction induced by cyclosporine in the rat. *J Am Soc Nephrol* 1:76-83, 1990.
85. FOGO A, HELLINGS SE, INAGAMI T, KON V: Endothelin receptor antagonism is protective in in vivo acute cyclosporine toxicity. *Kidney Int* 42:770-774, 1992.
86. DAVIS LS, HALEEN SJ, DOHERTY AM, CODY WL, KEISER JA: Effects of selective endothelin antagonists on the hemodynamic response to cyclosporin A. *J Am Soc Nephrol* 4:1448-1454, 1994.
87. ROULLET JB, XUE H, McCARRON DA, HOLCOMB S, BENNETT WM: Vascular mechanisms of cyclosporin-induced hypertension in the rat. *J Clin Invest* 93:2244-2250, 1994.
88. ROULLET JB, XUE H, BURDMAN EA, CHAPMAN J, McCARRON DA, BENNETT WM: Cardiovascular consequences of immunosuppressive drug treatment: a comparative study of cyclosporine A and cyclosporine G. *Transplant Proc* 27:346-347, 1995.
89. RESSUREIÇÃO FAMS, BALLEJO G, SALGADO MCO, FERRAZ AS: Effect of cyclosporine administration on vascular reactivity of the isolated mesenteric bed. *Transplant Proc* 27:1806-1808, 1995.
90. BOBADILLA NA, TAPIA E, FRANCO M, LOPEZ P, MENDOZA S, GARCIA-TORRES R, ALVARADO JA, HERRERA-ACOSTA J: Role of nitric oxide in renal hemodynamic abnormalities of cyclosporin nephrotoxicity. *Kidney Int* 46:773-779, 1994.
91. GALLEGO MJ, LOPEZ-FARRE A, RIESCO A, MONTON M, GRANDES SM, BARAT A, HERNANDO L, CASADO S, CARAMELO CA: Blockade of endothelium-dependent responses in conscious rats by cyclosporin A: effect of L-arginine. *Am J Physiol* 264:H708-H714, 1993.
92. De NICOLA L, THOMSON SC, WEAD LM, BROWN MR, GABBAI FB: Arginine feeding modifies cyclosporine nephrotoxicity in rats. *J Clin Invest* 92:1859-1865, 1993.
93. GARDNER MP, ANDOH TF, BENNETT WM: Dietary L-arginine supplementation reduces the functional and structural manifestations of chronic cyclosporine (CSA) nephrotoxicity. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 6:997, 1995.
94. DIETERLE A, GRATWOHL A, NIZZE H, HUSER B, MIHATSCH MJ, THIEL G, TICHELLI A, SIGNER E, NISSEN C, SPECK B: Chronic cyclosporine-associated nephrotoxicity in bone marrow transplant patients. *Transplantation* 49:1093-1100, 1990.
95. ZALTZMAN JS, PEI Y, MAURER J, PATTERSON A, CATTRAN DC: Cyclosporine nephrotoxicity in lung transplant recipients. *Transplantation* 54:875-878, 1992.
96. FEUTREN G, MIHATSCH MJ: Risk factor for cyclosporine-induced nephropathy in patients with autoimmune diseases. International Kidney Biopsy Registry of Cyclosporine in Autoimmune Diseases. *N Engl J Med* 326:1654-1660, 1992.
97. HABIB R, NIAUDET P: Comparison between pre- and post-treatment renal biopsies in children receiving ciclosporine for idiopathic nephrosis. *Clin Nephrol* 42:141-146, 1994.
98. McCULLOCH TA, HARPER SJ, DONNELLY PK, MOORHOUSE J, BELL PR, WALLS J, FEEHALLY J, FURNESS PN: Influence of nifedipine on interstitial fibrosis in renal transplant allografts treated with cyclosporin A. *J Clin Pathol* 47:839-842, 1994.
99. YOUNG EW, ELLIS CN, MESSANA JM, JOHNSON KJ, LEICHTMAN AB, MIHATSCH MJ, HAMILTON TA, GROISSER DS, FRADIN MS, VOORHEES JJ: A prospective study of renal structure and function in psoriasis patients treated with cyclosporin. *Kidney Int* 46:1216-1222, 1994.
100. FIORETTO P, STEFFES MW, MIHATSCH MJ, STRØM EH, SUTHERLAND DER, MAUER M: Ciclosporine associated lesions in native kidneys of diabetic pancreas transplant recipients. *Kidney Int* 48:489-495, 1995.
101. POWLES AV, COOK T, HULME B, BAKER BS, LEWIS HM, THOMAS E, VALDIMARSSON H, FRY L: Renal function and biopsy findings after 5 years' treatment with low-dose cyclosporin for psoriasis. *Br J Dermatol* 128:159-165, 1993.
102. SUND S, FORRE O, BERG KJ, KVIEN TK, HOVIG T: Morphological and functional renal effects of long-term low-dose cyclosporin A treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Nephrol* 41:33-40, 1994.
103. SVARSTAD E, HELLAND S, MORKEN T, BOSTAD L, MYKING A, IVERSEN BM, OFSTAD J: Renal effects of maintenance low-dose cyclosporin A treatment in psoriasis. *Nephrol Dial Transplant* 9:1462-1467, 1994.
104. MESSANA JM, JOHNSON KJ, MIHATSCH MJ: Renal structure and function effects after low dose cyclosporine in psoriasis patients: a preliminary report. *Clin Nephrol* 43:150-153, 1995.
105. RAO KV, CROSSON JT, KJELLSTRAND CM: Chronic irreversible nephrotoxicity from cyclosporin A. *Nephron* 41:75-77, 1985.
106. MIHATSCH MJ, ANTONOVYCH T, BOHMAN SO, HABIB R, HELMCHEN U, NOEL LH, OLSEN S, SIBLEY RK, KEMENY E, FEUTREN G: Cyclosporin A nephropathy: standardization of the evaluation of kidney biopsies. *Clin Nephrol* 41:23-32, 1994.
107. MIHATSCH MJ, RYFFEL B, GUDAT F: The differential diagnosis between rejection and cyclosporine toxicity. *Kidney Int* 48:S63-S69, 1995.
108. MYERS BD, NEWTON L, BOSHKOS C, MACOVIAK JA, FRIST WH, DERBY GC, PERLROTH MG, SIBLEY RK: Chronic injury of human renal microvessels with low-dose cyclosporine therapy. *Transplantation* 46:694-703, 1988.
109. ROSEN S, GREENFELD Z, BREZIS M: Chronic cyclosporine-induced nephropathy in the rat. A medullary ray and inner stripe injury. *Transplantation* 49:445-452, 1990.
110. YOUNG B, BURDMANN EA, JOHNSON RJ, ANDOH T, BENNETT WM, COUSER WG, ALPERS CE: Cyclosporine A induced arteriolopathy in a rat model of chronic cyclosporine nephropathy. *Kidney Int* 48:431-438, 1995.
111. BURDMANN EA, ANDOH TF, ROSEN S, LINDSLEY J, MUNAR MY, ELZINGA LW, BENNETT WM: Experimental nephrotoxicity, hepatotoxicity and pharmacokinetics of cyclosporin G versus cyclosporin A. *Kidney Int* 45:684-691, 1994.

112. STILLMAN IE, BREZIS M, GREENFELD Z, RANSIL BJ, HEYMAN SN, ROSEN S: Cyclosporine nephropathy: morphometric analysis of the medullary thick ascending limb. *Am J Kidney Dis* 20:162-167, 1992.
113. DIEPERINK H, HANSEN HV, KEMP M, LEYSSAC PP, STARKLINT H, KEMP E: Antagonist capacity of felodipine on cyclosporin A nephrotoxicity in the rat. *Nephrol Dial Transplant* 7:1124-1129, 1992.
114. KON V, HUNLEY TE, FOGO A: Combined antagonism of endothelin A/B receptors links endothelin to vasoconstriction whereas angiotensin II effects fibrosis. Studies in chronic cyclosporine nephrotoxicity in rats. *Transplantation* 60:89-95, 1995.
115. HUNLEY TE, FOGO A, IWASAKI S, KON V: Endothelin A receptor mediates functional but not structural damage in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 5:1718-1723, 1995.
116. WILLERSHAUSEN-ZONNCHEN B, LEMMEN C, SCHUMACHER U: Influence of cyclosporine A on growth and extracellular matrix synthesis of human fibroblasts. *J Cell Physiol* 152:397-402, 1992.
117. WOLF G, KILLEN PD, NEILSON EG: Cyclosporin A stimulates transcription and procollagen secretion in tubulointerstitial fibroblasts and proximal tubular cells. *J Am Soc Nephrol* 1:918-922, 1990.
118. GHIGGERI GM, ALTIERI P, OLEGGINI R, VALENTI F, GINEVRI F, PERFUMO F, GUSMANO R: Cyclosporine enhances the synthesis of selected extracellular matrix proteins by renal cells "in culture". Different cell responses and phenotype characterization. *Transplantation* 57:1382-1388, 1994.
119. SHULMAN L, KNECHT A, BLAU A, RAPOPORT J: Cyclosporine directly induces proliferation of renal fibroblasts in culture. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 4:759, 1993.
120. NAST CC, ADLER SG, ARTISHEVSKY A, KRESSER CT, AHMED K, ANDERSON PS: Cyclosporine induces elevated procollagen alpha 1 (I) mRNA levels in the rat renal cortex. *Kidney Int* 39:631-638, 1991.
121. BURDMANN EA, YOUNG B, ANDOH TF, EVANS A, ALPERS CE, LINDSLEY J, JOHNSON RJ, COUSER W, BENNETT WM: Mechanisms of cyclosporine-induced interstitial fibrosis. *Transplant Proc* 26:2588-2589, 1994.
122. SHEHATA M, COPE GH, JOHNSON TS, RAFTERY AT, EL NAHAS AM: Cyclosporine enhances the expression of TGF-β in the juxtaglomerular cells of the rat kidney. *Kidney Int* 48:1487-1496, 1995.
123. WOLF G, THAISS F, STAHL RAK: Cyclosporine stimulates expression of transforming growth factor-β in renal cells. Possible mechanism of cyclosporines antiproliferative effects. *Transplantation* 60:237-241, 1995.

40

NOVAS TÉCNICAS DE PROVAS CRUZADAS UTILIZADAS NO TRANSPLANTE RENAL

Francisco Monteiro
Nicolas Panajotopoulos
Jorge Elias Kalil Filho

INTRODUÇÃO

Em 1965 o grupo de Terasaki[1] relatou pela primeira vez uma possível associação entre anticorpos linfocitotóxicos pré-formados e perda do enxerto renal por rejeição humoral. A prova cruzada realizada na detecção de tais anticorpos consistiu em testar o soro do paciente coletado no período pré-transplante contra linfócitos do potencial doador. Os autores concluíram que a prova cruzada realizada antes do transplante renal é de fácil execução e pode ser importante na prevenção de algumas rejeições imediatas. Outros relatos com a mesma conclusão surgiram na literatura[2,3,4] e no fim da década de 60 todos os laboratórios de histocompatibilidade estavam realizando a prova cruzada antes do transplante com o objetivo de detectar anticorpos direcionados contra antígenos do sistema HLA classe I pré-formados contra o órgão transplantado. Assim, uma prova cruzada positiva era considerada forte contra-indicação para a realização do transplante[5,6,7,8,10].

Idealmente, a prova cruzada ou "crossmatch" deveria ser realizada com o soro do receptor reagindo com fragmento do órgão a ser transplantado que exibiria, assim, todos os antígenos possíveis de desempenhar o papel-alvo. No entanto, tal procedimento teria pelo menos três obstáculos: pouca praticidade com tempo de realização mais longo, menor sensibilidade do teste e mutilação do órgão. Dessa forma, escolhem-se, para a realização da prova, células de outros órgãos que também apresentam os antígenos mais importantes presentes no órgão transplantado.

O primeiro sistema a ser respeitado para evitar rejeição humoral é o sistema sangüíneo ABO. Dessa forma, os transplantes devem seguir as regras de compatibilidade de transfusão sangüínea, evitando-se assim as isoaglutininas naturais[6,10].

Os antígenos HLA classe I (HLA A, B, C) fazem parte de um outro sistema denominado complexo principal de histocompatibilidade (MHC – "major histocompatibility complex"). Tais moléculas estão presentes em todas as células nucleadas do organismo e são os alvos mais freqüentes de rejeição humoral. A sensibilização contra os antígenos deste sistema se dá por transfusões sangüíneas, gestação ou transplante prévio. Para a detecção de anticorpos citotóxicos pré-formados anti-HLA classe I realiza-se a prova cruzada utilizando soro do receptor e células mononucleares do sangue periférico, preparações celulares de linfonodos ou linfócitos T purificados do doador, levando-se em conta a ubiqüidade de expressão destes antígenos nas células do organismo. Esta prova cruzada pode ser realizada através do teste de microlinfocitotoxicidade ou CDC[6] ("complement dependent cytotoxicity"), que é o teste adotado internacionalmente na seleção do par doador-receptor. Mais recentemente foram propostas novas técnicas utilizando-se imunofluorescência[11] ou ainda métodos imunoenzimáticos (ELISA)[12]. A negatividade da prova cruzada é condição indispensável para a realização do transplante renal[5,6,7]. A validade desta conduta é comprovada pelo baixo número de rejeições hiperagudas, desde que esta tem sido seguida. Por outro lado, Iwaki & Terasaki, em 1987[13], evidencia-

ram que em 8% dos pacientes que receberam um enxerto pela primeira vez e em 14% dos casos de retransplantes o rim transplantado nunca funcionou. Os autores sugerem que nestes casos há rejeição não detectada, muito provavelmente humoral, apesar de as provas cruzadas pré-transplante terem sido negativas. Esta observação chama a atenção para duas questões: o grau ideal de sensibilidade a ser atingido na prova cruzada e a existência de outro provável alvo molecular além das moléculas HLA. Assim, ao longo dos anos, novas técnicas de prova cruzada foram aprimoradas no sentido de aumentar sua sensibilidade, bem como de caracterizar melhor o alvo e a isotipia do anticorpo encontrado no soro do receptor contra o seu potencial doador. Uma conseqüência direta destes avanços foi a possibilidade de se realizar com sucesso transplante mesmo na presença de prova cruzada positiva, uma vez que auto-anticorpos ou anticorpos da classe IgM, neste caso responsáveis pela positividade do teste, parecem não ser deletérios para o órgão transplantado.

Apesar de os antígenos HLA classe I serem os alvos principais na rejeição humoral, não são os únicos. Dessa forma, anticorpos reconhecendo estruturas não-HLA constituem ainda hoje objeto de estudo. A relevância de anticorpos anti-HLA classe II como causa de rejeição humoral é ainda discutível. Existem também os sistemas secundários de histocompatibilidade, tais como o sistema endotelial e o de pele, onde anticorpos contra tais antígenos parecem ser responsáveis por rejeições humorais.

Neste capítulo revisamos os principais métodos empregados atualmente para a realização de prova cruzada e a interpretação de seus resultados com vistas a um transplante renal.

TESTE DE MICROLINFOCITOTOXICIDADE

O teste de microlinfocitotoxicidade é o método adotado internacionalmente na realização da prova cruzada[5,6,14,15]. A técnica é simples, reprodutível e requer apenas pequeno volume de soro do receptor e pequeno número de células do doador. As células-alvo variam de acordo com o tipo de anticorpos a serem pesquisados (antilinfócitos T, antilinfócitos B, antiendotélio). As células são obtidas através de gradiente de Ficoll-Hypaque, a partir de sangue periférico ou, em caso de doador cadáver, de preferência a partir de gânglio linfático ou baço, uma vez que freqüentemente a viabilidade das células do sangue periférico destes doadores não é boa.

A reação é realizada em placas de microlinfocitotoxicidade onde o soro do receptor (1µl) é misturado com uma suspensão de células viáveis do doador (2.000 a 2.500 células por teste), por um período de incubação mínima de 30 minutos, após o qual é adicionado soro fresco de coelho como fonte de complemento. Segue-se um segundo tempo de incubação de no mínimo 60 minutos. Se o soro do receptor contiver anticorpos contra células do doador, haverá ligação destes aos antígenos de membrana das células-alvo, com conseqüente fixação do complemento, culminando com a morte celular. Avalia-se o grau de citotoxicidade através de corantes vitais tais como o azul-de-tripan e a eosina. Comumente, o teste é realizado à temperatura ambiente. Cada amostra de soro testada é feita em triplicata e sempre devem ser incluídos um controle positivo (soro multiespecífico ou anticorpo monoclonal monomórfico) e um controle negativo (soro de indivíduo sadio, sexo masculino, grupo sangüíneo AB, sem transfusões prévias). Entre os elementos importantes para que a prova cruzada seja fidedigna, salientamos: sólida experiência técnica do executor; boa qualidade da suspensão celular em relação à sua viabilidade; boa qualidade do soro de coelho como fonte de complemento (se for fraco pode levar a reações falso-negativas, se for citotóxico pode induzir reações falso-positivas).

Ao longo dos anos, o teste de microlinfocitotoxicidade dependente de complemento tem sofrido modificações em busca de melhor caracterização do alvo e da isotipia do anticorpo encontrado na prova cruzada, bem como de um aumento em sua sensibilidade (Quadro 40.1). Assim, provas cruzadas que utilizam células T com tempo de incubação prolongado para a detecção de anticorpos fracos[16], ou incubação com antiglo-

Quadro 40.1 – Tipos de provas cruzadas (PC).

Melhor caracterização do anticorpo
– PC contra linfócitos T, linfócitos B, monócitos
– PC autóloga
– PC utilizando soro tratado com DTT
– PC utilizando soro absorvido com "pool" de plaquetas
Maior sensibilidade
– PC contra linfócitos T com tempo prolongado de incubação
– PC contra linfócitos T sensibilizada com AGH
– PC por ELISA
– PC utilizando citometria de fluxo

DTT = ditiotreitol
AGH = antiglobulina humana

bulina humana (AGH) para a detecção de anticorpos que não fixam complemento ou presentes em baixos títulos[17], são utilizadas com o intuito de aumentar a sensibilidade da técnica. Por outro lado, as provas cruzadas que utilizam o ditiotreitol (DTT), substância redutora que atua eliminando a atividade do anticorpo IgM sem interferir na atividade IgG, são capazes de definir o isotipo das imunoglobulinas[18]. A prova cruzada autóloga[19], a absorção do soro do receptor com "pool" de plaquetas[20], assim como a reatividade contra painel de células selecionadas de indivíduos normais ou de pacientes portadores de leucemia linfocítica crônica[21] definem a especificidade do anticorpo, isto é, se são auto-anticorpos, anticorpos anti-HLA classe I, anti-HLA classe II ou se são anticorpos direcionados contra estruturas distintas do sistema HLA. A correta interpretação destas provas é de máxima importância para evitar a indicação de transplantes de alto risco ou para a possível indicação de um transplante mesmo com prova cruzada prévia positiva, causada por anticorpos que presumivelmente não influenciarão na evolução do enxerto.

Sendo detectado anticorpo no soro do receptor contra o seu potencial doador, torna-se necessária a diferenciação entre alo ou auto-anticorpos.

AUTO-ANTICORPOS

Caracteristicamente reagem com linfócitos autólogos e com praticamente 100% das células do painel linfocitário alogênico; não reagem ou reagem fracamente com linfócitos B de leucemia linfocítica crônica (estas células expressam antígenos HLA, mas não o expressam ou o fazem apenas fracamente em relação aos antígenos que reagem com os auto-anticorpos); geralmente são da classe IgM; sua absorção com linfócitos autólogos é muito difícil, mas podem ser mais facilmente absorvidos com linhagens de células B autólogas transformadas pelo vírus Epstein-Barr.

A presença de auto-anticorpos é investigada através da comparação da reatividade do soro diante de linfócitos autólogos, de linfócitos alogênicos e de painel de células de leucemia linfocítica crônica. O soro a ser testado deve ser tratado previamente com DTT. Uma vez que os auto-anticorpos pertencem, em geral, à classe IgM, negativação do "crossmatch" em presença de DTT significa, na grande maioria dos casos, reatividade devido a auto-anticorpos.

Resultados extremamente variados têm sido relatados na literatura em relação à freqüência de pacientes portadores de auto-anticorpos[5,22,23,24]. Se detectados na prova cruzada autóloga, os auto-anticorpos não são deletérios ao enxerto, mesmo que sejam específicos para linfócitos T e linfócitos B ou apenas linfócitos B[25,26]. Os pacientes portadores de tais anticorpos podem ser incorretamente classificados como hiperimunizados, sendo acumulados em lista de espera. Por outro lado, auto-anticorpos podem mascarar a presença de aloanticorpos[27]. Estes aloanticorpos poderão ser responsáveis por rejeições precoces, caso o transplante seja realizado nesta condição.

ALO-ANTICORPOS

Caracteristicamente reagem com linfócitos alogênicos, ou seja, de outros indivíduos da mesma espécie; pertencem à classe IgG ou IgM e são direcionados contra antígenos HLA classe I, antígenos HLA classe II ou contra estruturas distintas deste sistema. Tais anticorpos são investigados através de provas cruzadas que utilizam suspensões enriquecidas de linfócitos T, linfócitos B ou monócitos, que são testadas contra o soro em estudo sem qualquer tratamento e após absorção com "pool" de plaquetas ou após tratamento com DTT. Uma outra maneira de se testar a reatividade destes anticorpos é através do estudo de painel no qual o soro do paciente é testado contra um painel de linfócitos obtidos de indivíduos sadios, onde a grande maioria das especificidades HLA está representada[28].

Avaliação do grau de sensibilização alogênica pré-transplante

Os pacientes candidatos a receber um enxerto renal podem desenvolver anticorpos contra os antígenos HLA. Estes indivíduos tornam-se sensibilizados por transplantes prévios, gestações múltiplas ou transfusões sangüíneas[29-32]. O grau de sensibilização pode ser medido através da reatividade contra painel (PRA – "panel reactive antibody"), que é determinada pela porcentagem de reatividade do soro do receptor contra um painel de células linfocitárias selecionadas de maneira aleatória, sem que ocorra modificação significativa da freqüência fenotípica da população[28,33]. Recomenda-se o estudo de amostras de soro colhidas a cada três meses e, em caso de o paciente receber transfusão sangüínea, também em amostra de soro colhida 10 a 20 dias após cada transfusão. De acordo com os resultados do PRA, os pacientes são classificados em: a) não-sensibilizados – PRA de zero a 10%; b) sensibilizados – PRA de 11 a 50%; e c) hipersensibilizados – PRA de 51 a 100%[34]. Assim, eles podem apresentar um aloanticorpo direcionado contra um determinante

antigênico HLA mas com grande poder de reatividade cruzada com epitopos públicos, ou um grande número de aloanticorpos contra vários antígenos HLA classe I, ou ainda contra antígenos HLA freqüentes na população, como, por exemplo, o HLA A2 e o HLA B12. No primeiro caso estão os pacientes que mais comumente estão na lista de espera de transplantes, enquanto no segundo, os menos freqüentemente encontrados. No terceiro caso, os pacientes poderão ser considerados hipersensibilizados quando as células que compõem o painel mostrarem freqüência aumentada daqueles antígenos.

A proporção de pacientes altamente sensibilizados em lista de espera de transplante renal tende a crescer com o passar do tempo. Tais pacientes desenvolvem anticorpos contra a maioria dos antígenos HLA, tornando difícil encontrar um doador contra o qual as provas cruzadas sejam negativas[35,36]. Por esta razão, o tempo de espera é muito longo e, para alguns pacientes, a permanência nesta lista torna-se penosa e com possibilidades remotas de se encontrar um órgão contra o qual não haja anticorpos pré-formados[34,37,38]. Além deste problema, vários estudos têm mostrado que há correlação entre alta reatividade contra painel e menor sobrevida do enxerto[39]. Portanto, a avaliação do grau de sensibilização através do PRA permite não só detectar pacientes de alto risco em relação à rejeição, mas também a possibilidade de se poder selecionar as amostras mais positivas para utilizá-las por ocasião da prova cruzada pré-transplante, em paralelo com a amostra de soro mais recente. Além disso, em vários casos, a análise da reatividade contra painel permite a definição de antígenos HLA contra os quais o paciente está sensibilizado[40]. Nesta situação, torna-se possível evitar transplantes com rins de doadores que possuam estes antígenos. Esta conduta é seguida em vários centros de transplantes, mesmo que a prova cruzada com soro atual seja negativa.

Prova cruzada contra linfócitos T

A presença de positividade da prova cruzada em que as células-alvo são linfócitos T (ou linfócitos totais do sangue periférico, 70 a 80% dos quais constituem linfócitos T) representa contra-indicação formal à realização do transplante, desde as primeiras observações publicadas na década de 60, em relação à sua associação com ocorrência de rejeição hiperaguda[2,3,14].

Detecção de lise de mais de 20% de células T sobre o controle negativo é considerada uma prova cruzada positiva. Quando linfócitos totais são empregados como células-alvo, uma lise de 30% deve ser considerada com cautela, pois estas reações fracamente positivas podem ser atribuídas a anticorpos antilinfócitos B ou monócitos. Assim, com o intuito de melhor caracterização destes anticorpos, deve ser realizada uma prova cruzada tendo como alvos suspensões enriquecidas de linfócitos T, linfócitos B e monócitos.

Raramente pode ocorrer rejeição hiperaguda na vigência de prova cruzada T negativa. Quando ocorre, pode ser devida a outros tipos de anticorpos que não àqueles direcionados contra o sistema HLA. Entretanto, esta positividade pode ser causada por anticorpos antilinfócitos T que não foram detectados na prova cruzada realizada ou por uma questão de sensibilidade do método ou por estar o anticorpo em baixa concentração na amostra de soro testado. Várias medidas são importantes para se evitar prova cruzada T falso-negativa. Em primeiro lugar, a suspensão de linfócitos T ou linócitos totais do sangue periférico não deve conter plaquetas, granulócitos ou hemácias, tanto para facilitar a leitura do teste como para impedir excesso de antígenos HLA presentes em plaquetas e polimorfonucleares que absorveriam os anticorpos, tornando a reação contra linfócitos T mais fraca.

Além disso, várias modificações da técnica original de microlinfocitotoxicidade têm sido propostas com a finalidade de aumentar a sua sensibilidade[5,42,43]. As mais freqüentemente utilizadas são: a) tempos mais prolongados de incubação (60, em vez de 30 minutos, na incubação do soro com as células e de 90-120 minutos, em vez de 60 minutos, após a adição do complemento; b) emprego de 2µl de soro do paciente (a técnica habitual emprega 1µl); c) utilização também do soro em diluições seriadas, por exemplo, 1:2, 1:4 e 1:8 (em certos casos pode haver fatores anticomplementares no soro que deixam de atuar quando o soro está diluído); d) utilização de AGH que, fixando-se aos anticorpos do paciente aderidos às células, atua como segundo anticorpo, potencializando a reação de citotoxicidade[44]. A AGH é adicionada após o primeiro tempo de incubação de células e de soro, findo o qual as células são lavadas. Após a incubação com AGH (geralmente por 1 minuto), é adicionado soro de coelho e a preparação incubada por mais 90 minutos. Todas as incubações são realizadas à temperatura ambiente. Esta técnica detecta tanto anticorpos citotóxicos como não-citotóxicos.

Uma nova metodologia foi desenvolvida em nosso laboratório com o intuito de aumentar a sensibilidade do teste de microlinfocitotoxicidade e vem apresentando resultados promissores.

Investigamos o uso do polietileno glicol (PEG)[45], um potencializador da reação antígeno-anticorpo nos sistemas eritrocitários. Foi utilizada uma solução de PEG 8000 (Biotest SA, SP) a 10%, diluído em uma solução a 75% de PBS e 25% de tampão LISS. A técnica de microlinfocitotoxicidade utilizando os seus tempos padrões de incubações foi empregada, sendo o PEG adicionado no volume de 1µl e incubado juntamente com o soro do paciente e as células do doador. Os resultados mostraram especificidade e sensibilidade de 100% quando comparadas às provas cruzadas sensibilizadas com AGH. Mostraram também que o uso simultâneo de AGH e PEG realizados em cinco provas cruzadas não acrescentou nenhuma diferença quanto à sensibilidade do teste, quando comparado às mesmas provas cruzadas realizadas isoladamente. Não foram evidenciados resultados falso-positivos ou falso-negativos na detecção de antígenos HLA classe I e classe II. O mecanismo de ação do PEG é desconhecido. Conjectura-se que o PEG de baixo peso molecular permita maior concentração de anticorpos na superfície da célula, aumentando a formação de complexos antígeno-anticorpo, potencializando, desse modo, a citotoxicidade mediada pelo complemento.

Cardella e cols[46], em 1982, mostraram a possibilidade de se transplantar pacientes que apresentaram provas cruzadas negativas contra linfócitos T no soro atual, embora estas fossem positivas quando se utilizava soro histórico. Não obstante, a negativação da prova cruzada pode ocorrer por vários mecanismos, como, por exemplo, o aparecimento de anticorpos antiidiótipos[47,48] ou por simples ausência de reexposição ao antígeno[30]. As experiências dos diversos autores são numerosas e controversas. Existem aqueles que consideram que o transplante pode ser realizado com sucesso sem ocorrência de reação hiperaguda ou acelerada[49-54], independentemente se o anticorpo detectado no soro histórico é da classe IgG ou IgM. Por outro lado, Hoor e cols[54], em 1993, mostraram má evolução em seus pacientes transplantados nestas condições, quando o anticorpo detectado no soro histórico se tratava de um aloanticorpo IgG anti-HLA classe I. A provável explicação para estes dados controversos talvez se deva à não caracterização adequada dos anticorpos encontrados nestes trabalhos. Pacientes que apresentam aumento transitório de seu PRA após receberem transfusões sangüíneas possivelmente têm menor risco de perda do enxerto ao serem transplantados com prova cruzada positiva utilizando soro histórico do que aqueles com aumento persistente de seu PRA[32]. Em relação ao intervalo de tempo transcorrido entre a prova cruzada positiva utilizando soro histórico e prova cruzada negativa utilizando soro atual não está bem estabelecido, existindo poucos dados na literatura que permitam definir um tempo mínimo para que o transplante possa ser realizado com segurança. Recentemente, em nosso Serviço, três pacientes que receberam enxerto renal apresentavam prova cruzada T sensibilizada com AGH negativa utilizando soro atual e positiva quando testada utilizando os respectivos soros históricos. Caracterizaram-se aloanticorpos anti-HLA classe I em todos eles. Não houve perda por rejeição humoral em nenhum dos três casos. Houve morte por sepse de um paciente após o primeiro mês pós-transplante, enquanto os demais vêm apresentando boa evolução do enxerto, transcorridos seis meses após a realização do transplante.

A classe da imunoglobulina responsável pela positividade da prova cruzada parece ter papel fundamental. A diferenciação entre anticorpos da classe IgG e IgM por CDC é feita através do tratamento prévio do soro com o DTT. Assim, a negativação da prova cruzada em presença de DTT revela a presença de anticorpos da classe IgM e a persistência desta reatividade caracteriza anticorpos da classe IgG. Os anticorpos da classe IgM fixam muito bem o sistema complemento mas, apesar disso, quando se tratar de autoanticorpos, não influenciam a evolução do enxerto, conforme já relatado. O papel dos aloanticorpos da classe IgM ainda necessita ser mais bem esclarecido, embora sejam considerados de menor importância no desenvolvimento de rejeições humorais quando comparados aos aloanticorpos da classe IgG[55-58].

Foi mostrado previamente em nosso laboratório[59] que a realização de transplantes diante de provas cruzadas positivas, utilizando soro atual com reatividade causada por aloanticorpos da classe IgM, não influencia a evolução do enxerto, independentemente se estes anticorpos forem direcionados contra os antígenos HLA classe I ou outras estruturas não-HLA presentes na superfície dos linfócitos. A distinção entre anticorpos anti-HLA classe I e não anti-HLA foi realizada pela absorção do soro com um "pool" de plaquetas (Tabela 40.1).

Há poucos dados na literatura relativos ao papel e à importância clínica dos aloanticorpos da classe IgG direcionados contra antígenos linfocitários distintos do sistema HLA classe I. Existe relato[60] de rejeição hiperaguda em um paciente que foi transplantado com soro histórico positivo causado por aloanticorpo IgG, não ocorrendo inibição do teste por um anticorpo monoclonal

Tabela 40.1 – Caracterização do anticorpo e evolução do enxerto de seis pacientes transplantados com PC positiva.

Paciente	Transplante número	PC autóloga	PC contra linfócitos T				Caracterização do anticorpo	Creatinina (mg/dl) 12 meses
			Pré-DTT	Pós-DTT	A	B		
J.S.	1	–	+	–	+	–	HLA	0,8
F.B.	1	–	+	–	+	+	Não-HLA	3,2
S.G.	3	–	+	–	+	+	Não-HLA	1,1
E.F.	2	–	+	–	+	–	HLA	1,2
R.S.	2	–	+	–	+	+	Não-HLA	1,1
H.S.	1	–	+	–	+	+	Não-HLA	1,2

PC = prova cruzada
DTT = ditiotreitol
A = soro sem qualquer tratamento
B = após três absorções do soro com "pool" de plaquetas

(PA 2,6) direcionado contra um determinante monomórfico presente na cadeia α de todos os antígenos HLA classe I, o que sugere então a presença de um anticorpo IgG dirigido contra algum antígeno não-HLA.

Posteriormente, Hoor e cols[54] observaram boa evolução do enxerto ao término de um ano em dois de três pacientes transplantados com soro histórico positivo devido à presença de aloanticorpos IgG não anti-HLA. Entretanto, estes autores não caracterizaram o antígeno para o qual tais anticorpos eram direcionados. Com este objetivo, estudamos em nosso laboratório 305 soros de pacientes aguardando um transplante renal[61]. Estes soros tiveram sua reatividade anti-HLA classe I adequadamente removida através da absorção de cada soro com "pool" de plaquetas. Após este tratamento, cinco soros mantiveram reatividade residual causada por aloanticorpos da classe IgG. Na tentativa de se caracterizar o alvo de tais anticorpos, estes foram retestados com um painel linfocitário constituído por 50 células, sendo definidos cinco padrões de reatividades distintos. Foram caracterizados anticorpos cujos antígenos são dependentes de β_2-microglobulina presentes em linfócitos T, linfócitos B e monócitos, mas não em hemácias. O estudo com plaquetas antígeno-específicas mostrou perda total da reatividade em três dos cinco soros. Estes dados mostram anticorpos com padrão incomum de reatividade que reconhecem, no entanto, antígenos HLA na maioria dos casos.

Prova cruzada contra linfócitos B

Este tipo de prova cruzada é feito com preparações enriquecidas em linfócitos B obtidas através de diferentes técnicas. A mais comumente utilizada em nosso meio baseia-se na capacidade de aderência ao náilon dos linfócitos B. Células mononucleares de sangue periférico purificadas em gradiente de Ficoll-Hypaque são incubadas em meio com fibra (lã) de náilon. Os linfócitos T não aderem e são recuperados no sobrenadante, enquanto os linfócitos B permanecem adsorvidos à fibra, sendo recuperados após lavagem vigorosa[62]. Células B podem também ser obtidas através de preparados comerciais contendo anticorpos monoclonais específicos que selecionam positivamente os linfócitos B ou eliminam células não linfocitárias B[63]. Outra metodologia baseia-se na formação de rosetas por linfócitos T com hemácias de carneiro[64].

A prova cruzada é baseada na técnica de CDC com os tempos de incubação de 60 minutos quando se mistura soro e células e de 120 minutos após a adição do soro fresco de coelho como fonte de complemento.

A valorização da prova cruzada contra linfócitos B tem sido motivo de discórdia na literatura internacional desde os primeiros relatos. Existem diversas publicações relatando que as provas cruzadas positivas contra linfócitos B são prejudiciais[32,65,66,67], não têm importância[68] ou até mesmo favorecem a sobrevida do enxerto[69,70,71]. Estes resultados conflitantes se devem ao fato de que na maioria destes estudos não existe uma documentação precisa sobre o tipo de anticorpo antilinfócito B detectado. Panajotopoulos e cols[72] estudaram em nosso laboratório 15 pacientes que apresentavam provas cruzadas positivas contra linfócitos B e negativas contra linfócitos T, utilizando soros dos pacientes antes e após três absorções com "pool" de plaquetas. Estes pacientes foram transplantados e a evolução dos enxertos foi semelhante àquela verificada no grupo de pacientes transplantados com prova cruzada negativa contra linfócito B. Assim, estes dados mostram que a prova cruzada positiva contra linfócitos B não constitui contra-indicação para o transplante. Entretanto, como o linfócito B é um alvo mais sensível para a detecção de anticorpos contra an-

tígenos HLA classe I devido à maior densidade de expressão destas moléculas, a ausência deste tipo de anticorpo deve ser assegurada sob pena de perda do enxerto[73,74]. Neste contexto, provas cruzadas que utilizam células T com tempo prolongado de incubação ou sensibilizadas com AGH são de valia na identificação de anticorpos anti-HLA classe I com baixa afinidade ou presentes em baixos títulos, assim como provas cruzadas contra linfócitos T e linfócitos B utilizando soros de pacientes antes e após absorção com "pool" de plaquetas.

Já o papel de anticorpos pré-formados contra antígenos de classe II do doador não está esclarecido. Alguns relatos mostram rejeição acelerada em presença de anticorpos específicos contra antígenos DR do doador, tendo sido inclusive evidenciada atividade de anti-HLA-DR em anticorpos eluídos de órgãos enxertados[75]. No entanto, vários outros grupos não observaram desempenho pior de enxertos em que o receptor possuía anticorpos anti-HLA-DR específico do doador[68]. Relatamos um caso onde a presença de um anticorpo IgA anti-DR5 contra o doador não foi deletério na evolução do enxerto[76] (Tabela 40.2).

Existem outras provas cruzadas que poderiam participar na seleção do par doador-receptor e que serão agora abordadas porque elas contribuem de alguma maneira no esclarecimento de perdas de enxerto renal com provas cruzadas T negativas.

A pesquisa de anticorpos através de técnica de imunofluorescência empregando citometria de fluxo (FACS) constitui-se em uma técnica muito sensível para a detecção de anticorpos, tanto citotóxicos quanto não-citotóxicos[11]. Exige o emprego de aparelho sofisticado, o citômetro de fluxo, através do qual são analisadas reações de imunofluorescência célula a célula, em grande número. O aparelho funciona através da individualização de células em gotículas que passam por um feixe de raio laser. A excitação dos elétrons externos do fluorocromo é captada pelo aparelho que determina assim a intensidade da fluorescência. Esta é uma técnica mais sensível, quantitativa e mais objetiva do que o CDC[11]. Por esta técnica, a distinção entre anticorpos IgG e IgM[77], assim como entre anticorpos antilinfócitos T ou linfócitos B[78], é facilmente realizada. Além disso, é uma técnica pouco influenciada pela viabilidade celular e também de execução mais rápida do que a técnica de CDC. Estudos retrospectivos mostram que, embora haja correlação entre prova cruzada FACS positiva-CDC negativa e maior freqüência de falha do enxerto nos três primeiros meses pós-transplante, é muito grande o número de pacientes que nesta situação não rejeitam o enxerto[79]. Assim, transcorridos mais de 10 anos desde o aparecimento dos primeiros relatos sobre esta nova técnica, ainda continua pouco esclarecido o papel da prova cruzada por citometria de fluxo no transplante renal. Sem dúvida, esta técnica é muito mais sensível do que a CDC. É também claro que nem todos os aloanticorpos IgG antilinfócitos T detectados por esta prova cruzada têm um papel deletério ao enxerto renal. Atualmente, muitos autores aconselham o uso da prova cruzada por FACS apenas em pacientes de alto risco, como, por exemplo, em pacientes que já receberam previamente um enxerto renal e naqueles altamente sensibilizados. Apesar de realizarmos em nosso laboratório estas provas, o resultado obtido não tem sido utilizado na decisão do transplante.

Utilizando-se antígenos HLA classe I solúveis (sHLA) e ELISA, foram desenvolvidos novos testes de prova cruzada e de painel[12,81], ambos baseados em: a) captura de sHLA (provenientes de 46 linhagens de células B transformadas pelo vírus de Epstein-Barr para a constituição do painel ou de uma mistura de plasma, plaquetas e células mononucleares do potencial doador para a prova cruzada) por um anticorpo monoclonal anti-HLA classe I (TP25); b) incubação com soro do paciente a ser testado resultando em ligação do anticorpo anti-HLA classe I aos antígenos capturados pelo TP25; c) detecção do anticorpo capturado através de um anticorpo antiimunoglobulina humana conjugado à peroxidase e adição de um

Tabela 40.2 – Prova cruzada e PRA do soro do paciente.

	Provas cruzadas				PRA		
	Linfócitos totais	Linfócitos T + AGH	Linfócito B	Autóloga	Linfócito T	Linfócito B	Conclusões
Soro	–	–	+	–	50	80	
Soro + DTT	–	–	+	–	50	80	IgG
Soro abs	–	–	+	–	0	40	Anti-HLA classe I + II

PRA = reatividade contra painel (em %)
Soro = soro do paciente sem qualquer tratamento
Soro abs = soro do paciente absorvido três vezes com "pool" de plaquetas

substrato cromogênico; e d) leitura do teste através de um leitor de ELISA, sendo os resultados analisados por programas de computador. A concordância foi de 93% quando os resultados de 102 soros tiveram os seus PRA testados por CDC e por ELISA[80]. As provas cruzadas por ELISA foram também comparadas com as provas cruzadas por CDC sensibilizadas com AGH realizadas em quatro diferentes laboratórios utilizando 32 soros de pacientes que foram testados contra 8 potenciais doadores. A concordância entre os laboratórios foi de 99% para o teste de ELISA e de 91% para o teste de CDC[12]. Desse modo, esta técnica mostra-se bastante promissora, pois não necessita de células viáveis, oferece a possibilidade de utilizar conjugados específicos proporcionando a pesquisa de isotipos de imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA) bem como de subclasses de IgG (IgG_1, IgG_2, IgG_3 e IgG_4), utiliza sistemas automáticos de lavagem e leitura, não necessita de mão de obra especializada, além de ser de fácil execução e baixo custo.

A influência de anticorpos direcionados contra sistemas secundários constitui ainda objeto de estudo. A constatação de que transplantes realizados entre pares doador-receptor HLA idênticos são também alvo de rejeições agudas e hiperagudas revela que outros sistemas distintos do sistema HLA estão envolvidos. Neste contexto, anticorpos antiendotélio e antiepitélio, por exemplo, têm sido implicados.

A célula endotelial apresenta antígenos que também são encontrados em outras células, como por exemplo os antígenos do sistema HLA e antígenos que lhe são próprios. A prova cruzada para a detecção de anticorpos antiendotélio utiliza células endoteliais obtidas de cordão umbilical ou a partir de vasos do doador obtidos no momento do transplante[81] e são analisadas retrospectivamente. O soro a ser testado deve ser adequadamente absorvido com "pool" de plaquetas para que a reatividade anti-HLA classe I seja removida. A persistência da reatividade da prova cruzada com o soro absorvido com "pool" de plaquetas pode estar revelando então a presença de anticorpos antiendotélio. Em 1977, Moraes & Stastny[81] descreveram anticorpos específicos para a célula endotelial e monócitos em soro de pacientes que receberam enxerto renal. Tais soros não apresentavam reatividade contra linfócitos. Outros estudos realizados posteriormente têm confirmado a presença destes anticorpos[82,83,84]. Em nossa experiência, analisamos 22 pacientes que perderam o enxerto renal e cujas provas cruzadas contra linfócitos T foram negativas[85]. Através de estudo de painel utilizando células endoteliais de cordão umbilical, em 17 destes 22 pacientes (77%) se conseguiram detectar anticorpos antiendotélio, enquanto em pacientes com boa evolução do enxerto apenas 2 de 21 pacientes (9,5%) os apresentavam. Provavelmente a causa de perda do enxerto daqueles pacientes possa ser atribuída à presença de anticorpos antiendotélio.

Em 1989, Moraes e cols[86] analisaram perda do enxerto renal em pacientes submetidos ao primeiro transplante renal ou em casos de retransplantes. Estes pacientes apresentavam provas cruzadas contra linfócitos T sensibilizadas com AGH negativas e provas cruzadas contra pele positivas. A correlação entre prova cruzada positiva contra pele e perda do enxerto foi altamente significativa ($p < 0,00001$). Estudos posteriores realizados pelo mesmo grupo, onde foram incluídos o soro absorvido em "pool" de plaquetas e a prova cruzada autóloga contra pele, confirmaram os resultados anteriores[87,88]. A prova cruzada para a detecção de anticorpos antiepiteliais utiliza a técnica de fluorescência indireta onde cortes de pele do doador são incubados com o soro do paciente sem qualquer tratamento e após absorção do soro com "pool" de plaquetas para a remoção de anticorpos anti-HLA classe I. O soro do paciente também é testado contra sua própria pele, sendo realizada assim a prova cruzada autóloga contra pele. A leitura é feita por microscopia, sendo considerado positivo o padrão de fluorescência observado na membrana dos queratinócitos da epiderme. Utilizando esta metodologia, em nosso laboratório detectamos a presença de anticorpos anticélulas epiteliais distintos dos anticorpos anti-HLA classe I em 5 de 26 pacientes transplantados[89]. Destes pacientes, 3 já haviam recebido previamente um enxerto renal e todos evoluíram com perda precoce do enxerto. Por outro lado, não houve perda do enxerto nos pacientes submetidos ao primeiro transplante e que apresentaram prova cruzada contra pele positiva. Estes dados sugerem que a positividade da prova cruzada contra pele é altamente preditiva para a perda do enxerto renal em pacientes retransplantados.

CONCLUSÕES

A constatação de que alguns pacientes submetidos a transplante renal apresentam rejeição precoce do enxerto apesar da prova cruzada negativa deu impulso à procura de novas técnicas de provas cruzadas mais sensíveis e sofisticadas. De fato, segundo a maioria dos autores, estas rejeições são causadas por anticorpos não detectados pelas técnicas em uso porque tais anticorpos se encontram em baixo título ou porque eles não são direcionados contra os linfócitos do doador.

Existem, como já mencionado, várias técnicas de provas cruzadas mais sensíveis do que a CDC padrão. Uma técnica excessivamente sensível pode levar a resultados falso-positivos. Assim, os laboratórios de histocompatibilidade estão procurando o equilíbrio necessário na seleção de técnicas a serem utilizadas na prova cruzada pré-transplante para evitar que haja perda do enxerto causada por resultados falso-negativos ou pela contra-indicação de um transplante por causa de resultados falso-positivos.

Não existe um protocolo padrão de prova cruzada entre os vários laboratórios e centros de transplantes. Um exemplo disto são as diferenças entre laboratórios europeus e americanos. Poucos laboratórios europeus utilizam técnicas mais sensíveis, tais como a prova cruzada contra linfócitos T sensibilizada com AGH ou a prova cruzada por FACS na seleção do par doador-receptor. Por outro lado, os laboratórios americanos utilizam tais técnicas rotineiramente ao lado da prova CDC padrão. O fato surpreendente é que a sobrevida do enxerto e do paciente são praticamente idênticas nos grandes centros de transplante renal europeus e americanos. Uma possível explicação para este fato está na imunossupressão utilizada.

No entanto, faltam estudos sistemáticos sobre a relevância dos diferentes tipos de provas cruzadas na evolução do transplante renal a curto e a longo prazo. Faltam também, na quase totalidade dos trabalhos publicados, informações sobre o alvo, a isotipia, a avidez, em fim, uma precisa caracterização do anticorpo responsável pela positividade da prova cruzada. Não há relatos na literatura detalhando a relação entre anticorpo e grau de expressão do antígeno-alvo nas células do doador. Tal fato seria de real importância nos casos de infecção por citomegalovírus, por exemplo, com conseqüente aumento de expressão de antígenos HLA classes I e II.

Em resumo, houve um grande avanço no campo da prova cruzada durante a última década. A conseqüência deste fato é refletida na drástica diminuição das perdas por rejeição hiperaguda. Há, no entanto, pontos a serem esclarecidos e que merecem uma pesquisa mais aprofundada. Entre estes, está o crescente interesse de vários pesquisadores no uso da prova cruzada na monitorização do enxerto. Dados preliminares não publicados e produzidos em nosso laboratório mostram forte correlação entre formação de anticorpo no pós-transplante e má evolução do enxerto durante o primeiro ano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. TERASAKI PI, MARCHIORO TL, STARZI TE: First finding of perfomed cytotoxic antibodies against donor cell, in *Histocompatibility Testing*, edited by Albert ED, Washington, National Academy of Sciences, 1965, p 68.
2. KISSMEYER-NIELSEN F, OLSEN S, PETERSEN VP, FJELDBORG D: Hyperacute rejection of kidney allografts associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells. *Lancet* 2:662-665, 1966.
3. WILLIAMS GM, HUME DM, HUDSON Jr RP, MORRIS PJ, KANO K, MILGROM F: "Hyperacute" renal-homograft rejection in man. *N Engl J Med* 279:611-618, 1968.
4. STARZI TE, LERNER RA, DIXON FJ, GROTH CG, BRETTSCHNEIDER L, TERASAKI PI: Schawartz man reaction after human renal homotransplantation. *N Engl J Med* 278:642-648, 1968.
5. TING A: HLA and renal transplantation principles and practice, in *Kidney Transplantation Principles and Practice*, edited by Morris PJ, London, Academic Press, 1984, pp 160-171.
6. CARPENTER CB, MILFORD EL: Immunological monitoring before tansplantation, in *Kidney Transplantation Principles and Practice*, edited by Morris PJ, Londres, Academic Press, 1984, pp 205-212.
7. TING A, MORRIS PJ: Current of crossmatching in clinical transplantation, in *Progress in Transplantation*, edited by Morris PJ, Tilney NI, Edinburgh, Churchill Livingstone, 1985, pp 78-92.
8. BALDWIN III WM, PAUL LC, CLAAS FHJ, DEHA MR: Antibodymediated events in transplantation: challenges to past dogma and hopes for the future, in *Progress in Transplantation*, edited by Morris PJ, Tilney NI, Edinburgh, Churchill Livingstone, 1986, pp 160-169.
9. SOLOMON D, STRONG TB: Diagnosis and treatment of rejection in garavoy, in *Renal Transplantation*, edited by Gottamm MR, London, Churchill Livingstone, 1986, pp 125-131.
10. HUME DM, MERRIL JP, MILLER BF, THORN GW: Experiences with renal homotransplantation in the human: report of nine cases. *J Clin Invest* 34:327-382, 1955.
11. GAROVOY MR, RHEINSCHMIDT MA, BIGOS M: Flow cytometry analysis: a high technology crossmatch technique facilitating transplantation. (abstract) *Transplant Proc* 15:1939, 1983.
12. BUELOW R, CHIANG TR, MONTEIRO F, CORNEJO MC, ELLINGSON L, CLASS F, GABER O, GELDER F, KOTB M, OROSZ C, POULETTY F: Soluble HLA antigens and ELISA – a new technology for crossmatch testing. *Transplantation* 60:1594-1599, 1995.
13. IWAKI Y, TERASAKI PI: Primary nonfunction in human cadaver kidney transplantation: Evidence for hidden hyperacute rejection. *Clin Transplant* 1:125-129, 1987.
14. TERASAKI PI, PARK MS: Microdroplet lymphocyte cytotoxicity test, in *Niaid Manual of Tissue Typing Techniques*, edited by Ray Jr JG, Bethesda.US DHEW, 1979, nº 80, pp 92-97.
15. WEAVER P, CROSS D: Crossmatching for renal transplantation, in *The AACHT Laboratory Manual*, edited by Zachary AA, Brown WE, New York, American Association for Clinical Histocompatibility Testing, 1981, pp III-4.1.
16. PETTAWAY CA, FREEMAN C, HELDERMAN JH, STASTNY P: Kidney transplant recipients with long incubation-positive antiglobulin-negative T cell crossmatches. *Transplantation* 44:529-533, 1987.
17. JOHNSON AH, IN ROSE NR, FRIEDMAN H: *Manual of Clinical Immunology*, Washington, American Society of Microbiology, 1980, pp 100-111.
18. PIROFSKY B, ROGNER ER DTT test: a new method to differentiate IgM and IgG erythrocyte antibodies. *Vox Sang* 27:480-484, 1974.

19. CROSS DR, GRENER R, WHILTIER FC: Importance of the autocontrol crossmatch in human renal transplantation. *Transplantation* 21:307-310, 1976.
20. RODEY GE, STURM B, ASTER RH: Cross-reactive HLA antibodies. Separation of multiple HLA antibody specificities by platelet absorption and acid elution. *Tissue Antigens* 3:63-70, 1978.
21. TING A, MORRIS PJ: Reactivity of autolymphocitotoxic antibodies from dialysis patients with lymphocytes from chronic limphocitc leukemia (CLL) patiens. *Transplant Proc* 25:31-39, 1978.
22. LOBO PI: Nature of autolymphocytotoxins present in renal hemmodialysis patients. Their possible role in controlling alloantibody formation. *Transplantation* 32:233, 237, 1981.
23. MAJOR P, HORSBURGH T, VEITCH PS: Frequency of autoantibodies in chronic renal failure patients. (abstract) *Transplant Proc* 19:777, 1987.
24. RUDY T, OPELS G: Dithiothreitol treatment of crossmatch sera in highly immunized transplant recipients. (abstract) *Transplant Proc* 19:800-802, 1987.
25. ETTENGER RB, JORDAN S, FINE RN: Autolymphocytotoxic antibodies in patients on dialysis awaiting renal transplantation. *Transplantation* 32:248-251, 1981.
26. TING A, MORRIS PS: Successful transplantation with a positive T and B cell crossmatch due to autoreactive antibodies. *Tissue Antigens* 21:219-222, 1983.
27. WETZSTEON PJ, HEAD MA, FLETCHER LA, BARRY JM, NORMAM DJ: Successful transplantation across positive crossmatches: A result of detailed pretransplant antibody analysis. *Transplant Proc* 21:714-715, 1989.
28. WARD FE, SHAW JF, ZACHARY AA: Serun characterization and donor-recipient crossmatching, in *The AACHT Laboratory Manual*, edited by Zachary AA, Brown WE, New York, American Association for Clinical Histocompatibility Testing, 1981, p III-1.1.
29. ANDREU J, MARTORELL J: Hiperinmunizados y transplante renal. *Nefrologia* 9:234-235, 1989.
30. DEIERHOI MH, SHROYER TW, HUDSON SL, BARGUER BO, BARBER WH, CURTIS JJ, JULIAN BA, DIETHELM AG: Sustained high panel reactive antibody levels in highly sensitized patients: significance of continued transfusions. *Transplant Proc* 21:771-772, 1989.
31. LAMM LU, GRAUGGARD B, KISSMEYER F: Kidney transplantation in highly sensitized patients. *Transplant Proc* 28:18-19, 1986.
32. SCORNIK JC, BRUNSON ME, HOWARD RJ, PFAFF WW: Alloimmunization, memory, and the interpretation of crossmatch results for renal transplantation. *Transplantation* 54:389-394, 1992.
33. ROSALES T, GUILHERME L, CHIARELLA J, MARIN ML, ROSALES C, MELO CP, GOLDBERG AC, KALIL J: Human leukocyte A and B antigen, gene and haplotype frequencies in the population of the city of São Paulo in Brazil. *Braz J Med Biol Res* 25:39-47, 1992.
34. PAULA JP, PANAJOTOPOULOS N, RODRIGUES H, KALIL JH, SABBAGA E, ARAP S: Hyperreactivity against panel: a risk factor for renal transplantat. *Transplant Proc* 24:1745, 1992.
35. HENDRIKS GFJ, De LANGE P, D'AMARO J, SCHREUDER GMT, CLAAS FHI, PERSIJIN GG, COHEN B, van ROOD JJ: Eurotransplant experience with highly immunized patients. *Scand J Urol Nephrol* 92:81-90, 1985.
36. KLOUDA PT, RAY TC, KIRKPATRICK J, BRADLEY BA: Graft survival in highly sensitized patients. *Transplant Proc* 19:3744-3745, 1987.
37. ANDREU J, OPPENHEIMER E, MARTORELL J, RICART MJ, VIRARDELL J, AMOEDO ML, CAMPISTOL JM: Transplante renal en receptores hiperinmunizados. *Nefrologia* 9:316-321, 1989.
38. OPELS G: Kidney transplantation in sensitized patients. *Transplant Proc* 19:3737-3741, 1987.
39. OPELS G: For the collaborative transplant Study Effect of HLA matching, blood transfusion and pre-sensitization in cyclosporin treated kidney transplant recipients. (abstract) *Transplant Proc* 17:2179-2185, 1985.
40. MICHEL F, MULLER JY, HALE L, SALMON C: Serum-computed analysis for transplantation of highly immunized kidney. *Transplant Proc* 19:803-804, 1987.
41. CROSS DE, WHITTIER FC, WEAVER P, FOX-WORTH JA: A comparison of the antiglobulin versus extended incubation time crossmatch: Results in 23 renal transplants. (abstract) *Transplant Proc* 4:1803-1806, 1977.
42. TAKAHASHI H, OKASAKI H, TAGUMA Y, OGUMA S, JINBO M, SATAKE M, IGUSHI A, OHASHI Y, ISHIZAKI M: Useful antiglobulin crossmatch test for DST-sensitized patients. *Transplant Proc* 19:794-799, 1987.
43. TING A, HASEGAWA T, FERRONE S, REISFELD RA: Presensitization detected by sensitive crossmatch tests. *Transplant Proc* 5:813-817, 1973.
44. JOHSON AH, ROSSEN RD, BUTLER WT: Detection of alloantibodies using a sensitive antiglobulin microcytotoxicity test: identification of low levels of pre-formed antibodies in accelerated allograft rejection. *Tissue Antigen* 2:215-221, 1972.
45. PANAJOTOPOULOS N, LIMA KA, VIGGIANI C, RODRIGUES H, KALIL J: Polyethylene Glycol enhances sensitivity of microlymphocytotoxicity test, in *Visuals of the Clinical Histocompatibility Workshop*, edited by Terasaki PI, Palm Springs, 1995, p 49.
46. CARDELLA CJ, FALK JA, NICHOLSON MJ, HARDING M, COOK GT: Successful renal transplantation in patients with T-cell reactivity to donor. *Lancet* 2:1240-1242, 1982.
47. BACKMAN U, FELLSTRÖM B, FRÖDIN L, SJÖBERG O, TUFVESON G, WILKSTRÖM B: Successful transplantation in highly sensitized patients. *Transplant Proc* 21:762-763, 1989.
48. KLOUDA PT, ROGERS CA, CORBIN SA, BRADLEY BA: Renal transplantation in highly sensitized recipients. (abstract) *Transplant Proc* 22:1903, 1990.
49. BAQUERO A, McALACK AR, RAJA R, BANNETT AD: Successful cadaveric and living related donor renal transplantation in patients with historical positive and pretransplant negative crossmatch. *Transplant Proc* 19:2946-2948, 1987.
50. CRISTOL JP, MOURAD G, ARGILES A, SEIGNALET J, IBORRA F, RAMOUNAU-PIGOT A, CHONG G, MION C: Negative crossmatch on current sera and good HLA matching are the main requirements for renal transplantation in highly sensitized patients. *Transplant Proc* 24:2470-2471, 1992.
51. SANFILIPPO F, VAUGHN WK, SPEES EK, BOLLINGER RR: Cadaver renal transplantation ignoring peak-reactive sera in patients with markedly decreasing pretransplant sensitization. *Transplantation* 38:119-124, 1984.
52. SCHECHNER RS, GREENSTEIN SM, MALLIS ML, SENITZER D, LOUIS P, TELLIS VA: Does a positive historical crossmatch affect long-term renal transplant graft survival? *Transplant Proc* 23:415-416, 1991.
53. NORMAN DJ, BARRY JM, WETZSTEON PJ: Successful cadaver kidney transplantation in patients highly sensitized by blood transfusion. Unimportance of the most reactive serum in pretransplant crossmatch. *Transplantation* 39:253-255, 1985.
54. HOOR GMT, COOPMANS M, ALLEBES WA: Specificity and Ig class of preformed alloantibodies causing a positive crossmatch in renal transplantation. *Transplantation* 56:298-304, 1993.
55. BARGER B, SHROYER TW, HUDSON SL, DEIERHOI MH, BARBER WH, CURTIS JJ, JULIAN BA, LUKE RG, DIETHELM AG: Successful renal allografts in recipients with crossmatch-positive, dithioerythritol-treated negative sera. *Transplantation* 47:240-245, 1989.
56. TING A: What crossmatches are required in organ transplantation? *Transplant Proc* 25:613-614, 1989.

57. TING A: Positive crossmatches-when is it safe to transplant? *Transpl Int* 2:2-7, 1989.
58. MÖLLER E, KARUPPAN SS, TALBOT D: Workshop report: clinical relevance of new crossmatching techniques. *Transplant Proc* 25:176-179, 1993.
59. PANAJOTOPOULOS N, NEUMANN J, RODRIGUES H, IANHEZ L, SABBAGA E, KALIL J: *Clinical Significance of IgM Alloantibodies*. 5th Congress European Society for Organ Transplantation, Masstricht, Netherlands, outubro de 1991.
60. CHAPMAN JR, TAYLOR CJ, TING A, MORRIS PJ: Immunoglobulin class and specificity of antibodies causing positive T cell crossmatches: relationship to renal transplant outcome. *Transplantation* 42:608-613, 1986.
61. MONTEIRO FAS: *Caracterização da Especificidade de Anticorpos Responsáveis por Provas Cruzadas Contra Linfócitos T Positivas*. Tese de mestrado, Universidade de São Paulo, SP, 1994.
62. DANILOVS JA, AYOUB A, TERASAKI PI: B lymphocyte isolation by thrombin-nylon wool, in *Histocompatibility Testing*, edited by Albert ED, Baur MP, Mayr WR, Berlin, Springer-Verlag, 1980, p 287.
63. De KRETSER TA, BODMER JG, BODMER WF: The separation of cell population using monoclonal antibodies attached to sepharose. *Tissue Antigens* 16:317-325, 1980.
64. PELLEGRINO MA, FERRONE S, THEOFILOPOULOS AN: Isolation of human T and B lymphocytes by rosette formation with 2 aminoethyl-iso-thiouronium bromide (AET) treated sheep red blood cells with monkey red blood cells. *J Immunol Methods* 11:273-279, 1976.
65. AYOUB G, PARK MS, TERASAKI PI, IWAKI Y, OPELZ G: B cell antibodies and crossmatching. *Transplantation* 29:227-229, 1980.
66. RUSS GR, NICHOLLS C, SHELDON A, HAY J: Detrimental effect of a positive B lymphocyte crossmatch in renal transplantation. *Transplant Proc* 19:2837-2839, 1987.
67. WEIMER R, DANIEL V, POMER S, OPELZ G: Pretransplant B-cell response in vitro predictors risk of early kidney graft rejection. *Transplant Proc* 22:1883-1884, 1990.
68. JEANNET M, BENZONANA G, ARNI I: Donor-specific B and T lymphocyte antibodies and kidney graft survival. *Transplantation* 31:160-163, 1981.
69. D'APICE AFJ, TAIT BA: Improved survival and function of renal transplant with positive B cell crossmatches. *Transplantation* 27:324-329, 1979.
70. HOURMANT M, VERGRACHT A, BIGNON JD, SOULILOU JP: Effect of a positive crossmatch against donor B-lymphocytes in kidney transplantation: a prospective one-center study. *Transplant Proc* 22:1881-1882, 1990.
71. KARUPPAN SS, LINDHOLM A, MÖLLER E: Characterization and significance of donor reactive B cell antibodies in current sera of kidney transplant patients. *Transplantation* 49:510-515, 1990.
72. PANAJOTOPOULOS N, PAULA FJ, IANHEZ L, SABBAGA E, ROSALES C, MARIN ML, KALIL J: *Relevance of Positive B-Cell Crossmatch in Renal Transplantation*. I International Congress on Transplantation in Developing Countries, Singapura 1992.
73. OPELZ G: Relevance of "remote positive" crossmatches and positive B-cell crossmatches in renal transplantation. *Transplant Proc* 22:1878-1880, 1990.
74. KARUPPAN SS, LINDHOLM A, MÖLLER E: Fewer acute rejection episodes and improved outcome in kidney-transplanted patients with selection criteria based on crossmatching. *Transplantation* 53:666-673, 1992.
75. MOHANAKUMAR T, WALDREP JC, PHIBBS M, MENDEZ-PICON G, KAPLAN AM, LEE HM: Serological characterization of antibodies eluted from chronically human renal allografts. *Transplantation* 32:61-66, 1981.
76. PANAJOTOPOULOS N, IANHEZ L, NEUMANN J, ROSALES C, SABBAGA E, KALIL J: A successful second renal allograft across positive B-cell crossmatch due to IgG anti-HLA DR5 antibody. *Clin Transplant* 6:196-198, 1992.
77. SCORNIK, JC, SALOMON DR, LIM PB, HOWARD RJ, PFAFF WW: Posttransplantation antidonor antibodies and graft rejection. *Transplantation* 47:287-290, 1989.
78. COOK DJ, SCORNIK JC: Serum antibody reactivity of broadly sensitized patients with HLA-matched peripheral blood T lymphocytes. *Transplantation* 41:447-453, 1986.
79. THISTLETHWAITE JR, BUCKINGHAM M, STUART JK, GABER AO, MAYER JT, STUART FP: T-cell immunofluorescence flow cytometry crossmatch results in cadaver donor renal transplantation. *Transplant Proc* 19:722-724, 1987.
80. BUELOW R, MERCIER I, GLANVILLE L, REGAN J, ELLINGSON L, JANDA G, CLAAS F, COLOMBE B, GELDER F, GROSSE-WILDE H, OROSZ C, WESTHOFF U, VOEGLER U, MONTEIRO F, POULETTY F: Detection of panel-reactive anti-HLA class I antibodies by ELISA or lymphocytotoxicity: results of a blinded, controled multicenter study. *Hum Immunol* 44:1-11, 1995.
81. MORAES JR, STASTNY P: A new antigen system expressed in human endothelial cells. *J Clin Invest* 60:449-454, 1977.
82. JORDAN SC, YAP HK, SAKAI RS, FITCHMAN M: Hyperacute allograft rejection mediated by anti-vascular endothelial cell antibodies with a negative monocyte crossmatch. *Transplantation* 46:585-602, 1988.
83. CERILLI J, CLARKE J, DOOLIN T, CERILLE G, BRASILE L: The significance of a donor-specific vessel crossmatch in renal transplantation. *Transplantation* 46:359-361, 1988.
84. MILTENBURG AMM, MEIJER-PAAPE ME, WEENING JJ, DAHA MR, Van ES LA, van der WOUDE FJ: Induction of antibody-dependent cellular cytotoxicity against endothelial cells by renal transplantation. *Transplantation* 48:681-688, 1989.
85. MACAUBAS C, SPADAFORA-FERREIRA M, KALIL J: Immunological graft rejection and the vascular endothelial cell. *Ciência e Cultura* 46:368-373, 1994.
86. MORAES JR, PETTAWAY C, STASTNY P: Prediction of early kidney transplant rejection by a crossmatch with donor skin. *Transplantation* 48:951-952, 1989.
87. MORAES JR, MORAES ME, LUO Y, PETERS PC, SAGALOWSKY A, DAWIDSON I, LU C, STASTNY P: Crossmatch with donor skin: characterization of alloantibodies and correlation with early kidney rejection. *Transplant Proc* 23(1pt1):471-472, 1991.
88. MORAES JR, LUO Y, MORAES ME: Clinical relevance of antibodies to non-HLA antigens in organ transplantation. *Clin Lab Med* 11:621-632, 1991.
89. PANAJOTOPOULOS N, SILVA RA, OLIVEIRA ZNP, SANCHES JRJA, FUKUMORI LMI, NAHAS W, IANHEZ LE, KALIL JK: Clinical significance of skin crossmatch in kidney transplantation. (abstract) *Eur J Immun* 22:38, 1995.

41

NON-PHARMACOLOGICAL MECHANISMS OF GRAFT TOLERANCE

David Saitovitch
Peter J. Morris

INTRODUCTION

The first attempts to perform a kidney transplant, in the beginning of the 20th century, made clear the existence of a "reaction of the organism against foreign tissue", initially described by Carrel[1]. Later, in the 1950s, the successful grafting of kidneys from identical siblings into patients suffering from end-stage renal failure[2] has strongly implicated genetic factors as vital in determining the strength of the, already recognised, immune response against the allo (intra-species) or the xenograft (inter-species). Since the availability of organs from genetically identical donors is, for obvious reasons, very short, a search for means to suppress the recipient's immune response has started.

Initially, total body irradiation and anti-cancer drugs such as 6-mercaptopurine (6-MP) and methotrexate were used with little success and high incidence of toxicity and patient mortality. In the early 1960s, however, a new era of organ transplantation started, after a derivative of 6-MP, azathioprine, was used clinically in combination with prednisone as anti-rejection therapy in an unrelated kidney transplantation[3]. This improvement, combined with the recent availability of regular dialysis, the introduction of routine tissue typing and direct cross-match between donor cells and recipient serum before transplantation, has established organ transplantation as a reality as therapy for end-stage organ failure, as opposed to the previous heroic attempts to save the dying patients with such condition.

In the late 1960's and early 1970's, a first step into an increased immunosuppressive selectivity was taken with the introduction into clinical protocols of the polyclonal antilymphocyte preparations: antilymphocyte serum (ALS), antilymphoblast globulin (ALG) and antithymocyte globulin (ATG). Clinical trials using these agents as part of inductive or "prophylactic" anti-rejection immunosuppressive therapy were inconclusive. However, its efficacy in the treatment of an ongoing rejection was soon established[4]. The inconveniences associated with these preparations comes from the fact that these are polyclonal antibody preparations, being heterogeneous and directed against non-lymphoid tissue[4].

In the late 1970s, cyclosporine A (CyA) was introduced into the anti-rejection "armamentarium"[5,6] and a further improvement in graft survival varying between 15 and 25% was reported in many clinical trials[7-10]. CyA brought the advantage of higher potency combined with increased selectivity, as it targets specifically the T cells.

Today, prevention and treatment of allograft rejection is still based on these drugs and on some newly emergent ones surch as FK506[11-13], rapamycin[12,13] and mycophenolate mophetil[14]. Unfortunately, these potent immunosuppressive drugs act non-specifically, in a way that not only the capacity of the recipient's immune system to react against the graft is compromised, but also de immunosurvaillance that normally prevents the emergence of infections and malignant tumours. As a consequence, transplant recipients present with a high morbidity and mortality due

to the emergence of opportunistic infections[15] and cancer[16]. In addition, these drugs are associated with an array of toxic effects[17-20]. Furthermore, besides the immunosuppressive potency of the above mentioned drugs, chronic graft rejection is still a major concern as a cause of long-term graft loss[21].

For these reasons, transpant immunologists and clinicians started a search for means to reproduce in the adult, the findings of Billingham, Brent and Medawar in neonates: the induction of immunological tolerance to alloantigens. In that study, adult mice were rendered immunologically unresponsive to genetically disparate donors after the *neonatal inoculation* of donor-derived lymphopoietic cells[22].

With time, it became clear that it is not as easy to reproduce these findings in the adult bearing a mature immune system. Usually, some form of manipulation of the latter has to be performed before the introduction of donor antigen, in order that immunologic unresponsiveness is induced. Such manipulation can be accomplished by the previously described non-specific immunosuppressive drugs, by more selective therapeutic agents, like monoclonal antibodies (mAbs) directed against molecules present in only specific cell subsets or by total lymphoid irradiation (TLI).

In the present review, we will concentrate on the *induction of transplantation tolerance in the adult* by the independent or combined administration of *different forms of donor antigen* and the *selective immunosuppressive agents mAbs.*

Initially, because the reader may not be completely familiar with the concept of major histocompatibility complex (MHC) products and because this will be vital for the understanding of this paper, we will describe some of its features. This knowledge is very important considering the central role of these molecules in immune recognition, not least allorecognition. Then, we will review some aspects of antigen recognition and T cell activation, as the understanding of this phenomenon is pivotal whenever one wants to design strategies for the induction of immunological tolerance. Finally, we will concentrate on the modes of induction of immunological tolerance themselves by non-pharmacological means.

MAJOR HISTOCOMPATIBILITY (MHC) ANTIGENS: GENERAL ASPECTS

The MHC gene products are cell surface molecules, first called transplantation antigens due to their ability to elicit strong allogeneic tumour graft rejection[23]. These molecules are found in all higher vertebrates and are encoded by a similar genetic region in each species examined[24,25]. In human, this region is located in the short arm of chromosome 6. A striking feature of MHC genes is the polymorphism found between the products they encode. This probably evolved as an adaptation mechanism to an environment containing constantly mutating and novel pathogens[26].

Three groups of genes are encoded in different regions of the MHC and are referred to as class I, II and III genes. Class III genes encode four of the components of the complement system (C2, Bf, C4A and C4B), the enzyme 21 hydroxylase α and β, the tumour necrosis factors (TNF) α and β and two members of the human 70 kilodaltons (kDa) heat shock proteins (HSP 70), as well as it contains many other genes whose functions are yet to be elucidated. So, many of the products of this genetic region are involved in immune responses. For example, the complement system is involved in many aspects of the innate immunity, like opsonisation, cellular activation and direct target cell lysis[27,28]. It also seems to be a key element in the hyperacute graft rejection seen in different xenogeneic combinations[29,30]. On the other hand, HSP 70 may be involved, as a chaperone, in the protection of peptides from complete degradation in the cytosol, before they reach the transporters associated with antigen presentation (TAP, see below)[31]. Like the class I and II genetic regions, this is also a complex and polymorphic region[25].

Products of the class I or class II MHC regions, the MHC molecules, are *peptide receptors.* They collect peptides from inside the cell and transport them to the cell surface, where the complex of peptide and MHC molecule may be recognised by the T-cell receptor (TCR) for antigen expressed by T lymphocytes[32]. Normally, the peptides presented by MHC molecules are derived from self proteins, and the complexes formed by these peptides and self MHC molecules are involved in the induction of self-tolerance during T cell differentiation[33]. Thus, T cells become able to effect specific immunologic surveillance, by recognising the complexes of sel MHC molecules and foreign peptides, formed, for example, in the event of an infectious disease.

H2 K, D, L in mice, and HLA-A, B, C in humans are the "classical" class I gene products. They comprise a 45kDa integral membrane glycoprotein with 3 extracellular domains (α1, α2, and α3) non-covalently associated with β_2-microglobulin (non-polymorphic, non-glicosylated 12kDa polypeptide). A hydrophobic section anchors the molecule in the membrane and a short hydrophilic sequence carries the C-terminus into the cyto-

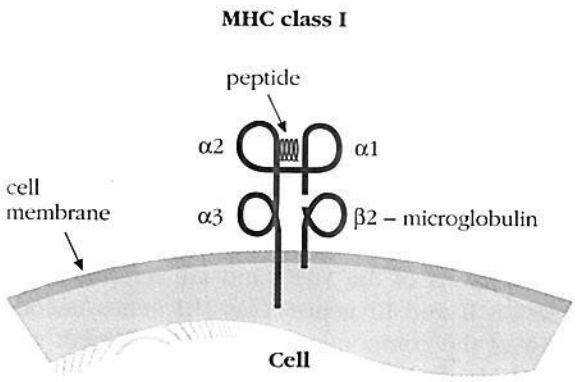


Figure 41.1 – Schematic representation of the class I MHC molecules.

plasm. These antigens are constitutively expressed on the surface of most, but not all, nucleated cells[34]. Figure 41.1 is a schematic representation of the class I MHC molecules.

The production of most peptides destined for presentation by class I molecules begins in the cytosol. Although the proteases involved in this step have not been identified, recent evidence suggests that cytosolic proteins are partially degrated by the endopeptidase activity of the proteasome, a multiunit structure with several activities located in the cytosol[35]. It has also been demonstrated that the fine specificity of the proteasome for the protein to be degraded is modulated by 2 proteasome subunits, LMP2 and LMP7, which are encoded in the MHC region and regulated by gamma interferon (IFN-γ). The peptides resulting from protein degradation are transported to the lumen of the endoplasmic reticulum (ER) by the TAP transporters[36], where binding to newly synthesised/assembled class I molecules takes place[37].

Peptide binding to the class I α-chain increases the stability of class I/β_2-microglobulin complex and stabilises the conformation of the α1 and α2 domains of the heavy chain detected by conformation-specific monoclonal antibodies (mAbs)[38]. A recent report shows that another chaperone, calnexin, is bound to assembled class I heavy chain and β_2-microglobulin[39]. Calnexin is thought to retain empty class I heavy chain molecules in the ER, and, upon peptide loading, it would release the fully assembled class I molecule to be transported, through the Golgy apparatus, to the cell surface. At the final step of this process, these complexes are expressed on the surfaces of the cells and presented for the recognition of cytotoxic T lymphocytes (CTLs) via T cell receptor[32]. Through this recognition system, CTLs (mainly $CD8^+$ T cells[40]) (in cooperation with helper T cells and other cells of the immune system) can kill virally infected or tumour transformed cells, as well as cells from foreign tissue grafts. In the latter case, the whole class I allo-MHC molecule is recognised by recipient $CD8^+$ T cells (direct allorecognition) or, alternatively, a fragment derived from this molecule (an allopeptide), is presented by recipient antigen presenting cells (APCs) in the context of a self (recipient type) class II MHC molecule to a self-restricted $CD4^+$ T cell (indirect allorecognition); these pathways are not mutually exclusive.

The determination of the three-dimensional structure of human HLA-A2[41] by X-ray cystallographic analysis has provided a very important step in the current understanding of MHC function. Both B_2-microglobulin and the α3 domain show a folding pattern resembling classical Ig domains, but the α1 and α2 domains form a structure of two α-helices above a β-pleated sheet. An interesting finding which helped even further in the understanding of the structure and function of these molecules was that the groove formed between these most distal to the cell membrane structures (α-helices and β-strands) contained a linear peptide, which had co-crystallised with the class I glycoprotein (see Figure 41.1). The peptide-binding pocket is blocked at either end and appears to impose severe restrictions on the sizes of peptides it can accommodate (8 to 10 residues).

Further crystallographic studies extended these findings to another human MHC class I molecule, HLA-B27[42], and to the murine MHC class I molecule $H\text{-}2K^{b}$[43-45]. These peptide-presenting molecules proved to be structurally very similar, consistent with their high primary sequence homology and common function. At each end of the groove, highly conserved MHC side-chains bind the amino and carboxyl termini of peptide (main-chain atoms) through extensive hydrogen bonding. This tight binding stabilises the three-dimensional fold of the MHC molecules. Supplementing these interactions and establishing allele-specificity on peptide binding, are contacts of mostly polymorphic MHC side-chains with a few peptide side-chains (anchor residues). The usage of a limited number of polymorphic pockets in multiple combinations allow the binding of a broad range of peptides to one MHC molecule. This is very important in view of the fact that the total number of different MHC molecules in an individual is very small compared to the entire repertoire of T cell receptors that can recognise a vast array of peptides in the context of MHC molecules.

Class II genes encode transmembrane molecules (H2 I-A, I-E in mice; HLA-DR, DP and DQ in humans) comprising a 33-34kDa α-chain and a non-covalently bound 28-29kDa β chain. A characteristic shared between these molecules and class I molecules is their *high level of polymorphism*. Class II molecules are also synthesised in the ER. The 2 assembled chains are bound by a chaperone-like molecule, the invariant chain (Ii)[46], which directs the αβ-heterodimer to the class II peptide-loading compartment, as well as prevents the premature loading of peptides in the ER[47,48]. One possibility by which the Ii could perform the latter function, would be by the temporary occupancy of the peptide-binding groove of the class II molecules by one of its segments. In support for this idea, a nested set of Ii peptides, CLIPs (class II-associated Ii peptides), have been eluted from various MHC class II molecules[49-52]. It has been demonstrated that newly synthesised α and β chains associate in the ER with a core Ii trimer to form a nonamer containing 3 αβ dimers and the Ii trimer[53]. The nonamer is then transported through the Golgi apparatus to an endocytic compartment, where the Ii is proteolytically degrated[54]. The liberated αβ dimers can then bind peptide, and be transported to the cell surface[55]. Although Ii functions as a chaperone molecule for class II MHC molecules, and ER resident molecule, calnexin, seems to play an important role in the stabilisation of class II molecules in the ER[56].

Antigen presenting cells (APCs) constitute the main cell population expressing class II MHC molecules in the resting state[34]. These cells internalise exogenous proteins which are then processed within endocytic compartments to produced peptides. Class II MHC molecules meet these peptides in the lysosome vesicles[57]. In this acidic environment, the degraded Ii is displaced form the αβ-heterodimer by HLA-DM[58,59]; the antigen binding groove becomes available for a peptide derived from the processed exogenous antigen. After the class II MHC molecule-peptide binding, this complex is expressed on the surface of the APC and presented to a helper T lymphocyte, mainly $CD4^+$ T cells[40,60], which becomes activated and coordinates the immune response against this foreing antigen. In allorecognition, the whole class II alloantigen would be recognised on the surface of a donor-derived class II^+ expressing cell (direct allorecognition) or allopeptides derived from these molecules would be presented to helper T cells by the recipient APCs (indirect allorecognition). Figure 41.2 is a schematic representation of the class II MHC molecules.

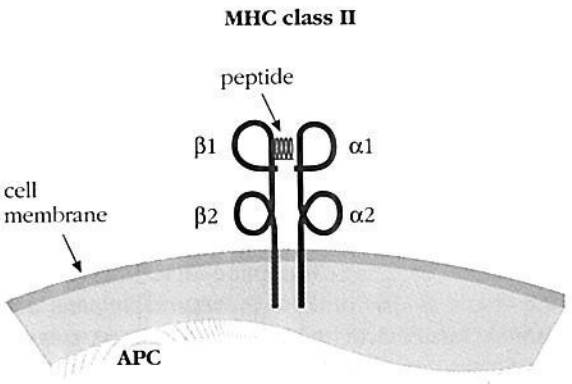


Figure 41.2 – Schematic representation of the class II MHC molecules.

Recently[61,62], the three-dimensional structure of an MHC class II molecule, HLA-DR1, has also been determined. The structure is similar to that of class I molecules. The basic differences are restricted to an altered position of immunoglobulin-like β2 domain of HLA-DR1 relative to that of the α3 domain of class I HLA (see Figures 41.1 and 41.2) and detailed changes in peptide-binding site so that its ends are more open. This allows less stringency in the size of the peptide bound to it, varying from 12 to 24 amino acids in length. A major surprise in the analysis of the three-dimensional structure of the class II molecules is that they occur as a dimer of dimers, with an orientation that would allow simultaneous interaction with 2 TCR complexes. This might result in a greater stability than single TCR-class II complexes, which are of low avidity[63].

The arguments presented so far suggest a strict separation of the processing pathways for class I and class II peptide presentation. There is, however, evidence for considerable cross-talk between the 2 pathways[64-67]. While a physiological role for it remains to be established, one can speculate for example that the existence of a phagosome to cytosol pathway would enable professional APCs to stimulate CTLs against exogenous peptides[68,69].

ANTIGEN RECOGNITION AND T CELL ACTIVATION

The ultimate aim of peptides display by MHC molecules on the cell surface is their presentation for T cell recognition. T cells, selected in the thymus to populate the peripheral immune system on the basis of a weak reactivity to self MHC molecules associated with self peptides[70], will be able to recognise the foreign molecules displayed by th APCs, through their TCRs, and, consequently, the triggering of intracellular signals will lead to T cell activation.

The initiation and regulation of immune responses to foreign antigens is dependent on antigen presentation to T lymphocytes. Ligation of the TCR leads to a complex cascade of signalling events, including tyrosine phosphorylation and calcium mobilisation, which can ultimately lead to the production of cytokines, such as interleukin-2 (IL-2) and T cell proliferation. However, a mentioned earlier, TCR-peptide-MHC interaction is one of low avidity, and the TCR α and β chains lack intrinsic kinase activity. As a consequence, successful ligation and T cell stimulation depends on the cooperation of a number of accessory molecules with both adhesion and signalling properties.

TCR molecules themselves are coupled with a complex of molecules called CD3 (Figure 41.3). CD3 comprises the association of 3 non-covalently linked polypeptide chains, designated γ, δ and ε[71]. TCR and CD3 molecules are associated with 2 other molecules ζ and η. These molecules normally exist as disulphide-linked dimers, either homodimers $\zeta\zeta$ or heterodimers $\zeta\eta$, the former comprising 90% of all expressed forms[72]. Together, these molecules form the *TCR complex*. In contrast to the TCR molecules (α and β chains), the CD3, and, mainly, the ζ and η polypeptides have long intra-cytoplasmic portions. It is generally assumed that these molecules are involved in the delivery of signals to the T cell upon antigen recognition by the TCR. Indeed, Irwing et al.[73] demonstrated that the stimulation of the cytoplasmic region of the ζ chain homodimer (coupled to the transmembrane and external domains of a CD8 molecule) resulted in activation of T cells transfected with this construct after administration of CD8 antibodies, as judged by increases in intracellular tyrosine phosphorylation, inositol phosphate production, intracellular calcium accumulation and IL-2 production. The authors failed to detect any association between CD8/ζ and the traditional TCR chains either by immunoprecipitation or down-modulation experiments. These results strongly suggest that the ζ chain is involved in coupling the TCR to critical biochemical events in T cells after antigen-specific stimulation.

Mature peripheral T cells express either CD4 or CD8 molecules (see Figure 41.3). These coreceptor molecules are transmembrane glycoproteins which determine MHC restriction specificity of a T cell. $CD4^+$ T cells recognise antigens in the context of class II MHC molecules[40,74-76] (Figure 41.4A) whereas $CD8^+$ T cells recognise antigens in the context of class I MHC molecules[40,77,78] (Figure 41.4B). Although correlation between expression of either of these coreceptors and function is not absolute, it is

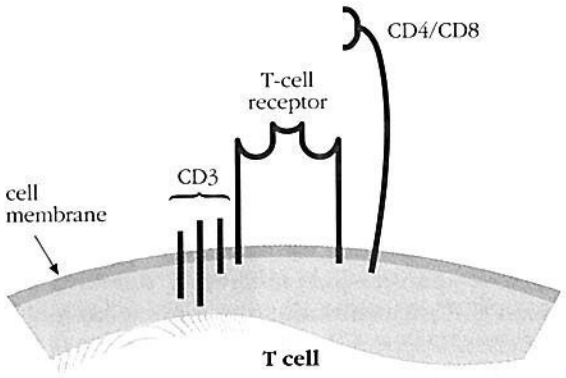


Figure 41.3 – Schematic representation of the T cell receptor (TCR) complex and the CD4/CD8 coreceptors at the surface of a T cell.

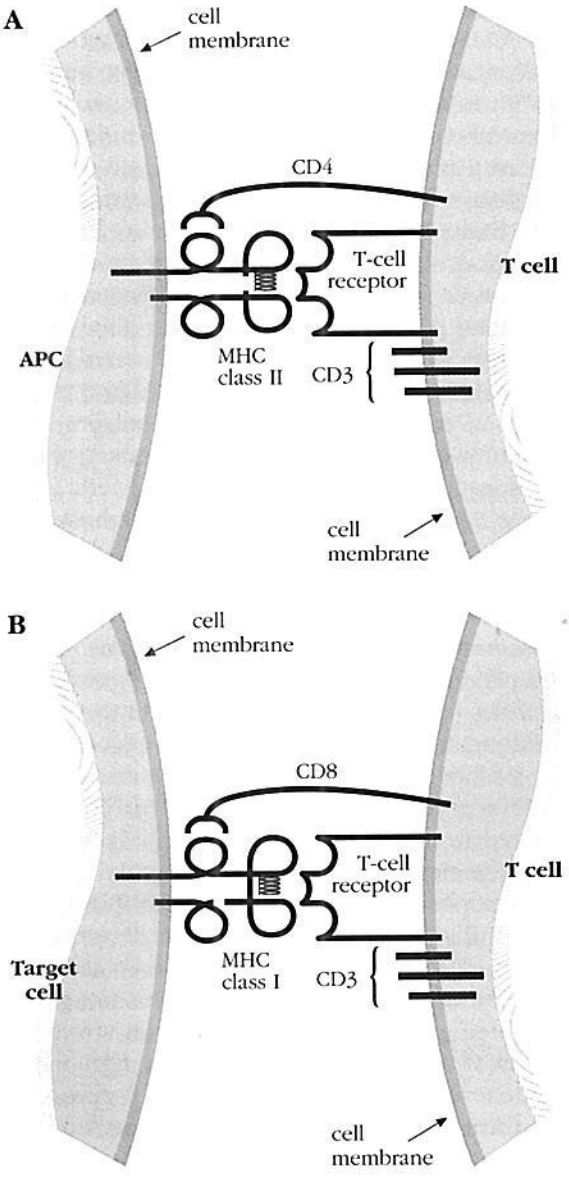


Figure 41.4 – Schematic representation of the interaction between a $CD4^+$ T cell and an APC (**A**) or between a $CD8^+$ T cell and a target cell (**B**).

usually accepted that $CD4^+$ T cells exhibit predominantly *helper activity* and $CD8^+$ T cells are mainly responsible for specific *cellular cytotoxicity*[79,80]. Both CD4 and CD8 molecules increase the avidity of TCR-peptide-MHC interaction, by binding to non-polymorphic regions of class II or class I MHC molecules, respectively[78,81]. Interestingly, it has been demonstrated that these domains in class I and class II MHC molecules to where CD8 or CD4 bind share significant sequence homology[81].

CD4 and CD8 molecules are functionally and physically associated with the T cell-specific tyrosine kinase $p56^{lck}$, a member of the *Src* family of protein tyrosine kinases (PTKs)[82]. These coreceptors physically associate with the TCR during T cell activation[83-85], as long as the APC has the proper ligand for the TCR in the form of its specific MHC-peptide complex[85]. Association of the coreceptor was found to be correlated with 10-fold potentiation in antigen recognition[86-88]. It is likely that the recruitment of the coreceptor associated PTK to the vicinity of the TCR complex significantly enhances T cell activation. It should be noted, however, that the dependency on the coreceptor for full T cell activation observed with naive (unprimed) T cells does not seem to be the same for primed T cells. Many cloned T cells lines have been described whose activation by antigenic stimulation through the TCR is not inhibited by bloking of the coreceptor activity by monoclonal antibodies (mAbs)[89-91]. These observations support experimental findings demonstrating that the induction of transplantation tolerance with anti-T cell monoclonal antibodies is far easier in naive than in primed recipients[92]. They are also very relevant to clinical situations such as transplantation and autoimmunity. In the first case, many patients while awaiting for an organ graft become highly sensitised against an array of alloantigens because of blood transfusions, or even previous transplants. It is well recognised that the clinical outcome of these patients is not as straightforward as when non-sensitised patients are transplanted[93]. Likewise, in the second case, by the time an autoimmune disease is diagnosed, an immune reaction has already been mounted against a particular autoantigen(s). Accordingly, early diagnosis and treatment of these conditions is of major importance for the achievement of a favourable outcome. Nevertheless, it has been demonstrated experimentally that anti-CD4 antibodies can revert, or at least ameliorate, the course of an autoimmune disease[94-96].

Full T cell activation depends not only on the antigen-specific signals delivered through the TCR complex and its coreceptors, but on yet another set of costimulatory molecules. Initially described by Bretscher and Cohn[97] for B cells, and later by Jenkins and colleagues[98,99] for T lymphocytes, the need for, at the time, unidentified costimulator factors (or signals) became evident in different experimental systems. Chemically fixed APCs[99], some tissue-specific cell types, such as keratinocytes[100] and renal tubular epithelial cells[101], or systems using peptide bound to MHC molecules on planar membranes[102], or immobilised antireceptor antibodies[103], not only failed to activate T cells, but rendered them anergic to future antigenic stimulation. Because in the first 2 cases cited above the APCs had the restricting MHC molecules and, consequently, had the ability to present specific peptides to T cells, additional interactions between the these cells were probably required. Experiments demonstrating prolongation of graft survival when these are depleted of lymphoid-derived APCs gave rise to the concept of "professional APC"[104], the prototype of which are the dendritic cells[105]. Because the so called "professional APCs" would be the only cell population capable of providing the appropriate costimulation, tissue-specific self antigens would not induce T cell responses and autoimmunity would be avoided[106,107]. The same principle applies to tumours cells of non-lymphoid origin. Melanoma cells, for example, have been shown to grow "unnoticed" by the immune system because they lack the appropriate costimulation to trigger anti-tumour T cells[108,109]. The same mechanism could underlie the tolerogenic potential of L cells syngeneic with the recipient expressing donor MHC molecules[110,111], as will be later discussed in this review.

Although the molecular nature of costimulation is not fully understood to date, some key elements in this cellular and molecular interaction are now being unravelled. Two molecules expressed by T cells and 2 other molecules expressed by the APCs seem to be pivotal in this process. CD28[112] is a membrane glycoprotein constitutively expressed by most thymocytes and peripheral T cells. Engagement of this molecule by its ligands present on APCs triggers a signalling pathway that regulates T cell cytokine production, particularly IL-2[113]. These counter-receptors are now known as CD80 (also termed B7/BB1), and CD86 (also termed B70 or B7-2)[114]. Whereas CD80 is constitutively expressed only on dendritic cells and expressed upon cell activation on T cells, B cells, and monocytes[115], CD86 is constitutively expressed by resting monocytes and dendritic cells, and expressed upon activation by T and B cells[116]. Recent studies performed by Lanier et al. have demonstrated that both CD80 and

CD86 are equally effective costimulators of T lymphocytes, judged by their ability to costimulated anti-CD3 antibody-induced proliferation, IL-2 secretion and CTL generation. Moreover, the allogeneic mixed lymphocyte reaction (MLR) could only be optimally inhibited when both CD80 and CD86 were blocked simultaneously[114]. Although little is known to date about these molecules and the rationale for the existence of 2 ligands for CD28 remains not well understood, these results suggest that both are equally important in providing costimulation.

T cells, upon activation, also express another molecule involved in costimulation, CTLA-4. Although the same counter-receptor molecules for CD28 bind to CTLA-4, CD80 and CD86 bind CTLA-4 with higher avidity[114,117]. Little is known also about the functions of this molecule in immune stimulation. Initial experiments have suggested that CTLA-4 molecules were synergistic with CD28 in their ability to provide costimulatory signals for the T cells[118,119]. More recent observations, however, have suggested that CTLA-4 may serve a negative regulatory role[120,121]. It seems that the more we learn about CTLA-4, the more it appears that the effects on T cells of signalling through this molecule is context dependent[122]. This is probably the case for most receptor-coreceptor systems. For example, stimulation through the CD4 molecules may either enhance T cell activation or inhibit it, depending on the timing relative to stimulation via the TCR complex, the type of APC, and so on[123-126].

TOWARDS A MORE SELECTIVE IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY

As mentioned in the introduction of the present review, the immunosuppressive drugs currently in use for the prevention and treatment of graft rejection act in a non-specific manner preventing the recipient's immune system to react not only against the alloantigens in the graft, but also against foreing antigens like viral ou tumour antigens. Consequently, transplant recipients are under a constant threat of developing serious infectious diseases and/or cancer. These facts justify, by themselves, the enormous effort invested by immunologists and transplant physicians in the development of more specific forms of immunosuppression. For reasons already explained, some molecules like the CD3 and CD4 molecules would be good candidates as targets for immune intervention, as they are expressed almost exclusively by T cells. Elimination or blockade of the function of T cells would certainly impact on the immune reactivity mounted by the recipient against the foreign alloantigens, and, at the same time, spare the function of other cells in the immune system whose function could be potentially important in the preservation of some protection normally conferred by it. Still, targeting T cells in general, or even $CD4^+$ T cells, is far from ideal as only a few of the targeted cells will be engaged in the rejection process. As we shall discuss later, it is likely that a combined use of one of these selective immunosuppressive agents with some form of donor antigen could induce specific unresponsiveness to the donor alloantigens, in a more permanent manner.

MONOCLONAL ANTIBODIES

General aspects

Because the production of polyclonal antilymphocyte preparations rely on the immunisation of an animal (e.g. a horse) with human lymphocytes, the amount and type (class and sub-class) of the antibody produced varies from animal to animal. As a consequence, lot-to-lot variation in both potency and toxicity is the rule. Furthermore, these preparations react with a large number of antigens, precluding a precise control of the immune response[4].

With the discovery of the cell-hybridisation technique by Kohler and Milstein[127], the production of monoclonal antibodies (mAbs) directed against single cell determinants became possible. This advance combined with an ever increasing understanding on the immune system physiology and physiopathology, prompted the production of monoclonal antibodies directed against specific T cell subsets (e.g. $CD4^+$ T cell) or, even more selective than the latter, targeting cells in a specific activation state ($IL\text{-}2R^+$ T cell), which are more likely to be involved in the rejection process.

Anti-CD3 mAbs

The murine IgG2a mAb OKT3 binds to the CD3 molecule of the T cells (as explained above) with dramatic immunosuppressive effects. It was selected very early after it production for clinical trials based on clinical evidence for a major role of T cells in allograft rejection, after the demonstration of the efficacy of polyclonal anti-T cell preparations in controlling acute rejection episodes[128-130]. It causes initial cell depletion replaced mainly by antigenic modulation (normal numbers of T cells in the circulation, with virtually no CD3 expression)[131].

OKT3 is a much more selective immunosuppressive agent when compared with polyclonal antibody preparations or non-specific immunosuppressive drugs (e.g. CyA, prednisolone), currently in clinical use. Although it has been largely used clinically mainly as anti-rejection therapy, "rescuing" 80-85% of the patients presenting with steroid-resistant rejection[132,135], and also as prophylactic therapy[134-136], no induction of transplantation tolerance in these patients has been claimed. It is likely that the need for concomitant non-specific immunosuppression, in order to avoid an antiglobulin response[137], interferes with the mechanisms necessary in the induction of transplantation tolerance. Moreover, as all T cells are targeted, increased incidence of infections were seen with the use of OKT3[138]. Latent Epstein-Barr virus is also reactivated by anti-lymphocyte preparations, leading to the outgrowth of virally transformed B cells. This has led to a high incidence of B-cell lymphoma in transplant patients receiving OKT3[139].

Anti-CD4 mAbs

Targeting of the CD4⁺ T cell subset would provide a much more selective immunosuppression when compared to the pan-T cell preparations, either the polyclonal ones or even the monoclonal antibody OKT3. Since the CD4⁺ T cells play a central role in the immune responses[140,141] and the coreceptor molecule CD4 not only increases the avidity of interaction between T cells and APCs, but also takes part in the transmission of the activating signals from the surface to the nucleus of the cell (as discussed above), they are important candidates as targets for a selective form of imunointervention.

A large number of mAbs specific for CD4 molecule made in different species, of different isotypes, with and without cell lytic activity and targeting different epitopes on the molecule have been described[142-144]. Many of these have proved to be very potent immunosuppressive agents in experimental models of transplantation and autoimmunity[92,94,95,145-147].

Treatment at the time of transplantation with anti-CD4 mAb has been shown to be effective in prolonging the survival of vascularized cardiac allograft in both the mouse[148] and rat[147] models. These studies used a depleting anti-CD4 mAb for the induction of immunologic unresponsiveness. It has been shown[144,149], however, that depletion is not an absolute requirement for the induction of tolerance to alloantigens. Most grafts function indefinitely (*the treatment is very effective*) but the immunosuppression induced by these antibodies is still *initially immunologically nonspecific* as all CD4⁺ T lymphocytes are targeted, although donor-specific unresponsiveness does develop in the long-term.

Another interesting feature observed with anti-CD4 mAb therapy in the rodent is that, by targeting a population of mainly helper T lymphocytes, this antibody inhibits the anti-globulin response observed with other xenogeneic mAbs (anti-CD8 mAbs) in the concordant xenogeneic combination rat-to-mouse[149]. These findings served as a great stimulus for the application of anti-CD4 mAbs derived from murine hybridomas into higher animals, as it would provide the ideal conditions for the induction of transplantation tolerance in humans: a selective-type of immunotherapy at the time of transplantation without the need for concomitant non-specific immunosuppression. Unfortunately, when the genetic barrier increases from a concordant to a discordant xenogeneic combination, like murine monoclonal antibodies administered into the dog[150], non-human primates[151] or humans[152,153], an antiglobulin response does develop. As this immune response to a xenogeneic protein inhibits the antibody effects, precluding further administration in a sensitised patient, simultaneous non-specific immunosuppressive drugs administration is required and the induction of immunologic tolerance becomes less likely to occur.

A promising approach to solve the problem of protein sensitisation and antiglobulin response relies on the production of progressively "humanised" versions of the murine anti-CD4 monoclonal antibody by the use of molecular biology techniques. These are hybrid molecules made by the combination of the variable regions of the murine antibody (the antigen-specific regions) with human constant antibody regions. Such a manipulation makes the rodent antibodies less foreign to the human immune system. Recently, Delmonico et al.[151] and Powelson et al.[154] reported on the experimental use of humanised antibodies in cynomolgous renal allograft recipients. When compared to the use of the murine mAb OKT4A, allograft survival was significantly extended, the only anti-murine response was idiotype-specific and, possibly as a consequence of the latter, the therapeutic levels of the humanised preparations were extended to up to 24 days, as opposed to the OKT4A serum levels, which tended to disappear after 10 days of therapy.

The clinical trials which are about to begin, together with those in their initial phases[155-158], assessing the efects of anti-CD4 mAbs on allograft

survival and autoimmune diseases will certainly be very elucidative on the benefits of this very selective form of immunosuppression.

An important issue to be solved before anti-CD4 antibody therapy is used in large-scale clinically, relates to the safety of the use of depleting antibodies. Experimental and clinical studies have shown that cell depletion induced by these antibodies can last for very long periods[148,156,157,159-161]. Attempting to help in the clarification of this problem, we used both types of anti-CD4 antibodies for the induction of immunological tolerance (see below).

ANTIGEN ADMINISTRATION AND IMMUNOLOGIC TOLERANCE

The first insights into the notion that antigen administration could alter the immunologic response came from studies by Pasteur in the 1870's. He showed that the inoculation of an attenuated form of a cholera bacillus (left in the laboratory accidentally for weeks), at that time a fatal disease, could confer immunity first to sheep and then to humans when subsequently challenged with fresh virulent organisms.

In the beginning of the 20th century the idea of vaccination was extended to the cancer field. However the injection of heat inactivated tumour cells into rats before the grafting of tumours was found to cause these grafts to grow rather than be destroyed[162]. Casey[163] also used active immunisation with tumour tissue obtaining similar results. He was the first to introduce the term "enhancement" to describe this phenomenon.

In 1945, Owen published his observations on the ununsual blood groups of fraternal twin cattles born from a common placenta. He noticed that non-identifical twins shared the same blood group more often than could be accounted for by chance, and concluded that hematopoietic cells were exchanged between the siblings in utero with the persistence of those cells into adult life (chimerism)[164]. These animals proved to be tolerant of skin grafts from their non-identifical twins. Based on these observations, Burnet and Fenner[165] proposed a theory for the development of immunity, in that the exposure of animals to antigens before the development of the faculty of immunological response should lead to tolerance rather than heightened resistance.

Encouraged by these observations, Billingham and colleagues repeated this experiment of nature in the laboratory[22] confirming Burnett and Fenner's theory on neonatal tolerance induction and demonstrating that and immature immune system's self image can be manipulated relatively easily. In the light of the contemporaneous observations that relatively high doses of pneumococcal polysaccharide could lead to a state of "immunological paralysis" in adult animals[166] as well as the above mentioned experiments with tumours cells by Casey (and by others), these pioneer experiments of "actively acquired tolerance" have led to a generalised belief and hope, in the scientific community, that immunological unresponsiveness to alloantigens could be also induced in adult animals, and, eventually, in man.

THE BLOOD TRANSFUSION EFFECT

Is it possible for the reactivity of the immune system against alloantigens to be altered during adult life without the concomitant administration of non-specific immunosuppressive drugs?

In the early 1960's, it was shown that the intravenous injection of fresh whole blood sensitised the recipient to a future skin graft from the same blood donor[167]. However, this was not found to be the case for vascularized organ grafts. Halasz et al.[168] showed that donor specific transfusions (DST) before a kidney transplant led to significant prolongation of allograft survival in dogs in comparison to non-transfused animals. Further experimental work confirmed this initial findings in rats[169,170] and monkeys[171].

In clinical transplantation, the first insights into the notion that blood transfusions could alter favourably the course of a future transplant came from a report by Michelsen[172] where it was shown that for patients receiving hemodialysis treatment while awaiting a kidney transplant, those that had received more than 20 dialysis sessions had a better clinical outcome after transplantation than those who had received less than 20 dialysis session. Presumably, the first group would have received more blood transfusion than the second. Dossetor et al. were the first to describe the blood transfusion effect[173]. Analysing 59 renal transplant patients retrospectively they found prolonged allograft survival in the previously most transfused patients. One year later, Morris et al. described the "paradoxical effects" of blood transfusions. Based on the assumption that the transfusion of whole blood would normally lead to the sensitisation of potencial recipients against a subsequent renal allograft, it was predicted that the more blood transfusion one received before transplantation, the worse the post-transplantation clinical outcome would be. However, and "paradoxically", such prediction was not confirmed, as the early graft

function in 43 recipients of primary renal grafts had no correlation with the number of transfusion received before transplantation by these recipients. The authors suggested, for the first time, that blood transfusions might induce some degree of immunological unresponsiveness[174]. In 1973, Opelz et al. showed that graft function in patients with *no blood transfusions before transplantation* was worse than the graft function in recipients with a positive blood transfusion medical history before transplantation[175]. Soon, pretransplant blood transfusions were recommended as a policy and adopted by most clinical transplant units around the world.

BLOOD COMPONENTS

After the establishment of the blood transfusion effect in humans and animals many laboratories tried to find out which component of blood was responsible for the observed effects, in order to improve the understanding of this phenomenon and to use it more effectively.

Jenkins and Woodruff[169], performing heart allografts in rats were able to show that thoracic duct lymphocytes (TDL) could reproduce the allograft survival prolongation induced by DST, but they failed to show it using donor erythrocytes or plasma. Wood et al.[176], however, using orthotopic kidney transplantation in rats injected 7 days before the transplant with purified erythrocyte populations were able to show the induction of permanent donor-specific unresponsiveness. Lauchart et al.[177], using a heterotopic cardiac allograft model demonstrated that the beneficial effect on graft survival after the injection of a donor cellular inoculum was due to the B cell population, but Cranston et al.[178] pretreating rats one week before allogeneic kidney transplants with B cell and T cell populations purified from spleen lymphocytes showed that both populations of cells could induce indefinite allograft survival. Interestingly, after further fractionation of T cells into $CD4^+$ and $CD8^+$ phenotypes, only the former cells could reproduce the results observed when whole T or B cells were used for pretreatment[179].

Regarding platelet administration, experimental work has shown that this treatment prior to transplantation does not induce sensitisation[180,181] and is able to reproduce the beneficial effect of pretransplant blood transfusion on skin and kidney allograft survival, in different species[182-184]. In clinical transplantation, however, results of small clinical trials using random platelets transfusions before transplantation were not very encouraging. Chapman et al.[185], showed that when less than 5×10^6 leukocytes contaminates the platelets preparation no sensitisation is detected in the transfused recipients, but this pure preparations failed to improved renal allograft survival in the same way as blood did. Two other studies demonstrated that pretransplant platelet transfusions, although not associated with HLA immunisation when very pure platelet preparations (less than one leukocyte per 1×10^5 platelets) were used and producing comparable graft survival compared with protocols using blood transfusions, did result in either more severe acute tubular necrosis episodes and significantly more intense acute rejection episodes[186], or higher frequency of rejections[187] compared with recipients pretreated with random blood transfusions.

Other blood components such as purified macrophages[183] and bone marrow nucleated cells[183,188] when given before transplantation have also been shown to significantly prolong rat kidney allograft survival.

Differences in the cell dose delivered and in the timing of antigen pretreatment[176] could account for the discrepancies between some of the studies cited above.

Since different blood components can reproduce the blood transfusion effect, further "dissection" of this issue was required. The use of congenic strains of rats and mice has enabled an examination of the genetic aspects of the blood transfusion effect. Hutchinson and Morris[189] have shown that for this beneficial effect to occur blood donor and kidney donor should share part of the MHC or miH (minor histocompatibility) antigens which differ from those of the recipient. Peugh et al.[190], investigating the survival of fully vascularized heterotopic murine cardiac allografts after a single preoperative DST have shown that the sharing of the MHC antigens by the blood donor and organ donor always induced prolongation of allograft survival, whereas the sharing of miH antigens only could not reproduce the same beneficial effect. They also showed that transfusion with blood from third-party donor was effective in some strain combinations and suggested that crossreaction between blood donor and organ donor MHC antigens could account for the beneficial effect. Thus, MHC antigens have been shown to play an important role in the donor antigen pretreatment effect.

The transplantation literature is rich in data showing the beneficial effect of pretransplant blood transfusions both in the human and animal models. During the 1970's and early 1980's, an

improvement in the overall graft survival rate in human kidney transplantation of approximately 20% in one year was reported, even for cadaver organ donors, an irrespective of whether CyA was used or not[191]. However, in 1984, Fechner et al.[192] reported the results of their studies on immunologic risk factors in renal transplantation with CyA: the introduction of that drug diminished the benefits of pretransplant blood transfusions. In support for these data, two multicentre studies reported on the apparent loss of the beneficial effect of pretransplant blood transfusions[193,194]. The first of these, the Scandinavian Multicentre Study, attributed this observations to *the use of CyA*, however, the second one, the Collaborative Transplant Study (CTS), concluded that an *improved graft survival in non-transfused patients* was the main cause for the loss of the beneficial effect of blood transfusions before transplantation. It could be that better management of the transplant patient, both in terms of better immunosuppression after the addition of CyA to the therapeutic regimen (allowing the use of lower doses of each drug, in a combined therapy) and better recognition and management of rejection episodes and infections (usually presented as an "attenuated" clinical picture in the immunosuppressed patient), positively influenced both patient and graft survival to an extent that the benefits of blood transfusions were not noticeable any more.

Based on the evidence that the benefits of blood transfusions on the anti-allograft immune reactivity had "mysteriously" disappeared combined with its associated risks, say allosentization of future recipients[195] and the transmission of infectious diseases, as well as the recent availability of recombinant erythropoietin (as a substitute for blood transfusions in the renal patient)[196,197], many transplant units all over the world revised their transfusion policy and stopped deliberately transfusing patients awaiting transplantion.

In contrast to the data previously presented, the results of the Transplant Registry of the University of California, Los Angeles (UCLA), have shown a persistence of the beneficial effect of pre-transplant blood transfusion on allograft survival. In these reports[198,199], a 7% overall improvement in the 1-year graft survival was observed in transfused patients, after 3 or 4 blood transfusions. Interestingly, when patients received a graft mismatched at 2 DR antigens, transfusion improved graft survival by 10%, whereas in those receiving zero HLA-DR mismatched grafts, no benefit of transfusion was observed. This is such a striking difference that Terasaki's group classified HLA matching and blood transfusions as an "either/or situation"[198]. From these observations, it seems that HLA-DR matching masks any benefit that could be observed with blood transfusions.

So, if both HLA-DR matching and pretransplant blood transfusions can benefit the survival of an allograft, why not take advantage of them at the same time? This is what the group from the University of Leiden did. Working on the hypothesis that the heterogeneous results found in the literature concerning the effects of blood transfusions before transplantation were due, not only differences in the time interval between transfusions and transplantation, the number of transfusions and the cellular composition of the transfused blood, but also to some degree of HLA compatibility between blood donor and recipient, they designed a study using HLA-matched blood transfusions. They were able to show that, after a single blood transfusion from an unrelated donor, there was a 20% difference in kidney graft survival in favour of those patients who shared one HLA-DR antigen with their blood donors compared to those who were completely HLA-DR mismatched[200]. They also found a significantly lower number of histologically proven rejection episodes in patients receiving HLA-DR shared blood transfusions. Interestingly, the benefits of HLA-DR sharing between blood donor and recipient were independent of the degree of HLA compatibility between kidney recipient and donor[200], demonstrating a clear influence in the immunologic anti-graft reactivity derived from the blood transfusion.

In support for a beneficial effect of HLA-shared blood transfusions, Van Twuyver et al. have shown that when blood donor and recipient share at least one HLA-DR and one HLA-B locus product or a whole haplotype, a significant decrease of the cytotoxic T cell precursor frequency against donor cells is observed 4 weeks after transfusion. This phenomenon is donor-specific, as the precursor frequency against third-party was unchanged[201]. Also, a completely HLA-DR mismatched blood transfusion did not induce such change in the blood-donor-specific cytotoxic T cell precursor frequency.

In Brazil, two studies have shown the absence of beneficial effects on kidney graft survival after donor-specific blood transfusions (DST). The first[202], analysed the effects of DST on the survival of grafts from living unrelated donors and the second[203], on grafts from living related donors. Nowadays, most transplant centres do not deliberately transfuse their patients before transplantation, following this world-wide trend.

Whatever the mechanism(s) responsible for the "transfusion effect", the reality now is that its actual role in clinical transplantion is under scrutiny and few transplant centres continue to transfuse their patients before transplantation, for the reasons explained above. But, has it really lost its effect for some "mysterious" reason? As this is an unlikely possibility, the main reason for these observations on the apparent loss of beneficial effects on graft survival might be somewhere between an improvement in patient care, a better understanding and management of rejection episodes and infections, and the use of better immunosuppression. As a consequence, graft survival in the non-transfused population has improved.

It is likely that a better understanding of the mechanisms underlying the "blood transfusion effect" and a more judicious use of pretransplant blood transfusions could still benefit the recipients of an organ graft.

MHC MOLECULES AND TRANSPLANTATION TOLERANCE

Madsen et al.[110], using L-cells of recipient origin ($H2^k$ background) transfected with donor MHC genes ($H2^b$ background) (class I and II) injected these cells into C3H/He ($H2^k$) mice 7-14 days before transplanting heterotopic heart allografts from C57BL/10 ($H2^b$) donors to the previously injected mice. This study showed that: 1) pretreatment with donor MHC class I locus products (D^b and K^b) specifically prolonged donor allograft survival in the absence of class II MHC antigens or miH; 2) this effect was critically dependent upon the total antigen load delivered to the recipient (optinal cell dose for L-D^b cells = 10^7 and for L-K^b cells = 5×10^6 cells) a previously demonstrated by Wood et al.[176] on the effect of purified erythrocytes in another allogeneic system; 3) Class II locus products (IA^b) pretreatment also prolonged graft survival at the appropriate cell dose; 4) there was an immunodominance (relating to the tolerogenic and immunogenic potentials) of the K locus product over the IA locus products and of the latter over the D locus products of the $H2^b$ haplotype at equivalent antigenic loads. K^b antigens prolonged allograft survival more effectively than IA^b antigens and these antigens were slightly more effective than D^b antigens ($K^b > IA^b > D^b$); 5) pretreatment of recipients with combinations of donors-specific H2 molecules produced additive effects ($K^b + IA^b + D^b > IA^b + K^b > K^b$) in the prolongation of allograft survival.

In another study from our laboratory L-cells of the $H2^k$ background were transfected with MHC genes from another donor strain ($H2^d$ background) and injected into C3H/He mice ($H2^k$) 1 to 2 weeks before transplantation of a BALB/c ($H2^d$) heterotopic heart allograft. These results confirmed that isolated MHC locus products can induce donor-specific allograft survival prolongation. In this strain combination there was also a hierarchy between the different MHC antigens with regard to their tolerogenic potential ($D^d > K^d > L^d = IE^d = 1A^d$)[111].

These studies confirm the idea that pretreatment of a future recipient with donor-type MHC antigens is able to induce donor-specific hyporesponsiveness and suggest that these antigens play an important role in the "blood transfusion effect". Importantly in most of the strain combinations where antigen is used as the pretreatment protocol (be it blood, blood components or transfected cells expressing donor MHC antigens) donor-specific graft survival prolongation is obtained. However, *the unresponsiveness induced, although donor-specific, is incomplete, as most grafts were eventually rejected.* In most cases, it is clear that some form of non-specific immunosuppression has to be given for a potentation of the effects of antigen pretreatment[204,205]. Clinically this is reflected by the continuous need for immunosuppressive drugs to be taken by the graft recipient.

TOLERANCE INDUCTION BEFORE TRANSPLANTATION

From the description of the previous work carried out in our own and other laboratories presented in this review, it is clear that the induction of transplantion tolerance has already been achieved experimentally. In the clinical setting, however, it still seems to be "far from our reach". This is reflected by the continuous need for non-specific immunosuppressive drugs which effectively prevent the onset of acute graft rejection, but do not seem to interfere with the steady attrition of grafts due to chronic rejection.

Indeed, although one likely explanation for the difficulty of inducing tolerance to allografts in transplanted patients might rely on the complexity of the immune system of the higher vertebrates, especially humans, there is also a possibility that the non-specific immunosuppressive agents might themselves interfere with the induction and maintenance of the immunological mechanisms responsible for the establishment of immunological tolerance.

A possible way to circumvent this problem would be by attempting the induction of immu-

nological unresponsiveness *before transplantation*. This has already been achieved in the experimental setting, by the combined pretreatment with a depleting anti-CD4 antibody and blood transfusions, either donor-specific[159], or random[206]. The clinical application of these strategies is limited, however, for 3 main reasons: In the first case, because blood from the donor should be available in advance in order for the tolerance-inducing protocol to be given to a future transplant recipient. This is obviously not possible in the case of cadaver donors. Secondly, although tolerance induction could be attempted before transplantation, blood transfusions, with its attendant risks, would still have to be used, and thirdly, because both of these strategies use a depleting anti-CD4 antibody as immunosuppression, and, as it will be discussed later, this might not be a safe form of immunosuppressive therapy.

We sought to circumvent this problems by attempting the induction of transplantation tolerance before transplantation using a combined pretreatment consisting of recipient cells expressing single donor MHC locus products, and an anti-CD4 antibody. Initially, we used a depleting anti-CD4, and later we attempted to modify this tolerance-inducing protocol to make it potentially a clinically safer protocol by investigating the effects of using a non-depleting anti-CD4 antibody in combination with donor alloantigen pretreatment. We found that single donor MHC locus products can induce immunological unresponsiveness to fully allogeneic heart grafts when given to recipients in combination with a depleting anti-CD4 mAb before transplantation, provided the transfected cells are given at their optimal antigenic load and they express the immunodominant MHC molecules[207]. Figure 41.5 illustrates these findings, by showing graft survival after pretreatment with the anti-CD4 antibody YTA 3.1.2 and different doses of L-K^b cells.

So far we have not been able to reproduce these findings using a non-depleting anti-CD4 mAb (data not shown). However, we did induce immunological unresponsiveness to heart allografts in mice treated with a non-depleting anti-CD4 antibody and DST 28 days before transplantation (Figure 41.6)[208]. It is likely, in the first case, that a new dose-response experiment may demonstrate that, when transfectants are used with a non-depleting anti-CD4 antibody, these cells have to be given at different numbers in order that their optimal effects on graft survival is observed. As, nonetheless, excellent results were seen with these antibodies and DST, this strategy becomes potentially attractive for clinical application.

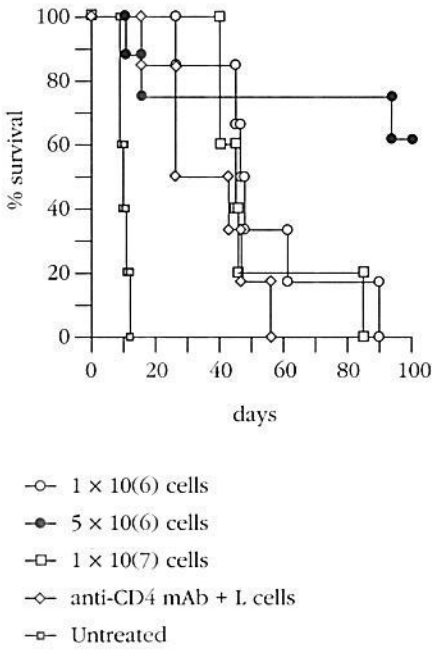


Figure 41.5 – C3H/He mice were pretreated with the depleting anti-CD4 mAb YTA 3.1.2 and L-Kb cells 28 days before transplantation of a heart graft from a C57BL/10 donor. No other form of treatment was given and the graft function was followed for 100 days.

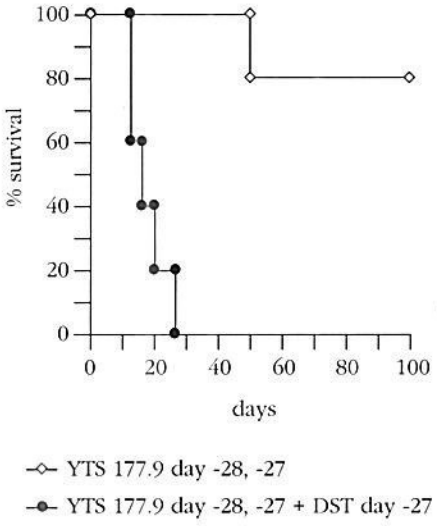


Figure 41.6 – C3H/He mice were pretreated with the non-depleting anti-CD4 mAb YTS 177.9. Half of these mice also received a single DST whereas the other half received no further treatment. 28 days later the pretreated mice received a heart graft from a C57BL/10 donor and the graft fuction was followed for 100 days.

CONCLUSIONS

The induction of immunologic tolerance is still a major goal to be achieved in clinical transplantation. Attempts made so far were unsuccessful probably because non-specific immunosuppressive drugs had to be continuously given to transplant recipients, in order to prevent the sensitization against donor antigens and also against any xenoprotein used for immunotherapy (for example, OKT3).

Certainly, the demonstration, in the rodent, that tolerance can be induced before transplantation, and, therefore, without the need for non-specific immunosuppression at the time the inducing protocol is given, is very "illuminating" and brings new hopes that, in the near future, we will be able reproduce it in the clinical setting. This would tackle two basic problems in clinical transplantation: on the one hand, finish, or at least decrease the occurrence of rejections and on the other hand, solve the problems secondary to the immunosuppression used to prevent and treat rejection: the emergence of infections and cancer.

REFERENCES

1. HAMILTON D: Kidney transplantation: a history, in *Kidney Transplantation: Principles and Practice*, edited by Morris PJ, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1994, pp 1-7.
2. HUME DM, MERRIL JP, MILLER BF, THORN GW: Experiences with renal homotransplantation in the human: report of nine cases. *J Clin Invest* 34:327-382, 1955.
3. STARZL TE, MARCHIORO TL, WADDELL WR: The reversal of rejection in human renal homografts with subsequent development of homograft tolerance. *Surg Gynecol Obstet* 117:385-398, 1963.
4. POWELSON JA, COSIMI BA: Antilymphocyte globulin and monoclonal antibodies, in *Kidney Transplantation. Principles and Practice*, edited by Morris PJ, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1994, pp 215-232.
5. CALNE RY, ROLLES K, WHITE DJG, THIRU S, EVANS DB, McMASTER P, DUNN DC, CRADDOCK GN, HENDERSON RG, AZIZ S, LEWIS P: Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. *Lancet* 2:1033-1039, 1979.
6. CALNE RY, ROLLES K, WHITE DJG, THIRU S, EVANS DB, HENDERSON R, HAMILTON DL, BOONE N, McMASTER P, GIBBY O, WILLIAMS R: Cyclosporin-A in clinical organ grafting. *Transplant Proc*, 13:349-358, 1981.
7. Cyclosporin A as sole immunosuppressive agent in recipients of kidney allografts from cadaver donors. Preliminary results of a European multicentre trial. *Lancet* 2:57-63, 1982.
8. Cyclosporin in cadaveric renal transplantation: one-year follow-up of a multicentre trial. *Lancet* 2:986-989, 1983.
9. A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. *N Engl J Med* 309:809-815, 1983.
10. A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. Analysis at three years. The Canadian Multicentre Transplant Study Group. *N Engl J Med* 314:1219-1225, 1986.
11. ANDERSSON J, NAGY S, GROTH CG, ANDERSSON U: Effects of FK506 and cyclosporin A on cytokine production studied in vitro at a single-cell level. *Immunology* 75:136-142, 1992.
12. DUMONT FJ, MELINO MR, STARUCH MJ, KOPRAK SL, FISCHER PA, SIGAL NH: The immunosuppressive macrolides FK-506 and rapamycin act as reciprocal antagonists in murine T cells. *J Immunol* 144:1418-1424, 1990.
13. DUMONT FJ, STARUCH MJ, KOPRAK SL, MELINO MR, SIGAL NH: Distinct mechanisms of suppression of murine T cell activation by the related macrolides FK-506 and rapamycin. *J Immunol* 144:251-258, 1990.
14. ENSLEY RD, BRISTOW MR, OLSEN SL, TAYLOR DO, HAMMOND EH, O'CONNELL JB, DUNN D, OSBURN L, JONES KW, KAUFFMAN RS: The use of mycophenolate mofetil (RS-61443) in human heart transplant recipients. *Transplantation* 56:75-82, 1993.
15. RUBIN RH: Infectious disease complications of renal transplantation. (Nephrology forum). *Kidney Int* 44:221-236, 1993.
16. BARRETT WL, FIRST MR, ARON BS, PENN I: Clinical course of malignancies in renal transplant recipients. *Cancer* 72:2186-2189, 1993.
17. HEAF J: Bone marrow function during quadruple immunosuppressive therapy after renal transplantation. *Clin Nephrol* 40:332-338, 1993.
18. MOR E, SCHWERSENZ A, SHEINER PA, EMRE S, SCHWARTZ ME, MILLER CM: Reversal of gastrointestinal toxicity associated with long-term FK506 immunosuppression by conversion to cyclosporine in liver transplant recipients. *Transplantation* 57:1130-1132, 1994.
19. GRAHAM RM: Cyclosporine: mechanisms of action and toxicity. *Cleve Clin J Med* 61:308-313, 1994.
20. NUSSBAUM ES, MAXWELL RE, BITTERMAN PB, HERTZ MI, BULA W, LATCHAW RE: Cyclosporine A toxicity presenting with acute cerebellar edema and brainstem compression. (Case report) *J Neurosurg* 82(6):1068-1070, 1995.
21. AZUMA H, TILNEY NL: Chronic graft rejection. *Curr Opin Immunol* 6(5):770-776, 1994.
22. BILLINGHAM RE, BRENT L, MEDAWAR PB: Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 172:603-606, 1953.
23. GORER PA: The genetic and antigenic basis of tumour transplantation. *J Pathol* 44:691-697, 1937.
24. SNELL GD: Studies in histocompatibility. *Science* 213(4504):172-178, 1981.
25. DAUSSET J: The major histocompatibility complex in man. Past, present, and future concepts. *Science* 213:1469-1474, 1981.
26. KLEIN J, SATTA Y, O'H UC, TAKAHATA N: The molecular descent of the major histocompatibility complex. *Annu Rev Immunol* 11(269):269-295, 1993.
27. KOLBLE K, REID KB: Genetic deficiencies of the complement system and association with disease – early components. *Int Rev Immunol* 10(1):17-36, 1993.
28. JOHNSTON RJ: The complement system in host defense and inflammation: the cutting edges of a double edged sword. *Pediatr Infect Dis J* 12(11):933-941, 1993.
29. DEITCH EA, MANCINI MC: Complement receptors in shock and transplantation. *Arch Surg* 128(11):1222-1226, 1993.
30. SOMERVILLE CA, D'APICE AJ: Future directions in transplantation: xenotransplantation. *Kidney Int* 44(suppl 42):S112-S121, 1993.
31. SRIVASTAVA PK, UDONO H, BLACHERE NE, LI Z: Heat shock proteins transfer peptides during antigen processing and CTL priming. *Immunogenetics* 39(2):93-98, 1994.
32. RAMMENSEE HG, FALK K, ROTZSCHKE O: Peptides naturally presented by MHC class I molecules. *Annu Rev Immunol* 11(213):213-244, 1993.

33. von BOEHMER H: Thymic selection: a matter of life and death. *Immunol Today* 13(11):454-458, 1992.
34. FEBRE JW: Regulation of MHC expression. *Immunol Lett* 29:3-8, 1991.
35. ROCK KL, GRAMM C, ROTHSTEIN L, CLARK K, STEIN R, DICK L, HWANG D, GOLDBERG AL: Inhibitors of the proteasome block the degradation of most cell proteins and the generation of peptides presented on MHC class I molecules. *Cell* 78:761-771, 1994.
36. TOWNSEND A, TROWSDALE J: The transporters associated with antigen presentation. *Semin Cell Biol* 4(1):53-61, 1993.
37. PLOEGH HL, CANNON LE, STROMINGER JL: Cell-free translation of the mRNAs for the heavy and light chains of HLA-A and HLA-B antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:2273-2277, 1979.
38. TOWNSEND A, ÖHLÉN C, BASTIN J, LJUNGGREN HG, FOSTER L, KÄRRE K: Association of class I major histocompatibility heavy and light chains induced by viral peptides [see comments]. *Nature* 340:443-448, 1989.
39. JACKSON MR, COHEN-DOYE MF, PETERSON PA, WILLIAMS, DB: Regulation of MHC class I transport by the molecular chaperone, calnexin (p88, IP90). *Science* 263:384-387, 1994.
40. SWAIN SL: T cell subsets and the recognition of MHC class. *Immunol Rev* 74:129-142, 1983.
41. BJORKMAN PJ, SAPER MA, SAMRAOUI B, BENNETT WS, STROMINGER JL, WILEY DC: Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 329:506-512, 1987.
42. MADDEN DR, GORGA JC, STROMINGER JL, WILEY DC: The three-dimensional structure of HLA-B27 at 2.1 Å resolution suggests a general mechanism for tight peptide binding to MHC. *Cell* 70:1035-1048, 1992.
43. ZHANG W, YOUNG ACM, IMARAI M, NATHENSON SG, SACCHETTINI JC: Crystal structure of the major histocompatibility complex class I H-2Kb molecule containing a single viral peptide: implications for peptide binding and T-cell receptor recognition. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:8403-8407, 1992.
44. MATSUMURA M, FREMONT DH, PETERSON PA, WILSON IA: Emerging principles for the recognition of peptide antigens by MHC class I molecules [see comments]. *Science* 257(5072):927-934, 1992.
45. FREMONT DH, MATSUMURA M, STURA EA, PETERSON PA, WILSON IA: Crystal structures of two viral peptides in complex with murine MHC class I H-2Kb [see comments]. *Science* 257:919-934, 1992.
46. CRESSWELL P: Assembly, transport, and function of MHC class II molecules. *Annu Rev Immunol* 12:259-293, 1994.
47. NEWCOMB JR, CRESSWELL P: Characterization of endogenous peptides bound to purified HLA-DR molecules and their absence from invariant chain-associated alpha beta dimers. *J Immunol* 150(2):499-507, 1993.
48. LONG EO, LAVAUTE T, PINET V, JARAQUEMADA D: Invariant chain prevents the HLA-DR-restricted presentation of a cytosolic peptide. *J Immunol* 153(4):1487-1494, 1994.
49. SETTE A, CEMAN S, KUBO RT, SAKAGUCHI K, APPELLA E, HUNT DF, DAVIS H, SHABANOWITZ MJ, RUDERSDORF R, GREY HM, DEMARS R: Invariant chain peptides in most HLA-DR molecules of an antigen-processing mutant. *Science* 258:1801-1804, 1992.
50. HUNT DF, MICHEL H, DICKINSON TA, SHABANOWITZ J, COX AL, SAKAGUCHI K, APPELLA E, GREY HM, SETTE A: Peptides presented to the immune system by the murine class II major histocompatibility complex molecule I-Ad. *Science* 256:1817-1820, 1992.
51. CHICZ RM, URBAN RG, GORGA JC, VIGNALI DAA, LANE WS, STROMINGER JL: Specificity and promiscuity among naturally processed peptides bound to HLA-DR alleles. *J Exp Med* 178:27-47, 1993.
52. GAUTAM AM, PEARSON C, QUINN V, McDEVITT HO, MILBURN PJ: Binding of an invariant-chain peptide, CLIP, to I-A major histocompatibility complex class II molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:335-339, 1995.
53. ROCHE PA, MARKS MS, CRESSWELL P: Formation of a nine-subunit complex by HLA class II glycoproteins and the invariant chain. [letter] *Nature* 354(6352):392-394, 1991.
54. NEEFJES JJ, PLOEGH HL: Inhibition of endosomal proteolytic activity by leupeptin blocks surface expression of MHC class II molecules and their conversion to SDS resistance alpha beta heterodimers in endosomes. *EMBO J* 11(2):411-416, 1992.
55. DAVIDSON HW, REID PA, LANZAVECCHIA A, WATTS C: Processed antigen binds to newly synthesized MHC class II molecules in antigen-specific B lymphocytes. *Cell* 67:105-116, 1991.
56. ANDERSON KS, CRESSWELL P: A role for calnexin (IP90) in the assembly of class II MHC molecules. *EMBO J* 13(3):675-682, 1994.
57. HARDING CV, GEUZE HJ: Immunogenic peptides bind to class II MHC molecules in an early lysosomal compartment. *J Immunol* 151(8):3988-3998, 1993.
58. DENZIN LK, ROBBINS NF, CARBOY-NEWCOMB C, CRESSWELL P: Assembly and intracellular transport of HLA-DM and correction of the class I antigen-processing defect in T2 cells. *Immunity* 1(7):595-606, 1994.
59. DENZIN LK, CRESSWELL P: HLA-DM induces CLIP dissociation from MHC class II alpha beta dimers and facilitates peptide loading. *Cell* 82(1):155-165, 1995.
60. DIALYNAS DP, WILDE DB, MARRACK P, PIERRES A, WALL KA, HAVRAN W, OTTEN G, LOKEN MR, PIERRES M, KAPPLER J, MARRACK P: Characterization of the murine antigenic determinant, designated L3T4a, recognized by monoclonal antibody GK1.5: expression of L3T4a by functional T cell clones appears to correlated primarily with class II MHC antigen-reactivity. *Immunol Rev* 74(29):29-56, 1983.
61. BROWN JH, JARDETZKY TS, GORGA JC, STERN LJ, URBAN RG, STROMINGER JL, WILEY DC: Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. [see comments]. *Nature* 364(6432):33-39, 1993.
62. STERN LJ, BROWN JH, JARDETZKY TS, GORGA JC, URBAN RG, STROMINGER JL, WILEY DC: Crystal structure of the human class II MHC protein HLA-DR1 complexed with an influenza virus peptide. *Nature* 368:215-221, 1994.
63. MATSUI K, BONIFACE JJ, REAY PA, SCHILD H, FAZEKAS de St GROTH B, DAVIS MM: Low affinity interaction of peptide-MHC complexes with T cell receptors. *Science* 254(5039):1788-1794, 1991.
64. ROCK KL, ROTHSTEIN L, GAMBLE S, FLEISCHACKER C: Characterization of antigen-presenting cells that present exogenous antigens in association class I MHC molecules. *J Immunol* 150(2):438-446, 1993.
65. PFEIFER JD, WICK MJ, ROBERTS RL, FINDLAY K, NORMARK SJ, HARDING CV: Phagocytic processing of bacterial antigens for class I MHC presentation to T cells. *Nature* 361(6410):359-362, 1993.
66. HARDING CV, SONG R: Phagocytic processing of exogenous particulate antigens by macrophages for presentation by class I MHC molecules. *J Immunol* 153(11):4925-4933, 1994.
67. PINET V, MALNATI MS, LONG EO: Two processing pathways for the MCH class II-restricted presentation of exogenous influenza virus antigen. *J Immunol* 152(10):4852-4860, 1994.
68. KOVACSOVICS BM, ROCK KL: A phagosome-to-cytosol pathway for exogenous antigens presented on MHC class I molecules. *Science* 267(5195):243-246, 1995.

69. BEVAN M: Antigen presentation to cytotoxic T lymphocytes in vivo. [commentary] *J Exp Med* 182:639-641, 1995.
70. MARODON G, ROCHA B: Generation of mature T cell populations in the thymus: CD4 or CD8 down-regulation occurs at different stages of thymocyte differentiation. *Eur J Immunol* 24:196-204, 1994.
71. MINAMI Y, WEISSMAN AM, SAMELSON LE, KLAUSNER RD: Building a multichain receptor: synthesis, degradation, and assembly of the T-cell antigen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:2688-2692, 1987.
72. BANIYASH M, GARCIA MP, BONIFACINO JS, SAMELSON LE, KLAUSNER RD: Disulfide linkage of the zeta and eta chains of the T cell receptor. Possible identification of two structural classes of receptors. *J Biol Chem* 263(20):9874-9878, 1988.
73. IRVING BA, WEISS A: The cytoplasmic domain of the T cell receptor zeta chain is sufficient to couple to receptor-associated signal transduction pathways. *Cell* 64(5):891-901, 1991.
74. WILDE DB, MARRACK P, KAPPLER J, DIALYNAS DP, FITCH FW: Evidence implicating L3T4 in class II MHC antigen reactivity: monoclonal antibody GK 1.5 (anti-L3T4) blocks class I MHC antigen-specific proliferation, release of lymphokines, and binding by cloned murine helper T lymphocytes. *J Immunol* 131(5):2178, 1983.
75. DOYLE C, STROMINGER JL: Interaction between CD4 and class II MHC molecules mediates cell adhesion. [letter] *Nature* 330(6145):256-259, 1987.
76. GAY D, MADDON P, SEKALY R, TALLE MA, GODFREY M, LONG E, GOLDSTEIN G, CHESS L, AXEL R, KAPPLER J, MARRACK P: Functional interaction between human T-cell protein CD4 and the major histocompatibility complex HLA-DR antigen. *Nature* 328(6131):626-629, 1987.
77. SALTER RD, NORMENT AM, CHEN BP, CLAYBERG C, KRENSKY AM, LITTMAN DR, PARHAM P: Polymorphism in the alpha 3 domain of HLA-A molecules affects binding to CD8 [letter] *Nature* 338(6213):345-347, 1989.
78. SALTER RD, BENJAMIN RJ, WESLEY PK, BUXTON SE, GARRETT TPJ, CLAYBERGER C, KRENSKY AM, NORMENT AM, LITTMAN DR, PARHAM P: A binding site for the T-cell co-receptor CD8 on the alpha 3 domain of HLA-A2. *Nature* 345(6270):41-46, 1990.
79. REINHERZ EL, KUNG PC, GOLDSTEIN G, SCHLOSSMAN SF: Separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 76(8):4061-4065, 1979.
80. RAHEMTULLA A, FUNG LW, SCHILHAM MW, KÜNDIG TM, SAMBHARA SR, NARENDRAN A, ARABIAN A, WAKEHAM A, PAIJE CJ, ZINKERNAGEL RM, MILLER RC, MAK TW: Normal development and function of CD8+ cells but markedly decreased helper cell activity in mice lacking CD4. [letter] *Nature* 353(6340):180-184, 1991.
81. KÖNIG R, HUANG LY, GERMAIN RN: MHC class II interaction with CD4 mediated by a region analogous to the MHC class I binding site for CD8. *Nature* 356(6372):796-798, 1992.
82. VEILLETTE A, BOOKMAN MA, HORAK EM, BOLEN JB: The CD4 and CD8 T cell surface antigens are associated with the internal membrane tyrosine-protein kinase $p56^{lck}$. *Cell* 55:301-308, 1988.
83. KUPFER A, SINGER SJ, JANEWAY CJ, SWAIN SL: Coclustering of CD4 (L3T4) molecule with the T-cell receptor in induced by specific direct interaction of helper T cells and antigen-presenting cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 84(16):5888-5892, 1987.
84. KUPFER A, SINGER SJ: Molecular dynamics in the membranes of helper T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 85(21):8216-8220, 1988.
85. KUPFER A, SINGER SJ: The specific interaction of helper T cells and antigen-presenting B cells. IV. Membrane and cytoskeletal reorganizations in the bound T cell as a function of antigen dose. *J Exp Med* 170(5):1697-1713, 1989.
86. MICELI MC, PARNES JR: The roles of CD4 and CD8 in T cell activation. *Semin Immunol* 3(3):133-141, 1991.
87. MICELI MC, von HOEGEN P, PARNES JR: Adhesion versus coreceptor function of CD4 and CD8: role of the cytoplasmic tail in coreceptor activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(7):2623-2627, 1991.
88. GLAICHENHAUS N, SHASTRI N, LITTMAN DR, TURNER JM: Requirement for association of p56lck with CD4 in antigen-specific signal transduction in T cells. *Cell* 64(3):511-520, 1991.
89. SHIMONKEVITZ R, LUESCHER B, CEROTTINI JC, MacDONALD HR: Clonal analysis of cytolytic T lymphocyte-mediated lysis of target cells with inducible antigen expression: correlation between antigen density and requirement for Lyt-2/3 function. *J Immunol* 135(2):892-899, 1985.
90. MARYANSKI JL, PALA P, CEROTTINI JC, MacDONALD HR: Antigen recognition by H-2-restricted cytolytic T lymphocytes: inhibition of cytolysis by anti-CD8 monoclonal antibodies depends upon both concentration and primary sequence of peptide antigen. *Eur J Immunol* 18(11):1863-1866, 1988.
91. HARDING CV, UNANUE ER: Quantitation of antigen-presenting cell MHC class II/peptide complexes necessary for T-cell stimulation. (letter) *Nature* 346(6284):574-576, 1990.
92. COBBOLD SP, MARTIN G, WALDMANN H: The induction of skin graft tolerance in major histocompatibility complex-mismatched or primed recipients: primed T cells can be tolerized in the periphery with anti-CD4 and anti-CD8 antibodies. *Eur J Immunol* 20(12):2747-2755, 1990.
93. MORRIS PJ: Results of renal transplantation, in *Kidney Transplantation: Principles and Practice*, edited by Morris PJ, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1994, pp 504-523.
94. BROSTOFF SW, MASON DW: Experimental allergic encephalomyelitis: successfull treatment in vivo with a monoclonal antibody that recognizes T helper cells. *J Immunol* 133(4):1938-1942, 1984.
95. WOFSY D, SEAMAN WE: Reversal of advanced murine lupus in NZB/NZW F1 mice by treatment with monoclonal antibody to L3T4. *J Immunol* 138(10):3247-3253, 1987.
96. HUTCHINGS P, O'REILLY L, PARISH NM, WALDMANN H, COOKE A: The use of a non-depleting anti-CD4 monoclonal antibody to re-establish tolerance to beta cells in NOD mice. *Eur J Immunol* 22(7):1913-1918, 1992.
97. BRETSCHER, P, COHN M: A theory of self-nonself discrimination. *Science* 169(950):1042-1049, 1970.
98. JENKINS MK, PARDOLL DM, MIZUGUCHI J, CHUSED TM, SCHWARTZ RH: Molecular events in the induction of a nonresponsive state in interleukin 2-producing helper T-lymphocyte clones. *Proc Natl Acad Sci USA* 84(15):5409-5413, 1987.
99. JENKINS MK, SCHWARTZ RH: Antigen presentation by chemically modified splenocytes induces antigen-specific T cell unresponsiveness in vitro and in vivo. *J Exp Med* 165(2):302-319, 1987.
100. GASPARI AA, JENKINS MK, KATZ SI: Class II MHC-bearing keratinocytes induce antigen-specific unresponsiveness in hapten-specific Th1 clones. *J Immunol* 141(7):2216-2220, 1988.
101. JEVNIKAR AM, SINGER GG, COFFMAN T, GLIMCHER LH, KELLEY VE: Transgenic tubular cell expression of class II is insufficient to initiate immune renal injury. *J Am Soc Nephrol* 3(12):1972-1977, 1993.
102. QUILL H, SCHWARTZ RH: Stimulation of normal inducer T cell clones with antigen presented by purified Ia molecules in planar lipid membranes: specific induction of a long-lived state o proliferative nonresponsiveness. *J Immunol* 138(11):3704-3712, 1987.

103. JENKINS MK, CHEN CA, JUNG G, MUELLER DL, SCHWARTZ RH: Inhibition of antigen-specific proliferation of type 1 murine T cell clones after stimulation with immobilized anti-CD3 monoclonal antibody. *J Immunol* 144(1):16-22, 1990.
104. TALMAGE DW, DART G, RADOVICH J, LAFFERTY KJ: Activation of transplant immunity: effect of donor leukocytes on thyroid allograft rejection. *Science* 191(4225): 385-388, 1976.
105. STEINMAN RM, COHN ZA: Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 137(5): 1142-1162, 1973.
106. OHASHI PS, OEHEN S, BUERKI K, PIRCHER H, OHASHI CT, ODERMATT B, MALISSEN B, ZINKERNAGEL RM, HENGARTNER H: Ablation of "tolerance" and induction of diabetes by virus infection in viral antigen transgenic mice. *Cell* 65(2):305-318, 1991.
107. OLDSTONE MB, NERENBERG M, SOUTHERN P, PRICE J, LEWICKI H: Virus infection triggers insulin-dependent diabetes mellitus in a transgenic model: role of anti-self (virus) immune response. *Cell* 65(2):319-331,1991.
108. CHEN L, ASHE S, BRADY WA, HELLSTRÖM I, HELLSTRÖM KE, LEDBETTER JA, McGOWAN P, LINSLEY PS: Costimulation of antitumor immunity by the B7 counterreceptor for the T lymphocyte molecules CD28 and CTLA-4. *Cell* 71(7):1093-1102, 1992.
109. TOWNSEND SE, ALLISON JP: Tumor rejection after direct costimulation of CD8+ T cells by B7-transfected melanoma cells. [see comments]. *Science* 259(5093):368-370, 1993.
110. MADSEN JC, SUPERINA RA, WOOD KJ, MORRIS PJ: Immunological unresponsiveness induced by recipient cells transfected with donor MHC genes. *Nature* 332(6160): 161-164, 1988.
111. BELL IL: An investigation into the induction of specific immunological unresponsiveness using donor major histocompatibility complex antigens. University of Oxford, D. Phil Thesis, 1994.
112. LINSLEY PS, BRADY W, GROSMAIRE L, ARUFFO A, DAMLE NK, LEDBETTER JA: Binding of the B cell activation antigen B7 to CD28 costimulates T cell proliferation and interleukin 2 mRNA accumulation. *J Exp Med* 173(3):721-730, 1991.
113. SCHWARTZ RH: Costimulation of T lymphocytes: the role of CD28, CTLA-4, and B7/BB1 in interleukin-2 production and immunotherapy. *Cell* 71(7):1065-1068, 1992.
114. LANIER LL, O'FALLON S, SOMOZA C, PHILLIPS JH, LINSLEY PS, OKUMURA K, ITO D, AZUMA M: CD80 (B7) and CD86 (B70) provide similar costimulatory signals for T cell proliferation, cytokine production, and generation of CTL. *J Immunol* 154(1):97-105, 1995.
115. AZUMA M, YSSEL H, PHILLIPS JH, SPITS H, LANIER LL: Functional expression of B7/BB1 on activated T lymphocytes. *J Exp Med* 117(3):845-850, 1993.
116. AZUMA M, ITO D, YAGITA H, OKUMURA K, PHILLIPS JH, LANIER LL, SOMOZA C: B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. (letter) *Nature* 366(6450):76-76, 1993.
117. LINSLEY PS, BRADY W, URNES M, GROSMAIRE LS, DAMLE NK, LEDBETTER JA: CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *J Exp Med* 174(3):561-569, 1991.
118. LINSLEY PS, GREENE JL, TAN P, BRADSHAW J, LEDBETTER JA, ANASETTI C, DAMLE NK: Coexpression and functional cooperation of CTLA-4 and CD28 on activated T lymphocytes. *J Exp Med* 176(6):1595-1604, 1992.
119. DAMLE NK, KLUSSMAN K, LEYTZE G, MYRDAL S, ARUFF A, LEDBETTER JA, LINSLEY PS: Costimulation of T lymphocytes with integrin ligands intercellular adhesion molecule-1 or vascular cell adhesion molecule-1 induces functional expression of CTLA-4, a second receptor for B7. *J Immunol* 152(6):2686-2697, 1994.
120. WALUNAS TL, LENSCHOW DJ, BAKKER CY, LINSLEY PS, FREEMAN GJ, GREEN JM, THOMPSON CB, BLUESTONE JA: CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1(5):405-413,1994.
121. GRIBBEN JG, FREEMAN GJ, BOUSSIOTIS VA, RENERT P, JELLIS CL, GREENFIELD E, BARBER M, RESTIVO VJ, KE X, GRAY GS, NADLER LM: CTLA-4 mediates antigen-specific apoptosis of human T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 92(3):811-815, 1995.
122. KRUMMEL MF, ALLISON JP: CD28 and CTLA-4 deliver opposing signals which regulate the response of T cells to stimulation. *J Exp Med* 182:459-465, 1995.
123. BANK I, CHESS L: Perturbation of the T4 molecule transmits a negative signal do T cells. *J Exp Med* 162(4):1294-1303, 1985.
124. WASSMER P, CHAN C, LOGDBERG L, SHEVACH EM: Role of the L3T4-antigen in T cell activation. II. Inhibition of T cell activation by monoclonal anti-L3T4 antibodies in the absence of accessory cells. *J Immunol* 135(4):2237-2242, 1985.
125. ROSOFF PM, BURAKOFF SJ, GREENSTEIN JL: The role of the L3T4 molecule in mitogen and antigen-activated signal transduction. *Cell* 49(6):845-853, 1987.
126. NEWELL MK, HAUGHN LJ, MAROUN CR, JULIUS MH: Death of mature T cells by separate ligation of CD4 and the T-cell receptor for antigen. *Nature* 347(6290):286-289, 1990.
127. KOHLER G, MILSTEIN C: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256(5517):495-497, 1975.
128. SHIELD III CF, COSIMI AB, TOLKOFF-RUBIN N, RUBIN RH, HERRIN J, RUSSELL PS: Use of antithymocyte globulin for reversal of acute allograft rejection. *Transplantation* 28(6):461-464,1979.
129. COSIMI AB, BURTON RC, COLVIN RB, GOLSTEIN G, DELMONICO FL, LaQUAGLIA MP, TOLKOFF-RUBIN N, RUBIN RH, HERRIN JT, RUSSELL PS: Treatment of acute renal allograft rejection with OKT3 monoclonal antibody. *Transplantation* 32(6):535-539, 1981.
130. NELSON PW, COSIMI AB, DELMONICO FL, RUBIN RH, TOLKOFF RN, FANG L, RUSSELL PS: Antithymocyte globulin as the primary treatment for renal allograft rejection. *Transplantation* 36(5):587-589, 1983.
131. CHATENOUD L, FERRAN C, LEGENDRE C, THOVARD I, MERITE S, REUTER A, GEVAERT Y, KREIS H, FRANCHIMONT P, BACH JF: In vivo cell activation following OKT3 administration. Systemic cytokine release and modulation by corticosteroids. *Transplantation* 49(4):697-702, 1990.
132. DELMONICO FL, COSIMI AB: Monoclonal antibody treatment of human allograft recipients. *Surg Gynecol Obstet* 166(1):89-98, 1988.
133. THISTLETHWAITE JJ, GABER AO, HAAG BW, ARONSON AJ, BROELSCH CE, STUART JK, STUART FP: OKT3 treatment of steroid-resistant renal allograft rejection. *Transplantation* 43(2):176-184, 1987.
134. DEBURE A, CHKOFF N, CHATENOUD L, LACOMBE M, CAMPOS H, NOEL LH, GOLDSTEIN G, BACH JF, KREIS H: One-month prophylact use of OKT3 in cadaver kidney transplant recipients. *Transplantation* 45(3):546-553, 1988.
135. BENVENISTY AI, COHEN D, STEGALL MD, HARDY MA: Improved results using OKT3 as induction immunosuppression in renal allograft recipients with delayed graft function. *Transplantation* 49(2):321-327, 1990.
136. NORMAN DJ, KAHANA L, STUART Jr FP, THISTLETHWAITE Jr JR, SHIELD III CF, MONACO A, DEHLINGER J, WU SG, van HORN A, HAVERTY TP: A randomized clinical trial of induction therapy with OKT3 in kidney transplantation. *Transplantation* 55(1):44-50, 1993.
137. VIGERAL P, CHKOFF N, CHATENOUD L, CAMPOS H, LACOMBE M, DROZ D, GOLDSTEIN G, BACH JF, KREIS H: Prophylactic use of OKT3 monoclonal antibody in ca-

daver kidney recipients. Utilization of OKT3 as the sole immunosuppressive agent. *Transplantation* 41(6):730-733, 1986.
138. OH CS, STRATTA RJ, FOX BC, SOLLINGER HW, BELZER FO, MAKI DG: Increased infections associated with the use of OKT3 for treatment of steroid-resistant rejection in renal transplantation. *Transplantation* 45(1):68-73, 1988.
139. PENN I: Cancers complicating organ transplantation [editorial; comment]. *N Engl J Med* 323(25):1767-1769, 1990.
140. LOVELAND BE, HOGARTH PM, CEREDIG R, McKENZIE IF: Cells mediating graft rejection in the mouse. I. Lyt-1 cells mediate skin graft rejection. *J Exp Med* 153(5):1044-1057, 1981.
141. DALLMAN MJ, MASON DW: Role of thymus-derived and thymus-independent cells in murine skin allograft rejection. *Transplantation* 33(3):221-223, 1982.
142. COBBOLD SP, JAYASURIA A, NASH A, PROSPERO TD, WALDMANN H: Therapy with monoclonal antibodies by elimination of T-cell subsets in vivo. *Nature* 312:548-551, 1984.
143. QIN S, COBBOLD S, TIGHE H, BENJAMIN R, WALDMANN H: CD4 monoclonal antibody pairs for immunosuppression and tolerance induction. *Eur J Immunol* 17(8):1159-1165, 1987.
144. DARBY CR, MORRIS PJ, WOOD KJ: Evidence that long-term cardiac allograft survival induced by anti-CD4 monoclonal antibody does not require depletion of CD4+ T cells. *Transplantation* 54(3):483-490, 1992.
145. WOFSY D, SEAMAN WE: Successful treatment of autoimmunity in NZB/NZW F1 mice with monoclonal antibody to L3T4. *J Exp Med* 161(2):378-391, 1985.
146. SHIZURU JA, GREGORY AK, CHAO CTB, FATHMAN CG: Islet allograft survival after a single course of treatment of recipient with antibody to L3T4. *Science* 237:278-280, 1987.
147. SHIZURU JA, SEYDEL KB, FLAVIN TF, WU AP, KONG CC, HOYT EG, FUGIMOTO N, BILLINGHAM ME, STARNES VA, FATHMAN CG: Induction of donor-specific unresponsiveness to cardiac allografts in rats by pretransplant anti-CD4 monoclonal antibody therapy. *Transplantation* 50(3):366-373, 1990.
148. MADSEN JC, PEUGH WN, WOOD KJ, MORRIS PJ: The effect of anti-L3T4 monoclonal antibody on first-set rejection of murine cardiac allografts. *Transplantation* 44:849-852, 1987.
149. CHEN Z, COBBOLD S, METCALFE S, WALDMANN H: Tolerance in the mouse to major histocompatibility complex-mismatched heart allografts, and to heart xenografts, using monoclonal antibodies to CD4 and CD8. *Eur J Immunol* 22:805-810, 1992.
150. WATSON CJ, DAVIES HS, METCALFE SM, COBBOLD SP, REBELLO PR, COLLIER DS, WALDMANN H, CALNE RY: CD4 monoclonal antibodies in the preclinical dog renal allograft model. *Transplant Proc* 25(1 Pt 1): 804-806, 1993.
151. DELMONICO FL, COSIMI AB, KAWAI T, CAVENDER D, LEE WH, JOLLIFFE LK, KNOWLES RW: Nonhuman primate responses to murine and humanized OKT4A. *Transplantation* 55(4):722-728, 1993.
152. HENELL KR, CHEEVER JM, KIMBALL JA, LYE WC, MUNAR MY, MISITI J, VITOW C, NORMAN DJ: OKT4A (a murine IgG2a anti-CD4 monoclonal antibody) in human organ transplantation: pharmacokinetics and peripheral pharmacodynamics. *Transplant Proc* 25(1 Pt 1):800-801, 1993.
153. NORMAN DJ, BENNET WM, COBANOGLU A, HERSHBERGER R, HOSENPUD JD, MEYER MM, MISITI J, OTT G, RATKOVEC R, SHIHAB F, VITOW C, BARRY JM: Use of OKT4A (a murine monoclonal anti-CD4 antibody) in human organ transplantation: initial clinical experience. *Transplant Proc* 25(1 Pt 1):802-803, 1993.
154. POWELSON JA, KNOWLES RW, DELMONICO FL, KAWAI T, MOURAD G, PREFFER FI, COLVIN RB, COSIMI AB: CDR-grafted OKT4A monoclonal antibody in cynomolgus renal allograft recipients. *Transplantation* 57(6):788-793, 1994.
155. REITER C, MEISER BM, UBERFUHR P, WENKE K, REICHENSPURNER H, KREUZER E, RIEBER EP, RIETHMULLER G, REICHART B: Selection and chimerization of a monoclonal CD4 antibody for heart transplantation. *Transplant Proc* 25(1 Pt 1):788-789, 1993.
156. LINDSEY JW, HODGKINSON S, MEHTA R, SIEGEL RC, MITCHELL DJ, LIM M, PIERCY C, TRAM T, DORFMAN L, ENZMANN D: Phase 1 clinical trial of chimeric monoclonal anti-CD4 antibody in multiple sclerosis. *Neurology* 44:413-419, 1994.
157. AHLBERG R, YI Q, PIRSKANEN R, MATELL G, SWERUP C, RIEBER EP, RIETHMULLER G, HOLM G, LEFVERT AK: Treatment of myasthenia gravis with anti-CD4 antibody: improvement correlates to decreased T-cell autoreactivity. *Neurology* 44(9):1732-1737, 1994.
158. MEISER BM, REITER C, REICHENSPURNER H, UBERFUHR P, KREUZER E, RIEBER EP, RIETHMULLER G, REICHART B: Chimeric monoclonal CD4 antibody – a novel immunosuppressant for clinical heart transplantation. *Transplantation* 58(4):419-423, 1994.
159. PEARSON TC, MADSEN JC, LARSEN CP, MORRIS PJ, WOOD KJ: Induction of transplantation tolerance in adults using donor antigen and anti-CD4 monoclonal antibody. *Transplantation* 54(3):475-483, 1992.
160. PEARSON TC, BUSHELL AR, DARBY CR, WEST LJ, MORRIS PJ, WOOD KJ: Lymphocyte changes associated with prolongation of cardiac allograft survival in adult mice using anti-CD4 monoclonal antibody. *Clin Exp Immunol* 92(2):211-217, 1993.
161. JONKER M, SLINGERLAND W, TREACY G, van EARD P, PAK KY, WILSON E, TAM S, BAKKER K, LOBUGLIO AF, RIEBER P, RIETHMULLER G, DADDONA PE, JULIUCCI J: In vivo treatment with a monoclonal chimeric anti-CD4 antibody results in prolonged depletion of circulating CD4+ cells in chimpanzees. *Clin Exp Immunol* 93(3):301-307, 1993.
162. FLEXNER RI, JOBLING JW: The promoting influence of heated tumour immulsions on tumour growth. *Proc Soc Exp Biol Med* 4:156-157, 1907.
163. CASEY AE: Experimental enhancement of malignancy in the B rabbit tumour. *Proc Soc Exp Biol Med* 29:816-818, 1932.
164. OWEN RD: Immunogenic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science* 102:400-401, 1945.
165. BURNETT FM, FENNER F: *The Production of Antibodies*. London, Macmillam, 1949, vol 1.
166. FELTON LD: The significance of antigen in animal tissues. *J Immunol* 61:107-117, 1949.
167. HATTLER Jr BG, YOUNG Jr WG, AMOS DB, HUTCHIN P, DURHAM MM: White blood cell antibodies. *Arch Surg.* (Chicago) 93(5):741-746, 1966.
168. HALASZ NA, ORLOFF MJ, HIROSE F: Increased survival of renal homografts in dogs after injection of graft donor blood. *Transplantation* 2(4):453-458, 1964.
169. LENKINS AMcL, WOODRUFF, MFA: The effect of prior administration of donor strain blood or blood constituents on the survival of cardiac allografts in rats. *Transplantation* 12(1):57-60, 1971.
170. FABRE JW, MORRIS PJ: The effect of donor strain blood pretreatment on renal allograft rejection in rats. *Transplantation* 14(5):608-617, 1972.
171. van ES AA, MARQUET RL, van ROOD JJ, KALFF MW, BALNER H: Blood-transfusions induce prolonged kidney allograft survival in rhesus monkeys. *Lancet* 1(8010):506-509, 1977.
172. MICHELSEN P: Hemodialyse et transplantation renale. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 3:162-167, 1966.

173. DOSSETOR JB, MacKINNON KJ, GAULT MH, MacLEAN LD: Cadaver kidney transplants. *Transplantation* 5(4):844-853, 1967.
174. MORRIS PJ, TING A, STOCKER J: Leukocyte antigens in renal transplantation. 1. The paradox of blood transfusions in renal transplantation. *Med J Aust* 2(24):1088-1090, 1968.
175. OPELZ G, SENGAR DP, MICKEY MR, TERASAKI PI: Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplant. *Transplant Proc* 5(1):253-259, 1973.
176. WOOD KJ, EVINS J, MORRIS PJ: Suppression of renal allograft rejection in the rat by class I antigens on purified erythrocytes. *Transplantation* 39(1):56-62, 1985.
177. LAUCHART W, ALKINS BJ, DAVIES DA: Only B lymphocytes induce active enhancement of rat cardiac allografts. *Transplantation* 29(3):259-261, 1980.
178. CRANSTON D, WOOD KJ, CARTER N, MORRIS PJ: Pretreatment with lymphocyte subpopulations and renal allograft survival in the rat. *Transplantation* 43(6):809-813, 1987.
179. CRANSTON D, WOOD KJ, CARTER NP, MORRIS PJ: Suppression of allograft rejection in the rat by pretreatment with cells of the T-helper, but not T-cytotoxic suppressor cells (abstract). *Transplant Proc* 19(1):505, 1987.
180. WELSH KI, BURGOS H, BATCHELOR JR: The immune response to allogeneic rat platelets; Ag-B antigens in matrix form lacking Ia. *Eur J Immunol* 7(5):267-272, 1977.
181. BORLEFFS JC, ROOD J, NEUHAUS P, van BALNER H: Platelet transfusions improve kidney allograft survival in rhesus monkeys without inducing cytotoxic antibodies. [letter]. *Lancet* 1(8281):1117-1118, 1982.
182. KAPNICK SJ, MONACO AP: Induction of unresponsiveness to skin allografts with donor-strain platelets in antilymphocyte-serum-treated mice. *Transplant Proc* 11(1): 982-985, 1979.
183. MARTIN DC, HEWITT CW, OSBORNE JG, DOWDY SF, FRISTOE TL, RUSELL LA, COTE J: Enhanced kidney graft survival in rats by single or multiple blood transfusion(s) and various blood products. *Transplant Proc* 14(2):407-409, 1982.
184. OH JH, McCLURE HM, TUTTLE Jr EP: Immunological unresponsiveness induced by platelet transfusion in rhesus monkeys. *Transplantation* 36(6):727-728, 1983.
185. CHAPMAN JR, TING A, FISHER M, CARTER NP, MORRIS PJ: Failure of platelet transfusion to improve human renal allograft survival. *Transplantation* 41(4):468-473, 1986.
186. POUTEIL-NOBLE C, BETUEL H, RAFFAELE P, ROBERT F, DUBERNARD JM, TOURAINE JL: The value of platelet transfusions as preparation for kidney transplantation. *Transplantation* 51(4):777-781, 1991.
187. CAHEN R, FRIEDEL AC, BETUEL H, ADELEINE P, ROBERT F, TROLLIET P, FRANCOIS B: Pretransplant platelet transfusions: their effects on renal allograft outcome and mixed lymphocyte culture reactivity. *Transplantation* 55(6): 1428-1431, 1993.
188. OCKNER SA, GUTTMANN RD, LINDQUIST RR: Renal transplantation in the inbred rat. 13. Modification of rejection by active immunization with bone marrow cells. *Transplantation* 9(1):30-38, 1970.
189. HUTCHINSON IV, MORRIS PJ: The role of major and minor histocompatibility antigens in active enhancement of rat kidney allograft survival by blood transfusion. *Transplantation* 41(2):166-170, 1986.
190. PEUGH WN, WOOD KJ, MORRIS PJ: Genetic aspects of the blood transfusion effect. *Transplantation* 46(3):438-443, 1988.
191. OPELZ G: Blood transfusions and renal transplantation, in *Kidney Transplantation. Principles and Practice*, edited by Morris PJ, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1988, pp 417-438.
192. FLECHNER SM, KERMAN RH, van BUREN C, KAHAN BD: Successful transplantation of cyclosporine-treated haploidentical living-related renal recipients without blood transfusions. *Transplantation* 37(1):73-76, 1984.
193. LUNDGREN G, GROTH CG, ALBRECHTSEN D, BRYNGER H, FLAT MARK A, FRÖDIN L, GÄBEL H, HUSBERG B, KLINTMALM G, MAURER W, PERSSON H, THORSBY E: HLA-matching and pretransplant blood transfusions in cadaveric renal transplantation – a changing picture with cyclosporin. *Lancet* 2(8498):66-69,1986.
194. OPELZ G: Improved kidney graft survival in nontransfused recipients. *Transplant Proc* 19:149-152, 1987.
195. VAIDYA S, SOMMER BG, PAGEL E, KOEGEL M, FERGUSON RM: Assessment of factors associated with donor-specific sensitization in patients given donor-specific blood transfusions. *Transplantation* 42(6):695-697, 1986.
196. STEVENS ME, SUMMERFIELD GP, HALL AA, BECK CA, HARDING AJ, COVE-SMITH JR, PATERSON AD: Cost benefits of low dose subcutaneous erythropoietin in patients with anemia of end stage renal disease. *BMJ* 304:474-477,1992.
197. PAGANINI EP: In search of an optimal hematocrit level in dialysis patients: rehabilitation and quality-of-life implications. (discussion) *Am J Kidney Dis* 24(1 Suppl 1):531-532, 1994.
198. CECKA JM, CICCIARELLI J, MICKEY MR, TERASAKI PI: Blood transfusions and HLA matching – an either/or situation in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 45(1):81-86, 1988.
199. IWAKI Y, CECKA JM, TERASAKI PI: The transfusion effect in cadaver kidney transplants – yes or no. *Transplantation* 49(1):56-59, 1990.
200. LAGAAIJ EL, HENNEMANN IP, RUIGROK M, de HAAN MW, PERSIJN GG, TERMIJTELEN A, HENDRIKS GFJ, WEIMAR W, CLAAS FHJ, van ROOD JJ: Effect of one-HLA-DR-antigen-matched and completely HLA-DR-mismatched blood transfusions on survival of heart and kidney allografts. *N Engl J Med* 321(11):701-705, 1989.
201. van TWUYVER E, MOOIJAART RJD, ten BERGE IJM, van der HORST AR, WILMINK JM, KAST WM, MELIEF CJM, de WAAL LP: Pretransplantation blood transfusion revisited. *N Engl J Med* 325(17):1210-1213, 1991.
202. IANHEZ LE, CHOCAIR PR, AZEVEDO LS, SARTURI PS, GOES GM, SABBAGA E: Transplante renal com doador vivo não relacionado. *J Bras Nefrol* 6(4)111-114, 1984.
203. KUSCHNAROFF LM: Estudo do efeito das transfusões sangüíneas específicas do doador em receptores de transplante renal HLA parcialmente idêntico. Tese de Doutoramento, Escola Paulista de Medicina, 1990.
204. NIESSEN GJ, OBERTOP H, BIJNEN AB, MARQUET RL, JEEKEL J: Expression of beneficial blood transfusion effect in dogs in dependent upon immunosuppressants used. *Transplant Proc* 14(2):400-402,1982.
205. TAKIFF H, NOVAK M, YIN L, IWAKI Y, TERASAKI PI: Examination of the clonal delection hypothesis following transfusions in rat cardiac transplants. *Transplantation* 43(1):145-151, 1987.
206. BUSHELL A, MORRIS PJ, WOOD KJ: Induction of operational tolerance by random blood transfusion combined with anti-CD4 antibody therapy. A protocol with significant clinical potencial. *Transplantation* 58(2):133-138, 1994.
207. SAITOVITCH D, MORRIS PJ, WOOD KJ: Donor-type single MHC locus products combined with anti-CD4 mAb can induce tolerance to cardiac allografts which is dependent on active suppression. *Transplant Proc* 27(1):119-120, 1995.
208. SAITOVITCH D, BUSHELL AR, MORRIS PJ, WOOD KJ: Induction of transplantation tolerance using a nondepleting anti-CD4 mAb and donor specific transfusion before transplantation: evidence that a critical period of time is required for the development of immunological unresponsiveness. *Transplant Proc* 27(1):117-118, 1998.

42

HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA PÓS-TRANSPLANTE RENAL

Maria do Carmo Borges Teixeira
Elias David Neto

INTRODUÇÃO

Na população geral, a causa da hipertensão arterial sistêmica (HAS), na maioria dos casos, é difícil de ser determinada, sendo, portanto, denominada HAS "essencial ou primária". Nos pacientes transplantados renais, entretanto, as causas conhecidas de HAS são múltiplas e mais bem entendidas do que na população geral. Além disso, as causas "corrigíveis" são mais freqüentes nestes pacientes.

Vários autores concordam que a HAS pós-transplante renal: 1. é um problema comum; 2. perda da função renal associa-se com níveis pressóricos mais elevados do que a função renal normal; 3. transplante com doador-cadáver tem maior prevalência do que com doador vivo relacionado; 4. HAS leve ou moderada é mais freqüentemente encontrada; 5. pacientes que se submeteram à nefrectomia bilateral antes do transplante têm menor prevalência de HAS do que aqueles com rins primitivos *in situ*; 6. a doença de base não prediz se a HAS estará ou não presente após o transplante; 7. o peso corpóreo é maior nos pacientes transplantados hipertensos; 8. sexo, raça, idade e história familiar de HAS não são fatores demográficos que influenciam na prevalência de HAS pós-transplante[1].

Van Ypersele e cols[2] sugeriram que aqueles pacientes que permanecem ou se tornam hipertensos, imediatamente após o transplante renal, têm maior risco de perder o enxerto nos primeiros três meses do que os pacientes normotensos. Os pacientes hipertensos, com um ano de transplante e boa função renal (definida por creatinina sérica < 2mg/dl), têm uma sobrevida de enxerto menor do que os pacientes normotensos[3]. Um estudo retrospectivo comparou pacientes hipertensos bem controlados com pacientes hipertensos mal controlados e não conseguiu demonstrar diferença significativa na sobrevida desses dois grupos[4].

Além da HAS ser o principal fator de risco associado com o desenvolvimento de complicações cardiovasculares, também induz alterações orgânicas no enxerto renal, resultando em deterioração da sua função. Pacientes hipertensos com sete anos de seguimento apresentam 19% de complicações cardiovasculares contra 4% dessas complicações em pacientes normotensos[2]. Cheigh[4] realizou um estudo retrospectivo comparando a sobrevida do enxerto de pacientes hipertensos e normotensos, no qual demonstrou um prognóstico menos favorável para os pacientes hipertensos, com 17% de sobrevida do enxerto com oito anos de seguimento *versus* 86% para os pacientes normotensos.

PREVALÊNCIA

A maioria dos serviços[2,5,6,7,8,9] relata uma incidência de aproximadamente 50%. Jacquot e cols[10] encontraram uma prevalência de 20% de HAS em um grupo selecionado, do qual excluíram pacientes com estenose de artéria do rim transplantado, com rins primitivos *in situ* ou com qualquer outra causa aparente de HAS. Curtis[1] demonstrou uma prevalência de 6%, considerando somente pacientes com nefrectomia bilateral pré-transplante renal, que receberam rim de doador vivo relacionado, com função renal normal e tomando baixas doses de corticóides, em dias alternados.

Na Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (UTR-HC-FMUSP) a prevalência de HAS, após um ano de transplante renal, é de 51%[11].

CAUSAS

As causas da HAS pós-transplante renal estão listadas no quadro 42.1.

Quadro 42.1 – Causas de HAS pós-transplante renal.

1. Déficit de função renal:
   Rejeição crônica
   Recidiva da doença renal de base
2. Imunossupressão:
   Corticóide
   Ciclosporina A
3. Causas com possibilidade de correção cirúrgica:
   Estenose da artéria do rim transplantado
   Rins primitivos *in situ*
4. Genética:
   HAS proveniente de um doador hipertenso

Rejeição crônica é a causa mais freqüente de HAS pós-transplante, a longo prazo, e é similar àquela presente na doença renal crônica.

A **recidiva de doença renal** mais freqüentemente associada às HAS é a glomerulosclerose focal, especialmente na sua forma "maligna"[12]. Entretanto, qualquer recorrência de doença pode provocar lesão do tecido renal e, conseqüentemente, HAS.

O papel da administração crônica de **corticóides** no aumento da incidência de HAS é controverso, porém alguns autores[2,7] falharam em demonstrar qualquer correlação entre a dose de manutenção de prednisona no transplante renal e a HAS. A administração de doses elevadas, imediatamente após o transplante ou no tratamento da rejeição celular aguda, pode contribuir para o aparecimento precoce de HAS, a qual melhora ou desaparece com a redução do corticóide para a dose de manutenção. Porém, devemos lembrar que após o período inicial do transplante renal ocorrem outras alterações (como a retomada da função renal normal, por exemplo), além de diminuição da dose de corticóide, que também pode influenciar na normalização da pressão arterial (PA)[1]. Luke e cols[13] demonstraram queda significativa da PA em pacientes que recebiam a mesma dose total de corticóide, em dias alternados, quando comparados com pacientes com doses diárias, porém quando pacientes, com esquema de dias alternados, passavam para doses diárias não ocorreria aumento significativo da PA.

O mecanismo pelo qual os corticóides provocam HAS não está bem estabelecido, mas, possivelmente, deve incluir seu efeito mineralocorticóide, em doses elevadas, e a sensibilização das arteríolas a outros agentes vasoconstritores[3]. Devemos também lembrar que o paciente submetido à corticoterapia diária tem um aumento significante no peso corpóreo, o qual está associado ao aumento da incidência de HAS no pós-transplante renal[2]. Não foi demonstrado aumento da retenção de sódio ou maior sensibilidade do sistema renina-angiotensina-aldosterona nos pacientes sob dose de manutenção de corticóide. Certamente, aqueles pacientes com HAS grave pós-transplante apresentam outras causas de HAS além do uso de corticóide. Porém, em pacientes com HAS leve, a exata contribuição dos corticóides na manutenção de níveis anormais de PA ainda precisa ser mais bem definida[1].

No Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) a dose de manutenção de prednisona utilizada ao longo do primeiro ano pós-transplante não foi diferente entre os pacientes normotensos e hipertensos[11] (Tabela 42.1).

A **ciclosporina A (CsA)** provoca tanto HAS quanto nefrotoxicidade, porém não está bem definido se pelo mesmo mecanismo ou por via independente. A HAS associada à CsA ocorre tanto em receptores de transplantes de órgãos quanto em pacientes com outras doenças nas quais o uso de imunossupressão está indicado[14]. A HAS associada à CsA é dose-dependente, entretanto, nem todos os pacientes que recebem CsA se tornam hipertensos e alguns, mesmo com nível sangüíneo bem elevado de CsA, permanecem normotensos.

Os primeiros grupos a demonstrar a HAS como efeito colateral da CsA foram os de transplante de coração, fígado e medula[15,16,17,18], já que os grupos de transplante renal apresentavam alta incidência de HAS mesmo antes do uso de CsA. Além disso, há algumas diferenças entre o transplante renal e os outros transplantes de órgãos (coração, medula e fígado) como: 1. os grupos de transplante renal geralmente utilizam uma dose menor de CsA; 2. ao contrário dos outros tipos de transplante, o transplante renal apresenta um tecido desnervado e é possível que essa desnervação amenize a HAS induzida pela CsA[19].

O aumento da incidência de HAS pós-transplante renal com o uso de CsA é difícil de provar devido às várias outras causas de HAS pós-transplante renal. Se, por um lado, a CsA está associada com menos episódios de rejeição celular aguda e melhor sobrevida do enxerto e, conseqüen-

Tabela 42.1 – Dose de prednisona (mg/kg).

	Mês 1	Mês 3	Mês 6	Mês 12
Normotensos	0,57 ± 0,21	0,19 ± 0,07	0,21 ± 0,16	0,18 ± 0,04
Hipertensos	0,54 ± 0,13	0,23 ± 0,12	0,17 ± 0,05	0,20 ± 0,07
p =	ns	ns	ns	ns

ns = não significativo

Tabela 42.2 – Dose de CsA (mg/kg).

	Mês 1	Mês 3	Mês 6	Mês 12
Normotensos	7,2 ± 3,0	4,7 ± 1,3	4,8 ± 1,1	5,9 ± 2,5
Hipertensos	6,3 ± 1,7	4,9 ± 1,1	4,3 ± 1,1	5,0 ± 1,3
p =	ns	ns	ns	ns

ns = não significativo

temente, menor incidência de rejeição crônica e, portanto, de HAS, por outro lado, a creatinina sérica é, sem dúvida, maior nos pacientes estáveis sob CsA , e esta diminuição de filtração glomerular provoca aumento da incidência de HAS[3].

O mecanismo pelo qual a CsA causa HAS é via aumento da resistência renal em arteríola aferente. Esse efeito vasoconstritor em arteríola aferente produz uma forma de HAS volume-dependente e não renina-dependente. Curtis[20] comparou 15 pacientes hipertensos transplantados renais sob CsA, em níveis terapêuticos, com 15 pacientes hipertensos sob azatioprina e prednisona. Após quatro dias de restrição intensa de sódio (9mEq/24h) ocorreu uma queda importante na pressão arterial nos pacientes sob CsA, mas não no grupo controle. O estudo do balanço de sódio nesses pacientes mostrou que aqueles sob CsA tendem a reter mais sódio tanto como ingestão baixa quanto alta de sódio. Essa tendência também foi observada nos pacientes normotensos sob CsA. Muitos estudos em humanos sugerem que a renina plasmática não está elevada nos pacientes sob CsA[21,22], o que também é compatível com expansão de volume. Portanto, HAS associada à CsA deve responder bem à diureticoterapia e não ser muito influenciada por conversores da enzima de conversão. O fator mais importante que provoca a expansão de volume é a vasoconstrição da arteríola aferente, provavelmente, mediada pela endotelina[23].

O tratamento da HAS associada à CsA deve ser dirigido para reversão da vasoconstrição renal e da retenção de sódio provocadas pela CsA. Os bloqueadores de canal de cálcio parecem ser eficazes por agirem preferencialmente em arteríola aferente. Outro manuseio seria a redução da dose ou suspensão da droga imunossupressora.

Além disso, a CsA é um vasoconstritor geral de músculo liso e pode afetar a circulação sistêmica e a resistência periférica total, independente de seus efeitos no tecido renal. Os efeitos da CsA no metabolismo do cálcio intracelular também pode afetar o tônus vascular com alteração direta da pressão arterial, novamente, sem a necessidade de envolvimento renal[19].

No entanto, em nossa experiência, nos pacientes com creatinina sérica ≤ 2mg%, a dose de CsA utilizada não foi diferente nos pacientes normotensos e hipertensos e o número de pacientes sob CsA também não é maior no grupo hipertenso[11] (Tabela 42.2).

A incidência de **estenose da artéria renal** pós-transplante renal varia de 2,7[24] a 23%[25], dependente da freqüência de indicação de angiografia pelo serviço de transplante renal. Quando a angiografia é feita rotineiramente em todos os pacientes hipertensos pós-transplante, a incidência pode chegar a 23%[25], porém a estenose funcionalmente significante ocorre em somente 5% dos casos; naqueles serviços em que a angiografia tem indicação precisa[24], a incidência é bem menor e os casos de estenose funcionalmente significante estão em torno de 20%.

As causas de estenose são: aterosclerose ou lesão do vaso do receptor e "kinking" ou fibrose da anastomose. É bastante difícil o diagnóstico de uma estenose funcionalmente significante (confirmado pela cura ou melhora da pressão arterial após correção da lesão por cirurgia ou angioplastia). Isso ocorre devido à ausência de um rim contralateral para comparação das taxas de excreção de radioisótopos ou contraste ou pela diferença da dosagem de atividade de renina periférica das veias renais. Além disso, ao contrário dos rins primitivos com estenose significante da arté-

ria renal, não há desenvolvimento de circulação colateral[3]. Pelo grau de estreitamento arterial e pelo conhecimento de que o fluxo distal só se reduz quando o diâmetro do vaso está estreitado em aproximadamente 60 a 70%, Curtis e cols[26] propuseram como teste para avaliar a presença de uma estenose funcionalmente significante o efeito da administração aguda de captopril na taxa de filtração glomerular. Nos pacientes com estenose funcionalmente significante, ocorre uma queda abrupta e reversível da taxa de filtração glomerular após administração de captopril e queda da pressão arterial em resposta à angioplastia ou cirurgia, que persiste por meses após o procedimento. Porém, esse teste pode apresentar um resultado falso-negativo naqueles pacientes com função renal estável, que não apresentam queda da taxa de filtração glomerular após administração de captopril e têm uma estenose funcionalmente significante.

O tratamento da estenose funcionalmente significante permanece controverso. Alguns grupos[27] acreditam que a correção cirúrgica tem melhor prognóstico a longo prazo e menor chance de recorrência, além de ser mais eficaz nos casos de "kinking" e de lesão proximal. Porém, a despeito da maior incidência de recorrência e das menores taxas de sucesso, muitos serviços[28,29] utilizam a angioplastia como primeira escolha de tratamento. De qualquer forma, deve-se lembrar que ambos os tratamentos têm risco de perda do enxerto.

Estudos retrospectivos[30] de transplantes renais com e sem **rins primitivos** e artigos[31] referindo cura ou melhora da HAS pós-transplante renal com a remoção dos rins primitivos sugerem que a presença dos rins primitivos pode ser a causa de HAS pós-transplante em alguns pacientes. A evidência de que os rins primitivos podem causar HAS baseia-se em duas observações confirmadas: 1. HAS é muito mais prevalente em pacientes com rins primitivos *in situ* do que naqueles que se submeteram à nefrectomia bilateral antes do transplante renal; 2. a remoção dos rins primitivos pode normalizar a PA[1].

O mecanismo pelo qual a presença dos rins primitivos causa HAS ainda não está bem definido, porém acredita-se que o sistema renina-angiotensina está envolvido, embora existam evidências de que os rins primitivos possam interferir com o controle da pressão arterial via outros mecanismos. Em pacientes com aumento da atividade periférica de renina, além da vasoconstrição induzida pela CsA, adiciona-se a vasoconstrição provocada pelo sistema renina-angiotensina, a qual pode ser revertida parcialmente, em modelo animal, com o uso de drogas inibidoras da enzima da conversão de angiotensina ou, totalmente, com a remoção dos rins primitivos[32]. Recentemente, Converse e cols[33] sugeriram que os rins primitivos lesados podem provocar aumento da atividade do nervo simpático. Portanto, é possível que os rins primitivos influenciem o enxerto renal a manter a pressão arterial elevada por mais de um mecanismo.

Como identificar os pacientes que se beneficiariam com a remoção dos rins primitivos para o controle da pressão arterial ainda é uma questão não bem definida. Alguns autores sugeriram que a dosagem da atividade de renina das veias dos rins primitivos e do enxerto pode ser útil na indicação de sua remoção[34], porém outros grupos testaram este procedimento e consideraram que sua dificuldade técnica o torna pouco prático. Curtis e cols[26] demonstraram que quando a administração de captopril provoca aumento do fluxo plasmático renal, em pacientes com um ano pelo menos de transplante renal e boa função renal, sem evidência de rejeição crônica, indica envolvimento do sistema renina-angiotensina e, portanto, o efeito dos rins primitivos sobre a pressão arterial. Porém, com o uso de CsA, os pacientes respondem à administração de captopril com diminuição do fluxo plasmático renal, mascarando o efeito dos rins primitivos e tornando este teste diferencial inválido. Teixeira e cols[35] realizaram o teste de captopril com dosagem da atividade periférica de renina em pacientes hipertensos, transplantados há pelo menos um ano com função renal normal (creatinina sérica < 2mg/dl) e sem evidências de outras causas de HAS, e demonstraram que 40% desses pacientes preenchem os critérios de Laragh e cols[*apud* 36] para HAS renovascular (em pacientes não-transplantados). Portanto, sugerem que o teste de captopril com dosagem de atividade de renina periférica é útil na indicação de remoção dos rins primitivos nos pacientes com atividade de renina periférica estimulada elevada em relação ao basal.

Além dos rins primitivos poderem provocar aumento da pressão arterial conforme discutido acima, há sugestões de que também podem causar efeitos adversos na sobrevida do enxerto renal[37,38]. Sanfilippo e cols[37] demonstraram que a remoção de rins primitivos associa-se com um aumento significante da sobrevida do enxerto em recipientes de rim de cadáver e este aumento era mais marcante naqueles pacientes que apresentaram necrose tubular aguda pós-transplante, sugerindo que a remoção dos rins primitivos pode influenciar o curso da necrose tubular aguda isquêmica no homem. Coffman e cols[32] sugeriram que a presença de rins primitivos funcionantes

tem um efeito deletério para o transplante renal de ratos isogênicos. O aspecto morfológico do rim transplantado é compatível com alterações isquêmicas crônicas e não com rejeição. Portanto, o efeito deletério dos rins primitivos na função do enxerto, provavelmente, relaciona-se com a potencialização da lesão isquêmica ou com a inibição da recuperação da isquemia.

A realização de transplante renal com ratos isogênicos é útil para estudar a contribuição da predisposição genética para HAS do doador para o receptor pós-transplante afastando-se a possibilidade de rejeição imunológica[39]. Um estudo italiano[40] demonstrou que receptores normotensos, sem história familiar de HAS, que receberam rim de doador com história familiar de HAS apresentaram PA mais elevada e necessitaram de mais drogas hipotensoras do que os receptores de rim com doador sem história familiar de HAS. Esta diferença não foi observada em receptores com história familiar de HAS, provavelmente porque a história familiar de HAS do receptor mascarou o efeito da predisposição genética do doador. Um outro estudo[41] demonstrou uma permanente normalização da PA após nefrectomia bilateral e transplante renal com doador sem história familiar de HAS em seis pacientes negros com HAS primária e insuficiência renal grave. Estes estudos indicam o importante papel da carga genética do doador renal em relação à predisposição para HAS.

TRATAMENTO

Em pacientes com função renal normal e estável, sem episódios recentes de rejeição, com pelo menos um ano de seguimento pós-transplante e HAS leve deve-se considerar o uso de corticóides em dias alternados[3]. Nestes mesmos pacientes, se apresentarem níveis séricos elevados de CsA, deve-se fazer um ajuste da dose.

Se o paciente apresentar déficit de função renal (creatinina sérica > 2mg/dl), deve-se pensar em recidiva de doença de base ou rejeição crônica. A HAS secundária à rejeição crônica é, freqüentemente, mediada pelo sistema renina-angiotensina e o tratamento indicado é a utilização de drogas inibidoras da enzima de conversão da angiotensina. Quando secundária à recidiva de doença de base, será manuseada como na doença original.

Na HAS pós-transplante secundária ao uso de CsA, apesar de não haver um consenso sobre a melhor droga anti-hipertensiva a ser utilizada devido às suas ações vasoconstritoras, o uso de bloqueadores dos canais de cálcio tem sido indicado por sua ação de vasodilatação preferencial de arteríola aferente.

Os pacientes com estenose de artéria do rim transplantado devem ser submetidos à angioplastia ou correção cirúrgica da lesão.

A remoção dos rins primitivos deve ser cogitada naqueles pacientes com função renal normal, sem outras causas aparentes de HAS, que apresentem uma confirmação de hiperatividade do sistema renina-angiotensina conforme discutido acima.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CURTIS JJ: Hypertension and kidney transplantation. *Am J Kidney Dis* 3:181-196, 1986.
2. van YPERSELE DE STRIHOU C, VERGERSTRAETEN P, WAUTIER M, TOUSSAINT C, PIRSON V, De PLAEN JF, VANHERWEGHEM JL, DAUTREBANDE J, KINNAERT P, van GEERTRUYDEN J, DUPONT E, ALEXANDRE GP: Prevalence, etiology, and treatment of late post-transplant hypertension. *Adv Nephrol* 12:41-60, 1983.
3. LUKE RG: Hypertension in renal transplant recipients. *Kidney Int* 31:1024-1037, 1987.
4. CHEIGH JS: Hypertension in kidney transplant recipients in *Hypertension in Kidney Disease*, edited by Cheigh JS, Stenzel KH, Rubin AL, Boston, Martinus Nijhoff 1986, pp 115-146.
5. BACHY C, ALEXANDRE GPJ, De STRIHOU CVY: Hypertension after renal transplantation. *Br Med J* 2:1287-1289, 1976.
6. TEJANI A: Post-transplant hypertension and hypertensive encephalopathy in renal allograft recipients. *Nephron* 34:73-78, 1983.
7. RAO TKS, GUPTA SK, BUTT KMH, KOUNTZ SL, FRIEDMAN EA: Relationship of renal transplantation to hypertension in end-stage renal failure. *Arch Intern Med* 138:1236-1241, 1978.
8. POLLINI J, GUTTMAN RD, BEADOIN JG, MOREHOUSE DD, KLASSEN J, KNAAK J: Late hypertension following renal allotransplantation. *Clin Nephrol* 11:202-212, 1979.
9. KIRKMAN RL, STROM TB, WEIR MR, TILNEY NL: Late mortality and morbidity in recipients of long-term renal allografts. *Transplantation* 34:347-351, 1982.
10. JACQUOT C, IDATTE JM, BEDROSSIAN J, WEISS Y, SAFAR M, BARIETY J: Long-term blood pressure changes in renal allotransplantation. *Arch Intern Med* 138:233-236, 1978.
11. TEIXEIRA MCB, DAVID-NETO E, SABBAGA E: Incidência de hipertensão arterial sistêmica no pós-transplante renal. Congresso Brasileiro de Nefrologia – Recife, 1990. (abstract) *J Bras Nefrol*, suplemento 1990.
12. CAMERON JS: Effect of the recipient's disease on results of transplantation. *Kidney Int* 23:S24-S33,1983.
13. LUKE RG, CURTIS JJ, JONES P, WHELCHEL JD, DIETHELM AG: Mechanisms of post transplant hyertension. *Am J Kidney Dis* 5:A79-A84, 1985.
14. PALESTINE AG, NUSSENBLATT RB, CHAN C-C: Side effects of systemic cyclosporine in patients not undergoing transplantation. *Am J Med* 77:652-656, 1984.
15. THOMPSON ME, SHAPIRO AP, JOHNSEN AM, REEVES R, ITZKOFF J, GINCHEREAU E, HARDESTY RL, GRIFFITH BL, BAHNSON HT, McDONALD Jr R: New onset of hypertension following cardiac transplantation: a preliminary report and analysis. *Transplant Proc* 15:2573-2577, 1983.
16. COHEN DJ, LOERTSCHER R, RUBIN MF, TILNEY NL, CARPENTER CB, STROM TB: Cyclosporine: a new immunosuppressive agent for organ transplantation. *Ann Intern Med* 101:667-682, 1984.

17. LOUGHRAN Jr TP, DEEG HJ, DAHLBERG S, KENNEDY MS, STORB R, THOMAS ED: Incidence of hypertension after marrow transplantation among 112 patients randomized to either cyclosporine or methotrexate as graft-versus-host disease prophylaxis. *Br J Haematol* 59:547-553, 1985.
18. OYER PE, STINSON EB, JAMIESON SE, HUNT SA, PERLROTH M, BILLINGHAM M, SHUMWAY NE: Cyclosporine in cardiac transplantation. A 2 ½ year follow-up. *Transplant Proc* 15(Suppl 1):2546-2552, 1983.
19. CURTIS JJ: Cyclosporine-induced hypertension, in *Hypertension. Pathology, Diagnosis and Management*, edited by Laragh JH, Brenner BM, New York, Raven Press, 1990, pp. 1829-1835.
20. CURTIS JJ: Cyclosporine and posttranplant hypertension. *J Am Soc Nephrol* 2:S243-S245, 1992.
21. BANTLE J, BOUDREAU R, FERRIS T: Suppression of plasma renin activity by cyclosporine. *Am J Med* 83:59-64, 1987.
22. STANEK S, KOVARIK J, RASOUL-ROCKENSCHAUB S, SILBERBAUER K: Renin-angiotensin-aldosterone system and vasopressin in cyclosporine-treated renal allograft recipients. *Clin Nephrol* 28:186-189, 1987.
23. KON V, SUGIURA M, INAGAMI T: Role of endothelin in cyclosporine-induced glomerular dysfunction. *Kidney Int* 37:1487-1491, 1990.
24. TILNEY NL, ROCHA A, STROM TB: Renal artery stenosis in transplant patients. *Ann Surg* 199(4):454-460, 1984.
25. LACOMBE M: Arterial stenosis complicating renal allotransplantation in man: a study of 38 cases. *Ann Surg* 181:283-288, 1975.
26. CURTIS JJ, LUKE RG, WHELCHEL JD, DIETHELM AG, JONES P, DUSTAN HP: Inhibition of angiotensin-converting enzyme in renal transplant recipients with hypertension. *N Engl J Med* 308:377-381, 1983.
27. BENOIT G, MOUKARZEL M, HIESSE C, VERDELLI G, CHARPENTIER B, FRIES D: Transplant renal artery stenosis: experience and comparative results between surgery and angioplasty. *Transplant Int* 3:137-140, 1990.
28. FAUCHALD P, VATNE K, PAULSEN D, BRODAHL U, SODAL G, HOLDASS H, BERG KJ, FLATMARK A: Long-term clinical results of percutaneous transluminal angioplasty in transplant renal artery stenosis. *Nephrol Dial Transplant* 7:256-259, 1992.
29. MATALON TA, THOMPSON MJ, PATEL SK, BRUNNER MC, MERKEL FK, JENSIK SC: Percutaneous transluminal angioplasty for transplant renal artery stenosis. *J Vasc Interv Radiol* 3:55-58, 1992.
30. BRUNNER FP, BROYER M, BRYNGER H, CHALLAH S, FASSBINDER W, OULES R, RIZZONI G, SELWOOD NH, WING AJ: Combined report on regular dialysis and transplantation in Europe XV, 1984. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 15:5-79, 1985.
31. CASTANEDA M, GARVIN P, CODD J, CARNEY K: Selective post-transplantation bilateral nephrectomy: indications and results. *Arch Surg* 118:1194-1196, 1983.
32. COFFMAN TM, SANFILIPPO FP, BRAZY PC, YARGER WE, KLOTMAN PE: Bilateral native nephrectomy improves renal isograft function in rats. *Kidney Int* 30:20-26, 1986.
33. CONVERSE RL, JACOBSEN TN, TOTO RD, JOST CMT, COSENTINO F, FOUAD-TARAZI F, VICTOR RG: Sympathetic overactivity in patients with chronic renal failure. *N Engl J Med* 327(27):1912-1918, 1992.
34. LINAS SL, MILLER PD, McDONALD KM, STABLES DP, KATZ F, WEIL R, SCHRIER RW: Role of the renin-angiotensin system in post-transplantation hypertension in patients with multiple kidneys. *N Engl J Med* 298:1440-1444, 1978.
35. TEIXEIRA MCB, DAVID-NETO E, SEQUEIRA DMC, MAZUCCHI E, MACHADO MM, ARAP S, SABBAGA E: Enhanced peripheric renin activity identifies high-renin hypertension in renal transplanted patients with native kidneys. *Transplant Proc* 27(1):970-971, 1995.
36. PICKERING TG, MANN SJ: Diagnosis of renovascular hypertension, in *Hypertension, Pathophysiology, Diagnosis and Management*, 2nd ed, edited by Laragh JH, Brenner BM, New York, Raven Press, 1995, vol 2, pp 2044-2049.
37. SANFILIPPO F, VAUGHN WK, SPEES EK: The association of pretransplant native nephrectomy with decreased renal allograft rejection. *Transplantation* 37:256-260, 1983.
38. KRAKAUER H, SPEES EK, VAUGHN WK, GRAUMAN JS, SUMME JP, BAILEY RC: Assessment of prognostic factors and projection of outcomes in renal transplantation. *Transplantation* 36:372-378, 1983.
39. RETTIG R, SCHMITT B, PELZL B, SPECK T: The kidney and primary hypertension: contributions from renal transplantation studies in animals and humans. *J Hypertension* 11:883-891, 1993.
40. GUIDI E, BIANCHI G, RIVOLTA E, PONTICELLI C, QUARTO DI PALO F, MINETTI L: Hypertension in man with a kidney transplant: role of familial versus other factors. *Nephron* 41:14-21, 1985.
41. CURTIS JJ, LUTTE RG, DUSTAN HP, KASHAGRIAN M, WHELCHEL JD, JONES P: Remission of essential hypertension after renal transplantation. *N Engl J Med* 309:1009-1015, 1983.

43

BACTERIOLOGIA E QUADRO CLÍNICO DA INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO NA INFÂNCIA

Julio Toporovski

INTRODUÇÃO

A infecção do trato urinário (ITU) caracteriza-se fundamentalmente pela multiplicação de bactérias em qualquer segmento desse trato, que é habitualmente estéril a jusante à bexiga.

Trata-se de uma das infecções que mais freqüentemente afeta a espécie humana, sendo que nos primeiros meses de vida é a agressão bacteriana mais comum em pediatria geral[1,2]. Corresponde a 5% das queixas em ambulatório[3]. Com o progresso da ciência, principalmente com o advento dos quimioterápicos e antibióticos, não só constatamos neste século uma queda marcante dos óbitos por pielonefrite, como também o reconhecimento precoce desta doença[4] e o manuseio adequado dos pacientes determinaram a declínio do número de casos de insuficiência renal crônica (IRC) terminal[2].

Em nosso meio cerca de um terço das crianças com IRC terminal são portadoras do binômio ITU – nefropatia obstrutiva (NO) ou nefropatia do refluxo (NR)[5,6].

SEXO E FREQÜÊNCIA

Na infância é mais comum no sexo feminino, na proporção de 4 até 20:1, excetuando no primeiro ano de vida, quando ocorre predomínio do sexo masculino.

CLASSIFICAÇÃO

Do ponto de vista prático, podemos distinguir três tipos de ITU:

a) Bacteriúria assintomática (BA).
b) Cistites.
c) Pielonefrites.

Assim sendo, as meninas com BA vão apresentar como agente etiológico *Escherichia coli* de baixa virulência, as quais perderam parcialmente o lipopolissacáride O, aglutinam-se espontaneamente e são altamente sensíveis à capacidade bactericida do plasma. Estas alterações constituem adaptação da bactéria para persistir no trato urinário[7,8].

Em razão destes estudos, a maioria dos estudiosos recomendaria o não tratamento das crianças com BA, pois este determinaria, em caso de reinfecção, o aparecimento de cepas virulentas às vezes resistentes à maioria dos antibióticos[9].

Fato diverso ocorre nas pielonefrites sem refluxo vesicoureteral ou obstrução do trato urinário, onde na maioria dos casos iremos isolar *Escherichia coli* altamente virulentas[10].

Escherichia coli

Existem classificados cerca de 150 sorogrupos baseados no antígeno somático O, 100 no antígeno K e 70 no antígeno H, determinando grande número de combinações[11].

No entanto, somente poucas destas combinações determinarão ITU ("uropathogenic strains") e os fatores de virulência ("uropathogenic package")[9,12,13]. Em seguida iremos detalhar estes fatores[7,14,15,16].

FATORES DE VIRULÊNCIA

Aderência bacteriana

O primeiro passo para que ocorra infecção é a aderência da bactéria à secreção ou célula da mucosa. Existem dois mecanismos de adesividade[17,18]:

Inespecífico – mediado por forças eletrostáticas.

Específico – que está na dependência das organelas na superfície das bactérias denominadas "fímbrias" ou "pilli", que irão se ligar a receptores nas superfícies das células do hospedeiro – geralmente carboidratos[13,19,20,21,22].

Do ponto de vista prático, as fímbrias da *E. coli* podem reconhecer o carboidrato manose, sendo denominadas manose sensíveis (MS), e quando não ocorre adesividade de manose resistentes (MR). O grupo MS é também denominado fímbria tipo I e não está correlacionado com a maioria das ITU[5,23,24,25].

Do grupo MR a principal fímbria é a fímbria P, que reconhece o dissacáride Gal-Gal, presente na superfície das células da espécie humana, inclusive do tecido renal[26,27,28,29].

Esta mesma substância encontra-se na superfície das hemácias humanas, constituindo o sistema sangüíneo P[11]. Este fato permite facilmente identificar a presença de fímbria P, ao colocarmos a bactéria em contato com as hemácias do grupo P1 e verificarmos a eventual ocorrência de aglutinação.

As *E. coli* com fímbria P condicionam 90% das pielonefrites sem refluxo e são escassas nos casos das cistites e nas BA[30].

Recentemente foi descrita a fímbria X que aglutina com hemácias do grupo sangüíneo P e pp e seria responsável pela maioria dos casos de cistites. Salientamos que a presença de receptores à manose são extremamente freqüentes em várias espécies animais. O mesmo fato, no entanto, não ocorre com os receptores para galactose, presentes somente na espécie humana e em poucos tipos de macacos. Este fato invalida e dificulta a interpretação de numerosos experimentos realizados em várias espécies de animais de laboratório. Recentemente, conseguiu-se produzir, mediante vários cruzamentos, o camundongo "BALB", que reconhece *E. coli* com fímbria P, fato este que certamente facilitará os novos experimentos nesta área.

Antígeno K

Somente poucos sorotipos deste antígeno são encontrados nas raças de *E. coli* pielonefritogênicas. Os mais comuns são K1, K2a, K5 e K12[31]. Nestas bactérias as cápsulas são mais espessas[31,32,33]. A presença destes antígenos determina uma resistência à fagocitose, porém induz baixa produção de anticorpos. A explicação para este fato seria a semelhança da estrutura desta substância com os gangliosídeos do sistema nervoso central (SNC) e o organismo a reconheceria como "self".

Hemolisina

A maioria das *E. coli* pielonefritogênicas são produtoras desta toxina que, quando presente, pode determinar lesões nas células dos túbulos renais. O gene produtor da hemolisina é vizinho ao da fímbria P. A associação destes genes é denominada "uropathogenic package".

Aerobactina

É a substância produzida pela bactéria que determina sua capacidade de adquirir o íon Fe – necessário para o ótimo crescimento e metabolismo da *E. coli*. Não se conhece ainda perfeitamente o local do gene produtor da aerobactina.

Seguramente, em futuro próximo, ocorrerão importantes contribuições nesta área da Microbiologia, principalmente no que se refere à manipulação genética da *E. coli*.

TRAJETO DAS BACTÉRIAS

Admite-se que no sexo feminino o manancial das bactérias determinantes de ITU é o intestino grosso. As bactérias deslocam-se para o introito vaginal → área periuretral → trato urinário. Assim sendo, em vários experimentos pudemos demonstrar esta trajetória isolando os mesmos sorotipos de *E. coli* de vários setores pesquisados (fezes, urina, área periuretral e introito vaginal)[34,35].

Recentemente há evidências de que este fato é realidade também na maioria dos casos de ITU no período neonatal, nos quais admitia-se maior prevalência da via hematogênica[36,37].

Stapleton e cols[34] comprovaram em estudos comparativos realizados em pacientes adultas sadias e propensas a ITU que estas apresentam não só colonização vaginal e retal com raças e *E. coli* com fímbria P e F, assim como pertenciam ao grupo sangüíneo "não secretor"[34,38-41].

Outro aspecto importante realizado por Plos e cols[42] evidenciou em estudos sofisticados, empregando sondas genéticas, que as crianças propensas a ITU não só pertenciam ao grupo sangüíneo P1, como também albergavam em seu intestino 86% de *E. coli* com fímbria Pap+, comparadas com *E. coli* isoladas na flora intestinal dos grupos controles (29%), mesmo nos períodos sem ITU[43-45].

A *E. coli* ao aderir às células epiteliais transfere toxinas e endotoxinas ao hospedeiro, determinando os seguintes efeitos deletérios:

1. Paralisação dos movimentos peristálticos dos ureteres, assim como sua dilatação. Este fato pode inclusive condicionar e agravar o refluxo intra-renal.

2. Peristência da infecção por *E. coli* com fímbria P determina em macacos diminuição da atividade mitótica das células da junção vesicoureteral impedindo, dessa maneira, sua maturação natural.
3. Resposta inflamatória mais pronunciada: febre, proteína C reativa (PCR), velocidade de hemossedimentação (VHS) e leucocitose, principalmente no que se refere às bactérias com fímbria P.

No sexo masculino as bactérias determinantes de ITU procedem do meato uretral e glande. Em algumas séries estudadas ocorre maior freqüência de bactérias do gênero *Proteus*, habitualmente contaminantes dessas regiões.

CONCEITO DE BACTERIÚRIA SIGNIFICATIVA DE KASS

Admite-se que ocorre bacteriúria significativa quando se encontram em urina coletada por saco coletor ou por jato intermediário 10 ou mais colônias/ml de urina. Os pacientes que apresentam 10 e 105 colônias/ml de urina são considerados suspeitos e os que apresentam 10 ou menor número de colônias/ml de urina seriam casos de urinas contaminadas, que não apresentam ITU[46].

Quando a urina é coletada por punção suprapúbica, os dados acima não são válidos e a presença de qualquer número de colônias/ml de urina é indicativa de ITU[47].

Pode-se realizar em crianças do sexo feminino, sem controle esfincteriano, coleta de urina por sondagem vesical, considerando-se cultura positiva a presença de 10 ou mais colônias/ml de urina.

Em nosso Serviço, os estudos comparativos realizados em urinas coletadas por punção suprapúbica e jato intermediário (crianças com controle esfincteriano) praticamente não demonstraram diferença no número de bactérias encontradas. Houve, no entanto, resultado díspare quando se procedeu o estudo comparativo entre punção suprapúbica e saco coletor[3]. Dessa maneira, recomendamos, em lactentes, o emprego de punção suprapúbica ou sondagem vesical – meninas[3].

É fundamental que as coletas se processem de maneira correta para que as crianças não sejam submetidas a tratamentos desnecessários e investigação de imagem invasiva e onerosa economicamente.

Nas crianças sem controle esfincteriano, o material coletado por saco coletor somente tem significado quando negativo. Se o resultado for positivo, recomendamos nova coleta por punção suprapúbica ou sondagem vesical. O índice de pseudo-infecção neste grupo etário é muito alto. Em nosso Serviço verificamos que em cerca de 40% dos encaminhamentos com suspeita de ITU os diagnósticos não puderam ser confirmados por esta falha fundamental. Nas crianças com controle esfincteriano o jato intermediário é método adequado, os índices de pseudo-ITU em estudos comparativos é de cerca de 2-3%. Recomendamos, no entanto, que as meninas portadoras de vulvovaginite sejam submetidas a sondagem vesical.

EXAME DE URINA DA ITU

Densidade – quando o paciente apresenta pielonefrite poderemos encontrar densidade urinária diminuída, fato este devido ao envolvimento do interstício renal na ITU.

Proteínas – a presença de proteinúria persistente é índice de mau prognóstico, pois indica comprometimento de glomérulos com provável nefropatia progressiva.

Hematúria – em 40% de nossos casos, no primeiro surto, ocorreu mais de 10 hemácias por campo sem apresentar correlação com o prognóstico da infecção. Chamamos a atenção que 7% das crianças com hematúria macroscópica apresentavam ITU e vieram à consulta por hematúria (queixa principal). Uma vez tratada a ITU, ocorre reversão da hematúria.

Leucocitúria[48] – acima de 10 leucócitos por campo ocorreu em cerca de 80% de nossos casos, porém sem estabelecer diagnóstico definitivo, pois pode falhar em 20% dos casos. Lembramos que em Pediatria existem inúmeras causas de leucocitúria estéril[49,50,51], por exemplo, após vacinação antipólio, vulvovaginites, gastroenterite infantil. Constitui erro grave o tratamento de pacientes somente com leucocitúria sem confirmação de bacteriúria, fato este infelizmente ainda comum em nosso meio. Estudo recente valoriza a ausência de leucocitúria como sugestiva de cistite nos primeiros meses de vida.

Teste do nitrito – este teste que vem acoplado a fitas comumente em análise de urina não foi de utilidade em nosso Serviço para o diagnóstico de ITU, pois encontramos razoável porcentagem de casos falso-negativos e falso-positivos.

QUADRO CLÍNICO

Nos primeiros três anos de vida o sintoma mais importante, sugestivo de ITU, é a presença de febre e exame clínico negativo.

Nesta circunstância, é imperativo a realização de exame de urina e de urocultura. A porcentagem de casos positivos varia de 4 a 17% nas diferentes séries. A não-efetivação desse diagnóstico assim como o não-dimensionamento do caso poderão condicionar omissão grave, salientando-se que nesta fase da vida a grande maioria dos casos são constituídos de pielonefrite.

Após esse grupo etário, o diagnóstico é mais fácil, sendo sugestivo a presença de sintomas urinários (disúria, polaciúria, incontinência, tenesmo urinário) acompanhados ou não por febre[52].

Gostaríamos, no entanto, de realçar que as meninas portadoras de vulvovaginites apresentam, além de corrimento característico, sintomas urinários sugestivos de ITU em 50% dos casos. No entanto, somente 7% eram portadoras de ITU (Waisbich, trabalho não publicado).

Outros sintomas tais como inapetência, mau desenvolvimento pondo-estatural, em nossa experiência, raramente foram sugestivos de ITU.

Evidentemente há sempre interesse em localizar o local da ITU, pois é evidente que os portadores de pielonefrite requerem acompanhamento mais cuidadoso, principalmente devido à possibilidade de formarem cicatrizes renais com evidente prejuízo da função renal do paciente[2].

Dessa maneira discutiremos alguns fatores de risco do hospedeiro, principalmente no que se refere à possibilidade de desenvolverem pielonefrite.

Presença de refluxo vesicoureteral

Constitui o fator predisponente mais importante como risco para pielonefrites, ocorrendo em cerca de 30-50% dos casos com esta doença.

Salienta-se que quando ocorre este processo malformativo a *E. coli* não necessita dos fatores de virulência para determinar cicatrizes pielonefríticas[48].

Presença de febre acima de 38°C

Alguns estudiosos valorizam sobremaneira a presença de febre acima de 38,5°C como indicativo de pielonefrite. A nossa experiência, no entanto, não confirmou este achado em meninas acima de 3 anos, com a qual pudemos constatar que 13% de meninas com temperatura acima de 38°C eram portadoras de cistite, assim como 20% das pielonefrite cursaram sem febre[53]. Este estudo comparativo foi realizado empregando-se a técnica de "wash-out" ("gold standart") para pielonefrite[54].

O mesmo podemos dizer em relação à dosagem da PCR quantitativa no plasma e de VHS. Estes testes foram úteis em nossos estudos quando determinações de PCR e VHS são realizadas nas primeiras 24-36 horas após o início do quadro clínico.

Mapeamento renal com DMSA (Dimercapto) – trata-se de método útil para a localização de ITU[55,56]. Em nossos estudos com 18 meninas acima de 3 anos de idade, a correlação entre "wash-out"[54] e DMSA foi de 100%. Este fato corresponde aos achados de outros autores na literatura.

Ministração anterior de antibióticos

Em estudos populacionais verificou-se que as crianças que receberam previamente antibióticos para tratamento de infecção de vias aéreas superiores, principalmente penicilina e seus derivados, apresentaram maior prevalência de ITU. Este fato seria explicado pelas alterações ecológicas que os antibióticos determinam no intestino, área periuretral e seleção nessas regiões de cepas pielonefritogênicas.

Predisposição familiar

Este aspecto já descrito há tempos seria explicado pelo aumento da densidade de receptores para *E. coli* nestas famílias.

Importância do grupo sangüíneo P1 e estado secretor

As crianças pertencentes ao grupo sangüíneo P1 são mais suscetíveis à ITU, fato este constatado em nosso Serviço por Andrade e cols[57].

Outro aspecto ainda não definitivamente elucidado é a correlação entre o estado secretor e não-secretor e a ITU. Assim, os não-secretores seriam mais propensos à ITU, segundo pesquisas realizadas por Scheinfeld[58]. Andrade, em nosso meio, não conseguiu evidenciar este fato[57].

Leite materno

Tem efeito protetor, pois a flora intestinal destes lactentes é diferente.

Instabilidade da bexiga

As disfunções de bexiga constituem importantes fatores predisponentes à ITU: retenção urinária, micções incompletas com resíduos importantes, assim como outros padrões miccionais anormais. Salientamos que crianças abaixo de 1 ano de idade apresentam grande porcentagem de resíduo urinário, de 5 a 10ml.

OUTRAS BACTÉRIAS CAUSADORAS DE ITU

Proteus

Há duas espécies mais freqüentemente relacionadas com ITU: *Proteus mirabilis* e *Proteus vulgaris*.

As bactérias do gênero *Proteus* produzem a enzima urease que metaboliza a uréia em CO_2 e NH_3 com conseqüente alcalinização da urina. A urina alcalina propicia a formação de cálculos renais, principalmente de cálcio, e conseqüentes processos obstrutivos que seguramente determinarão incremento na multiplicação bacteriana.

Estas bactérias, com freqüência, colonizam a glande e o meato uretral em crianças do sexo masculino e, secundariamente, através de capacidade de aderência provocam ITU. Esta talvez seja a causa pela qual o gênero *Proteus* é o agente mais freqüente de ITU em meninos não circuncisados.

Klebsiella, Enterobacter, Serratia

Destaca-se a *Klebsiella* como o mais importante agente no período neonatal.

São agentes de ITU que acometem principalmente os pacientes internados em hospitais e submetidos à manipulação de vias urinárias.

Uma característica importante destes gêneros bacterianos é a alta incidência de cepas resistentes à maior parte dos antimicrobianos, necessitando freqüentemente de associação terapêutica. Esta resistência pode ser de origem cromossômica ou principalmente plasmídica.

Pseudomonas aeruginosa

É um bacilo gram-negativo, não fermentador de glicose, aeróbio e produtor de endotoxinas.

Constitui infecção urinária grave de difícil erradicação que acomete principalmente indivíduos imunodeprimidos. É um importante agente em casos de infecção intra-hospitalar, em pacientes submetidos a cateterismo urinário, cirurgia de vias urinárias, malformações ou obstruções do trato urinário.

Staphylococcus aureus

É um coco gram-positivo, coagulase-positivo. Produz ITU por via hematogênica ou por via ascendente, principalmente após cateterização das vias urinárias.

Staphylococcus epidermidis

É um coco gram-positivo, coagulase-negativo. Associa-se a infecções intra-hospitalares e cateterização urinária, principalmente devido à capacidade que esta bactéria tem de se aderir aos cateteres plásticos.

Staphylococcus saprophyticus

É um coco gram-positivo, coagulase-negativo, resistente à novobiocina.

Espécie freqüente em adolescentes do sexo feminino, principalmente nas sexualmente ativas. Neste grupo etário, é o agente mais freqüente depois da *E. coli*.

A bactéria, embora não apresente fímbrias, tem um tropismo especial pelo epitélio do trato urinário. O receptor no tecido parece ser um oligossacáride que contém lactosamina.

Também produz urease com decorrente tendência a alcalinizar a urina e a formação de cálculos.

Estas três espécies gram-positivas apresentam freqüentemente resistência aos microbianos de uso habitual.

Streptococcus do grupo D na classificação de Lancefield

Para estes agentes é importante a diferenciação de enterococo e não-enterococo, através do crescimento em caldo de NaCl a 6,5%.

Os não-enterococos, *Streptococcus bovis* e *equinus*, são sensíveis à penicilina, e os enterococos, especialmente *Streptococcus faecalis* e *faecium*, à penicilina somente quando associada a um aminoglicosídeo, devido ao sinergismo de ação resultante desta associação.

Presença de duas bactérias

Em certos casos de ITU, vamos encontrar na urocultura a presença de mais de uma espécie bacteriana. Este achado pode significar:

- que realmente a infecção é mista;
- uma das bactérias é contaminante;
- contaminação bacteriana.

Nova urocultura deve ser colhida com método e assepsia adequados à faixa etária para a confirmação diagnóstica.

Anaeróbios

Ocorrem raramente. Em nossa experiência incidiram em menos de 2% dos casos (2 entre 144 uroculturas).

OUTROS AGENTES DE ITU

Fungos

Excepcionalmente, determinam ITU na infância. Acometem principalmente crianças imunodeprimidas, que fazem uso freqüente de associações antimicrobianas.

Destaca-se a *Candida albicans*.

Vírus

A sua importância até o presente momento é pequena, observando-se, no entanto, que pode ocorrer virúria nos casos de infecção por sarampo, caxumba, *Herpes hominis*, adenovírus e reovírus. Salientamos casos de cistite hemorrágica determinada por adenovírus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. EDELMAN Jr CM: *Pediatric Kidney Disease*, Boston, Little, Brown, 1978.
2. WINBERG J, BERGSTRÖM T, JACOBSSON B: Morbidity, age and sex distribution, recurrences and renal scarring in syntomatic urinary tract infection in childhood. *Kidney Int* 8(Suppl 4):S101-106, 1975.
3. TOPOROVSKI J, MELLO VR: Infecção do trato urinário na infância (ITU). *Rev Paul Ped* 1:7-17, 1984.
4. CLAESSON J, JACOBSSON B, JODAL U: Early detection of nephropathy in childhood urinary tract infection. *Acta Radiol (Diagn)* 22:315-318, 1981.
5. FARMER ER, HEPTINSTALL RH: Renal infection and renal scarring, in *Pediatric Nephrology*, edited by Kincaid-Smith P, Fairley KF, Melbourne – Australia, Mercedes Publishing Services, 1970, pp 219-228.
6. KINCAID-SMITH P: Glomerular lesions in atrophic pyelonephritis and reflux nephropathy. *Kidney Int* 8(Suppl 4):81-83, 1975.
7. WOLD AE, THORSSÉN M, HULL S, SVANBORG C: Attachment of *Escherichia coli* via mannose of Gal alfa-1 → 4Gal beta containing receptors to human colonic epithelial cells. *Infect Immun* 56:2531-2533, 1988.
8. WOLD AE, CAUGANT DA, LINDIN-JANSON G, De MAN P, SVANBORG P: Resident colonic *Escherichia coli* strains frequently display uropathogenic characteristics. *J Infect Dis* 165:46-52, 1992.
9. JOHNSON JR: Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev* 4:80-82, 1991.
10. MÅRILD S, WETTERGREN B, HELLSTRÖM M, JODAL U, LINCOLN K, ORSKOV I, ORSKOV F, SVANBORG-EDEN C: Bacterial virulence and inflammatory response in infants with febrile urinary tract infection or screening bacteriuria. *J Pediatr* 112:348-354, 1988.
11. SALARU NNR: Infecções bacterianas do trato urinário na infância: aspectos microbiológicos e pesquisa de anticorpos séricos. Tese apresentada à Escola Paulista de Medicina para obtenção do grau de Mestre em Microbiologia e Imunologia, 1976.
12. STROMBERG N, MARKLUND BI, LUND B: Host-specificity of uropathogenic *Escherichia coli* depends on differences in binding specificity to Gal alfa → 4Gal beta containing isoreceptors. *EMBO J* 9:2001-2010, 1990.
13. SVANBORG C, ORSKOV F, ORSKOV I: Fimbriae and disease, in *Bacterial Fimbriae*, edited by Klemm P, Boca Ratton, CRC Press, 1994, pp 66-69.
14. BERGSTROM T, LINCOLN K, REDIN B, WINBERG J: Studies of urinary tract infections in infancy and childhood. X – Short or long-term treatment in girls with first or second-time urinary tract infections uncomplicated by obstrutive urological abnormalities. *Acta Paediat Scand* 57:186-193, 1968.
15. NETER E: The microbiologic aspects of urinary tract infection, in *Pediatric Nephrology* (1st ed), Baltimore, Williams & Wilkins Co, 1975, pp 146-150.
16. SCHWARTZ H, SCHIRMER HKA, POST B, EHLERS B: Correlation of *Escherichia coli* occuring simultaneously in the urine and stool of patients with clinically significant bacteriuria: serotyping with group-specific O antisera. *J Urol* 101:379-383, 1969.
17. FOWLER JE, STAMEY TA: Studies of introital colonization in women with recurrent urinary infections. VII – The role of bacterial adherence. *J Urol* 117:472-476, 1977.
18. SVANBORG-EDEN C, HANSON LA, JODAL U, LINDBERG U, SCHL-AKERLUND A: Variable adherence to normal human urinary tract epithelial cells of *Escherichia coli* strains associated with various forms of urinary tract infection. *Lancet* 2:490-492, 1976.
19. KÄLLENIUS G, MÖLLBY R, SVENSON SB, HELIN I, HULTBERG H, CEDERGREN B, WINBERG J: Occurence of P-fimbriated. *Escherichia coli* in urinary tract infections. *Lancet* 2:1369-1372, 1981.
20. KÄLLENIUS G, MÖLLBY R, WINBERG J: In vitro adhesion of uropathogenic *Escherichia coli* to human periurethral cells. *Infect Immun* 28:972-974, 1980.
21. KÄLLENIUS G, SVENSON SB, MÖLLBY R, WINBERG J: Structure of carbohydrate part of receptor on human uroepithelial cells for pyelonephritogenic *Escherichia coli*. *Lancet* 2:604-606, 1981.
22. LUND B, MARKLUND BI, STROMBERG N, LINDBERG F, KARLSSON KA, NORMARK S: Uropathogenic *Escherichia coli* can express serologically identical pili of different receptor binding specificities. *Mol Microbiol* 2:255-263, 1988.
23. CLEGG S: Cloning of genes determining the production of mannose-resistant fimbriae in a uropathogenic strain of *Escherichia coli* belonging to serogroup 06. *Infect Immun* 38:739-744, 1982.
24. BOLLGREEN I, WINBERG J: The periurethral aerobic bacterial flora in healthy boys and girls. *Acta Paediatr Scand* 65:74-80, 1976.
25. WINBERG J: P-fimbriae, bacterial adhesion, and pyelone phritis. *Arch Dis Child* 59:180-184, 1984.
26. KALLENIUS G, MOLLBY R, SVENSON SB: Identification of a carbohydrate receptor recognized by uropathogenic *Escherichia coli*. *Infection* 8(Suppl 3):S288-291, 1980.
27. KÄLLENIUS G, SVENSON SB, MÖLLBY R: Carbohydrate receptor structures recognized by uropathogenic *Escherichia coli*. *Scand J Infect Dis*, in press.
28. LEFFLER H, SVANBORG-EDEN C: Chemical identification of a glycophingolipid receptor for *Escherichia coli* attaccching to human urinary tract epithelial cells and agglutinating human erytrocytes. *FEMS Microbiol Lett* 8:127-134, 1980.
29. KÄLLENIUS G, MÖLLBY R, SVENSON S, CEDERGREN B: The Pk antigen as receptors for the hemagglutination of pyelonephritic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett* 7:297-302, 1980.
30. LOMBERG H, HANSON LA, JACOBSSON B, JODAL U, LEFFLER H, SVANBORG-EDEN C: Correlation of P blood group, vesicoureteral reflux and bacterial attachment in patients with recurrent pyelonephritis. *N Engl J Med* 308:1189-1192, 1983.
31. GLYNN AA, BRUMFIT W, HOWARD CJ: K antigens of *Escherichia coli* and renal involvement in urinary tract infections. *Lancet* 1:514-516, 1971.
32. KAIJSER B: Immunology of *Escherichia coli*: K antigen and its relation to urinary tract infection. *J Infect Dis* 127:670-672, 1973.

33. KAIJSER B, HANSON LA, JODAL U, LINDIN-JANSON G, ROBBINS JB: Frequency of *E. coli* K antigens in urinary tract infections in children. *Lancet* 1:663-664, 1977.
34. STAPLETON T, HOOTON TM, FENNELL C, ROBERTS PL, STAMM WE: Effect of secretor status on vaginal and rectal colonization with fimbriated *Escherichia coli* in women with and without recurrent urinary tract infection. *J Infect Dis* 171:717-720, 1995.
35. KÄLLENIUS G, WINBERG J: Bacterial adherence to periurethral epithelial cells in girls prone to urinary tract infection. *Lancet* 2:540-542 1978.
36. AVERY GB: *Neonatology: Pathophysiology and Management of the Newborn*. Philadelphia, Lippincott, 1975, pp 136-139.
37. WETTERGREN B, JODAL U, JONASSON G: Epidemiology of bacteriuria during the first year of life. *Acta Paediatr Scand* 74:925-933, 1985.
38. STAMEY TA, SEXTON CC: The role of vaginal colonization with Enterobacteriaceae in recurrent urinary tract infections. *J Urol* 113:214-217, 1975.
39. SCHAEFFER AJ, JONES JM, DUNN JK: Association of in vitro *Escherichia coli* adherence to vaginal and buccal epithelial cells with susceptibility of women to recurrent urinary-tract infections. *N Engl J Med* 304:1062-1066, 1981.
40. SCHEINFELD J, SCHAEFFER AJ, CORDON-CARDO C, ROGATKO A, FAIR WR: Association of the Lewis blood-group phenotype with recurrent urinary tract infections in woman. *N Engl J Med* 320:773-777, 1989.
41. HOOTON TM, ROBERTS PL, STAMM WE: Effects of recent sexual activity and use of a diaphragm on the vaginal microflora. *Clin Infect Dis* 19:274-278, 1994.
42. PLOS K, CONNELL H, JODAL U, MARKLUND BI, MARILD S, WETTERGREN B, SVANBORG C: Intestinal carriage of P-fimbriated *Escherichia coli* and the susceptibility to urinary tract infection in young children. *J Infect Dis* 171:625-631, 1995.
43. JOHANSSON IM, PLOS K, MARKLUND BI, SVANBORG C: Pap, papG and prsG DNA sequences in *Escherichia coli* from the fecal flora and the urinary tract. *Microbial Pathog* 15:121-129, 1993.
44. MARKLUND BI, TENNENT JM, GARCIA E, HAMERS A, BÅGA M, LINDBERG F, GAASTRA W, NORMARU S: Horizontal gene transfer of the *Escherichia coli* pap and prs pili operons as a mechanism for the development of issue-specific adhesive properties. *Mol Microbiol* 6:2225-2242, 1992.
45. KUNIN C: *Detection, Prevention and Management of Urinary Tract Infections*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1987, pp 193-198.
46. KASS HE: Asymptomatic infections of the urinary tract. *Trans Assoc Physicians* 69:56-59, 1956.
47. RUBIN MI: *Infection of the Urinary Tract. Pediatric Nephrology*. (1st ed), Baltimore, Williams & Wilkins Co, 1975, pp 255-261.
48. MÅRILD S, HELLSTRÖM M, JODAL U, SVANBORG-EDÉN C: Fever, bacteriuria and concomitant disease in children with urinary tract infection. *Pediatr Infect Dis* 8:36-11, 1989.
49. ALLEN TD: Pathogenesis of urinary tract infections in children. *N Engl J Med* 273:1421-1426, 1965.
50. LITTLEWOOD JW: 66 infants with urinary tract infection in the first month of life. *Arch Dis Child* 47:218-222, 1972.
51. PRYLES CV: Laboratory diagnosis of urinary tract infection. *Pediatr Clin N Am* 18:233-237, 1971.
52. WINBERG J, ANDERSEN HJ, BERGSTRÖM T, JACOBSSON B, LARSON H, LINCOLN K: Epidemiology of symptomatic urinary tract infection in childhood. *Acta Paediatr Scand* 63(Suppl 252):1-20, 1974.
53. TOPOROVSKI J, MEDEIROS EB, MIMICA I: Infecção do trato urinário – aspectos clínicos laboratoriais e terapêuticos, in *Nefrologia Pediátria*, edited by Toporovski J, Mello VR, Perrone HC, Martini Filho D, São Paulo, Sarvier, 1991, pp 199-215.
54. MEDEIROS EB, CILLO AP, MOYA LJ, TOPOROVSKI J, MIMICA IM, MIMICA L: Técnica de wash-out: prova de adesividade bacteriana (AB) e exame radiológico (RX) em crianças com ITU. Anais do XIV Congresso Brasileiro de Nefrologia, out, 1988, p 58.
55. SMELLIE JM: The DMSA scan and intravenous urography in the detection of renal scarring. *Pediatr Nephrol* 3:6-7, 1989.
56. GOLDRAICH NP, RAMOS OL, GOLDRAICH IH: Urography versus DMSA scan in children with vesicoureteric reflux. *Pediatr Nephrol* 3:1-5, 1989.
57. ANDRADE OVB: *Grupos Sangüíneos e Infecção do Trato Urinário*. Tese apresentada à Escola Paulista de Medicina, Curso de Pós-Graduação em Nefrologia para a obtenção do grau de Mestre em 1993.
58. SCHEINFELD J, SCHAEFFER AJ, CARDO CC, ROGATKO A, FAIR WR: Association of the Lewis blood group phenotype with recurrent urinary tract infections in women. *N Engl J Med* 320(12):773-777, 1989.

44

LITOTRIPSIA EXTRACORPÓREA POR ONDAS DE CHOQUE (LECO)

José Augusto Meneses da Silva

INTRODUÇÃO

O tratamento dos cálculos renais e das vias urinárias sofreu mudanças consideráveis desde a Antigüidade até os dias de hoje.

Na Idade Média, o tratamento de retirada dos cálculos era realizado de forma cruenta e agressiva, com índices de morbidade e mortalidade muito elevados[1].

Mais recentemente, foram desenvolvidas cirurgias abertas com técnicas mais modernas, diminuindo acentuadamente o sofrimento do paciente com cálculo renal.

A partir de 1955, o acesso renal por via percutânea, realizado inicialmente por Goodwin e cols[2], foi evoluindo até o final da década de 70, quando novos instrumentos foram desenvolvidos e introduzidos no tratamento dos cálculos renais.

Essa nova técnica apresentava grandes vantagens em relação à cirurgia aberta, estendendo suas indicações para cálculos mais complexos e localizados em diversos locais da via excretora[3].

Após 1980, uma nova e revolucionária modalidade terapêutica para os cálculos urinários foi desenvolvida na Alemanha por Chaussy e cols[4], com o nome de litotripsia extracorpórea por ondas de choque (LECO).

As vantagens desse novo tratamento são inúmeras, destacando-se entre elas: 1. não necessidade cirúrgica; 2. tratamento ambulatorial; 3. redução acentuada da morbidade; 4. recuperação rápida dos pacientes[5].

Por essas razões, esse novo método difundiu-se com grande aceitação e utilização pela comunidade médica de todo o mundo, contando-se mais de 2 milhões de pessoas já tratadas.

HISTÓRIA

As primeiras investigações *in vitro* sobre o uso de ondas de choque no tratamento de cálculos renais iniciaram-se em 1972, na Ludwig Maximillian Universität, Departamento de Urologia, em Munique (Alemanha).

Essas pesquisas iniciais receberam o apoio da Dornier Medical Systems[6].

Em 1980, foi realizado o primeiro tratamento clínico em Munique, com o aparelho HM1 (Human Model 1). Até 1982, foram tratados 200 pacientes portadores de cálculos renais, 80% dos quais se localizavam na pelve e 20% nos cálices renais, sendo todos menores do que 10mm de diâmetro[5].

De maio de 1982 até outubro de 1983, foram tratados mais 800 pacientes, já na máquina HM2 (Human Model 2). Nesses pacientes, já foram fragmentados cálculos de até 25mm de diâmetro, cálculos infectados, coraliformes parciais e casos selecionados de cálculos uteretais[5].

Em outubro de 1983, foi desenvolvido outro modelo de litotritor HM3, com início da produção em série. Nessa época, já se tratavam cálculos coraliformes totais em associação com cirurgias percutâneas.

A Food and Drug Administration (FDA) aprovou em dezembro de 1984 o aparelho HM3 da Dornier, para uso experimental nos Estados Unidos em seis centros médicos[5].

A partir dessa data, um grande número de centros médicos em todo o mundo adotou essa nova modalidade de tratamento de cálculo renal.

No Brasil, a litotripsia extracorpórea iniciou-se em Salvador, em 1986, no Hospital San Raphael, com o aparelho da Wolf.

PRINCÍPIOS FÍSICOS

A LECO baseia-se na geração, na concentração e na focalização a distância das ondas de choque.

O fenômeno físico que ocasiona a fragmentação do cálculo é a rápida formação de um gradiente de pressão quando as ondas de choque concentradas e focalizadas encontram sólidos de diferentes propriedades acústicas.

O fluido onde essas ondas são geradas e a maioria dos tecidos corpóreos apresenta propriedades acústicas semelhantes: dessa forma, as ondas de choque atravessam esses tecidos com um mínimo de perda de energia. O efeito destrutivo ocorre quando essas ondas encontram, na área focal, materiais de diferentes propriedades acústicas, tais como o cálculo renal. Nesse momento, é criada uma força de tensão que poderá exceder a força coesiva do cálculo, iniciando-se a sua fragmentação[7-11].

EQUIPAMENTOS

Para a realização da LECO, os equipamentos devem ter necessariamente os seguintes componentes:

1. fonte geradora de ondas de choque;
2. focalizador das ondas de choque;
3. sistema de imagem para localizar o cálculo;
4. sistema acoplador da máquina ao paciente.

Atualmente, já existe no mercado uma série de modelos litotritores com diferentes especificações, com a finalidade de facilitar a realização da LECO, o que melhora a aplicação das ondas, minimiza os possíveis efeitos colaterais e reduz o custo operacional, o que possibilita o acesso de mais pessoas a essa nova modalidade terapêutica.

Para se desenvolver uma fonte geradora, é necessário um mecanismo capaz de produzir uma súbita expansão no meio líquido, gerando, assim, uma energia que será a onda de choque.

Esse mecanismo gerador de ondas pode ser classificado como: puntiforme ou pontual e extenso. Assim sendo, teremos ondas de choque de diferentes formas, amplitudes e pressões para os diferentes modelos litotritores.

As ondas geradas deverão ser focalizadas em um ponto do espaço denominado F2 ou ponto focal, local que concentra maior energia. O tratamento desse ponto focal varia conforme o sistema focalizador utilizado. Os dispositivos de focalização das ondas atualmente utilizados nos diversos equipamentos podem ser por meio de refletor hemielipsoidal, lentes acústicas ou semi-esfera.

O sistema localizador do cálculo é feito por meio de radiografias ou ultra-som. Equipamentos mais modernos apresentam ambos os sistemas de imagem acoplados, o que veio facilitar muito a localização de qualquer tipo de cálculo, seja radiopaco seja radiotransparente, evitando-se, com isso, muitas vezes, o uso de contrastes iodados.

Houve, também, uma grande evolução no sistema acoplador da máquina ao paciente. Os primeiros modelos utilizavam a água, devendo o paciente ser imerso em um tanque. Equipamentos mais recentes utilizam uma membrana contendo água que se acopla ao paciente, evitando-se, com isso, a sua imersão e, conseqüentemente, minimizando os efeitos hipotensivos que podem advir dessa imersão. Tais equipamentos também facilitam o manuseio do paciente na mesa de tratamento.

Os equipamentos existentes atualmente no mercado mundial, com as respectivas especificações, estão demonstrados na tabela 44.1[5,12].

INDICAÇÕES

Atualmente, todos os cálculos urinários com indicação cirúrgica podem ser tratados com a ajuda da LECO, salvo aqueles casos que se enquadram nas contra-indicações. Assim sendo, todos os cálculos maiores do que 8mm de diâmetro, levando à obstrução ureteral e/ou renal com dor forte persistente, têm indicação para LECO.

Cerca de 3% dos casos requerem algum procedimento urológico associado[13-15], e menos de 2% são encaminhados para a cirurgia.

INDICAÇÕES EM CASOS ESPECIAIS

Cálculos coraliformes

Podem ser definidos como sendo cálculos grandes, que comprometem o bacinete e se estendem a um ou mais grupos caliciais. Esses cálculos podem ser divididos em três graus: o grau 1 é aquele que ocupa o bacinete e um grupo calicial; o grau 2 ocupa o bacinete e dois grupos caliciais; o grau 3 ocupa o bacinete e os três grupos caliciais.

As primeiras experiências de tratamento não-cirúrgico do cálculo coraliforme preconizavam a associação da cirurgia percutânea prévia com LECO nos fragmentos residuais[16]. Mais tarde, foram surgindo relatos de que, em alguns casos, essa associação era dispensável. Contudo, a pas-

Tabela 44.1 – Equipamentos.

Litotritor	Fonte de energia geradora	Foco	Acoplamento	Localizações	Anestesia	Pressão bar	Dimensão focal
Dornier-HM3	Eletro-hidráulico Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Imersão	RX	Sedoanalgesia	1.100	25 × 10
Dornier-MPL 9.000	Eletro-hidráulico Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Imersão	US	Nenhuma	1.500	35 × 4
Dornier-MPL 5.000	Eletro-hidráulico Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Membrana	RX	Nenhuma	800	40 × 6
Dornier-HM4	Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Membrana	RX	Sedoanalgesia	1.100	25 × 10
Technomed	Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Membrana	RX-US	Nenhuma sedoanalgesia	1.000	55 × 15
Yashyoda	Microexplosivo	Semi-elipsoidal	Imersão parcial	RX	Sedoanalgesia	500	30 × 10
Siemens	Eletromagnético Placa metálica	Lentes acústicas	Membrana	RX-US	Nenhuma sedoanalgesia	700	53 × 6
Wolf	Piezoelétrico Elementos de cerâmica	Semi-esfera	Membrana	US	Nenhuma	1.100	11 × 3
Edap	Piezoelétrico Elementos de cerâmica	Semi-esfera	Imersão parcial	US	Nenhuma sedoanalgesia	900	25 × 25
Genestone 150	Eletro-hidráulico Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Membrana	RX-US	Sedoanalgesia	800	–
Genestone 190	Eletro-hidráulico Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Membrana	RX	Sedoanalgesia	800	–
Direx-Triptor	Eletro-hidráulico Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Membrana	RX-US	Sedoanalgesia	800	34 × 10
Direx-Nova	Eletro-hidráulico Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Membrana	RX-US	Sedoanalgesia	800	–
Storz	Eletro-hidráulico Placa metálica	Refrator trapezoidal	Membrana	US	Sedoanalgesia	1.000	28 × 6
Lithomax II	Eletro-hidráulico Eletrodo imerso	Semi-elipsoidal	Membrana	RX	Sedoanalgesia	1.000	–
Diasonic	Piezoelétrico Elementos de cerâmica	Lentes acústicas	Membrana	RX-US	Sedoanalgesia	1.000	25 × 3

sagem do cateter ureteral "duplo J" ou "pig tail" por via endoscópica era obrigatória para prevenir a obstrução ureteral[17].

Recentemente, já se tem notícia da viabilidade do tratamento do cálculo coraliforme por meio da LECO como monoterapia *in situ*[15,18].

Com o objetivo de comprovar a eficácia desse método no tratamento do cálculo coraliforme, fizemos, no Lithocentro de Belo Horizonte, uma pesquisa com 81 pacientes, sendo 32 do sexo masculino, com idade variando entre 23 e 72 anos (média 48 ± 8,4 anos). Todos foram submetidos a avaliações laboratoriais, exames radiológicos, ultra-sonografia e cintilografia renal dinâmica (DTPA) e estática (DMSA). Aqueles que apresentavam infecção urinária receberam antibioticoterapia parenteral antes do procedimento e por mais quatro dias após o tratamento, quando, então, o antibiótico era substituído pela medicação via oral por mais 14 dias.

O cálculo coraliforme era dividido em quadrantes por linhas imaginárias; primeiro, tratava-se o quadrante localizado na pelve renal, seguindo-se para os cálices superiores, depois, para os médios e, por último, o quadrante dos cálices inferiores.

Todos os pacientes foram submetidos a LECO por intermédio do aparelho Lithostar-Plus, da Siemens.

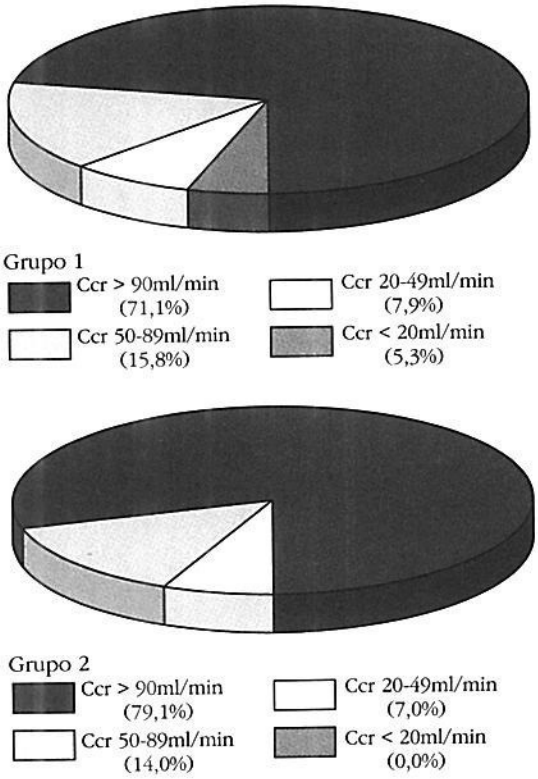
A quantidade de ondas emitidas por sessão nunca ultrapassava 6.000. A potência das ondas atingia o máximo de 18,4kv, o que corresponde a 320 bar de pressão[19].

Esses pacientes foram divididos em dois grupos: o grupo 1 era composto por 38 pacientes, que se submeteram à cateterização ureteral "duplo J" prévia; o grupo 2 era composto por 43 pacientes, tratados na forma de monoterapia *in situ*.

Observamos que a maioria dos pacientes, tanto do grupo 1 quanto do grupo 2, apresentava uma função renal normal (Fig. 44.1). A infecção urinária estava presente na maioria dos pacientes antes do tratamento, com redução acentuada após o tratamento em ambos os grupos (Figs. 44.2 e 44.3).

As principais complicações observadas foram hematúria macroscópica, presente em ambos os grupos. Cólicas foram muito mais freqüentes no grupo 2, assim como o fenômeno de "steinstrasse" (obstrução ureteral por acúmulo de fragmentos). Por outro lado, a bacteriemia foi mais freqüente no grupo 1 (Fig. 44.4).

O índice de retratamento foi similar nos dois grupos, assim como os resultados finais após três meses, com 80% de sucesso (Tabela 44.2 e Fig. 44.5).



Ccr = "clearance" de creatinina.

Figura 44.1 – Variação da função renal nos 2 grupos.

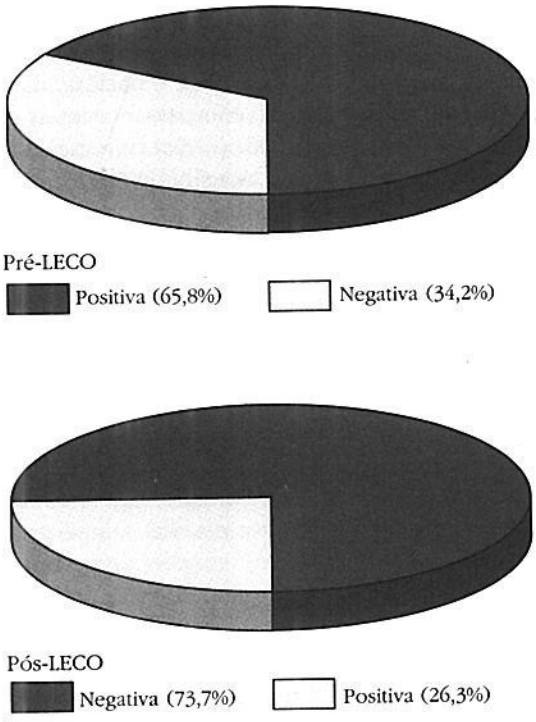


Figura 44.2 – Urocultura do grupo 1.

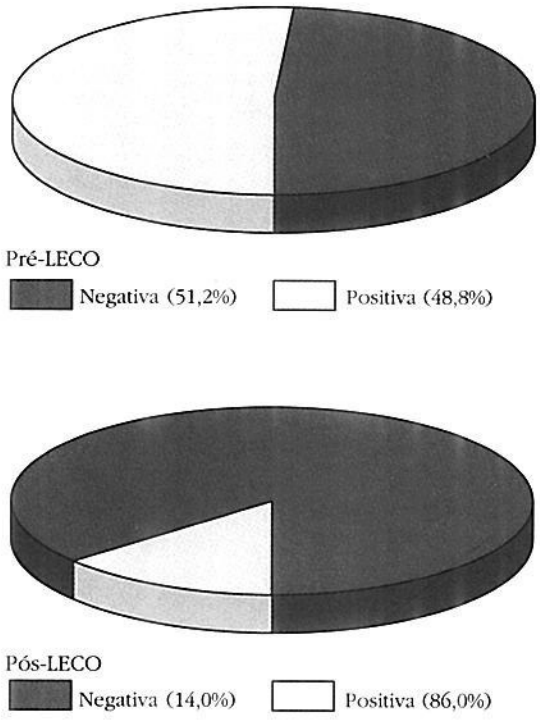


Figura 44.3 – Urocultura do grupo 2.

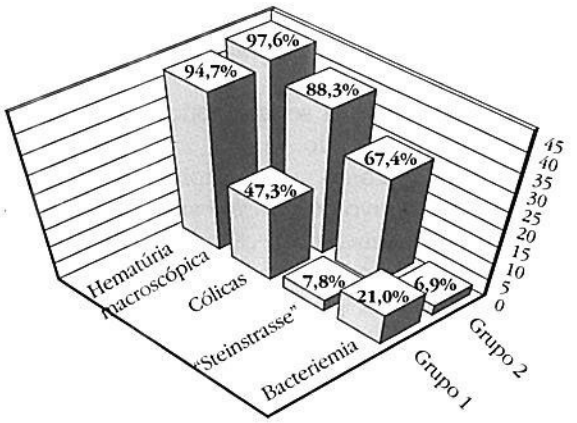


Figura 44.4 – Principais complicações.

Tabela 44.2 – Índice de retratamento nos 2 grupos.

	Índice de retratamento (IR)	
Grupo 1	62/38	IR = 1,6
Grupo 2	74/43	IR = 1,7

Concluímos, então, que o tratamento do cálculo coraliforme na forma de monoterapia *in situ* é eficaz. As complicações observadas são menos freqüentes no grupo com cateter "duplo J", exceto para hematúria macroscópica e bacteriemia. A morbidade é bem menor, comparada com as outras modalidades terapêuticas. A recuperação dos pacientes para suas atividades habituais é rápida.

Portanto, pelos resultados obtidos, a nossa indicação para o tratamento de cálculo coraliforme com monoterapia *in situ* tem-se tornado cada vez maior, uma vez que as complicações mais freqüentes com essa forma de tratamento foram todas resolvidas sem exigir procedimentos invasivos, e, conseqüentemente, não aumentando a morbidade. Entretanto, cremos que o bom senso deve sempre prevalecer. Ressaltamos, ainda, que cada caso deve ser individualizado e estudado com cautela, para a melhor escolha terapêutica.

LECO na infância

O advento da LECO veio revolucionar o tratamento primário da litíase em crianças, por ser de fácil aplicação e grande eficácia, principalmente com litotritores de geração mais recente[20].

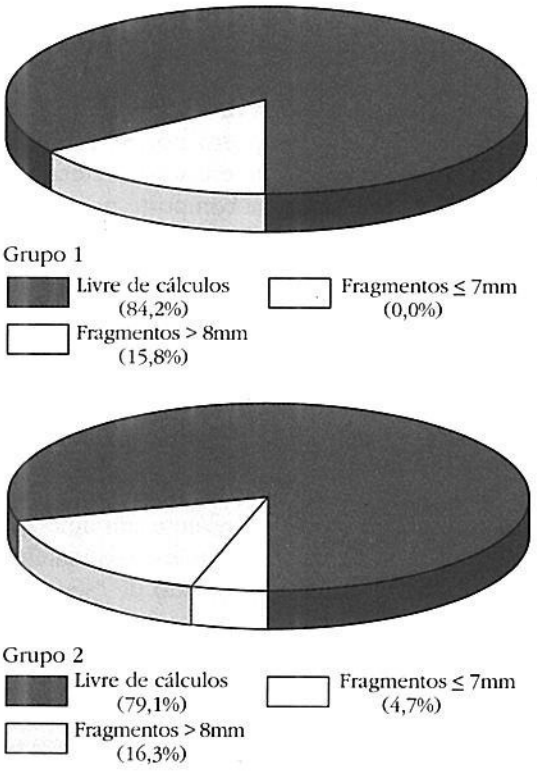


Figura 44.5 – Resultados após três meses de tratamento.

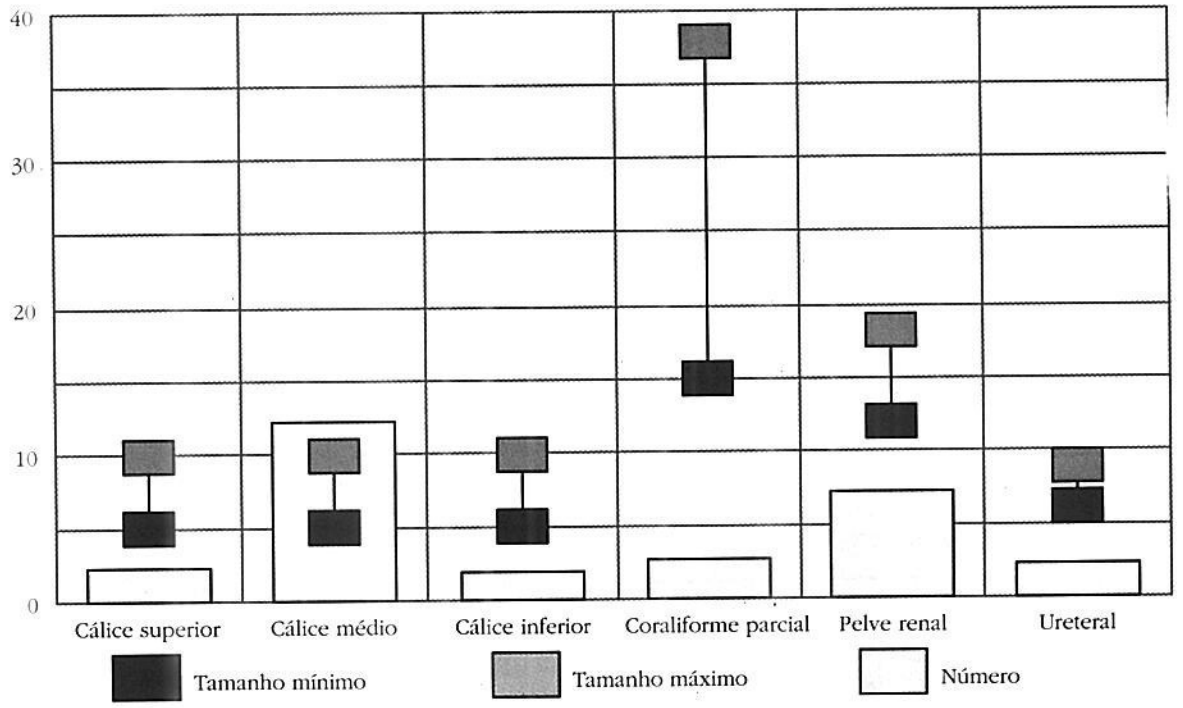


Figura 44.6 – Localização, número e tamanho dos cálculos.

Esses tipos de aparelho permitem uma fácil acomodação das crianças sem adaptações especiais; ocorre menor exposição aos raios X e a pressão das ondas de choque necessária para a fragmentação dos cálculos é baixa, reduzindo-se o risco de lesão renal ou de outros órgãos.

Em nossa casuística, a idade das crianças variou entre 4 e 12 anos, com média de 6,6 anos.

O tamanho dos cálculos variou de 6 a 24mm em seu maior diâmetro (Fig. 44.6).

Os pacientes eram avaliados laboratorial e radiologicamente antes do tratamento. Aqueles com infecção urinária recebiam antibioticoterapia pré, per e pós-LECO por 14 dias.

Todos os casos foram tratados ambulatorialmente. O período de tratamento foi em média de 30 minutos, com uma média de 3.000 ondas de choque, kv médio de 16,9, correspondendo a 280 bar de pressão. A monitorização de todas as crianças era realizada com cardioscópio, estetoscópio precordial e oxímetro de pulso.

O tempo de exposição aos raios X foi em média de 1 minuto. Não foi necessário o uso de procedimentos auxiliares em nenhum caso. Os pacientes eram anestesiados por analgesia venosa com opiáceo, ou anestesia geral inalatória sob máscara.

As principais complicações foram cólicas em 36%, hematúria macroscópica em 100%, fenômeno de "steinstrasse" em 11% e não houve nenhum caso de bacteriemia (Tabela 44.3).

Tabela 44.3 – Principais complicações da LECO.

Complicações	Freqüência	%
Cólica	04/11	36,6
Hematúria	11/11	100,0
"Steinstrasse"	01/09	11,1
Bacteriemia	00/11	0,0

As ocorrências mais freqüentes durante o procedimento foram dor e taquicardia (Fig. 44.7).

Após a LECO, foram observadas náuseas e vômitos como as ocorrências mais comuns (Fig. 44.8).

O controle, após três meses, revelou que 55% dos pacientes estavam livres de cálculos, 27% apresentavam fragmentos menores de 2mm; 18% não retornaram para o controle (Fig. 44.9).

Concluímos, então, que a LECO pode ser considerada, na maioria das vezes, o tratamento de escolha na litíase urinária da criança. A fragmentação de cálculos nas crianças parece ser obtida mais facilmente que no adulto. Isso pode dever-se a uma melhor transmissão das ondas de choque pelo pequeno volume corpóreo. O ideal é tratar a criança com uma pressão máxima de onda até 400 bar.

A anestesia inalatória oferece mais vantagem para a criança, pois há hipnose, analgesia e imobilidade completa, tudo isto levando a um procedimento mais rápido e tranqüilo.

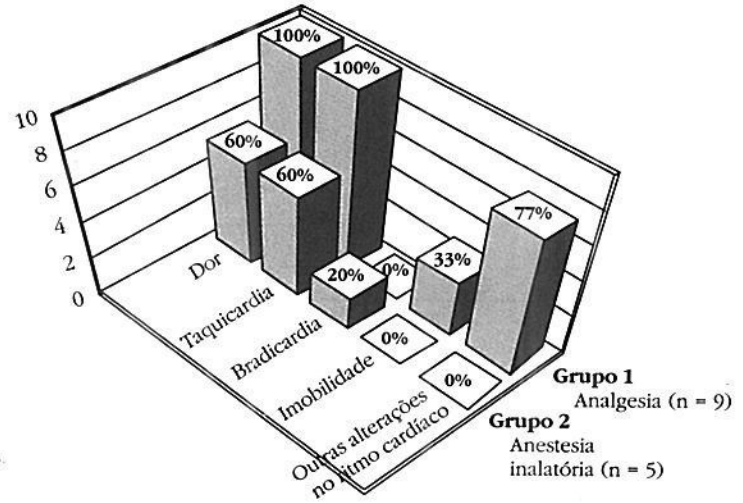


Figura 44.7 – Ocorrências durante o procedimento.

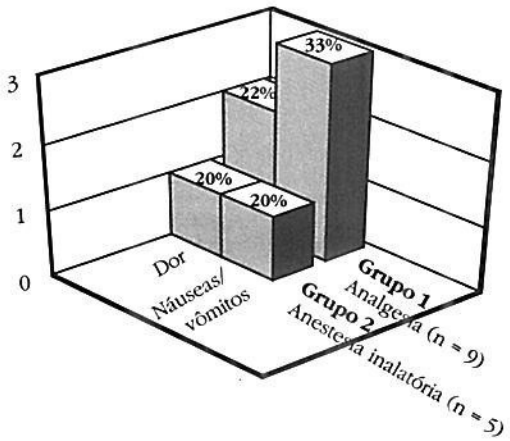


Figura 44.8 – Ocorrências após a LECO (período pós-anestésico).

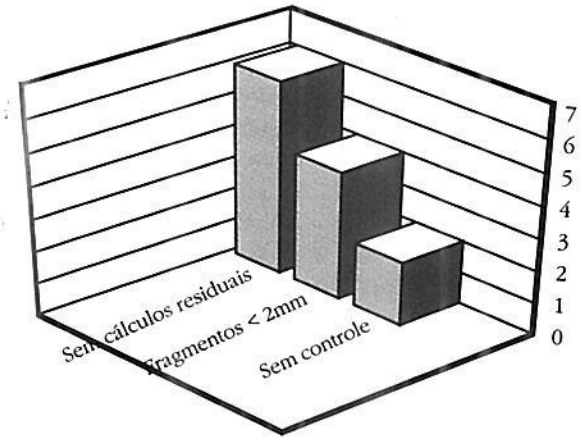


Figura 44.9 – Controle após três meses (número de pacientes).

Por fim, julgamos que séries mais longas com número maior de pacientes são necessárias para avaliar os efeitos, a longo prazo, sobre a função renal em desenvolvimento.

Cálculos ureterais

Aproximadamente 80% de todos os cálculos que se tornam sintomáticos são ureterais, entretanto, apenas 10 a 15% requerem algum procedimento médico para sua eliminação.

O tratamento desse tipo de cálculo com LECO apresenta resultados piores, com maior necessidade de novos tratamentos (índice de retratamento), em conseqüência de alguns fatores como a pequena câmara de expansão necessária para a total fragmentação. A posição de ureter também varia dentro do organismo, tornando-se em alguns pontos mais profunda, exigindo que as ondas se propaguem por mais tecidos, atenuando conseqüentemente sua potência e aumentando as complicações. Por essas razões, alguns autores aconselham a passagem de um cateter para empurrar o cálculo até a pelve renal, ou deixar um cateter ao lado do cálculo, para aumentar a câmara de expansão[20-24].

A tendência atual é a indicação da LECO *in situ*, por ser menos invasiva e apresentar recuperação rápida, freqüentemente sem necessidade de anestesia, com menos complicações e com eficácia semelhante aos demais métodos[12].

CONTRA-INDICAÇÕES

Menos de 5% dos pacientes são excluídos da LECO por apresentarem contra-indicações.

As principais contra-indicações podem ser divididas em clínicas, urológicas e técnicas (Quadros 44.1, 44.2 e 44.3).

Quadro 44.1 – Contra-indicações clínicas formais e relativas da LECO.

Contra-indicações clínicas
- Coagulopatias não-corrigidas
- Hipertensão arterial não controlada
- Gravidez
- Aneurisma de aorta de artéria renal

Contra-indicações clínicas relativas
- Arritmias cardíacas
- Portadores de marca-passo cardíaco
- Classificações da aorta ou artéria ipsolateral

Quadro 44.2 – Contra-indicações urológicas da LECO.

- Estenose distal ao cálculo
- Cálculos em cálices cronicamente distendidos
- Alteração funcional da mobilidade ureteral
- Anomalias anatômicas graves

Quadro 44.3 – Dificuldades técnicas na LECO dependendo do tipo do litotritor.

1. Tamanho do paciente
2. Obesidade
3. Anomalias esqueléticas
4. Rins ectópicos
5. Densidade radiológica do cálculo
6. Localização do cálculo

As contra-indicações clínicas são as coagulopatias não-corrigidas. A hipertensão arterial não controlada é também contra-indicação, sendo necessário o controle rigoroso dos níveis pressóricos antes do tratamento. Aneurisma de aorta ou de artéria renal é ainda considerado contra-indicação. Entretanto, a calcificação das artérias renais ou da aorta não apresenta contra-indicações formais, desde que alguns trabalhos mostraram que ondas de choque não afetam as calcificações arteriais[5]. A gravidez é ainda contra-indicada, por não se saber se as ondas de choque apresentam algum efeito teratogênico e também pela exposição aos raios X durante o tratamento. Aqueles pacientes portadores de marca-passo cardíaco e arritmias devem ser cuidadosamente avaliados pelo cardiologista antes de se submeterem à LECO, sendo importante a presença desse especialista durante o procedimento.

As contra-indicações urológicas são devidas a alterações anatômicas ou funcionais que dificultam a saída dos fragmentos: como estenose distal ao cálculo, cálculos em cálices cronicamente distendidos, alteração funcional da mobilidade ureteral e anomalias anatômicas graves.

As contra-indicações por dificuldades técnicas são variáveis, dependendo do tipo do litotritor. A obesidade pode ser contra-indicação, por não se conseguir colocar o paciente no ponto focal das ondas de choque. As anomalias esqueléticas, os rins ectópicos e o tamanho dos pacientes também podem apresentar as mesmas dificuldades técnicas.

O cálculo radiotransparente pode trazer alguma dificuldade, principalmente se o equipamento não apresentar ultra-som ou se o cálculo se encontra ao nível do ureter médio, no qual se torna difícil a visualização também pelo ultra-som.

A posição do cálculo, principalmente ao nível do ureter médio, é uma contra-indicação relativa, em vista da dificuldade de fragmentação devido à atenuação das ondas de choque pelos ossos do quadril. Quando aplicadas por via anterior, pode existir a interposição de alças intestinais com ar em seu interior, alterando a onda e reduzindo sua capacidade de fragmentação, além dos riscos de lesão nessas alças.

EFEITOS COLATERAIS

Apesar do grande avanço tecnológico alcançando no tratamento dos cálculos urinários com o uso da LECO, esse procedimento não está isento de efeitos colaterais, que podem ser divididos em renais e extra-renais (Quadros 44.4 e 44.5).

Quadro 44.4 – Efeitos colaterais renais da LECO.

Renais agudos
- Hematúria
- Diminuição do fluxo renal plasmático do rim tratado
- Insuficiência renal aguda (não-obstrutiva)
- Perda da demarcação corticomedular
- Congestão renal com degeneração tubular discreta
- Elevação urinária da N-acetilglucosaminidase (NAG)
- Obstrução ureteral
- Retardo na eliminação do contraste sem obstrução
- Hematomas
- Aumento renal
- Derrame perirrenal ou subcapsular
- Ruptura e congestão de capilares perirrenais
- Elevação urinária de beta-galactosidase (βGAL)

Renais crônicos
- Perda da função renal
- Hipertensão arterial

Quadro 44.5 – Efeitos colaterais extra-renais da LECO.

– Pancreatite
– Arritmias cardíacas
– Elevação da bilirrubina e desidrogenase láctica
– Elevação de transaminase glutâmica
– Elevação de creatinofosfoquinase
– Hemorragia pulmonar
– Erosões gástricas e duodenais
– Hematoquesia secundária e lesão do cólon

Os efeitos colaterais renais podem ainda ser divididos em agudos e crônicos.

Os efeitos renais agudos são a hematúria muito freqüente, que sugere lesão parenquimatosa e não somente lesão de uroepitélio[25].

A lesão renal é vista com freqüência após LECO e pode variar entre discreta contusão renal e grandes hematomas, associados a sangramentos profusos, necessitando às vezes de transfusão sangüínea[25-27]. Vários trabalhos usando ressonância magnética e cintilografia renal têm estimado que 63 a 85% de todos os pacientes submetidos a LECO apresentam uma ou mais formas de lesão renal[25-30].

Áreas de fibrose podem-se desenvolver um mês após o procedimento[31]. Tais alterações envolvem a cápsula renal e podem ter efeitos consideráveis a longo prazo. Sabidamente, fibrose da cápsula renal pode levar à compressão do rim, causando alterações na hemodinâmica renal, com conseqüente hiper-reninemia e hipertensão arterial[29-31].

Outras alterações renais observadas após LECO são o aumento do tamanho renal e a perda da demarcação corticomedular[25,26,32,33]. Essas alterações sugerem lesões no néfron e na vasculatura renal, levando o extravasamento de urina e sangue no espaço extracelular, podendo causar seqüelas tubulointersticiais e compressão intra-renal. Perda da função renal transitória também já foi observada[32,34-36].

Elevações séricas e urinárias de várias enzimas também foram observadas após a LECO. Essas alterações incluem elevações de bilirrubinas, desidrogenase láctica, transaminase glutâmico-oxalacética, N-acetilglucosaminidase, beta-galactosidase e gama-glutamiltranspeptidase[35,37,38]. Tais alterações sugerem trauma renal e nos tecidos adjacentes e podem persistir por vários dias.

Lesões em outros órgãos podem ocorrer durante a LECO, principalmente no pulmão e nas alças intestinais, devido ao ar existente dentro desses órgãos[40-42].

Foi também descrita a presença de pancreatite aguda, com elevação de amilase e lipase em alguns pacientes submetidos à LECO[37].

As ondas de choque podem também induzir extra-sistolia, necessitando, por essa razão, que os disparos sejam sincronizados com a onda R do ECG.

Os efeitos renais crônicos podem aparecer dentro de três categorias: a) alterações na função renal; b) alterações na circulação renal; c) aumento na taxa de recorrência de cálculo.

As alterações na função renal são ainda ponto polêmico na literatura. Chaussy[38] não encontrou alteração na função renal por um período de quatro anos pós-LECO. Já investigadores em Gainesville estudaram 21 pacientes por um período de 17 a 20 meses e demonstraram uma diminuição significativa na porcentagem do fluxo plasmático efetivo do rim tratado[43].

No estudo realizado no Lithocentro de Belo Horizonte utilizando cintilografia renal dinâmica (DTPA), com o método de "Gate" modificado, foi demonstrado que a taxa de filtração glomerular não se alterou significativamente um ano após a litotripsia[44].

As alterações na circulação renal de evolução crônica também constituem um assunto polêmico. Vários autores encontraram hipertensão arterial pós-LECO.

Os primeiros relatos surgiram em 1986, quando Peterson e cols[45] observaram a incidência de 4% de hipertensão arterial sistêmica (HAS). Depois, Lingeman & Kulb[46], em 1987, Williams e cols[43], em 1988, e Motgomery[47], em 1989, relataram HAS em 8% dos pacientes pós-LECO. Em 1992, Yokoyama e cols[48] descreveram HAS em 1% dos pacientes 18 meses pós-LECO e informaram que havia aumento médio na pressão diastólica de 1,2mmHg em todos os pacientes. Em 1993, Gifford e cols[49] sugeriram no V Comitê Nacional de detecção, avaliação e tratamento de pressão alta nos Estados Unidos ser a LECO uma possível causa de HAS.

Meneses da Silva e cols[44], em estudo realizado no Lithocentro de Belo Horizonte, observaram incidência de 3% de HAS um ano pós-LECO, porém essa incidência foi observada mais freqüentemente na faixa etária acima dos 40 anos. Também nesse estudo não foi observada correlação com função renal unilateral, quantidade e potência de ondas de choque. Portanto, relacionar LECO como causa de HAS é ainda precoce. Trabalhos prospectivos multicêntricos, individualizando os diversos equipamentos existentes no mercado, são necessários para uma conclusão mais definitiva desse assunto controvertido.

Tabela 44.4 – Evolução/recorrência anual e tratamento clínico da LECO.

	Tratamento metabólico específico			
	Tratados	**Recorrência**	**Não-tratados**	**Recorrência**
1 ano	619	(1,0%)	5.580	335 (6,0%)
2 anos	588	5 (0,8%)	4.905	343 (7,0%)
3 anos	534	8 (1,5%)	3.642	291 (8,0%)
4 anos	486	7 (1,5%)	2.963	222 (7,5%)
5 anos	407	4 (1,0%)	712	550 (7,0%)

Tabela 44.5 – Principais complicações da LECO.

Causas	**Complicações**	**Nº de pacientes**	**%**
Relacionadas a fragmentos do cálculo	Cólicas	5.402	87,0
	"Steinstrasse"	621	10,0
Relacionadas às ondas de choque	Hematúria	4.908	79,0
	Abrasões na pele	1.428	23,0
	IRA não-obstrutiva	102	1,6
	Hematoma perinefrético	6	0,1
	Ruptura renal	0	0,0
Septicemias		124	2,0

O aumento na taxa de recorrência do cálculo pós-LECO também é assunto controvertido. Existem vários fatores que podem influir nesse índice de recorrência, como a presença de fragmentos residuais pós-LECO, a atividade metabólica do paciente e as alterações anatômicas, entre outras.

Análises realizadas nos Estados Unidos revelaram taxa de recorrência de 8,4% um ano pós-LECO naqueles pacientes que estavam livres de cálculo e de 21,6% naqueles que apresentavam fragmentos residuais. No período de um a dois anos pós-LECO, observou-se taxa de 10,6% nos pacientes livres de cálculos e de 21,7% naqueles que apresentavam fragmentos residuais[27].

Em nossa experiência, encontramos diferença significativa na taxa de recorrência entre os pacientes que se submeteram à avaliação metabólica e que estavam em tratamento do distúrbio diagnosticado e entre aqueles que não fizeram o diagnóstico metabólico e, conseqüentemente, não estavam em tratamento específico. A média de recorrência um a cinco anos pós-LECO foi de 7% nos pacientes não tratados metabolicamente e de 1% naqueles que foram tratados (Tabela 44.4).

COMPLICAÇÕES

As principais complicações podem ser divididas em causas relacionadas aos fragmentos dos cálculos, às ondas de choque ou, ainda, às causas infecciosas (Tabela 44.5).

Das complicações relacionadas a fragmentos de cálculos, a mais freqüente é a cólica que ocorre, em nossa experiência, em 87% dos casos. O fenômeno de "steinstrasse", que se caracteriza por obstrução ureteral, devido a múltiplos fragmentos, podendo levar à hidronefrose, ocorreu em 10% em nossa experiência.

As complicações relacionadas às ondas de choque foram hematúria macroscópica, que ocorreu em 79% dos casos, em nossa casuística. Equimoses no local de entrada das ondas na pele ocorreram em 23% dos casos. A insuficiência renal aguda não-obstrutiva, devido à lesão renal, é complicação rara, tendo ocorrido em apenas 1,6% dos nossos pacientes. Hematoma perinefrético também foi uma complicação rara, tendo sido observado em apenas 0,1% em nosso Serviço. Ruptura renal já foi descrita por outros, em nossa casuística não ocorreu em nenhum caso.

As complicações infecciosas mais comuns são as septicemias, que podem ser muito graves, levando à instabilidade hemodinâmica, ao choque séptico e ao óbito. A causa mais comum dessa complicação é a fragmentação de cálculos de infecção ou em pacientes com infecção urinária não tratada previamente. Portanto, torna-se imprescindível a avaliação de culturas de urina no pré-LECO, sendo fundamental o tratamento antimicrobiano nesse período, naqueles casos em que se diagnosticou infecção urinária[50]. Em nossa experiência, septicemia pós-LECO ocorreu em 2% dos casos.

RESULTADOS CLÍNICOS

Em nosso Serviço, foram tratados 6.209 pacientes, sendo 57% do sexo masculino, 62% brancos e apenas 4% negros. A faixa etária mais freqüente foi dos 31 aos 41 anos (Tabela 44.6). A localização dos cálculos foi das mais variadas, sendo 37,1% no nível de pelve renal, 17% em cálices, 35% em ureter e apenas 0,2% no nível vesical (Tabela 44.7). O tamanho dos cálculos variava de 8mm até acima de 26mm. O índice de retratamento variava de acordo com o tamanho e a densidade dos cálculos, sendo que, quanto maior o cálculo, maior era o índice de retratamento (Tabelas 44.8 e 44.9).

Tabela 44.6 – Distribuição por idade dos 6.209 pacientes tratados.

Faixa etária	Nº de pacientes	%
0-15	93	1,5
16-30	1.460	23,5
31-45	3.849	62,0
46-60	621	10,0
> 61	186	3,0

Tabela 44.7 – Localização dos cálculos.

Localização	Nº de pacientes	%
Piélico	2.304	37,2
Calicial	1.068	17,2
Ureter superior	962	15,5
Ureter médio	714	11,5
Ureter inferior	1.149	18,5
Vesical	12	0,2

Tabela 44.8 – Tamanho dos cálculos.

Tamanho (mm)	Nº de pacientes	%	Índice de retratamento	%
8-10	2.586	45	1,12	12
11-15	1.925	31	1,20	20
16-20	683	11	1,32	32
21-25	559	9	1,49	49
> 26	186	3	1,70	70

Tabela 44.9 – Índice de retratamento (IR) e tipo de cálculo.

	Radio-opaco	%	Radio-transparentes	%
Nº de pacientes	5.526	89	683	11
Nº de procedimentos	6.797	–	799	–
IR	1,23	23	1,17	17

Os resultados após três meses também variavam de acordo com o tamanho e a localização dos cálculos. Cálculos de até 10mm de diâmetro apresentavam um índice de sucesso em torno de 97%, já cálculos acima de 30mm de diâmetro eram totalmente eliminados em apenas 42% dos casos, sendo que 38% persistiam com fragmentos menores do que 4mm e 20% apresentavam fragmentos maiores do que 4mm (Tabela 44.10).

Tabela 44.10 – Resultados clínicos após três meses.

Tamanho (mm)	Livre de cálculo (%)	≤ 4mm (%)	> 4mm (%)
< 10	82	15	3
11-20	50	40	10
21-30	43	28	29
> 31	42	38	20

Concluímos, então, que a LECO é um procedimento para o tratamento dos cálculos urinários, com boa eficácia terapêutica, fácil de ser realizada, confortável para os pacientes, com morbidade e mortalidade significativamente menores, sendo seu custo operacional mais baixo e uma recuperação rápida dos pacientes para suas atividades habituais.

Contudo, deve-se ressaltar que tal procedimento não está isento de efeitos colaterais, que podem trazer complicações sérias para o paciente.

Por ser um tratamento revolucionário e muito recente na história da Medicina, é fundamental a pesquisa constante, multicêntrica, prospectiva, para a avaliação dos efeitos crônicos renais e extra-renais.

Por essa razão, a indicação indiscriminada para esse tratamento deve ser evitada. Julgamos ainda que a prevenção de novos cálculos deve ser estimulada em todos esses pacientes, com a ajuda do estudo metabólico adequado, pois seguramente reduz o índice de recorrência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LINGEMAN JE, SMITH LH, WOODS JR, NEWMAN DM: From antiquity to the Hipocratic era, in *Urinary Calculi: ESWL, Endourology and Medical Therapy*, edited by Lingeman JE, Smith LH, Woods JR, Newman DM, Philadelphia, Lea & Febiger, 1989, pp 3-9.
2. GOODWIN WE, CASEY W, WOOLF W: Percutaneous trocar (needle) nephrostomy in hidronephroses. *JAMA* 157:891-894, 1955.
3. PATTERSON DE, SEGURA JW, LeROY AJ: Long term follow-up of patients treated by percutaneous ultrasonilithotripsy for struvite staghorn calculi. *J Endourol* 1:777-779, 1987.
4. CHAUSSY C, SCHMIEDT E, JOCHAM D, BRENDEL W, FORSSMANN B, WALTHER V: First clinical experience with extracorporeally induced destruction of the kidney stones by shock waves. *J Urol* 127:417-420, 1982.

5. CHAUSSY C, FUCHS GJ: Current state and future development of noninvasive treatment of human urinary stones with extracorporeal shock wave lithotripsy. *J Urol* 141:782-789, 1989.
6. SPIRNAK JP, RESNICK MI: Extracorporeal shock wave litotripsy, in *Urolithiasis: A Medical and Surgical Reference*, edited by Resnick MI, Pak CyC, Philadelphia, W.B. Saunders, 1990, pp 321-361.
7. EISENBERGER F, CHAUSSY C, WANNER K: Extracorporeale anwendung von hochenergestischen stosswelle nein never aspekt in der behadlung des harnsteinleides. *Teil I Akt Urol* 8:3-7, 1977.
8. CHAUSSY C, BRENDEL W, SCHMIEDT E: Extracorporeally induced destruction of kideny stones by shock waves. *Lancet* 2:1265-1268, 1980.
9. CHAUSSY C, SCHMIEDT E, JOCHAM D, WALTHER V, BRENDEL W: New aspects in the treatment of kidney stones disease, in *Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy, New Aspects in the Treatment of Kidney Stone Disease*, edited by Chausy C, New York, Karger, 1982, pp 36-42.
10. FORSSMANN B: Technical innovations for the Dornier kidney lithotriper (abstract), *First International Symposium on Anesthesia and ESWL*, Munich, June 20-21, 1986, p 78.
11. HEINE G: Physical aspects of shock wave treatment, in *Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy for Renal Stone Disease*, edited by Gravenstein JS, Peter K, Boston, Butter-Worths, 1986, pp 2-9.
12. MILETO ACP, LARANJA SMR: Litotripsia extracorpórea por ondas de choque (LECO), em *Calculose Renal, Fisiopatologia, Diagnóstico, Tratamento*, editado por Schor N, Heilberg IP, São Paulo, Sarvier, 1995, pp 263-275.
13. LINGEMAN JE, COURY TA, NEWMAN DM, KAHNOSKI RJ, MERTZ JHO, MOSBAUGH PG, STEELE RE, WOODS JR: Comparision of results and morbility of percutaneus nephrostolithotomy and extracorporeal shock wave lithotripsy. *J Urol* 138:485-490, 1987.
14. RODRIGUES NETO Jr N, CLARO JFA, FERREIRA U: Percutaneous monotherapy for staghorn calculus before and after introdutiom of extracorporeal shock wave lithotripsy with Lithostar Litotritor. (abstract 601) *J Urol* 147(Suppl):363A, 1992.
15. SILVA ED, GUGLIOTTA A: Litotripsia extracorpórea como monoterapia no cálculo coraliforme com MFL 5000 da Philips Dornier. *J Bras Urol* 19:77-79, 1993.
16. WINFIELD HN: Staghorn renal calculi treatment comparision between percutaneus nephrolithotomy and extracorporeal shock wave lithotripsy. (abstract 309) *J Urol* 135:181A, 1986.
17. PODE D, VERSTANDIG A, SHAPIRO A, KATZ G, CAINE M: Treatment of complete staghorn calculi by extracorporeal shock wave lithotripsy monoterapy with special reference to internal stenting. *J Urol* 140:260-265, 1988.
18. SILVA JAM, BRANT ACC, GUERRA PCG, RAGGI PP, ALVES PR, FONSECA MA, DIAS GM, DRUMMOND MAN: Experiência de litotripsia extracorpórea por ondas de choque no tratamento do cálculo coraliforme. (abstract) *XXIV Congresso Brasileiro de Urologia*, São Paulo, 1993, pp 58.
19. GUTMANN HS, JORDAN WR: Lithostar Pressure Optimized Treatment of Renal Stones from Carolina lithotripsy, Inc Fayetteville, NC. (abstract), Hong Kong Symposium, Nov 1989, pp 332.
20. CHAUSSY C, SCHMIEDT E, JOCHAM D, FUCHS G, BRENDEL W: In vitro and in vivo studies on biological systems, in *Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy, New Aspects in the Treatment of Kidney Stone Disease*, edited by Chaussy CG, Basel, Karger, 1982, pp 21-35.
21. STENZL S, RANDZZAO R, FUCHS GJ: Extracorporeal shock wave lithotripsy for treatment of symptomatic nephrocalcinosis. (abstract 405) *J Urol* 139 (Part 2):264A, 1988.
22. MALONE MJ, ROTH RA: Contemporary management of ureteral stones. (abstract 403) *J Urol* 139 (Part 2):263-A, 1988.
23. FUCHS GJ, CHAUSSY CG, RIEHLE RA: Treatment of stones, in *Principles of Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy*, edited by Riehle RA, Newman RC, New York, Churchill Livingstone, 1987, pp 159-166.
24. LUPU AN, CHAUSSY CG, FUCHS GJ: Treatment of ureteral stones: controversies and emerging concepts. (abstract 101) *J Urol* 139 (Part 2):188-A, 1988.
25. RUBIN JI, ARGER PH, POLLACK HM, BANNER MP, COLEMAN BG, MINTZ MC, Van ARSDALEN KN: Kidney changes after extracorporeal shock wave lithotripsy: CT evaluation. *Radiology* 162:21-24, 1987.
26. KNAPP PM, SCOTT JW: Magnetic resonance imaging following extracorporeal shock wave lithotripsy. (abstract) *J Urol* 137:287-A, 1987.
27. LINGEMAN JE, SMITH LH, WOODS JR, NEWMAN DM: Bioeffects and long term results of extracorporeal shock wave lithotripsy, in *Urinary Calculi: Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy. Endourology and Medical Therapy*, edited by Lingeman JE, Smith LH, Woods JR, Newman DM. Philadelphia, Lea & Febiger, 1989, pp 273-292.
28. HEGAZY AR, ISHAK AE, EL-KATEBS: The effect of extracorporeal shock wave lithotripsy on the kidney: histopathological study. (abstract). *V World Congress on Endourology and Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy*, Cairo, November 1-4, 1987, pp 82.
29. ENGEL WJ, PAGE IH: Hypertension due renal compression resulting from subcapsular hematoma. *J Urol* 73:735-739, 1955.
30. GRANT Jr RP, GIFFORD Jr RW, PUDVAM WR, MEANEY TF, STRAFTON RA, McCORMACK LJ: Renal trauma and hypertension. *Am J Cardiol* 27:173-176, 1971.
31. SUFRIN G: The Page kidney: A correctable form of arterial hypertension. *J Urol* 113:450-454, 1975.
32. KAUDE JV, WILLIAMS CM, MILLNER MR, SCOTT KN, FINLAYSON B: Renal morphology and function immediately after extracorporeal shock wave lithotripsy. *AJR* 145:305-315, 1985.
33. GRANTHAM JR, MILLNER MR, KAUDE JV, FINLAYSON B, HUNTER II PT, NEWMAN RC: Renal stone disease treated with extracorporeal shock wave lithotripsy: short-term observations in 100 patients. *Radiology* 158:203-206, 1986.
34. PESSIS D, MCKIEL C, HOEKSEMA J: Non obstructive renal failure following extracorporeal shock wave lithotripsy in a patient with a single kidney (abstract). *60th Annual Meeting of the North Central Section Aua Rancho Mirage*. CA, November 9-15, 1986, p 55.
35. LINGEMAN JE, NEWMAN D, MERTZ HO, MOSBAUGH PG, STEELA RE, KAHNOSKI RJ, COURY TA, WOODS JR: Extracorporeal shock wave lithotripsy: The Metodist Hospital of Indiana experience. *J Urol* 135:1134-1137, 1986.
36. RUIZ MARCELLÁN RJ, IBARZ SERVIO L: Evaluation of renal damage in extracorporeal lithotripsy by shock wave. *Eur Urol* 12:73-75, 1986.
37. ASSIMOS DG, BOYCE WH, FURR EG, ESPELAND MA, HARRISON LH, KROOVAND RL: Urinary enzyme levels after extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL). (abstract 157) *J Urol* 137:143-A, 1987.
38. CHAUSSY C: Technical concepts, experimental research and clinical aplication, in *Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy, New Aspects in the Treatment of Kidney Stone Disease*, edited by Chaussy C, Basel, Karger, 1986, pp 51-66.
39. CASS AS: Colonic injury with extracorporeal shock wave lithotripsy for an upper ureteral calculus (abstract). *Fourth Annual Methodist Hospital of Indiana*: Symposium on Extracoporeal Shock Wave Lithotripsy, Indianapolis, USA, March, 1988, p 75.
40. AL KARAWI MA, MOHAMED AR, el-ETAIBI KE, ABOMELHA MS, SEED RF: Extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) – induced erosions in upper gastrointestinal tract. *Urology* 30:224-227, 1987.

41. WILLIAMS CM, KAUDE JV, NEWMAN RC, PETERSON JC, THOMAS WC: Extracorporeal shock wave lithotripsy: long term complications. *AJR* 150:311-315, 1988.
42. DELIUS M, ENDERS G, XUAN Z, LIEBICH HG, BRENDEL W: Biological effects of shock waves: kidney damage by shock waves in dogs: dose dependence. *Ultrasound Med Biol* 14:117-122, 1988.
43. KNAPP PM, KULB TB, LINGEMAN JE, NEWMAN DM, MERTZ JHO, MOSBAUGH PG, STEELE RE: Extracorporeal shock wave lithotripsy induced perirenal hematomas. *J Urol* 139:700-703, 1988.
44. SILVA JAM, ALVES PR, RAGGI PP, GUERRA PG, DRUMMOND MA, FONSECA MA, DIAS GM: Litotripsia extracorpórea e hipertensão arterial. *J Bras Nefrol* 17(Supl 1):S4, 1995.
45. PETERSON JC, FINLAYSON B: Effects of extracorporeal shock wave lithotripsy on blood pressure, in *Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy for Renal Stone Disease*, edited by Gravenstein J, Peter K, Boston, Butter Worth, 1986, pp 145-150.
46. LINGEMAN JE, KULB TB: Hypertension following extracorporeal shock wave lithotripsy. (abstract) *J Urol* 137:142-A, 1987.
47. MONTGOMERY BS, COLE RS, PALFREY ELH, SHUTTLEWORTH KED: Does extracorporeal shockwave lithotripsy cause hypertension? *Br J Urol* 64:567-571, 1989.
48. YOKOYAMA M, SHOJI F, YANAGIZAWA R, KANEMURA M, KITAHARA K, TAKAHASI S, KAWAI K, ODA H, OSAKA M, HANDA H: Blood pressure changes following extracorporeal shock wave lithotripsy for urolithiasis. *J Urol* 143:553-557, 1992.
49. GIFFORD DW: The fifth report of the joint national committee on detection, avaluation and treatment of high blood pressure: Insights and highlights from the chairman. *Cleve Clin J Med* 60:273-277, 1993.
50. DRENSTEIN R, BROSS JE, DAHLMANN M: Risk factors for urinary lithotripsy associated sepsis. *Infect-Control Hosp-Epidemiol* 14:469-472, 1993.

45

O ÓXIDO NÍTRICO E O RIM

Elisa Mieko Suemitsu Higa

INTRODUÇÃO

O fator relaxante derivado do endotélio (EDRF) foi descrito pela primeira vez em 1980, por Furchgott & Zawadzki[1], que observaram em seu laboratório que segmentos isolados de aorta de coelho só apresentavam resposta à ação vasodilatadora da acetilcolina na presença de um endotélio intacto.

Alguns anos depois, perseguindo uma idéia proposta pelo próprio Furchgott, e também por Ignarro, em um simpósio em 1986, Palmer e cols[2] e Ignarro e cols[3], independente e simultaneamente, foram os primeiros a apresentar evidências de que o EDRF é o óxido nítrico (NO).

Estas descobertas representaram um marco importante para o entendimento do papel do endotélio vascular na manutenção da hemodinâmica sistêmica e renal, em situação fisiológica e em estados patológicos, bem como de sua participação no sistema de coagulação e no sistema imunológico.

Hoje se sabe que o NO é um gás bastante instável, com peso molecular de 30d e uma vida média ao redor de 3 a 5 segundos, em solução aquosa e sob condições fisiológicas de temperatura, pH e tensão de oxigênio[4], embora se tenha relatado variações na sua vida média de até 50 segundos[5].

Atualmente, também é conhecido que o NO é produzido não somente pelo endotélio vascular, mas também por inúmeros tecidos e órgãos, como neutrófilos[6], macrófagos[7], plaquetas[8], cérebro[9], miocárdio[10], fibroblastos[11], músculo liso vascular[12], hepatócitos[13], etc., acreditando-se hoje que praticamente todas as células do organismo podem sintetizar o NO. Existem várias evidências sobre a produção intra-renal de NO, como será discutido adiante.

SÍNTESE E METABOLISMO

O NO é sintetizado a partir do substrato L-arginina, como demonstrado por Palmer e cols[14,15], sob a ação da enzima óxido-nítrico-sintase (NOS), com a conseqüente formação de um co-produto, a L-citrulina[16]. Sendo o NO uma molécula bastante lábil, rapidamente reage com o oxigênio para formar NO_2, que em solução dá origem ao nitrito (NO_2^-) e ao nitrato (NO_3^-)[17], metabólitos estáveis, porém sem nenhum efeito sobre a vasculatura ou sobre as plaquetas.

Quanto às NOS, foram inicialmente divididas em dois grupos principais, ou seja, a isoforma constitutiva (cNOS) e a isoforma induzível (iNOS). A cNOS está presente em determinadas células onde permanece quiescente até que algum estímulo como a acetilcolina, bradicinina, etc., cause elevação dos níveis de Ca^{++}, o que leva a calmodulina a se ligar à enzima, com sua subseqüente ativação[18]. A iNOS, no entanto, é ativada por estímulos como as endotoxinas bacterianas e citocinas, que induzem sua síntese após transcrição[19], e parece depender também do complexo cálcio-calmodulina, apesar de que sejam necessárias concentrações menores de Ca^{++} do que as exigidas pela forma constitutiva[20].

Atualmente, através dos recursos da Biologia Molecular, incluindo as técnicas de clonagem e a análise seqüencial, acredita-se que existam pelo menos quatro isoformas principais da NOS, provavelmente codificadas por diferentes genes:

1. A neuronal ou NOS I, pela nomenclatura proposta por Forstermann e cols[21], do tipo constitutiva, foi a primeira a ser isolada e clonada no cerebelo, por Bredt & Snyder[22] e Bredt e cols[23].
2. A endotelial ou NOS III é também do tipo constitutiva, tendo sido purificada por Forstermann e cols[24] e subseqüentemente clonada[25,26,27].

3. A macrofágica ou NOS II é do tipo induzível, foi purificada em macrófagos[28] e neutrófilos[29], clonada em macrófagos[30,31,32] e mais recentemente em células da musculatura lisa vascular[33].
4. A hepática, isolada de hepatócitos humanos[34], do tipo induzível, apresenta 80% de homologia na seqüência de aminoácidos com a macrofágica, e difere desta isoforma por ser regulada pela calmodulina, o que reflete uma dependência ao Ca^{++}.

Hoje, várias classes de inibidores farmacológicos da síntese de NO são conhecidas[35], sendo os mais utilizados os análogos do seu substrato, tais como a nitro-L-arginina-metilester (L-NAME) e a N^{w}-monometil-L-arginina (L-NMMA). Eles atuam inibindo competitivamente a conversão da L-arginina em NO[15]. Mais recentemente, demonstrou-se que compostos guanidínicos, que também guardam semelhança estrutural com a L-arginina, como por exemplo o aminoguanidino, são potentes inibidores da síntese de NO e agem preferencialmente sobre a forma induzível da NOS[36,37], ao contrário da L-NAME e da L-NMMA, que inibem tanto a isoforma induzível quanto a constitutiva.

DETERMINAÇÃO EM MODELOS BIOLÓGICOS

Quimioluminescência – o NO pode ser medido diretamente por meio deste método[2], cuja dificuldade maior reside na vida média bastante curta desta molécula.

NO_2^-, NO_3^- – a produção de NO pode ser avaliada indiretamente por meio da dosagem destes seus metabólitos, pelo método colorimétrico de Griess[38].

L-citrulina – é um co-produto da síntese do NO, e portanto a atividade da NOS pode ser avaliada através da conversão da L-arginina marcada com H_3 em L-citrulina-H_3, utilizando a técnica de cromatografia de camada fina[39].

GMPc – o NO, ao ser sintetizado, age sobre a enzima guanililciclase, e esta converte o GTP em GMPc, que vai atuar como o segundo mensageiro do NO. Portanto, a determinação do GMPc intracelular, que pode ser realizada por radioimunoensaio utilizando "kit" comercial (Amersham), traduz a quantidade de NO formada.

Expressão da NOS – avaliada por técnicas de Biologia Molecular:
- "polimerase chain reaction" (PCR, amplificação enzimática do DNA);
- técnicas de hibridização, utilizando-se sondas ("probes") previamente construídas: "Southern" (hibridização com DNA), "Northern" (hibridização com RNA), ou "Western blot" (utilizando-se anticorpos específicos contra determinada proteína).

Ensaio biológico – a atividade biológica do NO pode ser avaliada pela resposta contrátil da vasculatura à fenilefrina ou à vasodilatação endotélio-dependente provocada pela acetilcolina ou bradicinina[2,40].

IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA: FISIOLOGIA RENAL

Hoje, já existem várias evidências de que o NO é sintetizado em diversas regiões do rim, como por exemplo nas células mesangiais[41,42] e endoteliais glomerulares[43], mácula densa[44,45,46], aparelho justaglomerular[47], túbulo proximal, coletor cortical e coletor medular interno e externo[48,49,50], sugerindo, portanto, sua participação tanto na função glomerular quanto na função tubular.

Hemodinâmica renal global e glomerular

Atualmente é bem aceito que o NO participa na manutenção do fluxo sangüíneo renal (FSR) e que a microcirculação renal é mediada pelo NO sintetizado endogenamente.

Por exemplo, já foi demonstrado que a L-arginina, substrato para a síntese do NO, causa aumento do fluxo plasmático renal (FPR) e da filtração glomerular (FG), em rins de ratos isolados e artificialmente perfundidos[51], efeitos que são bloqueados quando se depleta L-arginina do perfusato.

A infusão de inibidores da síntese de NO, sistemicamente[52], provoca vasoconstrição renal e diminuição da FG e do FPR; a infusão intra-renal desses inibidores resultou em redução do FPR[52,53].

Tanto o bloqueio agudo quanto o crônico do NO provocam alterações na microcirculação renal, com aumento das resistências arteriolares aferente e eferente e redução do coeficiente de ultrafiltração glomerular (Kf)[54,55]; este efeito sobre o Kf poderia estar relacionado à diminuição da produção de NO pelas células mesangiais.

Função tubular

Existem várias evidências de que o NO exerce um papel importante, não só sobre a função glomerular, mas também sobre a função tubular renal.

Siragy e cols[56] observaram que a infusão intra-renal de L-NMMA causava redução do FSR e da FG, antinatriurese, antidiurese e redução da fração de excreção de sódio, bem como diminuição dos níveis de GMPc, segundo mensageiro do NO, no fluido intersticial renal e na urina.

Por outro lado, Lahera e cols[57] mostraram que a infusão intra-renal de acetilcolina, via liberação de NO, provocava aumento do FSR e da diurese, sem, no entanto, afetar a pressão arterial média ou a filtração glomerular, sugerindo seu efeito direto sobre o transporte tubular de solutos. Contribuindo para esta hipótese, Stoos e cols[58] observaram que o NO liberado pela acetilcolina ou pela bradicinina aumenta o conteúdo de GMPc e inibe o transporte ativo (medido pela corrente de curto-circuito), em células da linhagem M-1, ou seja, de ducto coletor cortical.

Outros investigadores[59] obtiveram dados sugestivos de que o NO é também um mediador da resposta renal à expansão de volume, provavelmente devido à redução da reabsorção de sódio pelo túbulo proximal.

Além disso, parece que o NO tem participação na natriurese pressórica, tanto em rins normais, em resposta à elevação aguda da pressão da artéria renal[60], quanto em rins de ratos espontaneamente hipertensos[61].

"Feedback" tubuloglomerular e auto-regulação do FSR

Alguns investigadores[62], por meio de microperfusão de néfron isolado, observaram que a geração local de NO (na mácula densa) causava vasodilatação da arteríola aferente e aumento da pressão capilar glomerular, efeitos que eram inibidos pela furosemida; portanto, sugerindo que a NOS das células da mácula densa seria ativada pela reabsorção tubular de solutos, para liberar NO, que atuaria como o componente vasodilatador do "feedback" tubuloglomerular. Estes achados, confirmados pelas observações de Ito & Ren[45], implicam um papel desta molécula também na homeostase do volume corpóreo e da pressão sangüínea.

Sabe-se que a associação de mecanismos miogênicos e de "feedback" tubuloglomerular causam aumento da resistência arteriolar aferente, durante elevação da pressão arterial sistêmica, levando à auto-regulação do FSR e da FG[63]. Apesar de existir a possibilidade de que o NO possa mediar a resposta miogênica da auto-regulação, ainda é controverso seu papel nesta situação, desde que se observou em alguns estudos que a L-NAME reduz o FSR, sem interferir na auto-regulação[64].

IMPLICAÇÃO FISIOPATOLÓGICA

Em publicação recente de um editorial, Klahr & Morrissey[65] fazem considerações a respeito das controvérsias que ainda persistem sobre o papel do NO na doença renal.

Sendo uma molécula que apresenta múltiplas funções, o NO caracteriza-se também por apresentar duas faces: a de protetor ou a de mediador da doença renal; e muito trabalho ainda será necessário para chegarmos a uma compreensão global dos seus efeitos, com a finalidade de, no futuro, podermos interferir na instalação ou na progressão da doença renal.

Até o momento, com base experimental, já se observaram alterações na biossíntese do NO, bem como evidências de sua participação em diversas doenças onde existe envolvimento renal. Assim, apesar de os trabalhos utilizando pacientes ainda serem escassos, já é bem estabelecido que o NO é um mediador biológico de relevância clínica.

Cirrose

A vasodilatação sistêmica é considerada um dos mecanismos principais na fisiopatologia da retenção de sódio e água observada na cirrose[66].

Um fato interessante é que se observou a presença de níveis elevados de endotoxina circulante, conhecido estímulo para indução da NOS, nesta doença[67]. Por outro lado, já é bem estabelecido o papel do NO na vasodilatação observada na sepse[68,69], e, portanto, é possível que haja participação do NO na vasodilatação da cirrose, existindo já algumas evidências funcionais a esse respeito[70,71]. Neste sentido, observou-se aumento dos níveis de GMPc, segundo mensageiro do NO, em aortas de ratos com cirrose produzida por tetracloreto de carbono, e estes níveis se correlacionavam com a redução da resistência vascular sistêmica[72].

Recentemente, utilizando este mesmo modelo experimental, observamos ausência de expressão do RNA mensageiro da isoforma induzível da NOS, mas evidência farmacológica da participação da isoforma endotelial na vasodilatação arterial, característica da cirrose[73].

Em pacientes alcoólatras com cirrose confirmada histologicamente, verificou-se elevação dos níveis de NO_2^- nos leucócitos linfomononucleares, quando comparados aos controles normais ou aos alcoólatras sem cirrose[74].

Diabetes

Entre 35 e 45% dos pacientes com *Diabetes mellitus* insulino-dependente de longa duração desenvolvem nefropatia[75], sendo esta a responsável pelo aumento da mortalidade associada a esta doença. Porém, a fisiopatologia da nefropatia diabética ainda permanece bastante controversa, existindo linhas de trabalho a favor de distúrbios hemodinâmicos e outras a favor de distúrbios metabólicos.

A relevância dos fatores hemodinâmicos foi demonstrada por Zatz e cols[76] em modelo de dia-

betes induzido por estreptozotocina (Stz) em ratos, nos quais o enalapril (inibidor da enzima conversora da angiotensina I) preveniu o aparecimento de lesão estrutural glomerular e proteinúria, mesmo na vigência de acentuada hiperglicemia e níveis elevados de hemoglobina glicosilada.

Sendo o NO considerado um antagonista fisiológico da angiotensina II, existe a possibilidade de que o déficit na sua síntese, acentuando os efeitos da AII, possa ter um papel fisiopatológico na nefropatia diabética.

Alguns pesquisadores observaram que no diabetes experimental induzido por Stz ocorria falha na vasodilatação dependente de endotélio[77]; outros observaram redução dos níveis de GMPc em aorta de ratos diabéticos[78].

Calver e cols[79] sugerem que existe um comprometimento da sensibilidade vascular ao NO em pacientes diabéticos insulino-dependentes, já que a sua resposta ao inibidor do NO, L-NMMA, era reduzida quando comparada aos pacientes controles.

Por outro lado, por ser um vasodilatador potente, a produção excessiva de NO poderia ser a responsável pelos distúrbios hemodinâmicos (hiperfiltração e hiperfluxo) observados nesta doença. Bank e Aynedjian[80] encontraram níveis plasmáticos e urinários de NO_2^-/NO_3^-, metabólitos do NO, significativamente elevados em ratos diabéticos. Tolins e cols[81], em modelo experimental semelhante, encontraram aumento da massa renal e hiperfiltração associada à excreção urinária elevada de NO_2^-/NO_3^-.

Existe a possibilidade de que a diferença entre a produção de NO relatada pelos diversos autores seja devido a variações evolutivas desta doença, uma vez que os estudos em que se sugere sua diminuição foram realizados numa fase mais tardia da doença, na qual a sua síntese poderia estar comprometida devido à vasculopatia mais avançada.

A favor da importância dos distúrbios metabólicos na fisiopatologia do diabetes, alguns trabalhos mostram que produtos finais de glicosilação não enzimática, que se formam devido à hiperglicemia, acabam se acumulando nas paredes vasculares[82], demonstrando-se, por exemplo, haver correlação significante entre os níveis destes produtos acumulados no colágeno e a gravidade da retinopatia diabética[83]. Brownlee e cols[84] observaram que ratos com diabetes induzido por aloxano, quando tratados cronicamente com aminoguanidino, um inibidor da formação destes produtos de glicosilação, apresentavam redução destes metabólitos na parede da aorta, bem como proteção contra o espessamento da membrana basal glomerular.

Por outro lado, já existem trabalhos mostrando que o aminoguanidino é também um inibidor bastante potente e preferencial da forma induzível da NOS[36,37] e, portanto, a sua ação protetora no diabetes poderia ser via inibição do NO.

Glomerulonefrites

A superprodução de NO, por meio de seus efeitos citotóxicos e da hiperfiltração glomerular provocada, poderia participar na fisiopatogênese da glomerulonefrite.

Cattell e cols[85] observaram que na glomerulonefrite experimental induzida por anticorpos antitimócitos, que se ligam ao antígeno Thy 1 na superfície das células mesangiais glomerulares, causando lise destas células, ocorria síntese aumentada de NO, coincidindo com a fase de pico de infiltração de macrófagos. O mesmo grupo, em modelo experimental de glomerulonefrite membranosa (nefrite de Heymann), também observou aumento de nitrito pelos macrófagos que infiltram os glomérulos[86].

Trabalho mais recente de Narita e cols[87] mostra que a lise mesangial mediada imunologicamente, na glomerulonefrite induzida por anticorpos antitimócitos, é inibida (90%) pelo bloqueio do NO, *in vivo*; ao mesmo tempo, a L-NMMA prevenia o aparecimento de proteinúria e o aumento da excreção urinária de nitrito.

Gravidez

A gravidez normal é caracterizada por vasodilatação sistêmica e renal, com redução da pressão arterial sangüínea, e elevação da FG e FSR, alterações estas bastante compatíveis com os efeitos do NO. Já se demonstrou aumento do GMPc em gestantes[88]. Em ratas grávidas, Conrad e cols relataram aumento do GMPc[89] e da excreção urinária de nitrito[90].

Observou-se aumento da expressão da isoforma endotelial da NOS em aortas de ratas grávidas[91], e mais recentemente foi relatado o aumento da expressão da isoforma endotelial nas artérias aorta (de condutância) e mesentérica (de resistência), bem como da expressão da isoforma neuronal no hipotálamo de ratas grávidas, que poderiam ser as mediadoras, respectivamente, da vasodilatação e da liberação de vasopressina, e conseqüente hiposmolalidade observada na gravidez[92].

Em 1995, mostrou-se também, em gestantes, elevação do fluxo sangüíneo regional (da mão) significantemente atenuada pela L-NMMA[93].

Existem especulações em relação ao papel do NO na pré-eclampsia, doença da gravidez que traduz claramente uma doença da célula endote-

lial e caracteriza-se por hipertensão arterial, proteinúria e trombose glomerular[94], e que poderia ser conseqüente a déficit de produção do NO.

Hiperfiltração e hiperfluxo causados por aminoácidos

Desde 1944, Pitts observou que a infusão do aminoácido glicina ou a oferta de dieta rica em proteínas causava aumento do FSR e da FG em cães[95].

Hoje, é bem estabelecido que a dieta rica em proteínas, aguda ou cronicamente, pode provocar aquelas alterações hemodinâmicas também no homem[96,97]; entretanto, apesar da relevância desta questão, já que a restrição protéica poderia retardar a progressão da doença renal[98], os mecanismos fisiopatológicos responsáveis por essa vasodilatação ainda são desconhecidos.

Várias evidências surgiram a favor do NO como mediador dessa vasodilatação. Por exemplo, estas alterações se acompanham de aumento da excreção urinária de GMPc e são atenuadas por meio do pré-tratamento com L-NMMA[99].

Em estudo realizado em cultura de células da musculatura lisa vascular de aorta de ratos, mostramos que após a incubação destas células com glicina ocorria elevação dos níveis tanto do NO_2^- quanto do GMPc intracelular, sugerindo estimulação direta da síntese de NO pelo aminoácido[100]. Reforçando esta hipótese, em estudo funcional[101] utilizando segmentos de aorta de ratos, mostramos que a sua incubação com glicina causava uma resposta reduzida à contração pela fenilefrina, efeito este que era atenuado por utilização simultânea de L-NAME. Nesta preparação, o endotélio era destruído por manobra mecânica, sugerindo, portanto, ação do NO liberado pelas células da musculatura lisa.

Hipertensão

Considerando-se que já foi largamente demonstrada a capacidade do NO de mediar a função de excreção de sódio e água pelo rim[51,56,57,59-61], associada ao fato de que há uma interação desta molécula com o sistema renina-angiotensina, sendo considerada um antagonista fisiológico da AII[102,103], tem-se sugerido que a sua produção deficiente poderia ser um dos fatores na fisiopatologia da hipertensão arterial.

Estudando modelos experimentais de hipertensão de origem genética, alguns investigadores mostraram que a administração da L-arginina causa redução significante da pressão arterial em ratos Dahl-sal sensíveis[104]. Os mesmos autores, entretanto, verificaram que, em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), o desenvolvimento da hipertensão não era alterado pela L-arginina.

Zatz & de Nucci[54] mostraram que a inibição aguda do NO causa hipertensão sistêmica, além de provocar alterações da microcirculação glomerular. Posteriormente, o grupo de Zatz[105] e Baylis e cols[55], simultânea e independentemente, mostraram que a inibição crônica do NO também causa hipertensão arterial sistêmica grave.

Existem evidências indiretas de que o endotélio vascular tem funcionamento anormal em pacientes com hipertensão essencial. Por exemplo, alguns pesquisadores observaram que a resposta da vasculatura do antebraço à acetilcolina (vasodilatação endotélio-dependente) encontra-se bastante comprometida naquela situação[106,107,108].

Insuficiência renal aguda (IRA)

Existe a possibilidade de que a isquemia renal aguda, ao provocar lesão endotelial, levaria à produção deficiente de NO.

A produção deficiente de NO tem sido sugerida em alguns modelos de IRA, por exemplo, naquela induzida por glicerol em ratos[109], por uranil-nitrato[110], por ciclosporina[111] e por meio de contraste[112], desde que a L-arginina confira proteção contra a nefrotoxicidade observada nestas situações.

Conger e cols[113] mostraram que ratos tratados com infusão intra-arterial renal de norepinefrina (NE) exibiam resposta deficiente à vasodilatação renal induzida por acetilcolina ou bradicinina, ou seja, dependente de endotélio, enquanto a vasodilatação endotélio-independente, mediada por prostaglandina (PGI_2), estava preservada.

Esse mesmo grupo, em trabalho subseqüente[114], estudando dois modelos diferentes de IRA isquêmica, o de clampeamento da artéria renal e o modelo de infusão de NE, mostrou que ambos exibiam resposta deficiente à acetilcolina. Entretanto, na IRA por clampeamento ocorria necrose da musculatura lisa em metade dos vasos de resistência, e na IRA por NE este efeito era menor do que 10%, concluindo, portanto, haver lesão vascular funcional e morfológica no primeiro caso e lesão predominantemente funcional do endotélio vascular no outro.

Entretanto, paradoxalmente, os mesmos autores mostraram que a atividade da NOS estava elevada neste modelo de IRA isquêmica[115]. O aumento da atividade do NO também foi descrito no modelo de IRA induzido pela gentamicina[116].

Já em modelo experimental de lesão de túbulos proximais em suspensão, submetidos à hipóxia seguida de reoxinegação, Yu e cols[117] mostraram que tanto a L-arginina (substrato do NO) quanto o nitroprussiato (doador de NO) acentuavam a lesão tubular, enquanto a L-NAME conferia proteção, atribuindo a esta molécula o papel de mediador deste tipo de lesão.

Insuficiência renal crônica (IRC)

Vallance e cols[118] observaram que pacientes com doença renal crônica terminal apresentam acúmulo de uma substância produzida endogenamente, a dimetilarginina (ADMA), que tem a propriedade de inibir a síntese de NO, sendo esta uma provável explicação para a hipertensão e a disfunção imunológica associadas a IRC.

Estudos recentes revelaram que pacientes jovens com IRC, e em tratamento dialítico, apresentam disfunção da artéria braquial, com falha da resposta vasodilatadora a estímulo endotélio-dependente[119]. Os autores sugerem que esta alteração possa ser a mediadora da aterosclerose prematura que ocorre nestes pacientes, já que o NO poderia proteger contra a aterogênese tanto por inibir a interação de plaquetas e leucócitos com a parede vascular, como por relaxamento causado à musculatura lisa vascular.

Ao contrário, Noris e cols[120] encontraram dados sugestivos de síntese aumentada de NO em pacientes com IRC, nos quais os níveis plasmáticos de L-arginina estavam mais altos, e havia maior geração de citrulina marcada e GMPc pelas plaquetas. O NO, por sua vez, tem a propriedade de inibir a agregação plaquetária, e, portanto, isto poderia ser a causa da diátese hemorrágica do paciente urêmico. Neste sentido, Remuzzi e cols[121] já haviam mostrado que a adminitração de L-NMMA normaliza o tempo de sangramento prolongado em ratos urêmicos.

Beasley & Brenner[122] sugerem que uma produção exagerada de NO pelos macrófagos, induzida por citocinas, poderia ser a causa da hipotensão observada em pacientes em programas de hemodiálise crônica.

Sepse

O NO poderia contribuir para a hipotensão relacionada a endotoxinas[123], fato que, associado à extrema instabilidade hemodinâmica que caracteriza a sepse, poderia levar à isquemia de diversos órgãos, entre eles o rim.

Em modelo experimental de sepse, por meio da técnica de "Northern blot" demonstramos a expressão da isoforma induzível da NOS em segmentos de aorta[40] e nas células da musculatura lisa da aorta, em cultura[124], observando também inibição dos efeitos do NO por aminoguanidino.

O bloqueio preferencial da isoforma induzida, enquanto preservada a expressão da isoforma constitutiva, pode representar melhor abordagem nos casos de sepse, e talvez em outras doenças nas quais o NO estiver envolvido, pois, dessa maneira, estaremos suprimindo a produção exagerada, prejudicial desta molécula, enquanto se mantém a regulação fisiológica da microvasculatura por endotélio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FURCHGOTT RF, ZAWADZKI JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288:373-376, 1980.
2. PALMER RMJ, FERRIGE AG, MONCADA S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327:524-526, 1987.
3. IGNARRO LJ, BUGA GM, WOOD KS, BYRNS RE, CHAUDHURI G: Endothelium-derived relaxing factor (EDRF) produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:9265-9269, 1987.
4. GRYGLEWSKI RJ, MONCADA S, PALMER RMJ: Bioassay of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor (EDRF) from porcine aortic endothelial cells. *Br J Pharmacol* 87:685-694, 1986.
5. FORSTERMANN U, TROGISCH G, BUSSE R: Species-dependent differences in the nature of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Eur J Pharmacol* 106:639-643, 1984.
6. McCALL TB, BOUGHTON-SMITH NK, PALMER RMJ, WHITTLE BJR, MONCADA S: Synthesis of nitric oxide from L-arginine by neutrophils: release and interaction with superoxide anion. *Biochem J* 261:293-296, 1989.
7. STUEHR DJ, MARLETTA MA: Mammalian nitrite biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to Escherichia coli lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:7738-7742, 1985.
8. RADOMSKI MW, PALMER RMJ, MONCADA S: An L-arginine nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:5193-5197, 1990.
9. KNOWLES RG, PALACIOS M, PALMER RMJ, MONCADA S: Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: a transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:5159-5162, 1989.
10. SCHULZ R, NAVA E, MONCADA S: Induction and potential biological relevance of a Ca^{2+}-independent nitric oxide synthase in the myocardium. *Br J Pharmacol* 105:575-580, 1992.
11. WERNER-FELMAYER G, WERNER ER, FUCHS D, HANSEN A, REIBNEGGER G, WACHTER H: Tetrahydrobiopterin-dependent formation of nitrite and nitrate in murine fibroblasts. *J Exp Med* 172:1599-1607, 1990.
12. REES DD, CELLEK S, PALMER RMJ, MONCADA S: Dexamethasone prevents the induction by endotoxin of a nitric oxide synthase and the associated effects on vascular tone: an insight into endotoxin shock. *Biochem Biophys Res Commun* 173:541-547, 1990.
13. CURRAN RD, BILLIAR TR, STUEHR DJ, HOFFMAN K, SIMMONS RL: Hepatocytes produce nitrogen oxides from L-arginine in response to inflammatory products from kupffer cels. *J Exp Med* 120:1769-1774, 1989.
14. PALMER RMJ, ASHTON DS, MONCADA S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333:664-666, 1988.
15. PALMER RMJ, REES DD, ASHTON DS, MONCADA S: L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 153:1251-1256, 1988.
16. IYENGAR R, STUEHR DJ, MARLETTA MA: Macrophage synthesis of nitrite, nitrate, and N-nitrosamines: precursors and role of the respiratory burst. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:6369-6373, 1987.

17. MARLETTA MA, YOON PS, IYENGAR R, LEAF CD, WISHNOK JS: Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: Nitric oxide is an intermediate. *Biochemistry* 27:8706-8711, 1988.
18. BUSSE R, MULSCH A: Calcium-dependent nitric oxide synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin. *FEBS Lett* 265:133-136, 1990.
19. XIE QW, CHO HJ, CALAYCAY J, MUMFORD RA, SWIDEREK KM, LEE TD, DING A, TROSO T, NATHAN CF: Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse mecrophages. *Science* 256:225-228, 1992.
20. CHO HJ, XIE QW, CALAYCAY J, MUMFORD RA, SWIDEREK KM, LEE TD, NATHAN CF: Calmodulin is a subunit of nitric oxide synthase from macrophages. *J Exp Med* 176:599-604, 1992.
21. FORSTERMANN U, SCHMIDT HHHW, POLLOCK JS, SHENG H, MITCHELL JA, WARNER TD, NAKANE M, MURAD F: Isoforms of nitric oxide synthase. Characterization and purification from different cell typs. *Biochem Pharmacol* 42:1849-1857, 1991.
22. BREDT DS, SNYDER SH: Isolation of nitric oxide synthase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:682-685, 1990.
23. BREDT DS, HWANG PM, GLATT CS, LOWENSTEIN C, REED RR, SNYDER SH: Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature* 351:714-718, 1991.
24. FORSTERMANN U, POLLOCK JS, SCHMIDT HHHW, HELLER M, MURAD F: Calmodulin-dependent endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic entothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:1788-1792, 1991.
25. MARSDEN PA, SCHAPPERT KT, CHEN HS, FLOWERS M, SUNDELL CL, WILCOX JN, LAMAS S, MICHEL T: Molecular cloning and characterization of human endothelial nitric oxide synthase. *FEBS Lett* 307:287-293, 1992.
26. NISHIDA K, HARRISON DG, NAVAS JP, FISHER AA, DOCKERY SP, UEMATSU M, NEREM RM, ALEXANDER RW, MURPHY TJ: Molecular cloning and characterization of the constitutive bovine aortic endothelial cell nitric oxide synthase. *J Clin Invest* 90:2092-2096, 1992.
27. SESSA W, HARRISON JK, BARBER CM, ZENG D, DURIEUX ME, DéANGELO DD, LYNCH KR, PEACH MJ: Molecular cloning and expression of a cDNA encoding endothelial cell nitric oxide sunthase. *J Biol Chem* 267:15274-15276, 1992.
28. STUEHR DJ, CHO HJ, KWON NS, WEISE M, NATHAN CF: Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: a FAD- and FMN-containing flavoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:7773-7777, 1991.
29. YUI Y, HATORI R, EIZAWA H, HIKI K, OKHAWA S, OHNISHI K, TERAO S, KAWAI C: Calmodulin-independent nitric oxide synthase from rat polymorphonuclear neutrophils. *J Biol Chem* 266:3369-3371, 1991.
30. LOWENSTEIN CJ, GLATT CS, BREDT DS, SNYDER SH: Cloned and expressed macrophage nitric oxide synthase contrasts with brain enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:6711-6715, 1992.
31. XIE QW, CHO HJ, CALAYCAY J, MUMFORD RA, SWIDEREK KM, LEE TD, DING A, TROSO T, NATHAN CF: Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. *Science* 256:225-228, 1992.
32. LYONS CR, ORLOFF GJ, CUNNINGHAM JM: Molecular cloning and expression of an inducible nitric oxide synthase from a murine macrophage line. *J Biol Chem* 267:6370-6374, 1992.
33. NUNOKAWA Y, NOBUHIRO I, TANAKA S: Cloning of inducible nitric oxide synthase in rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 191:89-94, 1993.
34. GELLER DA, LOWENSTEIN CJ, SHAPIRO RA, NUSSLER AK, Di SILVIO M, WAND SC, NAKAYAMA DK, SIMMONS RL, SNYDER SH, BILLIAR TR: Molecular cloning and expression of inducible nitric oxide synthase from human hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:3491-3495, 1993.
35. NATHAN C: Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 6:3051-3064, 1992.
36. HASAN K, HEESEN B-J, CORBETT JA, McDANIEL ML, CHANG K, ALLISON W, WOLFFENBUTTEL BHR, WILLIAMSON JR, TITON RG: Inhibition of nitric oxide formation by guanidines. *Eur J Pharmacol* 249:101-106, 1993.
37. GRIFFITHS MJD, MESSENT M, MacALLISTER RJ, EVANS TW: Aminoguanidine selectively inhibits nitric oxide synthase. *Br J Pharmacol* 110:963-968, 1993.
38. GREEN LC, WAGNER DA, GLOGOWSKI J, SKIPPER PL, WISHNOK JS, TANNENBAUM SR: Analysis of nitrate, nitrite and [^{15}N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 126:131-138, 1982.
39. RENGASAMY A, JOHNS RA: Regulation of nitric oxide synthase by nitric oxide. *Mol Pharmacol* 44:124-128, 1993.
40. WEIGERT AL, HIGA EMS, NIEDERBERGER M, McMURTRY IF, RAYNOLDS M, SCHRIER RW: Expression and preferencial inhibition of inducible nitric oxide synthase in aortas of endotoxemic rats. *J Am Soc Nephrol* 5:2067-2072, 1995.
41. SHULTZ PJ, MAHMOUD AT, MARLETTA MA, RAIJ L: Synthesis and action of nitric oxide in rat glomerular mesangial cells. *Am J Physiol* 30:F600-F606, 1991.
42. PFEILSCHIFTER J, ROB P, MLSCH A, FANDREY J, VOSBECK K, BUSSE R: Interleukin 1 beta and tumour necrosis factor alpha induce a macrophage-type of nitric oxide synthase in rat mesangial cells. *Eur J Biochem* 203:251-255, 1992.
43. MARSDEN PA, BROCK TA, BALLERMANN BJ: Glomerular endothelial cells respond to calcium-morbilizing agonists with release of EDRF. *Am J Physiol* 258:F1295-F1303, 1990.
44. MUNDEL P, BACHMANN S, BADER M, FISCHER A, KUMMER W, MAYER B, KRIZ W: Expression of nitric-oxide synthase in kidney macula densa cells. *Kidney Int* 42:1017-1019, 1992.
45. ITO S, REN Y: Evidence for the role of nitric oxide in macula densa control of glomerular hemodynamics. *J Clin Invest* 92:1093-1098, 1993.
46. BACHMANN S, BOSSE HM, MUNDEL P: Topography of nitric oxide synthesis by localizing constitutive NO synthases in mammalian kidney. *Am J Physiol* 268:F885-F898, 1995.
47. TOJO A, GROSS SS, ZHANG L, TISHER CC, SCHMIDT HHHW, WILCOX CS, MADSEN K: Immunocytochemical localization of distinct isoforms of nitric oxide synthase in the juxtaglomerular apparatus of the normal kidney. *J Am Soc Nephrol* 4:1438-1447, 1994.
48. ISHII K, CHANG B, KERWIN Jr JF, WAGENAAR FL, HUANG ZJ, MURAD F: Formation of endothelium-derived relaxing factor in porcine kidney epithelial LLC-PK1 cells: an intra and intercellular messenger for activation of soluble guanylate cyclase. *J Pharmacol Exp Ther* 256:38-43, 1991.
49. TERADA Y, TOMITA K, NONOGUCHI H, MAMMO F: Polymerase chain reaction localization of constitutive nitric oxide synthase and soluble guanylyl cyclase messenger RNAs in microdissected rat nephron segments. *J Clin Invest* 90:659-665, 1992.
50. MARKEWITZ BA, MICHAEL JR, KOHAN DE: Cytokine-induced expression of nitric oxide synthase in rat renal tubule cells. *J Clin Invest* 91:2138-2143, 1993.
51. RADERMACHER J, KLANKE B, KASTNER S, HAAKE G, SCHUREK HJ, STOLTE HF, FROHLICH JC: Effect of arginine depletion on glomerular and tubular function: studies in isolated perfused rat kidneys. *Am J Physiol* 261:F779-F786, 1991.

52. GRANGER GP, ALBEROLA AM, SALAZAR FJ, NAKAMURA T: Control of renal hemodynamics during intrarenal and systemic blockade of nitric oxide synthesis in conscious dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 20:S160-S162, 1992.
53. NAESS PA, KIRKEBOEN KA, CHRISTENSEN G, KIIL F: Inhibition of renal nitric oxide synthesis with N^G-monomethyl-L-arginine and N^G-nitro-L-arginine. *Am J Physiol* 262:F939-F942, 1992.
54. ZATZ R, de NUCCI G: Effects of acute nitric oxide inhibition on rat glomerular microcirculation. *Am J Physiol* 261:F360-F363, 1991.
55. BAYLIS C, MITRUKA B, DENG A: Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 90:278-281, 1992.
56. SIRAGY HM, JOHNS RA, PEACH MJ, CAREY RM: Nitric oxide alters renal function and guanosine 3',5'-cyclic monophosphate. *Hypertension* 19:775-779, 1992.
57. LAHERA V, SALOM MG, FIKSEN-OLSEN MJ, RAIJ L, ROMERO JC: Effects of N^G-Monomethyl-L-arginine and L-arginine on acetylcholine renal response. *Hypertension* 15:659-663, 1990.
58. STOOS BA, CARRETERO OA, FARHY RD, SCICLI G, GARVIN JL: Endothelium-derived relaxing factor inhibits transport and increases cGMP content in cultured mouse cortical collecting duct cells. *J Clin Invest* 89:761-765, 1992.
59. ALBEROLA A, PINILLA JM, QUESADA T, ROMERO JC, SALOM MG, SALAZAR FJ: Role of nitric oxide in mediating renal response to volume expansion. *Hypertension* 19:780-784, 1992.
60. MAJID DS, WILLIAMS A, NAVAR LG: Inhibition of nitric oxide synthesis attenuates pressure-induced natriuretic responses in anesthetized dogs. *Am J Physiol* 264:F79-F87, 1993.
61. IKENAGA H, SUZUKI H, ISHII N, ITOH H, SARUTA T: Role of NO on pressure-natriuresis in Wistar-Kyoto and spontaneosuly hypertensive rats. *Kidney Int* 43: 205-211, 1993.
62. WILCOX CS, WELCH WJ, MURAD F, GROSS SS, TAYLOR G, LEVI R, SCHMIDT HHHW: Nitric oxide synthase in macula densa regulates glomerular capillary pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:11993-11997, 1992.
63. NAVAR LG: Renal autoregulation: perspectives from whole kidney and single nephron studies. *Am J Physiol* 234:F357-F370, 1978.
64. BEIERWALTES WH, SIGMON DH, CARRETERO OA: Endothelium modulates renal blood flow but not autoregulation. *Am J Physiol* 262:F943-F949, 1992.
65. KLAHR S, MORRISSEY J: Renal Disease: The two faces of nitric oxide. *Lab Invest* 72:1-3, 1995.
66. SCHRIER RW, ARROYO V, BERNARDI M, EPSTEIN M, HENRIKSEN JH, RODÉS J: Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology* 8:1151-1157, 1988.
67. GUARNER C, SORIANO G, TOMAS A, BULBENA O, NOVELLA MT, BALANZO J, VILARDELL F, MOURELLE M, MONCADA S: Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 18:1139-1143, 1993.
68. JULOU-SCHAEFFER G, GRAY GA, FLEMING I, SCHOTT C, PARRATT JR, STOCKET JC: Loss of vascular responsiveness induced by endotoxin involves L-arginine pathway. *Am J Physiol* 259:H1038-H1043, 1990.
69. HOLLENBERG SM, CUNNION RE, ZIMMERBERG J: Nitric oxide synthase inhibition reverses arteriolar hyporesponsiveness to catecholamines in septic rats. *Am J Physiol* 264:H660-H663, 1993.
70. CASTRO A, JIMÉNEZ W, CLARA J, ROS J, MARTINEZ JM, BOSCH M, ARROYO V, PIULATS J, RIVERA F, RODÉS J: Impaired responsiveness to angiotensin II in experimental cirrhosis: role of nitric oxide. *Hepatology* 18:367-372, 1993.
71. GARCIA-ESTAN J, ATUCHA NM, SABIO JM, VARGAS F, QUESADA T, ROMERO JC: Incresed endothelium-dependent renal vasodilation in cirrhotic rats. *Am J Physiol* 267:R549-R553, 1994.
72. NIEDERBERGER M, GINES P, TSAI P, MARTIN P-Y, MORRIS K, WEIGERT A, McMURTRY I, SCHRIER RW: Increased aortic cyclic guanosine monophosphate concentration in experimental cirrhosis in rats: evidence for a role of nitric oxide in the pathogenesis of arterial vasodilation in cirhosis. *Hepatology* 21:1625-1631, 1995.
73. WEIGERT AL, MARTIN P-Y, NIEDERBERGER M, HIGA EMS, McMURTRY IF, GINES P, SCHRIER RW: Endothelium-dependent vascular hyporesponsiveness without detection of nitric oxide synthase induction in aortas of cirrhotic rats. *Hepatology* 22:1856-1862, 1995.
74. CRIADO-JIMENEZ M, RIVAS-CABANERO L, MARTIN-OTERINO JA, LOPEZ-NOVOA JM, SANCHEZ-RODRÍGUES A: Nutric oxide production by mononuclear leucocytes in alcoholic cirrhosis. *J Mol Med* 73:31-33, 1995.
75. ANDERSEN AR, CHRISTIANSEN JS, ANDERSEN JK, KREINER S, DECKERT T: Diabetic nephropathy in type I (insulin-dependent) diabetes: an epidemiological study. *Diabetologia* 25:496-501, 1983.
76. ZATZ R, DUNN BR, MEYER TW, ANDERSON S, RENNKE HG, BRENNER BM: Prevention of diabetic glomerular by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 77:1925-1930, 1986.
77. OYAMA Y, KAWASAKI H, HATTORI Y, KANNO M: Attenuation of endothelium-dependent relaxation in aorta from diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 131:75-78, 1986.
78. KAMATA K, MIYATA N, KASUYA Y: Impariment of endothelium-dependent relaxation and changes in levels of cyclic GMP in aorta from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Pharmacol* 97:614-618, 1989.
79. CALVER A, COLLIER J, VALLANCE P: Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 90:2548-2554, 1992.
80. BANK N, AYNEDJIAN HS: Role of EDRF (nitric oxide) in diabetic renal hyperfiltration. *Kidney Int* 43:1306-1312, 1993.
81. TOLINS JP, SHULTZ PJ, RAIJ L, BROWN DM, MAUER SM: Abnormal renal hemodynamic response to reduced renal perfusion pressure in diabetic rats: role of NO. *Am J Physiol* 265:F886-F895, 1993.
82. MONNIER VM, KOHN RR, CERAMI A: Accelerated age-related browning of human collagen in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:583-587, 1984.
83. MONNIER VM, VISHWANATH V, FRANK KE, ELMETS CA, DAUCHOT P, KOHN RR: Relation between complications of Type I diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *N Engl J Med* 314:403-408, 1986.
84. BROWNLEE M, CERAMI A, VLASSARA H: Advanced glycosylation end products in tissue and biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med* 20:1315-1321, 1988.
85. CATTELL V, LIANOS E, LARGEN P, COOK T: Glomerular NO synthase activity in mesangial cell immune injury. *Exp Nephrol* 1:36-40, 1993.
86. CATTELL V, LARGEN P, De HEER E, COOK T: Glomeruli synthesize nitrite in active Heymann nephritis. The source is infiltrating macrophages. *Kidney Int* 40:847-851, 1991.
87. NARITA I, BORDER WA, KETTELER M, NOBLE NA: Nitric oxide mediates immunologic injury to kidney mesangium in experimental glomerulonephritis. *Lab Invest* 72:17-24, 1995.
88. KOPP L, PARADIZ G, TUCCI JR: Urinary excretion of cyclic 3',5'-adenosine monophosphate and cyclic 3',-5'-guanosine monophosphate during and after pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 44:590-594, 1977.

89. CONRAD KP, VERNIER KA: Plasma levels, urinary excretion, and metabolic production of cGMP during gestation in rats. *Am J Physiol* 257:R847-R853, 1989.
90. CONRAD KP, JOFFE GM, KRUSZYNA H, KRUSZYNA R, ROCHELLE LG, SMITH RP, CHAVEZ JE, MOSHER MD: Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats. *FASEB J* 7:566-571, 1993.
91. GOETZ RM, MORANO I, CALOVINI T, STUDER R, HOLTZ J: Increased expression of endothelial constitutive nitric oxide synthase in rat aorta during prenancy. *Biochem Biophys Res Comm* 205:905-910, 1994.
92. XU D-L, MARTIN PY, TSAI P, St JOHN J, SCHRIER RW: Increased endothelial and neuronal nitric oxide synthase (NOS) expression in pregnant rats. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 6:675, 1995.
93. WILLIAMS DJ, VALLANCE PJT, SPENCER JAD, NEILD GH, IMMS FJ: Nitric oxide synthase inhition in human pregnancy and women taking the oral contraceptive pill. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 6:674, 1995.
94. ROBERTS JM, TAYLOR RN, MUSCI TJ, RODGERS GM, HUBEL CA, McLAUGHLIN MK: Preclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol* 161:1200-1204, 1989.
95. PITTS RF: The effects of infusing glycin and of varying the dietary protein intake on renal hemodynamics in the dog. *Am J Physiol* 142:355-365, 1944.
96. BOSCH JP, SACCAGGI A, LAUER A, RONCO C, BELLEDONNE M, GLABMAN S: Renal functional reserve in humans. Effect of protein intake on glomerular filtration rate. *Am J Med* 75:943-950, 1983.
97. PULLMAN TN, ALVING AS, DERN RJ, LANDOWNE M: The influence of dietary protein intake on specific renal functions in normal man. *J Lab Clin Med* 44:320-332, 1954.
98. BRENNER BM, MEYER TW, HOSTETTER TH: Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsec renal disease. *N Engl J Med* 307:652-659, 1982.
99. KING AJ, TROY JL, ANDERSON S, NEURINGER JR, GUNNING M, BRENNER BM: Nitric oxide: A potential mediator of amino acid-induced renal hyperemia and hyperfiltration. *J Am Soc Nephrol* 1:1271-1277, 1991.
100. HIGA EMS, GENGARO PE, BURKE TJ, SCHRIER RW: *Glycine Effects on Nitric Oxide Synthesis in Rat Aortic Vascular Smoth Muscle Cells.* Proceedings 3rd International Symposium on Acute Renal Failure, 1993, pp 226-230.
101. HIGA EMS, WEIGERT A, GENGARO P, BURKE T, SCHRIER RW: Glycine (Gly) induces nitric oxide (NO) synthesis in rat aortic vascular smooth muscke cells (VSMC). *J Am Soc Nephrol* 5:593, 1994.
102. ITO S, JOHNSON CS, CARRETERO OA: Modulation of angiotensin II-induced vasoconstriction by endothelium-derived relaxing factor in the isolated microperfused rabbit afferent arteriole. *J Clin Invest* 87:1656-1663, 1991.
103. De NICOLA L, BLANTZ RC, GABBAI FB: Nitric oxide and angiotensin II. Glomerular and tubular interaction in the rat. *J Clin Invest* 89:1248-1256, 1992.
104. CHEN PY, SANDERS PW: L-arginine abrogates salt-sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *J Clin Invest* 88:1559-1567, 1991.
105. RIBEIRO MO, ANTUNES E, de NUCCI G, LOVISOLO SM, ZATZ R: Chronic inhibition of nitric oxide sythesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension* 20:298-303, 1992.
106. PANZA JA, CASINO PR, KILCOYNE CM, QUYYUMI AA: Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation* 87:1468-1474, 1993.
107. LINDR L, KIOWSKI W, BUHLER FR, LUSCHER TF: Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. Blunted response in essential hypertension. *Circulation* 81:1762-1767, 1990.
108. CALVER A, COLLIER J, MONCADA S, VALLANCE P: Effect of local intra-arterial N^G-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J Hypertens* 10:1025-1031, 1992.
109. MAREE A, PEER G, SCHWARTZ D, SERBAN I, BLUM M, WOLLMAN Y, CABILI S, LAINA A: Role of nitric oxide in glycerol-induced acute renal failure in rats. *Nephrol Dial Transplant* 9:78-81, 1994.
110. SCHRAMM L, HEIDBREDER E, LOPAU K, SCHAAR J, De CICCO D, GOTZ R, HEIDLAND A: Toxic acute renal failure in the rat: effects of L-arginine and N-methyl-L-arginine on renal function. *Nephrol Dial Transplant* 9:88-93, 1994.
111. De NICOLA L, THOMSON SC, WEAD LM, BROWN MR, GABBAI FB: Arginine feeding modifies cyclosporine nephrotoxicity in rats. *J Clin Invest* 92:1859-1865, 1993.
112. TOUATI C, IDEE JM, DERAY G, SANTUS R, BALUT C, BEAUFILS H, JOUANNEAU C, BOURBOUZE R, DOUCET D, BONNEMAIN B: Modulation of the renal effects of contrast media by endothelium-derived nitric oxide in the rat. *Invest Radiol* 28:814-820, 1993.
113. CONGER JD, ROBINETTE JB, SCHRIER RW: Smooth muscle calcium and endothelium-derived relaxing factor in the abnormal vascular responses of acute renal failure. *J Clin Invest* 82:532-537, 1988.
114. CONGER JD, ROBINETTE JB, HAMMOND WS: Differences in vascular reactivity in models of ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 39:1087-1097, 1991.
115. ROBINETTE JB, CONGER JD: Nitric oxide synthase (NOS) activity is increased not decreased in vasculature of acute renal failure (ARF) kidneys. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 4:743, 1993.
116. RIVAS-CABANERO L, MONTERO A, LOPEZ-NOVOA JM: Increased glomerular nitric oxide synthesis in gentamicin-induced renal failure. *Eur J Pharmacol* 270:119-121, 1994.
117. YU L, GENGARO PE, NIEDERBERGER M, BURKE TJ, SCHRIER RW: Nitric oxide: a mediator in rat tubular hypoxia/reoxygenation injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:1691-1695, 1994.
118. VALLANCE P, LEONE A, CALVER A, COLLIER J, MONCADA S: Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339:572-575, 1992.
119. WOOLFSON RG, CLARKSON P, NEILD GH, DEANFIELD JE: Endothelium-dependent vasodilatation of conduit arteries is impaired in young adults with ESRF. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 6:674, 1995.
120. NORIS M, BENIGNI A, BOCCARDO P, AIELLO S, GASPARI F, TODESCHINI M, FIGLIUZZI M, REMUZZI G: Enhanced nitric oxide synthesis in uremia: Implications for platelet dysfunction and dialysis hypotension. *Kidney Int* 44:445-450, 1993.
121. REMUZZI G, PERICO N, ZOJA C, CORNA D, MACCONI D, VIGANO GL: Role of endothelium-derived nitric oxide in the bleeding tendency of uremia. *J Clin Invest* 86:1768-1771, 1990.
122. BEASLEY D, BRENNER BM: Role of nitric oxide in hemodialysis hypotension. *Kidney Int* 42(Suppl 38):S96-S100, 1992.
123. MORITOKI H, TAKEUCHI S, HISAYAMA T, KONDOH W: Nitric oxide synthase responsible for L-arginine-induced relaxation of rat aortic rings in vitro may be an inducible type. *Br J Pharmacol* 107:361-366, 1992.
124. HIGA EMS, WEIGERT A, NIEDERBERGER M, GENGARO P, McMURTRY I, PERRYMAN B, RAYNOLDS M, SCHRIER RW: Lipopolysaccharide (LPS) alone induces expression of nitric oxide synthase (NOS) mRNA in cultured rat aortic vascular smooth muscle cells (VSMC). (abstract) *J Am Soc Nephrol* 5:593, 1994.

46

MONITORIZAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL NA CRIANÇA

Vera H. Koch
Décio Mion Jr.

A prevalência de hipertensão arterial na criança varia entre 1,2 e 3%, sendo 0,1% dos casos correspondentes a causas secundárias de hipertensão arterial[1]. A hipertensão arterial secundária é mais encontrada no recém-nascido, no lactente e no pré-escolar, enquanto a forma primária ou essencial parece representar a maioria dos casos em adolescentes e adultos jovens[2].

A hipertensão arterial é um fator de risco de morbidade e mortalidade cardiovascular. Assim, cabe ao pediatra, por meio de medidas repetidas da pressão arterial, identificar os casos suscetíveis ou estabelecidos de hipertensão arterial para a instituição precoce de medidas preventivas e terapêuticas farmacológicas e não-farmacológicas.

A definição de hipertensão arterial para a faixa etária pediátrica deveria exprimir valores acima dos quais o risco de lesão de órgãos-alvo se estabelece. Estes valores infelizmente não estão claramente determinados para a criança. Apesar de existirem evidências de que a hipertensão na criança leva às mesmas alterações de órgãos-alvo vistas no adulto[3], a definição de hipertensão para a faixa etária pediátrica se baseia em dados epidemiológicos de distribuição de medidas de pressão arterial na população infantil e não na correlação destas com potencial de lesão de órgãos-alvo.

O estudo mais utilizado como referência de valores normais de pressão arterial (PA) em Pediatria é o "Second Task Force on Blood Pressure Control in Children" de 1987[4], no qual foram compilados dados de medida de PA de aproximadamente 70.000 crianças de ambos os sexos, do nascimento aos 18 anos de idade, em 9 centros médicos dos EUA e Inglaterra. Neste estudo, além de níveis de PA para idade e sexo, foram incluídos valores do percentil 90 para peso e altura da população estudada, tendo em vista que estas variáveis têm correlação mais significativa com os níveis de PA na criança do que a idade cronológica isolada. Os dados da Task Force 1987 foram reestruturados por Rosner e cols[5] em 1993, sendo geradas tabelas que correlacionam percentis de PA com idade, sexo e percentis de estatura. A análise dos dados destes trabalhos reforça o conceito de que a PA é uma variável biológica maturativa que se modifica em função da idade cronológica, do ganho pondo-estatural e, possivelmente, da maturação sexual da criança. Estudos populacionais de acompanhamento longitudinal têm demonstrado que crianças com antecedentes familiares de hipertensão/obesidade têm maior probabilidade de desenvolver hipertensão essencial na idade adulta. Esta tendência se agrava se a criança for também obesa e/ou apresentar pelo menos uma medida de PA sistólica elevada e/ou várias medidas de PA diastólica elevada durante o seu seguimento[6].

A PA apresenta variações associadas às atividades física e mental que, atuando sobre as variações respiratórias, diurnas e sazonais, geram padrão de comportamento da PA com níveis mais elevados durante o dia e queda de 15 a 25% nos níveis tensionais noturnos com um nadir entre 00:00 e 4:00 horas[7].

Registros intermitentes de PA podem atualmente ser obtidos por métodos não-invasivos com acurácia satisfatória. A monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) realizada nestes moldes apresenta na população adulta melhor correlação com lesão de órgãos-alvo do que a medida isolada de PA. Esta metodologia favorece ainda o diagnóstico de hipertensão arterial em pacientes cujas medidas isoladas de PA são duvidosas e a adequação da terapêutica anti-hipertensiva em pacientes sabidamente hipertensos.

A MAPA é uma técnica nova, não existindo até o momento estudos populacionais adequados para estabelecer valores de normalidade do método. A caracterização do perfil normal da pressão arterial em 24 horas na faixa etária pediátrica é de grande importância para que se estabeleçam parâmetros definidos para *diagnóstico e seguimento clínico* da hipertensão arterial na criança e no adolescente.

A experiência pediátrica com a avaliação da pressão arterial pela técnica da MAPA iniciou-se nos anos 80 e é ainda restrita[7-21]. A MAPA na criança é factível e os dados mostram-se reprodutíveis em estudos consecutivos[16]. Para a obtenção de registros mais fidedignos na criança, deve-se optar por equipamentos mais leves, do tipo oscilométrico, favorecendo assim a utilização do método em crianças menores cujo padrão intenso de atividade impossibilita registros eficientes em equipamentos do tipo exclusivamente auscultatório. Parece não haver limite de idade para a aplicação da MAPA na criança, mas a maioria dos estudos tem enfocado crianças com idade superior a 5 anos. A utilização do método em recém-nascidos, lactentes e pré-escolares é ainda muito incipiente e altamente sujeita ao insucesso.

Recomenda-se que, à semelhança do adulto, a instalação de equipamento na criança se faça no braço não dominante, em um dia representativo de seu cotidiano. As medidas podem ser repetidas a intervalos de 20-30 minutos durante a vigília e de 30-60 minutos durante o sono. Recomenda-se que a deflação do manguito seja programada para decaimentos de 8mmHg, possibilitando que o tempo de medida seja mais curto e mais bem tolerado pela criança[12]. Durante o tempo de registro da pressão arterial, é obrigatório que o responsável pela criança preencha um relatório detalhado das suas atividades. A análise dos registros obtidos deve ser feita à luz deste relatório, pois sabe-se que na faixa pediátrica até 60% das medidas de PA gravadas durante períodos de intensa atividade física ou mental podem estar acima do limite superior estabelecido para PA causal segundo sexo e idade[12].

A metodologia de análise de MAPA na criança não está padronizada. Analisa-se rotineiramente a média sistólica e diastólica de 24 horas, a média sistólica e diastólica de vigília e sono, a carga pressórica, o índice hiperbárico e a queda noturna sistólica e diastólica. A análise matemática dos dados utilizando outras metodologias tem sido proposta[20-22], encontrando-se ainda em fase experimental. Diferentemente do adulto, para o qual se utilizam como limites superiores da normalidade os valores de PA de 140/90mmHg durante a vigília e 120/80mmHg durante o sono[23], não há na criança consenso quanto a quais seriam os valores normais mais adequados para a análise das medidas ambulatoriais de PA. A maioria dos autores utiliza como limite superior da normalidade na vigília o percentil 95 para sexo e idade[4,24] e valores 10% abaixo destes para a análise das pressões no período de sono. No entanto, estudos recentes[18] têm sugerido que a análise dos dados obtidos por MAPA utilizando como limite superior da normalidade valores derivados de curvas de PA casual é inadequada. Esta inadequação se baseia no fato de que as metodologias de medida de pressão arterial pela técnica casual e pela MAPA são muito diferentes. A pressão casual é obtida de maneira artificial, em repouso, em ambientes silenciosos, na posição deitada até 2 anos de idade e sentada em crianças maiores, com o braço na altura do coração. A MAPA obtém pressões de pacientes em ambiente natural, em movimento, com o braço mantido longitudinalmente em relação ao corpo. Estas diferenças apontam para a necessidade de se construir dados normativos de MAPA na criança a partir de valores pressóricos ambulatoriais derivados de estudos populacionais específicos.

Em resumo, dados da MAPA em crianças têm demonstrado boa correlação com idade cronológica[9], altura[9,14], peso[9] e freqüência cardíaca[7,9]. Em alguns estudos[9,18], crianças do sexo masculino apresentam valores pressóricos mais elevados do que crianças do sexo feminino ao longo das 24 horas; estas diferenças não foram confirmadas por outros autores[14]. Em crianças normotensas, pressões mais elevadas correspondem a períodos de maior atividade física ou mental[7]. A queda noturna parece variar entre 8-10% para PA sistólica e 15-23% para PA diastólica[13]. Harshfield e cols[18], estudando adolescentes normotensos caucasianos e de raça negra, demonstraram aumento progressivo das médias pressóricas noturnas sistólica e diastólica ao longo da adolescência na raça negra, com predominância do sexo masculino, o mesmo não ocorrendo na raça branca.

As médias sistólicas da vigília, quando comparadas à pressão sistólica casual, têm demonstrado valores consistentemente mais elevados[7,14,19], sendo o mesmo fenômeno observado, com menor intensidade, para as médias diastólicas da vigília. A comparação das médias pressóricas sistólica e diastólica durante o sono mostra valores consistentemente inferiores àqueles obtidos casualmente[7,14,19].

A avaliação de crianças hipertensas pela MAPA tem demonstrado que as horas passadas na escola mostram a maior diferença de pressão média entre crianças normais e hipertensas[11]. Dados semelhantes foram obtidos comparando-se registros de horas escolares de crianças normotensas filhas de pais hipertensos e normotensos[10].

Sugere-se que a monitorização contínua de PA durante as horas escolares seja útil na classificação da tendência pressórica na criança.

Utilizamos a MAPA para a avaliação da adequação medicamentosa de 18 crianças, 9 do sexo feminino, 16 de raça branca, com idade média de 9,9 anos (variando de 4 a 16,8) e tempo médio de controle de PA em consultório de 9,7 meses (variando de 2 a 33). A etiologia da hipertensão arterial relacionava-se a causas parenquimatosas em 12 crianças, alterações renovasculares em 2, uso de corticóide em 1, pós-síndrome hemolítico-urêmica em 1 e essencial em 2. Os pacientes foram submetidos à MAPA, usando o equipamento Spacelabs 90207, com medidas obtidas a cada 10 minutos durante o dia e a cada 15 minutos à noite. Procedeu-se à avaliação de lesões de órgãos-alvo por meio de eletrocardiografia, ecocardiografia e fundoscopia. Utilizou-se como limite superior da normalidade para valores pressóricos de vigília o percentil 95 do estudo de Rosner[5] e valores 10% mais baixos para limites de normalidade durante o sono. A MAPA foi bem tolerada. As médias diurnas sistólica e diastólica foram superiores à medida da PA em consultório em 17 de 18 pacientes, a média sistólica noturna foi superior à pressão sistólica de consultório em 13 de 18 pacientes e a média diastólica noturna foi superior à pressão diastólica de consultório em 10 de 18 pacientes. Independentemente dos achados de médias pressóricas diurnas obtidas pela MAPA consistentemente maiores na criança do que as medidas casuais de pressão arterial, a presença em nossos pacientes de médias noturnas elevadas em relação à PA de consultório denota controle pressórico inadequado. Acometimento de órgãos-alvo foi observado em 6 casos, 4 destes com carga pressórica sistólica e/ou diastólica diurna e/ou noturna acima de 75%. A queda noturna sistólica foi < 6% em 3 de 6 pacientes com lesão de órgãos-alvo e em 1 de 12 pacientes sem lesão de órgãos-alvo, denotando que na criança, como no adulto, parece haver correlação entre lesão de órgãos-alvo e carga pressórica elevada em relação a baixos índices de queda noturna[25].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LEUMANN EP: Blood pressure and hypertension in childhood and adolescence. *Ergeb Inn Med Kinderheikd* 43:109-183, 1979.
2. INGELFINDER JR, DILLON MJ: Evaluation of secondary hypertension, in *Pediatric Nephrology* (3rd ed), edited by Holliday MA, Barratt TM, Avner ED, Kogan BA, Baltimore, Williams & Wilkins, 1994, pp 1146-1164.
3. BERENSON GS, SRINIVASAN SR, HUNTER SM: Risk factors in early life as predictors of adult heart disease: the Bogalusa heart study. *Am J Med Sci* 298:141-151, 1989.
4. Report of the second task force on blood pressure control in children-1987. *Pediatrics* 79(1):1-25, 1987.
5. ROSNER B, PRINEAS RJ, LOGGIE MH, DANIELS SR: Blood pressure nomograms for children and adolescents by height, sex, and age, in the United States. *J Pediatr* 123:871-886, 1993.
6. LAUER RM, BURNS TL, CLARKE WR, MAHONEY LT: Childhood predictors of future blood pressure. *Hypertension* 18(Suppl I):I74-I81, 1991.
7. PORTMAN RJ, YETMAN RJ: Clinical uses of ambulatory blood pressure monitoring. *Pediatr Nephrol* 8:367-376, 1994.
8. DANIELS RS, LOGGIE JMH, BURTON T, KAPLAN S: Difficulties in ambulatory blood pressure monitoring in children. *J Pediatr* 111(3):397-400, 1987.
9. EGGER M, BIANCHETTI MG, GNADINGER M, KOBELT R, OETLIKER O: Twenty-four hour intermittent, ambulatory blood pressure monitoring. *Arch Dis Child* 62:1130-1135, 1987.
10. DAVID WILSON P, FERENCZ C, DISCHINGER PC, BRENNER JI, ZEGER SL: Twenty-four-hour ambulatory blood pressure in normotensive adolescent children of hypertensive and normotensive parents. *Am J Epidemiol* 127:946-954, 1988.
11. FIXLER DE, WALLACE JM, THORNTON WE, DIMMITT P: Ambulatory blood pressure monitoring in hypertensive adolescents. *Am J Hypertens* 3:288-292, 1990.
12. PORTMAN RJ, YETMAN RJ, WEST S: Efficacy of 24-hour blood pressure monitoring in children. *J Pediatr* 118 (6):842-849, 1991.
13. BALD M, KUBEL S, RASCHER W: 24-Stunden-Langzeitblutdruck messung bei normalen Kindern und Juqendlichen. *Z Kardiol* 81(Suppl 2):1-4, 1992.
14. KRULL F, BUCK T, OFFNER G, BRODEHL J: Twenty-four hour blood pressure monitoring in healthy children. *Eur J Pediatr* 152:555-558, 1993.
15. NICHOLSON WR, MATTHEWS JNS, O'SULLIVAN JJ, WREN C: Ambulatory blood pressure monitoring. *Arch Dis Child* 69:681-684, 1993.
16. LURBE E, AGUILAR F, GOMEZ A, TACONS J, ALVAREZ V, REDON J: Reproducibility of ambulatory blood pressure monitoring in children. *J Hypertens* 11(Suppl 5):S288-S289, 1993.
17. REUSZ GS, HOBOR M, TULASSEY T, SALLAY P, MILTENYI M: 24-hour blood pressure monitoring in healthy and hypertensive children. *Arch Dis Chil* 70:90-94, 1994.
18. HARSHFIELD GA, ALPERT S, PULLIAM DA, SOMES GW, WILSON DK: Ambulatory blood pressure recordings in children and adolescents. *Pediatrics* 94:180-184, 1994.
19. REICHERT H, LINDINGER A, FREY O, MORTZECK J, KIEFER J, BUSCH C, HOFFMANN W: Ambulatory blood pressure monitoring in healthy children. *Pediatr Nephrol* 9:282-286, 1995.
20. CUGINI P, GIRELLI I, LATINI M, COGLIATI AA, DI PALMA L, BATTISTI P, FELICI W, TUCCIARONE L: Chronobiology of blood pressure in childhood implications for tracking. *Chronobiologia* 15:291-298, 1988.
21. YETMAN RJ, WEST MS, PORTMAN RJ: Chronobiologic evaluation of blood pressure in school children. *Chronobiol Int* 11(2):132-140, 1994.
22. HALBERG F, HALBERG E, HALBERG J, HALBERG F: Chronobiologic assessment of human blood pressure variation in health and disease. In *Ambulatory Blood Pressure Monitoring*, edited by Weber MA, Drayer JM, Darmstadt, Steinkopff, 1984, pp 137-156.
23. OIGMAN W, MION Jr D, NOBRE F, KRIEGER EM: I Consenso Brasileiro para o Uso da Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial. *J Bras Nefrol* 15(1):6-13, 1993.
24. de MAN S, ANDRE JL, BACHMANN H, GROBBEE D, IBSEN K: Blood pressure in childhood: pooled findings of six European studies. *J Hypertens* 9:109-114, 1991.
25. KOCH V, MION Jr D: MAPA na criança, in *MAPA Monitorização de Pressão Arterial*, editado por Mion Jr D, Nobre F, Oigman W, São Paulo, Atheneu, 1995, pp 75-77.

47

ATIVIDADE DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA I (CININASE II) NA URINA DE HIPERTENSOS E NORMOTENSOS

Dulce Elena Casarini
Frida Liane Plavnik
Kaethy Bisan Alves
Odair Marson

◆

INTRODUÇÃO

Os primeiros relatos da existência de duas formas de angiotensina foram apresentados por Skeggs e cols, que descobriram uma enzima em plasma de cavalo capaz de converter a angiotensina I (AI) em angiotensina II (AII) e que mais tarde foi denominada enzima conversora de angiotensina (ECA)[1].

No início da década de 60, Erdös e Sloane estudando o metabolismo da bradicinina (BK) descobriram uma cininase (carboxipeptidase N) que hidrolisava o resíduo C-terminal da bradicinina[2,3]. Mais tarde foi isolada uma enzima de bactéria capaz de hidrolisar o dipeptídeo C-terminal Phe^{8}-Arg^{9} da bradicinina (BK)[2]. Enzima semelhante foi encontrada no plasma e no rim de mamíferos e denominada cininase II[4,5]. Ng e Vane mostraram que o maior local de conversão de AI em AII era a parede vascular do pulmão. Eles também observaram que na circulação pulmonar a bradicinina era rapidamente inativada[6,7] e atribuíram ambos os fatos às ações da carboxipeptidase N. Posteriormente, trabalhos de Erdös e cols demonstraram que a cininase II era idêntica à ECA e estabeleceram o conceito de que a mesma enzima liberava um agente pressor (AI) e promovia a inativação de um agente hipotensor (BK)[8,9,10].

A ECA é encontrada na parede vascular ligada à membrana plasmática das células endoteliais como uma ectoenzima, onde hidrolisa os peptídeos circulantes AI e BK[11,12], estando presente em outros tipos de células tais como as epiteliais ou as neuroepiteliais.

O rim humano contém cinco a seis meses mais ECA por unidade de peso do que o pulmão. Nos rins, a ECA é encontrada na membrana da borda "em escova" do túbulo proximal e, neste local, pode inativar peptídeos tais como as cininas, as quais são normalmente filtradas[13]. Acredita-se que, além de filtradas, as cininas sejam também produzidas e secretadas por meio do túbulo distal, no qual estimulam a síntese das prostaglandinas e a excreção de sódio e água. Considerando-se que existe pouca ou nenhuma produção de ECA no túbulo contornado distal, é de se supor que não ocorra inativação de cininas neste local.

A ECA encontra-se em forma solúvel na urina; nos fluidos seminal, cerebrospinal e oriundo de edema pulmonar; no líquido amniótico e em homogenatos de próstata e epidídimo[13]. O mecanismo de solubilização da ECA, *in vivo*, parece ser devido à clivagem proteolítica deste peptídeo, liberando-o da membrana celular[14] (Fig. 47.1).

PROPRIEDADES DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA

Com base nas propriedades físicas, características enzimáticas e atividade imunológica cruzada, as ECA de diferentes espécies são semelhantes[13]. No entanto, a forma testicular, comparada com a ECA

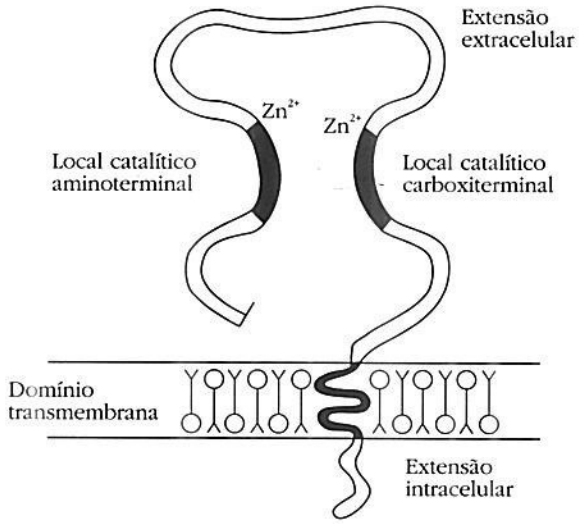


Figura 47.1 – Esquema hipotético da estrutura da enzima conversora de angiotensina I. A enzima apresenta dois locais catalíticos, sendo que cada um liga-se a um átomo de zinco.

endotelial, contém apenas a metade C-terminal da enzima[15,16,17,18] e a forma purificada de fluido intestinal ou de urina humana, apenas a metade N-terminal[19,20]. Tanto a ECA na sua forma completa como seus fragmentos têm as seguintes características: são cloreto-dependentes e inibidas por captopril, reagem de forma cruzada com anticorpos de ECA, seja eles específicos para as formas completa seja para seus fragmentos N ou C-terminais[21].

A ECA purificada de vários tecidos humanos é uma glicoproteína de cadeia simples com peso molecular variando de 140.000 a 170.000d. Provavelmente, a grande variação de peso molecular se deve a diferentes conteúdos de carboidrato presentes em cada molécula. O peso molecular, deduzido a partir da seqüência do cDNA (sem carboidrato), é de 146.600d[22]. A enzima encontra-se ligada à membrana, tendo a maior parte protéica (incluindo os sítios ativos) projetada para o espaço extracelular (ver Fig. 47.1). Pelo fato de a ECA encontrar-se fortemente ligada à membrana, para ser purificada, é necessário primeiramente solubilizá-la com detergente ou hidrolisá-la com tripsina. O "Western blot" da ECA humana mostrou que a enzima renal bruta ou a extraída por detergente tem um peso molecular de aproximadamente 5.000d maior do que a ECA renal extraída com tripsina, fato este que demonstra que a tripsina pode remover o peptídeo hidrofóbico da ECA[23,24].

Estudos da seqüência N-terminal das formas de ECA de rim de porco solubilizadas com detergente ou com tripsina indicaram que o peptídeo hidrofóbico ligado à membrana encontra-se no lado C-terminal da molécula de ECA. Este evento está de acordo com a seqüência deduzida da ECA humana[22], que contém cerca de 17 aminoácidos atravessando a membrana na região próxima à porção C-terminal.

A ECA é altamente glicosilada, o que resulta em algumas diferenças no conteúdo de carboidratos nas várias espécies. Como muitas outras enzimas, a ECA é uma metaloenzima que contém zinco no local ativo, tem pH ótimo entre 7,0 e 8,0 e perde rapidamente a atividade enzimática em pH ácido. Este fato se deve, principalmente, à dissociação do zinco do local ativo da enzima[25].

A ECA, *in vivo*, age principalmente como enzima ligada à membrana e nem todas as propriedades determinadas na caracterização da enzima *in vitro* podem ser aplicadas às condições da enzima *in vivo*.

Além da bradicinina e da AII, a ECA está envolvida na hidrólise, *in vivo*, com uma variedade de peptídeos biologicamente ativos. Desde que o peptídeo não possua resíduo de prolina como penúltimo aminoácido, a ECA hidrolisa o dipeptídeo C-terminal com uma variedade de peptídeos tanto sintéticos como naturais. A ECA também hidrolisa tripeptídeos C-terminal e N-terminal bloqueados[26]. Assim, a atividade de ECA é bastante ampla, e esta característica é muito importante na regulação de peptídeos de outros sistemas, além dos sistemas renina-angiotensina e calicreína-cinina.

Os primeiros substratos sintéticos da ECA estudados foram as moléculas que continham o N-terminal protegido e derivavam do grupo C-terminal da bradicinina (Ac-Ser-Pro-Phe-Arg) ou da angiotensina (Hip-His-Leu). Posteriormente, foram também usados como substrato a Hip-Gly-Gly e a t-BOC-Phe(NO_2)-Phe-Gly[8,9].

Estudos cinéticos feitos com ECA de tecidos humanos e de animais[25,27] hidrolisando substratos peptídicos fisiológicos mostraram que os valores de Km e Kcat variaram, respectivamente, de 30-90μM e de 8,3-13,5/s para a AI e de 0,85-1μM e 3,0-8,3/s para a bradicinina. Assim, em bases cinéticas, o baixo valor do Km da bradicinina revela que a ECA é melhor cininase do que, propriamente, enzima conversora.

ECA NA URINA HUMANA

De maneira geral, o aparecimento de uma enzima na urina é um indício de dano renal. De fato, muitas enzimas presentes no tecido renal aparecem em altas concentrações na urina quando a função renal está alterada[28].

Conforme descrito por Ward e cols[29] e por Caldwell e cols[30], a borda "em escova" dos túbulos renais é constituída por células epiteliais, e é um dos locais extravasculares mais ricos em atividade da ECA. Considerando-se que a ECA urinária deriva exclusivamente dos túbulos renais e não do plasma, a sua atividade pode ser utilizada como índice de dano tubular renal. A favor desta hipótese, vários trabalhos têm demonstrado que a concentração urinária da ECA aumenta significantemente em algumas doenças renais[31] e em quadros de infecção do trato urinário superior[32].

ECA NA URINA DE NORMOTENSOS

Kokubo e cols descreveram três diferentes formas de ECA em urina de pessoas normais. Duas formas possuíam altos pesos moleculares e uma terceira de apenas 140.000d[33]. Ryan e cols descreveram que a ECA podia ser separada em pelo menos duas formas, uma de alto e outra de baixo peso molecular, com 90.000d[34].

Estudos realizados por nosso grupo demonstraram que a ECA é excretada na urina humana como proteína de cadeia única, contendo dois locais ativos (denominados N e C-domínio), e como uma enzima intacta que contém somente o local ativo N-terminal (denominada porção N-terminal).

Casarini e cols verificaram que a atividade detectada em urina humana convertia AI em AII, hidrolisava BK e era inibida por EDTA, BPP5a e BPP9a[35].

Em estudos recentes, Casarini e cols, utilizando cromatografia de troca iônica com gradiente linear de força iônica, separaram duas formas de ECA eluídas nas condutividades de 0,7mS e 1,25mS, respectivamente, a partir de urina humana de indivíduos normais[20] (Fig. 47.2). Estas duas formas foram purificadas e obteve-se uma de alto peso molecular (190.000d) e outra de baixo peso molecular (68.000d). Na sua caracterização, verificou-se que a forma de alto peso representa a ECA somática e a de baixo peso é um fragmento da ECA N-terminal. Estas informações sobre as características de ambas as formas foram obtidas a partir de estudos com anticorpos monoclonais e policlonais específicos para a ECA humana. Em estudos com inibidores, observou-se que ambas as formas são inibidas por lisinopril, captopril, enalapril, trandoprilato com um K_i na ordem de 10^{-7}M (Tabela 47.1). Além de converterem AI em AII e hidrolisarem bradicinina, estas duas formas foram capazes de hidrolisar substância P, Leu e Met-encefalina, LHRH. No entanto, observou-se que, em relação à ECA de alto peso molecular, a ECA N-terminal hidrolisa estes substratos com mais eficiência.

ECA NA URINA DE PACIENTES HIPERTENSOS ESSENCIAIS E RENOVASCULARES

Estudando-se urina de pacientes hipertensos essenciais e renovasculares não tratados, por cromatografia de troca iônica com gradiente linear de força iônica, foram eluídos dois picos protéicos com atividade conversora na mesma condutividade em que foram eluídas as ECA de urina de pessoas normais[36,37,38]. Os pesos moleculares determinados para as enzimas eluídas em 0,7mS e 1,25mS foram, respectivamente, de 60.000d e 90.000d, não sendo detectada a forma de 190.000d. As ECA são dependentes de Cl^- e inibidas por inibidores clássicos de ECA, tais como enalapril e captopril, na ordem de 10^{-7}M; convertem AI em AII e inativam bradicinina. Quando comparadas às ECA de urina de pessoas normais com as dos pacientes hipertensos essenciais utilizando estudos de imunoprecipitação com anticorpos monoclonais específicos para ECA, as formas de baixo peso molecular (60.000d) são idênticas, representando fragmentos N-terminais ativos de ECA humana. A forma de 90.000d é também um fragmento N-terminal, não sendo idêntica à dos indivíduos normais.

O tratamento contínuo com hidroclorotiazida, propranolol e hidralazina abole a atividade da forma de baixo peso molecular (60.000d) em urina de pacientes essenciais e não nos renovasculares. Este fato sugere que o efeito destas drogas, independente do mecanismo de ação, mantém somente a forma de peso molecular 90.000d, não restaurando a forma de alto peso molecular detectada em urina de indivíduos normais (190.000d). Quando os pacientes hipertensos essenciais foram tratados com infusão de bloqueador de canal de cálcio (isradipina), durante 24 horas, ambas as formas de ECA de pesos moleculares de 60.000d e 90.000d foram abolidas. Em estudos utilizando "Western blot" com anticorpo policlonal específico para ECA, com as frações reunidas referentes às condutividades de 0,7mS e 1,25mS após cromatografia de troca iônica da urina de 24 horas, verificamos que as ECA estão presentes nestas frações, e encontram-se inibidas, demonstrando que continuam a ser secretadas[39]. A partir destes dados, em estudos *in vitro* com ECA plasmática e ECA urinária, verificamos que, ao contrário do captopril, um inibidor competitivo destas enzimas, vários bloqueadores dos canais de cálcio são inibidores não-competitivos na ordem de 10^{-8}M. Considerando-se que após o tratamento a forma de alto peso molecular (190.000d) não é restaurada, enquanto a forma de 90.000d mantém-se na urina dos pacientes, podemos sugerir que esta pode vir a ser um importante marcador de doença renal.

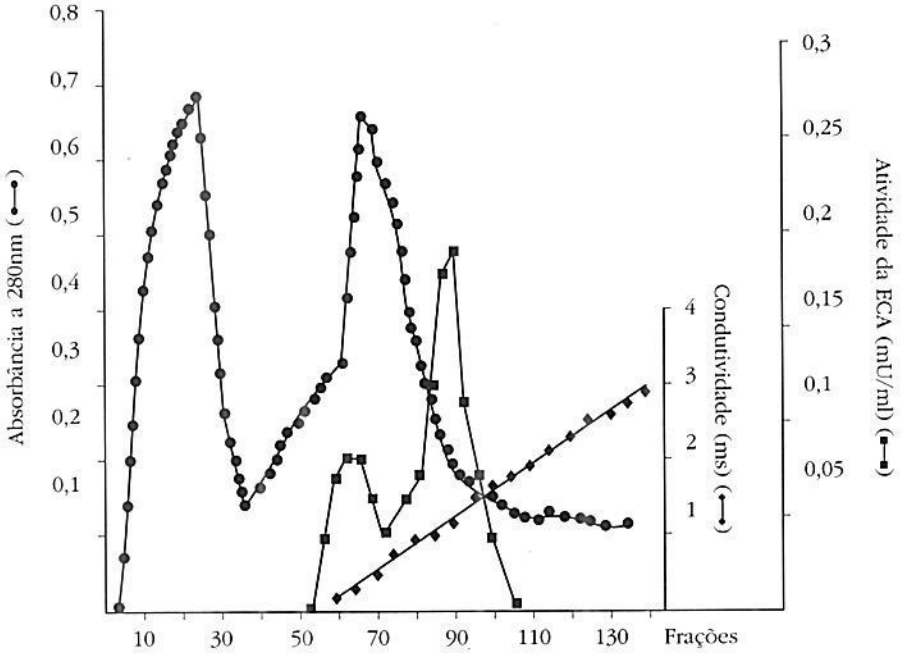


Figura 47.2 – Cromatografia de urina humana de DEAE-celulose: urina humana dialisada (200ml) foi aplicada em coluna de DEAE-celulose (1,5 × 10cm). A coluna foi percolada com tampão Tris-HCl de 20mM, pH 7,0 e eluída com gradiente linear de tampão Tris-HCl de 20mM a 500mM, pH 7,0, com um fluxo de 55ml/h. (•—•) = absorbância a 280nm; (▪—▪) = atividade da ECA (mU/ml) utilizando Hip-His-Leu como substrato. Condutividade (ms) (⟷).

Tabela 47.1 – Inibição das ECA urinárias por enalapril, lisinopril, ramipril, trandolapril e captopril. Ensaios foram feitos utilizando Hip-His-Leu como substrato. Valores de K_i foram determinados a partir do plot Lineweaver-Burk após estabelecer a concentração de cada inibidor por curva dose-resposta.

	K_i ($\times 10^{-7}$M)				
Enzima	**enalapril**	**lisinopril**	**ramipril**	**trandolapril**	**captopril**
ECA (190kd)	0,21	0,41	0,50	0,21	1,12
ECA (60kd)	0,06	ND	ND	ND	0,05

ND = não determinado.

Assim, acreditamos que a ECA de 90.000d é liberada a partir de ECA de membrana por clivagem em alguma região da molécula, deixando a porção inativa C-terminal ligada à membrana, fato este que pode explicar a não detecção de fragmento complementar da forma de 90.000d em urina de pacientes hipertensos.

IMPORTÂNCIA CLÍNICA E PERSPECTIVA DE ESTUDOS

Com os achados descritos nos tópicos acima, cabe-nos refletir sobre a importância das formas N-terminal de 60.000d e 90.000d da enzima conversora de AI, encontradas na urina de pacientes hipertensos essenciais ou de etiologias secundárias. À primeira vista, nossos dados sugerem que estas enzimas sejam indicadoras da manifestação de algumas formas de hipertensão arterial, visto que elas foram detectadas na urina de hipertensos essenciais, malignos, renovasculares, mas não na urina de normotensos.

Também merece atenção o comportamento dessas formas diante da terapêutica anti-hipertensiva, na qual podemos notar o "desaparecimento" ou a inibição de uma ou ambas as formas enzimáticas. O uso de inibidores da ECA, em pequenas doses, suficientes apenas para inibir sua atividade enzimática, poderia nos permitir estabelecer o papel funcional destas enzimas na fisiopatogenia

da hipertensão. É de se supor que a atenuação ou a persistência de níveis pressóricos elevados com ou sem a presença de atividade destas enzimas na urina poderá nos orientar quanto à real importância clínica destas enzimas. Nesta linha, seria de grande importância estudarmos outros tipos de quadros hipertensivos como grávidas toxêmicas, que apresentam um quadro hipertensivo de curta duração, ou ainda avaliar na urina de filhos de hipertensos o comportamento destas enzimas e seus respectivos pesos moleculares.

Até o momento, nossos estudos demonstram que, ao se controlar a hipertensão em indivíduos com hipertensão arterial essencial, as enzimas estão inibidas. No entanto, por limitações éticas, ainda não dispomos de dados para verificar se este paralelismo persistiria ou não com o uso de doses subpressoras.

Na tentativa de contornarmos este problema, estamos utilizando técnicas de biologia molecular, com a reação de PCR, onde poderemos, *in vitro*, encontrar outras explicações para nossos achados e de certa forma classificarmos estas enzimas como importantes marcadores renais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SKEGGS LT, DORER FE, KAHN JR, LENTZ KE, LEVINE M: Experimental renal hypertension: the discovery of the renin-angiotensin system, in *Biochemical Regulation of Blood Pressure*, edited by Soffer RL, New York, John Wiley & Sons, 1981, pp 3-38.
2. ERDÖS EG: Bradykinin, kallidin and kallikrein, in *Handbook of Experimental Pharmacology* (Vol 25 Suppl), edited by Erdös EG, Heidelberg, Springer-Verlag 1979, pp 427-487.
3. ERDÖS EG, SLOANE EM: An enzyme in human blood plasma that inactives bradykinin and kallidins. *Biochem Pharmacol* 11:39-43, 1962.
4. ERDÖS EG, YANG HYT: An enzyme in microsomal fraction of kidney that inactivates bradykinin. *Life Sciences* 6:569-574, 1967.
5. YANG HYT, ERDÖS EG: Second kininase in human blood plasma. *Nature* 215:1402-1403, 1967.
6. NG KKF, VANE JR: Conversion of angiotensin I to angiotensin II. *Nature* 216:762-766, 1967.
7. NG KKF, VANE JR: Fate of angiotensin I to angiotensin II. *Nature* 218:144-150, 1968.
8. YANG HYT, ERDÖS EG, LEVIN Y: A dipeptidyl carboxipeptidase that converts angiotensin I and inactives bradykinin. *Biochim Biophys Acta* 214:374-376, 1970.
9. YANG HYT, ERDÖS EG, LEVIN Y: Characterization of a dipeptide hydrolase (kininase II; angiotensin I converting enzyme). *J Pharmacol Exp Ther* 117:291-300, 1971.
10. IGIC R, ERDÖS EG, YEH HSJ, SORRELLS K, NAKAJIMA T: Angiotensin I converting enzyme of the lung. *Circ Res* 31 (Suppl II):51-61, 1972.
11. ERDÖS EG: Angiotensin I converting enzyme. *Circ Res* 36:247-255, 1975.
12. RYAN US, RYAN JW, WHITAKER C, CHIU A: Localization of angiotensin converting enzyme (kininase II). II. Immunocytochemistry and immunofluorescence. *Tissue Cell* 8:125-145, 1976.
13. ERDÖS EG: Angiotensin I converting enzyme and the changes in our concepts through the years. *Hypertension* 16:363-370, 1990.
14. WEI L, ALHENC-GELAS F, SOUBRIER F, MICHAUD A, CORVOL P, CLAUSER E: Expression and characterization of recombinant human angiotensin I-converting enzyme. *J Biol Chem* 266:5540-5546, 1991.
15. LATION A-L, SOUBRIER F, ALLEGRINI J, HUBERT C, CORVOL P, ALPHENCGELAS F: The testicular transcript of the angiotensin I-converting enzyme encodes for the ancestral, non-duplicated form of the enzyme. *FEBS Letters* 252:99-104, 1989.
16. EHLERS MRW, FOX EA, STRYDOM DJ, RIORDAN JF: Molecular cloning of human testicular angiotensin I-converting enzyme: The testis isozyme is identical to the C-terminal half of endotelial angiotensin-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:7741-7745, 1989.
17. BERNSTEIN KE, MARTIN BM, EDWARDS AS, BERNSTEIN EA: Mouse angiotensin converting enzyme is a protein composed of two homologous domains. *J Biol Chem* 264:11945-11951, 1989.
18. KUMAN RS, KUSARI J, ROY SN, SOFFER RL, SEN GC: Structure of testicular angiotensin-converting enzyme. A segmental mosaic enzyme. *J Biol Chem* 264:16754-16758, 1989.
19. DEDDISH PA, WANG J, MICHEL B, MORRIS PW, DAVIDSON NO, SKIDGEL RA, ERDÖS EG: Naturally occurring active N-domain of human angiotensin I-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:7804-7811, 1994.
20. CASARINI DE, DANILOV S, ALVES KB, STELLA RCR, GAUTHIER F, ALHENC-GELAS, F: Low molecular weight angiotensin I-converting enzyme from human urine resemble N-terminal fragment of human angiotensin I-converting enzyme. *J Biol Chem*, 1995 (submited).
21. TURNER AJ, HRYSZKO J, HOOPER NM, DOWDALL MJ: Purification and characterization of a peptidyl dipeptidase resembling angiotensin converting enzyme from the eletric organ of Torpedo marmorata. *J Neurochem* 48:910-916, 1987.
22. SOUBRIER F, ALHENC-GELAS F, HUBERT C, ALLEGRINI J, JOHN M, TREGEAR G, CORVOL P: Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:9386-9390, 1988.
23. SKIDGEL RA, DEFENDINI R, ERDÖS EG: Angiotensin I-converting enzyme and its role in neuropeptide metabolism, in *Neuropeptides and their Peptidases*, edited by Turner AJ, Chichester, Ellis-Horwood Ltd, 1987, pp 165-182.
24. ERDÖS EG, GAFFORD JT: Human converting enzyme. *Clin Exp Hypertens (A)* 5:1251-1262, 1983.
25. EHLERS MRW, RIORDAN JF: Angiotensin-converting enzyme. Biochemistry and molecular biology, in *Hypertension Pathophysiology Diagnosis And Management*, edited by Laragh JH, Brenner BM, New York, Raven Press, 1990, pp 1217-1231.
26. SKIDGEL RA, ERDÖS EG: The broad substrate specificity of human angiotensin I-converting enzyme. *Clin Exp Hypertens (A)* 9:243-259, 1987.
27. STEWART TA, WEARE JA, ERDÖS EG: Purification and characterization of human converting enzyme (kininase II). *Peptides* 2:145-152, 1981.
28. RAAB WP: Diagnostic value of urinary enzyme determinations. *Clin Chem* 18:5-25, 1972.
29. WARD PE, GEDWEY CD, DOWBEN RM, ERDÖS EG: Isolation of membrane bound renal kallikrein and kininase. *Biochem J* 151:755-758, 1975.
30. CALDWELL PRB, SEEGAL B, HSU KC, DAS M, SOFFER RL: Angiotensin converting enzyme vascular endothelial localization. *Science* 191:1050-1051, 1976.
31. BAGGIO B, FAVARO S, CANTARO S, BERTAZZO L, FRUNZIO A, BORSATTI: An Increased urine angiotensin I con-

verting enzyme activity in patients with upper urinary tract infection. *Clin Chim Acta* 109:211-218, 1981.
32. KATO I, TAKADA Y, NISHIMURA K, HIWADA K, KOKUBO T: Increased urinary excretion of angiotensin converting enzyme in patients with renal diseases. *J Clin Chem Clin Biochem* 20:473-476, 1982.
33. KOKUBO T, KATO I, NISHIMURA K, HIWADA K, UEDA E: Angiotensin converting enzyme in urine. *Clin Chim Acta* 89:375-379, 1978.
34. RYAN JW, OZA NB, MARTIN LC, PENA GA: Components of the kallikrein-kinin system in urine, in *Kinin II. Biochemistry, Pathophysiology and Clinical Aspects*, edited by Fuji S, Moryia H, Suzuki T, New York, Plenun Press, 1978, pp 313-323.
35. CASARINI DE, ALVES KB, ARAUJO MS, STELLA RCR: Endopeptidase and carboxypeptidase activities in human urine which hydrolyze bradykinin. *Braz J Med Biol Res* 25:219-229, 1992.
36. CASARINI DE, ALVES KB, COSTA RH, PLAVINICK FL, MOREIRA ME, RODRIGUES CIS, MARSON O: Effect of diuretic upon urinary levels of ACE of essential mild hypertensive patients (EPH). (abstract) *Hypertension* 17:463, 1991.
37. ALVES KB, CASARINI DE, COSTA RH, PLAVINICK FL, PORTELA JE, MARSON O: Angiotensin converting enzymes (ACE) from urine of treated and untreated essential mild hypertensive patients (EHP) with diuretic: partial purification and characterization. *Agents Actions* 38:422-429, 1992.
38. COSTA RH, CASARINI DE, PORTELA JE, PLAVINIK FL, MARSON O, ALVES KB: Enzimas conversoras de angiotensina I en orina de hipertensos renovasculares tratados, no-tratados con diuréticos: purification y caracterization. *Rev Esp Nefrol* 23(Supl 5):14-17, 1993.
39. CASARINI DE, CARMONA AK, PLAVNIK FL, ZANELLA MT, JULIANO L, RIBEIRO AB: Calcium channel blockers as inhibitors of angiotensin I-converting enzyme. *Hypertension* 26(Pt 2):1145-1148, 1995.

Este trabalho foi realizado com o auxílio da Fapesp e CNPq.

Gostaríamos de agradecer a colaboração da Prof. Dra. Adriana Carmona nos estudos com os bloqueadores dos canais de cálcio.

Estamos gratos também a pós-graduanda Rita Heloísa Costa e a bióloga Sonia Maria Oliveira pelos auxílios recebidos.

48

HIPERTENSÃO E RESISTÊNCIA À INSULINA

Nereida Kilza da Costa Lima
Fabio B. Lima
Naomi S. Hell
Elisabete A. dos Santos
Joel C. Heimann

INTRODUÇÃO

Anormalidades no metabolismo da glicose e da insulina ocorrem mais freqüentemente em indivíduos hipertensos essenciais, mesmo não obesos, do que em normotensos[1,2]. Por outro lado, entre os pacientes com intolerância à glicose há maior prevalência de hipertensos do que na população em geral[3]. A partir destas observações questiona-se a existência ou não de um vínculo entre hipertensão arterial e resistência à ação da insulina.

Apesar de a insulina agir em diversas etapas do metabolismo de proteínas, lípides e carboidratos, no escopo deste texto empregaremos o conceito de resistência à insulina como o estado no qual se tem menor ação periférica da insulina à estimulação da captação de glicose.

A resistência à insulina ocorre em várias situações fisiológicas, como no jejum prolongado, na gestação e no envelhecimento, bem como em condições patológicas: obesidade (especialmente na obesidade centrípeta), *Diabetes mellitus*, uremia, acidose, lipodistrofias, síndrome do ovário policístico, síndrome de Cushing, acromegalia, feocromocitoma, insulinoma, anticorpos antiinsulina, tabagismo, uso de glicocorticóides, anticoncepcionais orais, diuréticos, etc.[4].

MÉTODOS PARA ESTIMAR A RESISTÊNCIA À INSULINA

A fim de que haja melhor compreensão dos diversos estudos que serão citados no decorrer deste capítulo, descreveremos os métodos usualmente utilizados para estimar a resistência à ação da insulina ou à sua sensibilidade. A avaliação sempre é comparativa, ou seja, os resultados expressam que um grupo é mais resistente ou mais sensível à ação da insulina do que outro.

"Clamp" euglicêmico hiperinsulinêmico

Este é o método mais comumente utilizado em pesquisa, seja em animais de laboratório seja em humanos. A concentração de insulina é mantida constante e elevada por meio de infusão intravenosa deste hormônio durante o experimento, sendo a produção de insulina endógena inibida nesta circunstância. A glicemia é mantida constante, em torno de 90mg/dl, por meio de infusão de glicose em velocidade variável, corrigida segundo dosagens seriadas da glicemia. Após cerca de 2 horas atinge-se um período de equilíbrio, no qual a taxa de infusão de glicose é igual à taxa de sua utilização pelo organismo como um todo, uma vez que a produção hepática de glicose também fica inibida. Quanto maior for a taxa de infusão de glicose (denominada valor M, expressa em $mg.kg^{-1}.min^{-1}$) que foi necessária para manter a glicemia constante em um dado grupo ou indivíduo, maior será a sensibilidade ou menor a resistência à ação da insulina[4,5].

Apesar de ser metodologia bastante sensível, o "clamp" é sujeito a erros causados por eventual supressão incompleta da produção hepática de glicose, por perda renal da glicose, por atuação de mecanismos contra-reguladores e por dificuldade na determinação da porcentagem da glicose, que é captada independentemente da ação da insulina[6].

Teste de tolerância à glicose oral (GTT_o) com insulinemias

O GTT_o é uma metodologia de fácil execução, podendo ser utilizada na prática clínica ou em pesquisa. O indivíduo ou animal recebe uma sobrecarga oral de glicose e são dosadas as glicemias e as insulinemias antes e após (usualmente aos 30, 60, 90 e 120 minutos) tal estímulo. Existe resistência à insulina quando a insulinemia de jejum de um dado grupo e/ou aquelas obtidas após a sobrecarga de glicose são relativamente mais elevadas, enquanto a curva das glicemias obtidas é normal e igual entre si[4].

Esta metodologia, no entanto, é pouco específica, uma vez que os níveis de insulina circulantes obtidos a partir do estímulo hiperglicêmico dependem da quantidade de glicose absorvida, que pode variar segundo alterações da motilidade gastrintestinal[7], da secreção de insulina pancreática e da sua metabolização pelo fígado e pelos rins[8].

Teste de tolerância à glicose endovenoso (GTT_{EV}) com insulinemias

O estímulo hiperglicêmico neste teste é produzido através de uma injeção de solução glicosada hipertônica, sendo dosadas as glicemias e as insulinemias antes e após este estímulo. O valor máximo da glicemia é obtido em torno do quinto minuto, a qual retorna usualmente aos valores de jejum entre o 30º e o 60º minutos. A resistência à insulina é quantificada da mesma forma como o descrito para o GTT_o. No entanto, o GTT_{EV} é mais preciso do que o último por não sofrer influência de variações na absorção de glicose. A produção de insulina e a sua metabolização continuam sendo importantes na análise dos resultados[5].

Teste de supressão da insulina

A sensibilidade à insulina pode ser obtida por meio de infusão intravenosa contínua e constante de insulina e glicose, sendo a produção de insulina endógena suprimida por administração concomitante de somatostatina, propranolol ou adrenalina. O nível da glicose plasmática na situação de equilíbrio fornece uma estimativa direta da resistência à insulina. Quanto maior a glicemia de um grupo ou indivíduo, maior a resistência à insulina, pois a quantidade de glicose e insulina infundidas são iguais, havendo mais glicose circulante quando a captação de glicose pela insulina é menor[4].

De forma semelhante ao "clamp", o teste de supressão tem boa sensibilidade, porém passível de interferências de concomitante perda de glicose renal ou de variação na captação celular de glicose independente da ação da insulina entre os grupos estudados.

Estudo da captação de glicose *in vitro*

Esta metodologia avalia a captação de glicose em células isoladas de animais ou indivíduos, mais freqüentemente nos adipócitos, por serem mais facilmente manipuláveis. Para tanto, utiliza-se glicose modificada e marcada com radioisótopo (^3H 2-deoxi-D-glicose), de tal forma que ela não é metabolizada pela célula. Portanto, após a captação ocorre acúmulo de glicose nas células, que quantifica a intensidade do processo. Quanto maior a captação de glicose, em vigência de insulina, durante um dado período, maior a sensibilidade à ação da insulina nestas células.

Os estudos *in vitro* permitem uma avaliação precisa da sensibilidade à insulina na captação de glicose pela célula, uma vez que todos os parâmetros envolvidos são controlados: quantidade de insulina do meio, quantidade de glicose marcada disponível, número de células da preparação, etc. Por outro lado, pelo fato de a sensibilidade à insulina não ser igual em todos os tecidos[5], os resultados obtidos com o estudo de adipócitos podem não refletir necessariamente o que acontece no organismo como um todo.

EVIDÊNCIAS A FAVOR DO VÍNCULO ENTRE HIPERTENSÃO ARTERIAL E RESISTÊNCIA À INSULINA

Vários estudos demonstram a associação entre hipertensão arterial e resistência à insulina. Welborn e cols[9] correlacionaram, pela primeira vez em 1966, hipertensão arterial essencial com maiores insulinemias obtidas durante teste de tolerância à glicose. Posteriormente, surgiram diversas evidências experimentais deste vínculo, entre elas, os estudos realizados em adipócitos isolados de ratos espontaneamente hipertensos (SHR)[10] e ratos Dahl sal-sensíveis[11]. Demonstrou-se menor captação de glicose nos adipócitos destas raças do que em seus respectivos controles normotensos. Estudos epidemiológicos[12,13] e clínicos[14] também revelaram maior resistência à insulina em indivíduos hipertensos, independentemente da idade e da obesidade.

Discute-se ainda de que forma tal vínculo ocorreria, ou seja, se a resistência à insulina causaria a hipertensão arterial ou se, ao contrário, a hipertensão arterial seria o evento primário, com menor sensibilidade à insulina em decorrência dela.

Resistência à insulina como evento primário

Postula-se que o nível elevado de insulina, secundário à resistência à insulina, levaria ao aumento da reabsorção de sódio, principalmente no túbulo proximal, à ativação do sistema nervoso simpático, à maior reatividade vascular devido à elevação da concentração de cálcio citosólico, além de proliferação de células musculares lisas subintimais dos vasos[1,3,15]. A maior reabsorção renal de sódio ocorre por maior ativação da bomba de sódio na membrana basolateral das células do túbulo proximal. Tais efeitos da hiperinsulinemia seriam os responsáveis pelo aumento da pressão arterial.

A favor desta teoria, na qual a resistência à insulina seria o evento primário, existe a hipertensão arterial em ratos Sprague-Dawley induzida por dieta rica em frutose, a qual promove hiperinsulinemia secundária à resistência à insulina[16]. Neste modelo, quando a hiperinsulinemia é inibida com somatostatina, não ocorre mais elevação pressórica[17].

Reaven denominou síndrome X a associação de hiperinsulinemia, intolerância à glicose, alterações lipídicas e hipertensão arterial. Segundo sua interpretação, todos estes fenômenos seriam secundários à resistência à insulina[18]. Por outro lado, o fato de não se verificar elevação de pressão arterial em pacientes com insulinoma, a despeito de hiperinsulinemia e resistência à insulina[19], revela evidências contrárias ao tipo de associação postulada. Além disso, a infusão de insulina intra-arterial tem efeito vasodilatador[20], não acarretando elevação pressórica.

Hipertensão arterial como evento primário

O aumento crônico da pressão arterial cursa junto com constrição arteriolar e rarefação de capilares, com conseqüente alteração de perfusão da musculatura esquelética. Postulam-se que estas alterações dificultariam o acesso da insulina às células-alvo, havendo, secundariamente, resistência à ação da insulina[21,22].

Associação entre hipertensão arterial e maior número de fibras musculares estriadas de contração rápida (menos vascularizadas e mais resistentes à insulina) e menor número de fibras de contração lenta (mais vascularizadas e mais sensíveis à insulina) apóia esta hipótese[23].

Há, no entanto, situações nas quais o aumento de pressão arterial não acarreta alterações na sensibilidade à insulina, como na hipertensão renovascular[24].

EVIDÊNCIAS CONTRA O VÍNCULO ENTRE HIPERTENSÃO ARTERIAL E RESISTÊNCIA À INSULINA

Entre os indivíduos hipertensos, cerca de 50% apresentam alterações de resistência à insulina e hiperinsulinemia[25]. Portanto, há indivíduos nos quais não ocorre concomitância destes dois fenômenos. Em um estudo epidemiológico, Muller e cols não encontraram associação significante entre hipertensão e resistência à insulina, mas verificaram vínculo entre hipertensão e obesidade[26]. Se considerarmos uma população de obesos, há referência de que 80% dos indivíduos apresentam tolerância à glicose alterada e hipertensão[13]. Em outras palavras, há evidências de que resistência à insulina e hipertensão arterial dependem de outros fatores genéticos ou ambientais para coexistirem. Talvez a ausência destes outros fatores seja uma explicação para a normotensão em portadores de insulinoma e a ausência de resistência à insulina na hipertensão renovascular.

Procurando avaliar um destes possíveis fatores ambientais associados, estudamos a influência de sal na resistência à insulina. Para tanto, utilizamos ratos Wistar, que não são animais geneticamente hipertensos, e os submetemos à restrição (0,15% de NaCl – Harlan Teklad, Madison-Wi/USA) ou à sobrecarga de solução salina (8% de NaCl) desde o desmame[27,28]. Com 12 semanas de idade, ou seja, nove semanas de dieta, o grupo submetido à dieta rica em sal (HR) tinha pressão arterial maior do que o grupo sob restrição de solução salina (HO) (HO – 119 ± 7mmHg, n = 12, *vs.* HR – 142 ± 11, n = 12, – $p < 0,001$). Ao avaliarmos seis animais de cada grupo com a realização de GTT_{EV} com dosagem concomitante de insulina e estudo *in vitro* em adipócitos isolados obtivemos:

1. No GTT_{EV}, glicemias semelhantes entre grupos, sendo que a análise de variância mostrou igualdade entre as duas curvas ($p > 0,05$, HO *vs.* HR). As curvas de insulinemias foram diferentes ($p < 0,001$, HO *vs.* HR), com insulinemias menores no grupo de dieta hipersódica (Fig. 48.1). Não houve diferença de peso entre HO e HR.
2. No estudo *in vitro*, a captação de 2-deoxi-D-glicose (não metabolizada pelas células, mas captada da mesma forma que a glicose) marcada com ^3H foi maior em dieta hipersódica tanto na ausência (captação basal – $p < 0,001$ – HO *vs.* HR), quanto na presença de insulina (captação máxima – $p < 0,001$ – HO *vs.* HR) (Fig. 48.2A). No entanto, a concentração de insulina

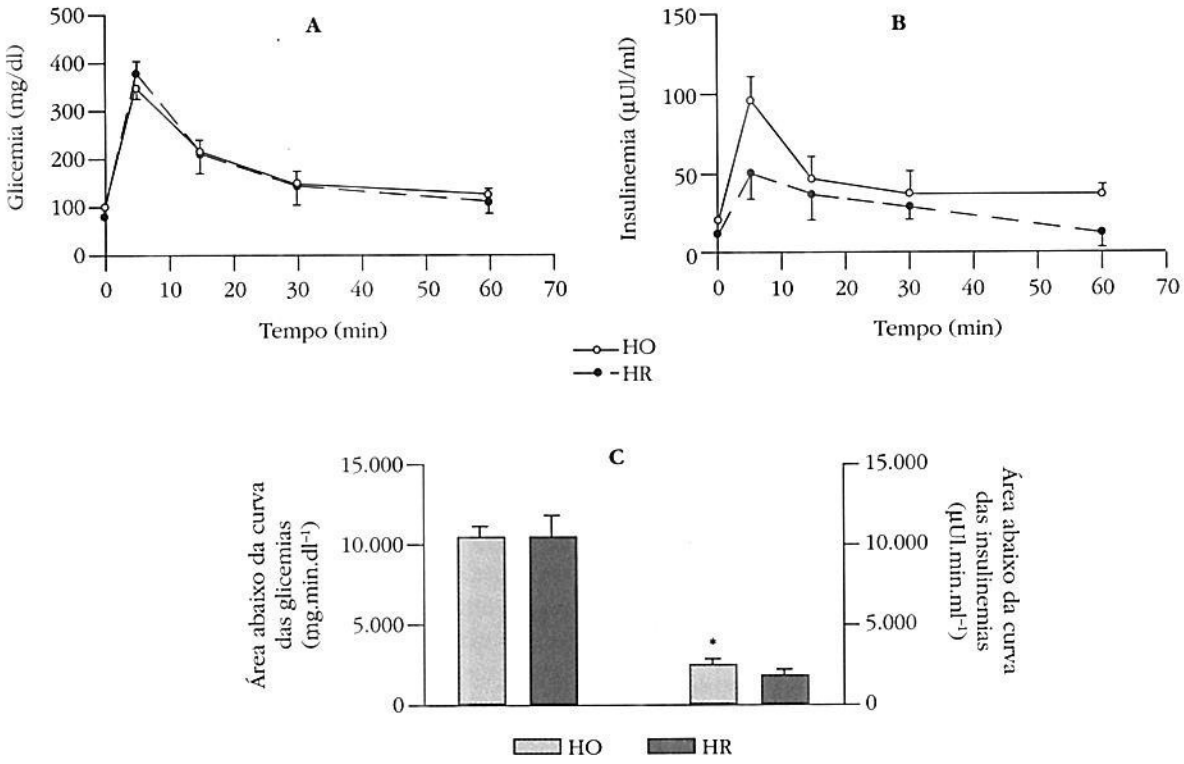


Figura 48.1 – Glicemias (**A**), insulinemias (**B**) e áreas abaixo das curvas (**C**) de testes de tolerância à glicose em ratos Wistar com 12 semanas de idade, submetidos à dieta hipossódica (HO) ou hipersódica (HR).
* p = 0,023 *versus* respectivo HR.

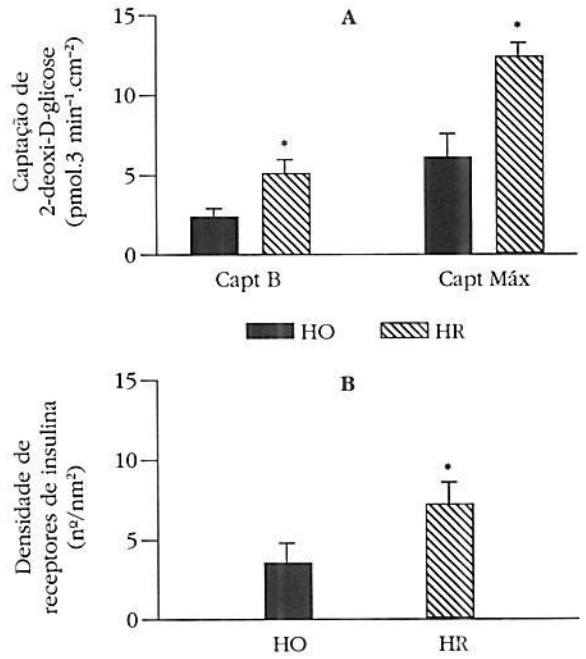


Figura 48.2 – Captação basal (Capt B) e máxima (Capt Máx) de 2-deoxi-D-glicose (**A**) e densidade de receptores (**B**) em adipócitos isolados de ratos Wistar com 12 semanas de idade, submetidos à dieta hipossódica (HO) ou hipersódica (HR). * p < 0,05 *versus* HO.

responsável por metade do efeito máximo de captação de glicose (EC50), que é a medida da sensibilidade à insulina, foi igual nos dois grupos. Note-se que as curvas de captação de glicose são semelhantes e paralelas, sendo a diferença nas captações basais (independentes da insulina) possivelmente responsável pelas diferenças nas captações máximas (Fig. 48.3). Portanto, a dieta rica em sal facilitou a captação celular de glicose por outro mecanismo que não o habitual por meio da ação de insulina. A maior densidade de receptores nos adipócitos dos ratos submetidos à sobrecarga de solução salina pode também estar parcialmente vinculada à maior captação máxima neste grupo (Fig. 48.2B).

Considerando que o método *in vitro* é mais específico que o GTT_{EV}, temos que a sensibilidade à insulina foi igual em ambos os grupos. A menor insulinemia no GTT_{EV}, verificada em animais submetidos à sobrecarga de solução salina, não indica, portanto, menor resistência à insulina, mas pode dever-se à menor produção hepática ou maior metabolização dela. Uma eventual menor produção da insulina em HR poderia justi-

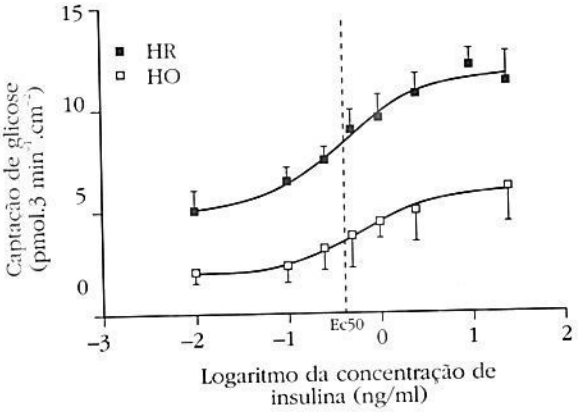


Figura 48.3 – Curva dose-resposta da captação de 2-deoxi-D-glicose em adipócitos de ratos Wistar com 12 semanas de idade, submetidos à dieta hipossódica (HO) ou hipersódica (HR). EC50: concentração de insulina correspondente à metade do efeito máximo de captação da 2-deoxi-D-glicose.

ficar-se a partir da sua menor necessidade, visto haver entrada de glicose na célula independentemente de insulina nestes animais. Por outro lado, maior metabolização poderia ser explicada por menor produção de angiotensina II em vigência da sobrecarga da solução salina. Sabe-se que, quando há maior produção de angiotensina II, ocorre diminuição do fluxo hepático, com menor "clearance" de insulina e elevação dos seus níveis circulantes[29].

Concluindo-se este relato, não houve concomitância de elevação da pressão arterial no grupo com sobrecarga com alterações na sensibilidade à insulina, que foi idêntica nos dois grupos. A elevação crônica da pressão arterial não parece, por si só, diminuir a sensibilidade à insulina em todos os modelos. O sal, que participa dos mecanismos de elevação da pressão arterial[30], não parece ter efeito sobre a resistência à insulina. Fliser e cols obtiveram resultados semelhantes ao estudar indivíduos normotensos[31]. Realizaram, nestes indivíduos, "clamp" euglicêmico hiperinsulinêmico após sete dias de dieta hipo ou hipersódica. No entanto, em um outro grupo de indivíduos estudados após três dias em cada dieta, houve melhor sensibilidade à insulina em dieta hipersódica.

O tempo de dieta é importante, por conseguinte, para a análise de resultados.

Observe-se também a importância da metodologia utilizada para a avaliação da resistência à insulina e do conhecimento das possíveis influências de outros fatores em cada uma delas.

INFLUÊNCIA DA PRESENÇA DE RESISTÊNCIA À INSULINA NO TRATAMENTO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL

Tratamento não-medicamentoso

Vários tratamentos não-medicamentosos que são preconizados parecem melhorar um estado de resistência à insulina.

A redução de peso em obesos promove queda da pressão arterial com melhora da sensibilidade à insulina. Sabe-se que principalmente indivíduos com aumento de gordura centrípeta ou abdominal são resistentes à insulina. Um dos mecanismos que poderia explicar a melhora dos níveis glicêmicos e a diminuição da hiperinsulinemia com o emagrecimento seria a diminuição da oferta de ácidos graxos livres ao sistema portal, havendo maior metabolização de insulina no fígado e menor neoglicogênese[32]. Com a diminuição dos níveis circulantes de insulina pode ocorrer maior excreção renal de sódio, menor atividade simpática, menor reatividade vascular, com decorrente redução da pressão arterial.

O exercício físico continuado também reduz os níveis circulantes de insulina e facilita a sua ação nas células ao estimular a abertura de capilares não funcionantes na musculatura esquelética e favorecer a neoformação de vasos. Observa-se que indivíduos hipertensos têm maior porcentagem de fibras musculares esqueléticas do tipo IIB (menos vascularizadas e mais resistentes à insulina) do que indivíduos normotensos. Com a realização de exercício físico continuado há aumento proporcional de fibras do tipo IA (mais vascularizadas e mais sensíveis à insulina)[33].

Tratamento medicamentoso

Até o presente momento não existem subsídios, provenientes de pesquisas realizadas, suficientes para que se alterem as recomendações gerais de tratamento de hipertensos[34]. Apesar de os medicamentos utilizados, como os diuréticos e os β-bloqueadores, causarem diminuição da sensibilidade à insulina em potencial, não há evidências de que o risco cardiovascular aumente com a sua utilização. Ao contrário, em amplos estudos, estas duas drogas têm diminuído a prevalência de doenças cardiovasculares, principalmente reduzindo as complicações vasculares cerebrais[35]. Verificou-se ainda que a presença de alterações do metabolismo de carboidratos existentes antes de se iniciar o tratamento anti-hipertensivo influencia o prognóstico dos pacientes, mas não há tal influência quando esses distúrbios de carboidratos surgem durante o tratamento com drogas[36].

Por outro lado, há relato de cerca de apenas 2,5% de incidência de intolerância à glicose com o uso de diuréticos tiazídicos e 1% com uso o de beta-bloqueadores[8], o que torna perfeitamente sensata a sua utilização, fazendo-se um acompanhamento caso a caso e optando-se por outra droga se houver alterações glicêmicas importantes. O efeito hiperglicêmico dos diuréticos parece estar associado com hipocalemia, devendo esta ser evitada com doses menores e cuidados dietéticos[34].

Estudos realizados com número reduzido de pacientes e por curto período tem mostrado diminuição da resistência à insulina com alfa-1-bloqueadores e inibidores da enzima de conversão da angiotensina II[34].

Nenhuma medicação anti-hipertensiva é especificamente contra-indicada em diabéticos, mas deve-se ter cuidado ao utilizar beta-bloqueadores, os quais mascaram os sintomas e podem prolongar a recuperação da hipoglicemia, além de diminuírem a secreção de insulina pelo pâncreas e poderem induzir aumento da resistência à insulina.

Por outro lado, é descrito um efeito benéfico dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina I na redução da proteinúria e progressão de doença renal em diabéticos[37].

RESUMO

A resistência à insulina e a hipertensão arterial estão associadas em cerca de 50% dos hipertensos e em alguns modelos experimentais, mas não coexistem em outros.

Talvez haja necessidade de um fator genético ou ambiental (que provavelmente não se trata da ingestão de sal) para que se estabeleça o vínculo entre hipertensão arterial e resistência à insulina.

O tratamento da hipertensão arterial por meio do treinamento físico e redução de peso parece diminuir a resistência à insulina.

Não há subsídios suficientes para alterar as recomendações habituais no tratamento medicamentoso de hipertensos resistentes à insulina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. O'HARE JA: The enigma of insulin resistance and hypertension. Insulin resistance, blood pressure, and the circulation. *Am J Med* 84:505-510, 1988.
2. REAVEN GM: Relationship between insulin resistance and hypertension. *Diabetes Care* 14(Suppl 4):33-38, 1991.
3. FERRARI P, WEIDMANN P: Insulin, insulin sensitivity and hypertension. *J Hipertens* 8:491-500, 1990.
4. BABA T, NEUGEBAUER S: The link between insulin resistance and hypertension. Effects of antihypertensive and antihyperlipidaemic drugs on insulin sensitivity. *Drugs* 47:383-404, 1994.
5. STARKE AAR: Determination of insulin sensitivity: methodological considerations. *J Cardiovasc Pharmacol* 20(Suppl 11):S17-S21, 1992.
6. MARTINS MCN, SILVA MER, PUPO AA: Micro ITT para avaliar sensibilidade tecidual à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 31:35-45, 1987.
7. ISHII M, KASAI F, NAKAMURA T, ONUMA T, BABA T, et al: Altered postprandial insulin requirement in insulin dependent diabetic patients with gastroparesis. (abstract) *Diabetologia* 34(Suppl 2):A4, 1991.
8. MORRIS AD, CONNELL JMC: Insulin resistance and essencial hypertension: mechanisms and clinical implications. *Am J Med Sci* 307(Suppl 1):S47-S52, 1994.
9. WELBORN TA, BRECKENRIDGE A, RUBINSTEIN AH, DOLLERY CT, RUSSELL FRASER T: Serum-insulin in essencial hypertension and in peripheral vascular disease. *Lancet* 18:1336-1337, 1966.
10. REAVEN GM, CHANG H, HOFFMAN BB, AZHAR S: Resistance to insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes isolated from spontaneously hypertensive rats. *Diabetes* 38:1155-1160, 1989.
11. REAVEN GM, TWESKY J, CHANG H: Abnormalities of carbohydrate and lipid metabolism in Dahl rats. *Hypertension* 18:630-635, 1991.
12. MODAN M, HALKIN H, ALMOG S, LUSKY A, ESHKOL A, SHEFI M, SHITRIT A, FUCHS Z: Hyperinsulinemia. A link between hypertension obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest* 75:809-817, 1985.
13. MITCHELL BD, STERN MP, HAFFNER SM, HAZUDA HP, PATTERSON JK: Risk factors for cardiovascular mortality in Mexican Americans and non-Hispanic whites: The San Antonio Heart Study. *Am J Epidemiol* 131:423-433, 1990.
14. FERRANNINI E, BUZZIGOLI G, BONADONNA R, GIORICO MA, OLEGGINI M, GRAZIADEI L, PEDRINELLI R, BRANDI L, BEVILACQUA S: Insulin resistance and essencial hypertension. *N Engl J Med* 317:350-357, 1987.
15. VARRICCHIO M, PAOLISSO G, TORELLA R, D'ONOGRIO F: Diabetes and hypertension in the elderly. *J Hypertens* 6:S41-S44, 1988.
16. HWANG I-S, HO H, HOFFMAN BB, REAVEN GM: Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 10:512-516, 1987.
17. REAVEN GM, HO H, HOFFMANN BB: Somatostatin inhibition of fructose-induced hypertension. *Hypertension* 14:117-120, 1989.
18. REAVEN GM: Banting Lecture 1988: role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607, 1988.
19. SAWICKI PT, BABA T, BERGER M, STARKE A: Normal blood pressure in patients with insulinoma despite hyperinsulinemia and insulin resistance. *J Am Soc Nephrol* 3(Suppl 1):S64-S68, 1992.
20. SAKAI K, IMAIZUMI T, MASAKI H, TAKESHITA A: Intraarterial infusion of insulin attenuates vasoreactivity in human forearm. *Hypertension* 22:67-73, 1993.
21. FERRANNINI E: Insulin and blood pressure: possible role of hemodynamics. *Clin Exper Hypertens* A14:271-284, 1992.
22. JULIUS S, GUDBRANDSSON T, JAMERSON K, SHAHAB ST, ANDERSSON O: The hemodynamic link between insulin resistance and hypertension. *J Hypertens* 9:983-986, 1991.
23. JUHLIN-DANNFELT A, FRISK-HOLMBERG M, KARLSSON J, TESCH P: Central and peripheral circulation in relation to muscle-fibre composition in normo-and hyper-tensive man. *Clin Sci* 56:335-340, 1979.
24. BUCHANAN TA, SIPOS GF, GADALAH S, YIP K-P, MARSH DJ, HSUEH W, BERGMAN RN: Glucose tolerance and insulin action in rats with renovascular hypertension. *Hypertension* 18:341-347, 1991.
25. ZAVARONI I, MAZZA S, DALL'AGLIO E, GASPARINI P, PASSERI M, REAVEN GM: Prevalence of hyperinsulinaemia in patients with high blood pressure. *J Intern Med* 231-240, 1992.

26. MULLER DC, ELAHI D, PRATLEY RE, TOBIN JO, ANDRES R: An epidemiological test of the hyperinsulinemia-hypertension hypothesis. *J Clin Endocrinol Metab* 76:544-548, 1993.
27. LIMA NKC, SANTOS EA, OKAMOTO MM, MATSUSHITA DH, LIMA FB, HELL NS, HEIMANN JC: Increased blood pressure despite improvement in insulin sensitivity during chronic salt overload in Wistar rats. (abstract) *Am J Hypertens* 8:56A, 1995.
28. LIMA NKC, SANTOS EA, OKAMOTO MM, MATSUSHITA DH, LIMA FB, HELL NS, HEIMANN JC: Increased insulin sensitivity during chronic salt overload in Wistar rats. (abstract) *Hypertension* 24:402, 1994.
29. MESSERLI FH, NOWACZYNSKI W, HONDA M, GENEST J, BOUCHER R, KUCHEL O, OJO-ORTEGA JM: Effects of angiotensin II on steroid metabolism and hepatic blood flow in man. *Circ Res* 40:204-207, 1977.
30. STAMLER J, ROSE G, STAMLER R, ELLIOTT P, DYER A, MARMOT M: INTERSALT study findings. Public health and medical care implications. *Hypertension* 14:570-577, 1989.
31. FLISER D, FODE P, ARNOLD U, NOWICKI M, KOHL B, RITZ E: The effect of dietary salt on insulin sensitivity. *Eur J Clin Invest* 25:39-43, 1995.
32. WAJCHENBERG BL, MALERBI DAC, LUZ PL da, ROCHA MS: A síndrome da resistência à insulina. Parte I. *Arq Bras Cardiol* 58:129-140, 1992.
33. KROTKIEWSKI M: Role of muscle morphology in the development of insulin resistance and metabolic syndrome. *Press Med* 23:1393-1401, 1994.
34. JOINT NATIONAL COMMITTEE ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE: The fifth report of the joint national committee on detection, evaluation, and treatment of high blood pressure (JNC V). *Arch Intern Med* 153:154-183, 1993.
35. ALDERMAN MH: Which antihypertensive drugs first-and why! *JAMA* 267:2786-2787, 1992.
36. SAMUELSSON O, HEDNER T, PERSSON B, ANDERSSON E, BERGLUND G, WILHELMESEN L: The role of diabetes mellitus and hypertriglyceridaemia as coronary risk factors in treated hypertension: 15 years of follow-up of antihypertensive treatment in middle-aged men in the Primary Prevention Trial in Goteborg. *J Intern Med* 235:217-227, 1994.
37. MOGENSEN CE: Angiotensin converting enzyme inhibitors and diabetic nephropathy: their effects on proteinuria may be independent of their effects on blood pressure. *Br Med J* 304:327-328, 1992.

49

HIPERTENSÃO ARTERIAL RENOVASCULAR

José Nery Praxedes
Antonio Marmo Lucon
Ayrton Cassio Fratezzi

DEFINIÇÃO

Hipertensão arterial renovascular (HARV) é uma forma secundária de hipertensão arterial, desencadeada e mantida por isquemia do tecido renal. Na maioria dos casos esta isquemia é produzida por uma doença intrínseca da artéria renal que provoca estenose de uma ou ambas as artérias renais principais ou mesmo de artérias renais secundárias (polares ou segmentares), reduzindo a pressão de perfusão e o fluxo sangüíneo renal. Entretanto, raramente, lesões extrínsecas (tumores, fibrose, hematomas, gânglios, etc.) podem, por compressão, produzir efeito semelhante, gerando isquemia renal e hipertensão renovascular (Quadro 49.1).

Quadro 49.1 – Causas de hipertensão renovascular[1].

1. Lesões intrínsecas
   - Aterosclerose
   - Fibrodisplasia muscular (da íntima, da média e da adventícia)
   - Arterite (Takaysu, poliarterite nodosa)
   - Neurofibromatose (crianças)
   - Dissecção aórtica e/ou renal
   - Aneurismas da aorta ou de artéria renal
   - Fístulas arteriovenosas renais
   - Estenose cirúrgica (ligadura e pós-transplante)
   - Cistos intra-renais
   - Embolia de artéria renal
2. Lesões extrínsecas
   - Feocromocitoma
   - Tumores
   - Hematoma perirrenal ou subcapsular
   - Fibrose retroperitoneal
   - Ptose renal
   - Estenose de tronco celíaco (roubo de fluxo renal)

Considerando-se a repercussão hemodinâmica da estenose da artéria sobre a perfusão renal, sabe-se, a partir de dados experimentais, que a redução da luz de uma artéria renal, até 50% de sua área de secção transversal, não provoca qualquer modificação na pressão de perfusão nem no fluxo sangüíneo renal. Reduções adicionais de até 70% provocam queda na pressão de perfusão, mas o fluxo ainda se mantém por mecanismos de auto-regulação, portanto não há isquemia importante do tecido renal. Estenoses que reduzem o lúmen a partir de 75 a 80% são consideradas críticas porque resultam em isquemia renal e desencadeiam os mecanismos geradores da hipertensão renovascular. Portanto, nem sempre a presença de lesão de artéria renal é responsável pela hipertensão de um paciente. Estudos angiográficos e de necropsias mostram até 32% de estenose de artéria renal em ateropatas e idosos **normotensos**[1]. Por outro lado, em um paciente previamente hipertenso, já com alterações na microcirculação renal, uma placa de ateroma, por exemplo, pode não ser hemodinamicamente importante para provocar isquemia renal adicional e gerar hipertensão. Conseqüentemente, do ponto de vista clínico, é importante diferenciar **lesão renovascular** de **hipertensão renovascular**.

INCIDÊNCIA

A incidência de HARV varia de 1 a 5% dos pacientes hipertensos, sendo considerada a segunda causa de hipertensão secundária (inferior às doenças renais parenquimatosas). Em grupos restritos (hipertensos malignos ou refratários), esta incidência se eleva e pode atingir até 10%. Já em

hipertensos de raça negra, por outro lado, a incidência de HARV é baixa, em torno de 0,25%. Nos diabéticos e ateropatas é muito maior a incidência de lesão renovascular do que de hipertensão renovascular[2].

CAUSAS

Em nossos pacientes, assim como dados da literatura internacional, a principal causa de lesão estenosante de artéria renal geradora de HARV são as placas de ateroma seguidas por diferentes tipos de fibrodisplasia, principalmente da camada média. Entretanto, em nosso material[3] detectamos importante incidência de lesões produzidas por arterite de Takayasu, da ordem de 10% (Tabela 49.1). Esses valores, embora inferiores aos constatados nos países asiáticos[4,5], são semelhantes aos verificados no México[6] e bastante superiores aos encontrados nas séries européias e norte-americanas, onde raramente são relatados.

Além das lesões estenosantes, outras como os aneurismas e as fístulas arteriovenosas, raramente, por fenômenos de turbulância ou roubo de fluxo, podem produzir isquemia renal e gerar HARV (Quadro 49.1).

MECANISMOS

Uma vez atingido o nível crítico[7] isquemiante de estenose, os mecanismos pelos quais uma lesão de artéria renal provoca hipertensão arterial ainda não são totalmente claros apesar do grande número de trabalhos experimentais e clínicos realizados a partir dos estudos pioneiros de Goldblatt e cols[8] e de Scott[9].

Do ponto de vista clínico, a dificuldade de se definir o mecanismo predominante encontra-se na grande variabilidade de situações geradas por diferentes graus de estenoses, comprometimento de um ou ambos os rins, presença e intensidade de circulação colateral, lesões concomitantes de ramos segmentares da artéria renal, comprometimento secundário da microcirculação renal e sistêmica e intensidade das alterações do parênquima e da função renal.

Dentro desta variedade de situações, sabe-se que dois mecanismos básicos, acionados pela isquemia do parênquima renal, interagem atuando sobre o débito cardíaco e a resistência vascular periférica gerando e mantendo o estado hipertensivo: o sistema renina-angiotensina (RA) e a retenção renal de sódio e água. Atuando de forma paralela e modulando estes dois mecanismos principais, atuam também o hiperaldosteronismo secundário, as prostaglandinas vasodilatadoras, o tromboxano, o sistema nervoso simpático, o sistema calicreína-cininas, a vasopressina, o fator atrial natriurético, etc.

Desta interação pode resultar desde uma situação de hipertensão leve ou moderada de pouca repercussão e fácil controle, até estados hipertensivos graves acelerados, de grande impacto mórbido cardiovascular e cerebrovascular e de difícil abordagem terapêutica.

Tabela 49.1 – Características clínicas das principais lesões intrínsecas da artéria renal[1].

Tipo de lesão	Incidência (%)	Idade	Características anatômicas	História natural
Aterosclerose	55	Acima de 50 anos	Extensão proximal de ± 20mm. Rara nos segmentos de artéria renal	Progressão em 50% Oclusão total freqüente
Displasia fibromuscular da camada íntima	1-2	Crianças e adultos e jovens	Terço médio de artéria renal e/ou de seus ramos	Progressão na maioria dos casos Dissecção e trombose freqüentes
Displasia fibromuscular da camada	25	25-30 anos	Terço médio de artéria renal e/ou de seus ramos	Progressão em 33% Dissecção e trombose raras
Displasia fibromuscular da adventícia	1-2	15-30 anos	Terço médio ou distal da artéria renal e/ou de seus ramos	Progressão na maioria dos casos Dissecção e trombose freqüentes
Arterite	10	8-35 anos	Proximal, lesões bilaterais e aórticas freqüentes	Trombose freqüente Dissecção rara

O outro aspecto importante que determina o envolvimento diferenciado dos mecanismos básicos, sistema RA e volume, é a história natural da evolução da hipertensão renovascular. Considerando-se uma estenose unilateral teríamos, seqüencialmente, três fases definidas de interação dos mecanismos principais, em função da duração e da intensidade da isquemia renal e da hipertensão sistêmica[10].

A fase I ou de hiperatividade do sistema RA ocorre precocemente. Nesta fase, a isquemia renal ou a menor excreção de sódio detectados por receptores do aparelho justaglomerular e da mácula densa provocam liberação exagerada de renina do lado estenótico, provocando hipertensão sistêmica por vasoconstrição periférica produzida pela angiotensina II. Nesta fase, a retenção de sódio ocorrida no rim isquêmico ou pela ação da aldosterona e do simpático é compensada por maior natriurese pressórica no rim contralateral, que também tem sua produção de renina suprimida, e pela ação do fator natriurético atrial. Não há, portanto, hipervolemia, e a hipertensão se mantém apenas pela hiperatividade do sistema RA do rim isquêmico. Nesta fase, os inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA) usados para fins de diagnóstico ou tratamento revelam alta sensibilidade e eficácia terapêutica. A remoção da estenose por angioplastia ou cirurgia resulta no desaparecimento completo e imediato da hipertensão e na cura do paciente.

Na fase II, que no modelo experimental em ratos se inicia após o terceiro mês e em humanos, aproximadamente entre três a cinco anos de instalação da hipertensão ocorre retenção de sódio e água, levando a hipervolemia, elevação do débito cardíaco e aumento adicional da resistência vascular periférica, por vasoconstrição compensatória. Esta retenção de sódio e água é conseqüência de alterações microvasculares no rim contralateral produzidas pela hipertensão prolongada, reduzindo a natriurese pressórica que antes compensava os mecanismos retentores do rim estenosado. Como conseqüência dessa expansão há redução acentuada da atividade do sistema RA, a qual, entretanto, pode permanecer inadequadamente "normal" e não suprimida. A redução da volemia com diuréticos ou com restrição hidrossalina revela o sistema RA em ativação latente, portanto os dois mecanismos básicos interagindo como uma "gangorra". Em vista disso, o uso de inibidores da ECA nesta fase passa a ter baixa sensibilidade diagnóstica e menor eficácia terapêutica. A remoção da estenose resulta em reversão incompleta e demorada da hipertensão arterial.

Finalmente, na fase III a hiperatividade do sistema RA está quase completamente abolida e os inibidores da ECA perdem sua sensibilidade diagnóstica e eficácia terapêutica. A remoção da estenose resulta um pouco ou nenhum efeito sobre a hipertensão arterial. Nesta fase, instalada de 6 meses a 1 ano no rato e de 8 a 12 anos em humanos, alterações microvasculares sistêmicas e renais levam a espessamento da parede e redução da luz das pequenas artérias e arteríolas, que, associadas à maior reatividade vasoconstritora por disfunção endotelial, seriam responsáveis por aumento sustentado e autônomo da resistência vascular periférica e renal, resultando também em retenção de sódio e água. Tais alterações podem ter caráter irreversível, perpetuando o estado hipertensivo, independente do sistema RA.

Na estenose bilateral, assim como na coartação da aorta acima das artérias renais ou na estenose em rim único ou transplantado, de início há diferença fundamental pelo fato de todo o tecido renal estar isquêmico e não haver natriurese pressórica compensatória. Já na fase I, portanto, ocorre retenção de sódio e água, hipervolemia e supressão do sistema RA. Nesta situação, a hipertensão é deflagrada pelo sistema RA, mas é mantida pela expansão da volemia, embora os dois mecanismos interajam como "gangorra". O uso de inibidores da ECA mostram menor sensibilidade diagnóstica e menor eficácia terapêutica. Na evolução temporal, contudo, as fases seqüenciais II e III se assemelham à estenose unilateral.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico definitivo de **lesão** renovascular é feito pela sua demonstração na arteriografia. Esta pode ainda demonstrar a importância hemodinâmica da lesão por meio de sinais indiretos como redução das dimensões do rim estenosado, presença de circulação colateral e dilatação pós-estenótica na artéria renal. Permite, portanto, distinguir as lesões verdadeiras dos espasmos, relativamente freqüentes, além de avaliar o impacto hemodinâmico de lesões excêntricas (lateralizadas) que em geral são subdimensionadas na imagem arteriográfica.

O diagnóstico de **hipertensão** renovascular, entretanto, é dado, de forma definitiva, apenas pelo resultado, na pressão arterial, de uma revascularização tecnicamente bem-sucedida. Contudo, estudo preliminar a partir de marcadores clínicos complementado com testes não-invasivos que avaliem a hiperatividade do sistema RA ou que revelem uma assimetria morfológica ou fun-

cional dos rins pode estabelecer, de maneira prática, um fluxograma de procedimentos que otimizem a relação custo/benefício na detecção da HARV, e que determinem uma previsão de resultado da revascularização renal[11-15].

A partir de dados clínicos obtidos na anamnese e no exame físico pode-se estabelecer índices de baixa, média ou alta probabilidade de um determinado paciente ser portador de HARV e então definir-se a seqüência de procedimentos para a confirmação ou exclusão do diagnóstico (Quadro 49.2).

Na tabela 49.2 apresentamos os diferentes métodos indiretos com seus respectivos índices percentuais de sensibilidade e especificidade diagnóstica. Estes índices refletem, também, o valor preditivo destes métodos ou testes preliminares em relação ao resultado da revascularização no controle da pressão arterial.

Observa-se que os testes de maior sensibilidade e especificidade diagnóstica se relacionam à avaliação da hiperatividade de sistema RA: a renina estimulada com captopril (teste do captopril com dosagem de renina periférica) e o renograma pré e pós-captopril. O poder diagnóstico e preditivo destes testes está relacionado, portanto, à fase evolutiva seqüencial da hipertensão renovascular, reduzindo-se bastante nas fases II e III.

Do ponto de vista prático, após o enquadramento clínico, temos utilizado a ultra-sonografia com Doppler para revelar a presença da estenose e sua repercussão hemodinâmica e a renina estimulada com captopril ou o renograma pré e pós-captopril para demonstrar o envolvimento do sistema RA. Como estes testes se assemelham em índices de sensibilidade e especificidade, decidimos pelo menor custo e maior disponibilidade, lembrando que nos centros médicos menos equi-

Quadro 49.2 – Hipertensão renovascular, indicadores clínicos de probabilidade e proposta de investigação[11,14].

Grupos de pacientes	**Seqüência de investigação**
Baixa probabilidade (0,2%) Hipertensão limítrofe, leve ou moderada não complicada	Não necessária
Média probabilidade (5 a 15%) Hipertensão grave Hipertensão refratária Hipertensão recente em idade < 30 e > 50 anos Presença de sopros abdominais ou lombares. Assimetria de pulsos radiais ou carotídeos Hipertensos moderados, fumantes ou com doença vascular em outra região Redução mal definida da função renal Resposta pressórica exagerada aos inibidores da ECA	Renograma com captopril ou teste de captopril com renina periférica + ultra-sonografia com Doppler ↓ ↓ **Negativo** **Positivo** ↓ ↓ Encerrar investigação Arteriografia
Alta probabilidade (25%) Hipertensão grave ou refratária com insuficiência renal progressiva Hipertensão acelerada ou maligna Elevação dos níveis de creatinina induzida por inibidores da ECA Assimetria renal no tamanho ou na função	Arteriografia imediata ou seqüência do quadro acima

Tabela 49.2 – Sensibilidade e especificidade dos testes preliminares para a detecção de hipertensão renovascular[12].

Tipo de teste	**Sensibilidade (%)**	**Especificidade (%)**
Renina periférica	57	66
Renina periférica estimulada com captopril	73-100	72-100
Urografia excretora seqüenciada	74-100	86-88
Renograma radioisotópico	74	77
Renograma com captopril	92-94	95-97
Renina de veias renais	62-80	60-100
Ultra-sonografia com Doppler	90	95-97
Angiorressonância nuclear magnética	88	90

pados o renograma e a ultra-sonografia com Doppler são mais disponíveis e mais simples de ser conseguidos. Além disso, oferecem também uma avaliação estrutural e funcional dos rins detectando possíveis assimetrias e avaliando a função residual de rins contraídos. Nos centros que não disponham destes recursos, lembramos que uma simples urografia excretora de boa qualidade, com imagens obtidas nos tempos precoces de 1, 2 e 3 minutos, que demonstre assimetria renal de tamanho e função pode ser muito útil, além de bastante acessível[16-19].

A seguir, alguns aspectos práticos na realização e interpretação dos testes diagnósticos[13-18].

Atividade da renina plasmática (ARP) periférica

Isoladamente, a medida da atividade da renina plasmática periférica tem baixa sensibilidade e especificidade (Tabela 49.3).

Tabela 49.3 – Tipos de lesões da artéria renal detectados em nossos pacientes portadores de HARV (resultados parciais).

Lesões	n	%
Aterosclerose	92	58,6
Fibrodisplasia	50	31,8
Arterite	15	9,6
Total	157	100

São considerados positivos valores acima de 2,8ng/ml/h em pacientes não recebendo medicação anti-hipertensiva e sem restrição de sódio, sendo a amostra sangüínea colhida em condições basais (antes de levantar pela manhã) ou após repouso de pelo menos 30 minutos. A seringa e os tubos devem ser refrigerados, conter anticoagulante (EDTA) e após a coleta a amostra deve ser conservada no gelo e imediatamente centrifugada, a baixa temperatura, em aparelho especial, para a separação do plasma que será guardado em "freezer" até ser dosada com técnica de radioimunoensaio.

Considerando que apenas pouco mais de 50% dos hipertensos renovasculares apresentam ARP periférica elevada, pelas diferenças nas fases seqüenciais de evolução e pelo comprometimento bilateral, e que, além disso, cerca de 30% dos hipertensos essenciais apresentam ARP periférica elevada, desaconselhamos a realização deste teste como triagem. Havendo disponibilidade para a dosagem de renina, sugerimos medir a ARP periférica **estimulada**, que apresenta valor diagnóstico muito maior com baixo custo adicional.

ARP periférica estimulada

Estimular a renina periférica tem sido uma prática usual para aumentar seu poder diagnóstico. Diversas manobras têm sido tentadas (posição ortostática, deambulação, uso de diuréticos, restrição de sal, etc.). Entretanto, os melhores resultados têm sido verificados com a utilização de um inibidor da enzima conversora da angiotensina II (ECA) de ação rápida – o captopril –, que, bloqueando a geração de angiotensina II, provoca, através de "feedback" negativo, acentuada elevação reativa de renina nos portadores de HARV e não nos hipertensos essenciais, aumentando de maneira considerável o valor diagnóstico da renina periférica, tanto em sensibilidade quanto em especificidade. Na prática, o teste pode ser realizado ambulatorialmente, no consultório ou no próprio laboratório clínico após três semanas de suspensão dos anti-hipertensivos. Recebido o paciente, ele é colocado deitado e sua pressão arterial medida imediatamente. Após repouso de 30 minutos, nova medida de pressão arterial é realizada e uma amostra de sangue (colhida em duplicata) é obtida da veia periférica, se possível sem garroteamento durante a coleta. Administra-se então 25 a 50mg de captopril por via oral e a seguir a pressão arterial é medida a cada 15 minutos até completar 1 hora. Nova amostra de sangue é, então, obtida obedecendo sempre as mesmas medidas de coleta de renina (tubos refrigerados, etc.). Na interpretação considera-se o valor da queda da pressão arterial diastólica (positiva quando $\geq$ 10mmHg) que, entretanto, tem baixo valor diagnóstico. Por outro lado, os valores da renina, após a administração do captopril, apresentam alta sensibilidade e especificidade quando seguidos os seguintes critérios:

1. Valor absoluto da renina estimulada (pós-captopril) $\geq$ 12ng/ml/h.
2. Incremento $\geq$ 10ng/ml/h após a tomada do captopril em relação aos valores basais (pré-captopril).
3. Aumento percentual de 150% se renina basal > 3ng/ml/h, ou de 400% se renina basal $\leq$ 3ng/ml/h.

Urografia excretora (UE) seqüenciada

Apesar de pouco usada atualmente, a UE, quando realizadas imagens seqüenciais nos tempos precoces de 1, 2, 3 e 5 minutos e após o "washout" tardio (20 minutos) com furosemida, apresenta valor diagnóstico superior à renina periférica não estimulada e ao renograma radioisotópico convencional. Considerando-se sua disponibili-

dade, baixo custo e baixo risco, nos parece um bom teste de triagem nos locais que não disponham de métodos mais sofisticados. O procedimento é o mesmo para outras finalidades diagnósticas, recomendando-se, contudo, não desidratar em excesso o paciente para não mascarar assimetrias de concentração do contraste. Estruturalmente, o exame revela assimetrias de tamanho e alterações do parênquima renal e das vias urinárias, diferenciando as causas parenquimatosas (pielonefrite, tuberculose, cálculo renal, hidronefrose, etc.) das causas vasculares. Entretanto, são as assimetrias funcionais como o retardo de aparecimento do contraste nos tempos iniciais (1, 2, 3 e 5 minutos), assim como a hiperconcentração e o retardo de eliminação do contraste nos tempos tardios (20 e 30 minutos), exacerbado pelo "wash-out", no lado comprometido, que representam os maiores critérios de probabilidade de hipertensão renovascular. Sinais específicos, como compressão e irregularidades na via urinária extra-renal (pelve e ureter), provocadas por colaterais, embora pouco freqüentes, são de grande especificidade diagnóstica.

Renograma radioisotópico

Se realizado da maneira convencional, pode revelar assimetrias renais morfológica e funcional, observadas em alterações nos tempos máximo e médio (Tmáx. e T1/2) da curva de captação da radiação do isótopo indicando dificuldade na chegada e na eliminação do marcador, relacionados com alterações no fluxo, na filtração e na secreção tubular renal. Estas características do exame lhe conferem um valor preditivo de hipertensão renovascular, entretanto, com baixa especificidade na diferenciação com doenças parenquimatosas e obstrução urinárias.

Entretanto, utilizando-se a inibição da angiotensina II com o captopril, o exame adquire considerável poder diagnóstico, sendo por isso um método bastante indicado para a triagem de hipertensão renovascular devido à sua disponibilidade e à alta sensibilidade e especificidade diagnóstica, além de excelente valor preditivo de resultado terapêutico.

Tal fato decorre da intensa dependência do rim em relação à angiotensina II na preservação da filtração glomerular em condições de hipofluxo. Graças à vasoconstrição eferente produzida pela angiotensina II que aumenta a pressão hidrostática no capilar glomerular, reduzida pela estenose, verifica-se recuperação, mesmo que parcial, na filtração glomerular com aumento na fração de filtração. Ao se inibir a angiotensina II, reduzem-se, acentuadamente, a vasoconstrição eferente, a pressão de ultrafiltração e em conseqüência a filtração glomerular. No renograma, estas alterações resultam em acentuada diminuição na curva de captação e eliminação renal do marcador. Observam-se, então, alongamentos nos tempos máximo e médio no lado da estenose enquanto nenhuma redução ocorre no rim normal.

Na prática, após aproximadamente uma semana sem medicação (principalmente os inibidores da ECA e os diuréticos), submete-se o paciente a um renograma convencional e após 48 a 72 horas realiza-se um segundo exame, com o mesmo marcador, 1 hora após a ingestão via oral de 25 a 50mg de captopril. A pressão arterial deve ser medida antes e a cada 15 minutos, até o final do exame. A rigor, deve-se preferir como marcador o DTPA (ácido dietileno-triaminopentacético) marcado com o isótopo tecnécio-99, pelo fato de que sua eliminação renal se dá, predominantemente, por filtração glomerular. Entretanto, o uso do Hipuran® (ortoiodo-hipurato) marcado com iodo-131, de eliminação renal mista (secreção tubular e filtração glomerular), também fornece bons resultados. Em especial, nos pacientes com função renal reduzida deve-se preferir o Hipuran®, cuja fração de extração (60%) é superior à do DTPA (20%).

Como opção ao Hipuran®, existe a mercaptoacetilglicina (MAG_3) marcada com tecnécio-99, a qual proporciona melhores imagens cintilográficas com menos radiação para o rim, mas com custo mais elevado e menor disponibilidade.

Os principais critérios de interpretação do renograma estimulado com captopril são:

1. Redução da função global $\geq$ 20% após captopril (filtração glomerular com DTPA ou fluxo plasmático renal efetivo com Hipuran®).
2. Aumento do tempo máximo (Tmáx) de mais de 6 a 11 minutos e prolongamento ou abolição da fase excretora, no lado da lesão.

Quanto à função relativa, deve ocorrer queda no percentual de função do rim comprometido e aumento da relação rim normal/rim isquêmico acima de 1,5.

Ultra-sonografia com Doppler

Este método combina a ultra-sonografia bidimensional com o Doppler pulsado colorido, permitindo visualizar os vasos renais e ao mesmo tempo determinar a curva de velocidade do fluxo sangüíneo e, dessa forma, analisar indiretamente alterações hemodinâmicas produzidas por esteno-

ses críticas. Sua aplicação no estudo da artéria renal tem como obstáculos a obesidade extrema e o excesso de gases intestinais, considerando-se a localização retroperitoneal do rim e a abordagem do exame pelo lado anterior do abdome, que freqüentemente dificultam a identificação e o estudo da artéria renal em toda sua extensão.

Os principais critérios para o diagnóstico de estenose da artéria renal, estudando-se a curva de velocidade do fluxo no tronco da artéria, são:

1. Pico de velocidade do fluxo renal ≥ 180cm/s.
2. Relação do pico de velocidade na artéria renal e na aorta (relação AR/Ao) ≥ 3,5.

Utilizando-se estes critérios, é possível identificar uma estenose igual ou superior a 60% com sensibilidade de 88% e especificidade de 99%. Além disso, a ultra-sonografia fornece informações quanto a dimensões, estrutura, alterações de parênquima, hidronefrose e assimetrias renais.

Dificuldades para identificar o ponto de estenose na artéria renal e assim avaliar as alterações do fluxo renal têm sido responsáveis por resultados falso-negativos que reduzem a sensibilidade do método, tornando-o operador dependente.

Estudos recentes, com o Doppler colorido, analisando alterações do fluxo sangüíneo em artérias segmentares ou interlobares, efetuados a montante de prováveis estenoses melhoraram a sensibilidade do método. A avaliação do fluxo renal nestes locais permite ainda uma abordagem póstero-lateral, evitando a interferência do excesso de gases intestinais. Os critérios utilizados são:

1. Tempo de aceleração aumentado (retardo para atingir o pico sistólico de velocidade).
2. Índice de aceleração diminuído (pico de aceleração inferior a 3cm/s^2).

Com estes critérios, Starvos e cols[20] obtiveram sensibilidade de 95% e especificidade de 97% na identificação de estenoses iguais ou superiores a 60%.

Em nosso grupo, combinando-se a avaliação do tronco da artéria renal e de ramos intra-renais (interlobares) nos terços superior, médio e inferior do rim obtivemos resultados bastante animadores, embora ainda com casuística reduzida[19].

Considerando o caráter não-invasivo do método, a não utilização do contraste iodado e de radiação, a disponibilidade e o custo relativamente baixo da ultra-sonografia com Doppler, realizada por mãos experientes, está se colocando como um dos mais convenientes métodos de avaliação preliminar de HARV.

Angiorressonância nuclear magnética

Teoricamente, é um método eficiente e seguro, já que pode gerar imagens vasculares bi e tridimensionais a partir da análise dos prótons móveis do fluxo sangüíneo, sem o uso de contraste iodado ou radiação. Entretanto, na prática, resultados preliminares, embora animadores, mostram dificuldade na visualização de trechos distais da artéria renal principal e de artérias secundárias (polares e segmentares). Além disso, o fluxo turbulento pode suprimir a imagem, sugerindo oclusão onde há apenas estenose. Portanto, resultados falso-positivos e falso-negativos podem afetar a sensibilidade e a especificidade do método, criando dificuldades adicionais ao alto custo e à baixa disponibilidade. Contudo, é um método de grande potencial e com aperfeiçoamentos tecnológicos ainda deve melhorar.

TRATAMENTO

Estratégia

A estratégia do tratamento de uma lesão renovascular envolve dois objetivos: atuar sobre a hipertensão arterial e sobre a função renal[21-24]. Quanto à hipertensão arterial, pode-se obter a cura do paciente e livrá-lo dos riscos de hipertensão crônica e do uso contínuo de anti-hipertensivos ou pelo menos reduzir o número e a dose desses fármacos.

Quanto à recuperação da função renal, o impacto inicial pode ser menor, mas também resultar na retirada de um paciente do aparelho de diálise. A longo prazo, o impacto pode ser ainda melhorado pelo efeito do controle pressórico sobre a microcirculação renal. Como se trata em geral de um procedimento invasivo, é importante, na etapa do tratamento, que já se tenham, além do diagnóstico, informações que permitam uma razoável previsão de resultados para se definir uma relação risco/benefício e se estabelecer a decisão de como atuar. Tratar a hipertensão renovascular significa, em última análise, remover a isquemia renal pela correção da estenose (revascularização) ou retirada do tecido renal isquêmico (nefrectomia). Então, o conhecimento do grau de estenose, duração e gravidade da hipertensão arterial, tamanho e função residual do rim comprometido e estado do rim contralateral, além do grau da hiperatividade do sistema RA e da situação dos órgãos-alvo fornecem dados importantes nesta etapa, para a tomada de decisão, além do conhecimento detalhado das características arteriográficas da lesão. Estas informações, além de

definirem o grau de viabilidade do rim a ser revascularizado, podem também determinar alguma previsão quanto ao provável efeito da revascularização na pressão arterial e na função renal, ajudando a decidir se valerão a pena o custo e o risco. Podem ainda, em casos de lesão bilateral, ajudar a definir a prioridade de cada um dos rins na intervenção. O tratamento poderá ser feito pela angioplastia ou pela cirurgia.

Angioplastia

A revascularização renal, ao longo do tempo, tem sido um procedimento eminentemente cirúrgico, e diversas técnicas têm sido propostas para diferentes situações. Entretanto, a partir de 1978, com os trabalhos de Gruntzig[25], a angioplastia tornou-se viável na artéria renal e o seu uso vem tendo grande impulso graças aos aperfeiçoamentos técnicos em materiais e equipamentos, ao uso de angiografia digital, do "stent", etc. Como atualmente os resultados técnicos e clínicos entre a correção cirúrgica e a angioplastia bem-sucedida se assemelham, inclusive as taxas de morbidade e mortalidade, a simplicidade, a redução do tempo de internação e o caráter menos invasivo colocaram a angioplastia como primeira opção de exame, desde que executada ou supervisionada por pessoas experientes, em serviços equipados e preparados para resolver as eventuais intercorrências[24-26]. Em nosso grupo, não havendo contra-indicação, independente da etiologia da lesão temos iniciado o estudo do paciente com angioplastia, com índice de sucesso progressivamente maior. Consideramos que uma tentativa de angioplastia sem sucesso não inviabiliza cirurgia posterior. Do ponto de vista prático, o procedimento deve ser executado sempre com o paciente hospitalizado, com equipe cirúrgica disponível para atender possíveis intercorrências. Além do controle pressórico medicamentoso adequado, o preparo do paciente consiste basicamente no uso de antiagregantes plaquetários (ácido acetilsalicílico na dose de 100g associado a dipiridamol na dose de 150 a 300mg/dia), iniciado previamente em pelo menos um dia. Medidas de proteção renal aos efeitos do contraste (expansão salina, manitol, etc.) devem ser tomadas principalmente em pacientes diabéticos, com função renal reduzida, etc. Em caso de sucesso no procedimento recomenda-se observar a evolução da pressão arterial antes de reiniciar a medicação anti-hipertensiva, para evitar hipotensão, principalmente em idosos ou em ateropatas. O uso de antiagregantes deve ser mantido por 90 dias após angioplastia renal bem-sucedida (Figs. 49.1 a 49.4).

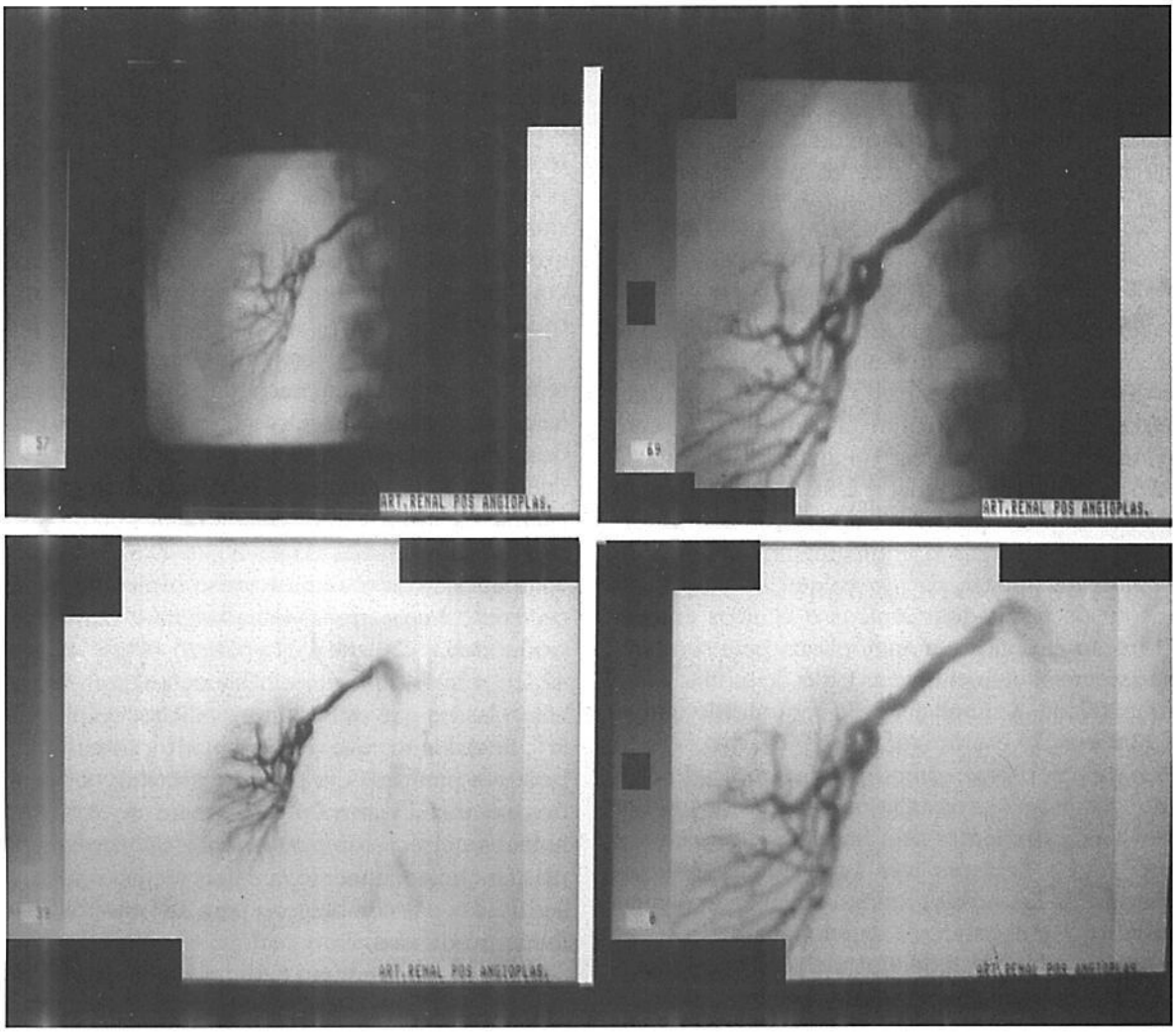
Cirurgia

A cirurgia, além dos casos de insucesso da angioplastia, é o tratamento de escolha em situações especiais, como presença de aneurismas, lesões segmentares, algumas lesões ostiais e obstruções totais crônicas da artéria renal. Das diferentes técnicas propostas para revascularizar os rins, podemos citar endarterectomia, ressecção da lesão e anastomose da artéria renal ou implante na aorta, enxertos aortorrenais com veia safena, com materiais sintéticos ou com artéria hipogástrica, etc.[27-30].

Em nosso grupo, o autotransplante renal[31] tem sido praticado em cerca de 80% das revascularizações renais cirúrgicas com ótimos resultados, principalmente por permitir a reconstrução da artéria renal, utilizando-se ramos da artéria hipogástrica, em lesões distais ou hilares ou na presença de aneurismas (Figs. 49.5 a 49.8). Técnicas anatômicas, como a anastomose esplenorrenal e o enxerto hepatorrenal (veia safena e ramo gastroduodenal da artéria hepática) (Figs. 49.9 e 49.10), têm sido úteis em situações complexas como lesões graves nas artérias ilíacas ou na aorta[29]. Ressaltamos que a revascularização cirúrgica pode ser praticada em primeira escolha, nos centros menores, que não disponham de recursos humanos e técnicos para a realização de angioplastia. Ocasionalmente, as duas técnicas podem ser usadas em combinação para se obter os melhores resultados.

Resultados

Os resultados da revascularização renal quanto ao controle da pressão arterial variam em função dos parâmetros clínicos já citados, como idade, duração da hipertensão, história familiar, etc., além das determinantes fisiopatologias das fases evolutivas seqüenciais com pouca variação entre as técnicas utilizadas desde que indicadas com critério[32-34]. Em pacientes tratados na fase I, os resultados são excelentes; na fase II, menos favoráveis e na fase III, decepcionantes. Exemplificando, paciente jovem, portador de fibrodisplasia ou arterite com hipertensão de curta duração, pouca repercussão em órgãos-alvo, função renal preservada e nítida resposta aos testes do sistema RA, apresenta índices de cura que chegam a 95%. Por outro lado, pacientes com lesões ateromatosas, geralmente idosos, longo tempo de hipertensão, importante repercussão em órgãos-alvo, resposta duvidosa aos testes do sistema RA apresentam índices entre cura e melhora bem inferiores.



A

B

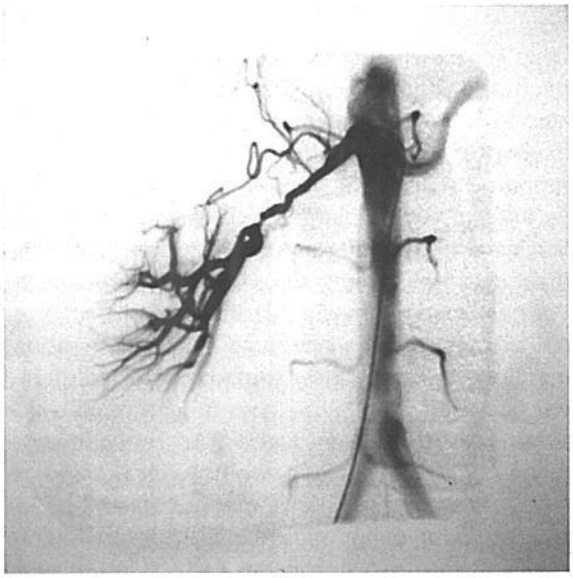
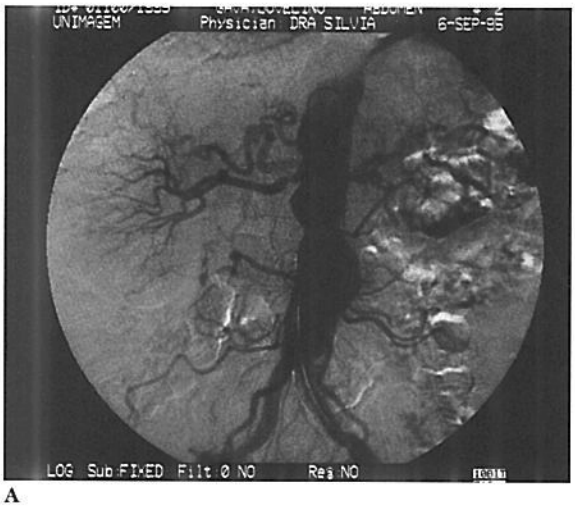


Figura 49.1 – A) Lesão extensa de artéria renal direita com sucessão de estenoses anulares formando o aspecto característico "em rosário" da displasia fibromuscular. Paciente feminina de 24 anos, hipertensa moderada. **B)** Resultado após angioplastia com cura da hipertensão renal.

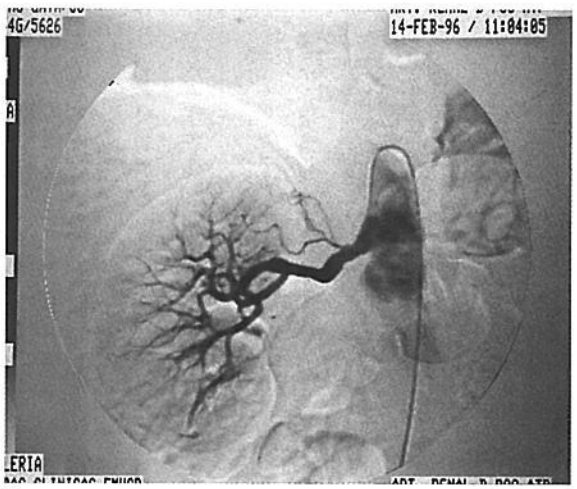
A

B

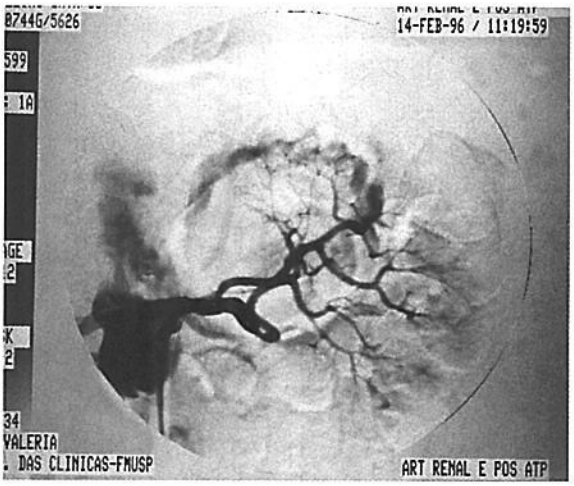
Figura 49.2 – A) Estenose bilateral das artérias renais por arterite de Takayasu. Nota-se comprometimento da aorta com aspecto afunilado após emergência das artérias renais. Paciente feminina, 23 anos, hipertensão recente e edema pulmonar. **B)** Resultado após angioplastia renal bilateral com cura da hipertensão.



A



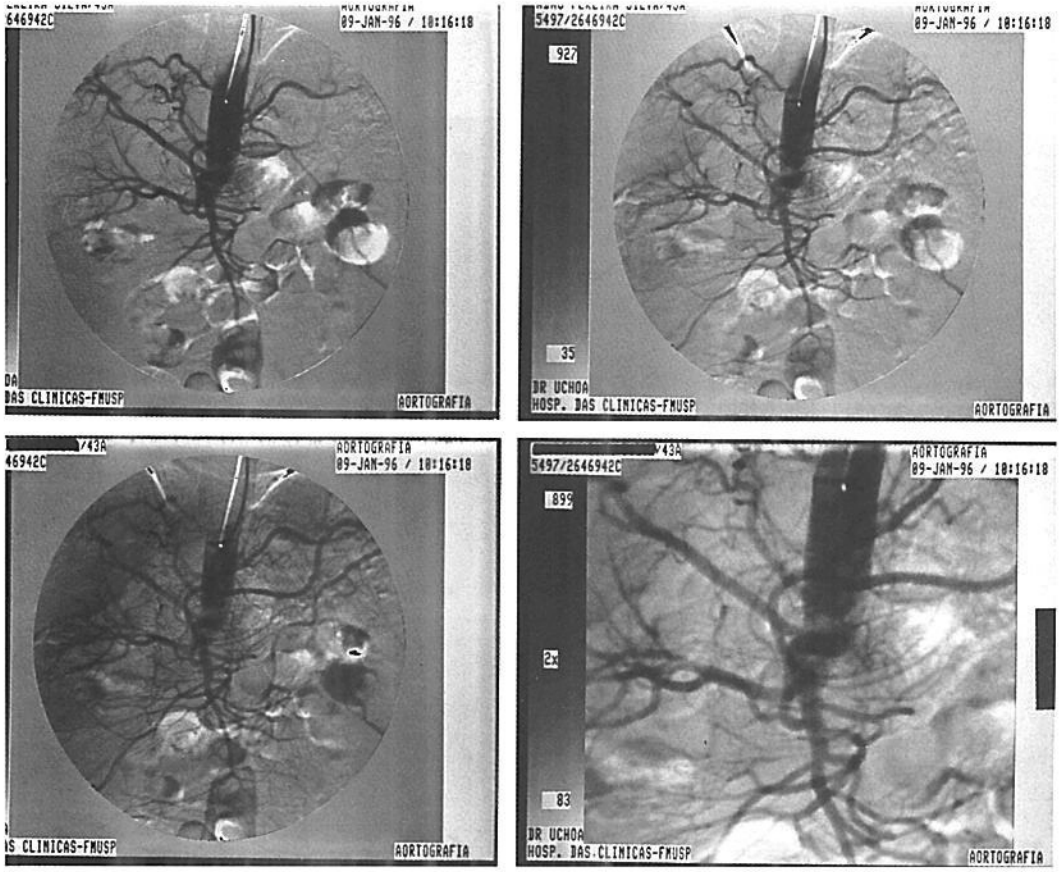
B



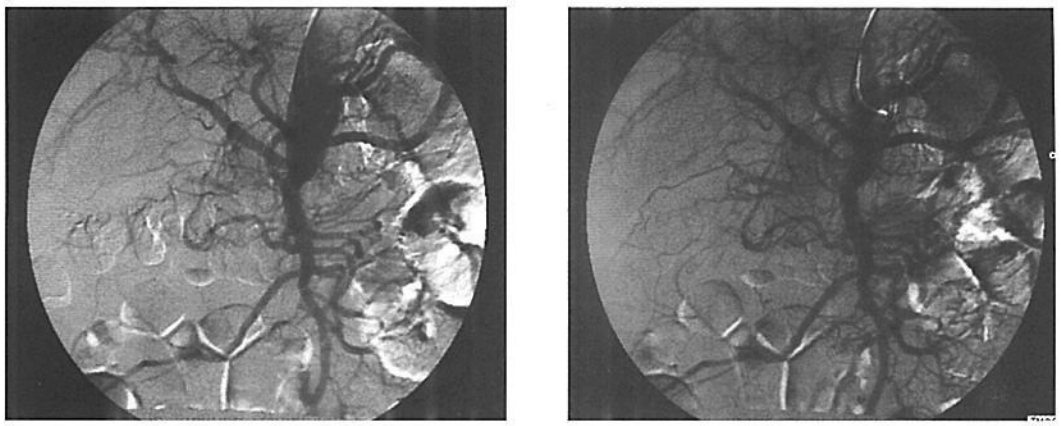
C

Figura 49.3 – A) Doença ateromatosa grave aortorrenal. Estenose bilateral de artérias renais e dilatação aneurismática da aorta. Paciente masculino, 62 anos, tabagista e hipertenso grave. **B** e **C)** Angioplastia com sucesso das artérias renais. Melhora do controle pressórico, da função renal e do prognóstico para eventual cirurgia aórtica futura.

Figura 49.4 – A) Obstrução da aorta e da artéria renal esquerda por ateromatose em paciente masculino, de 45 anos, tabagista. Circulação colateral através da artéria mesentérica superior. Rim esquerdo excluso. Artéria renal direita pérvia com irregularidades. **B)** Obstrução da artéria renal direita por trombose, 5 meses depois. Quadro súbito de oligoanúria urêmica dialítica e hipertensão grave. **C)** Resultado após angioplastia, 13 dias depois. Observam-se áreas residuais de infarto renal em pólo superior. Recuperação da função renal (creatinina 1,8mg%) e controle da pressão arterial. ▶


09-JAN-96 / 10:16:18
AORTOGRAFIA
DR UCHOA
HOSP. DAS CLINICAS-FMUSP

A



B

C

A

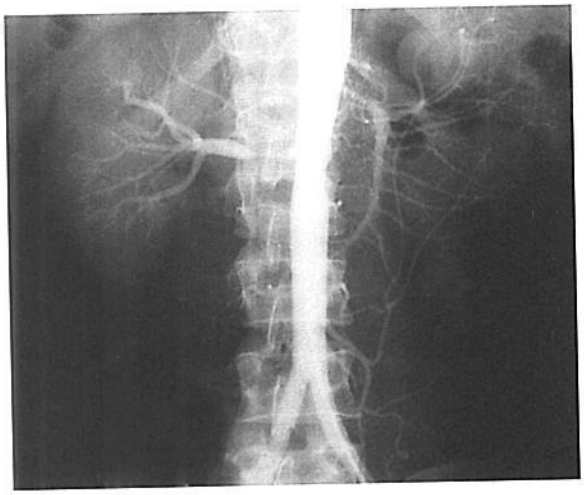
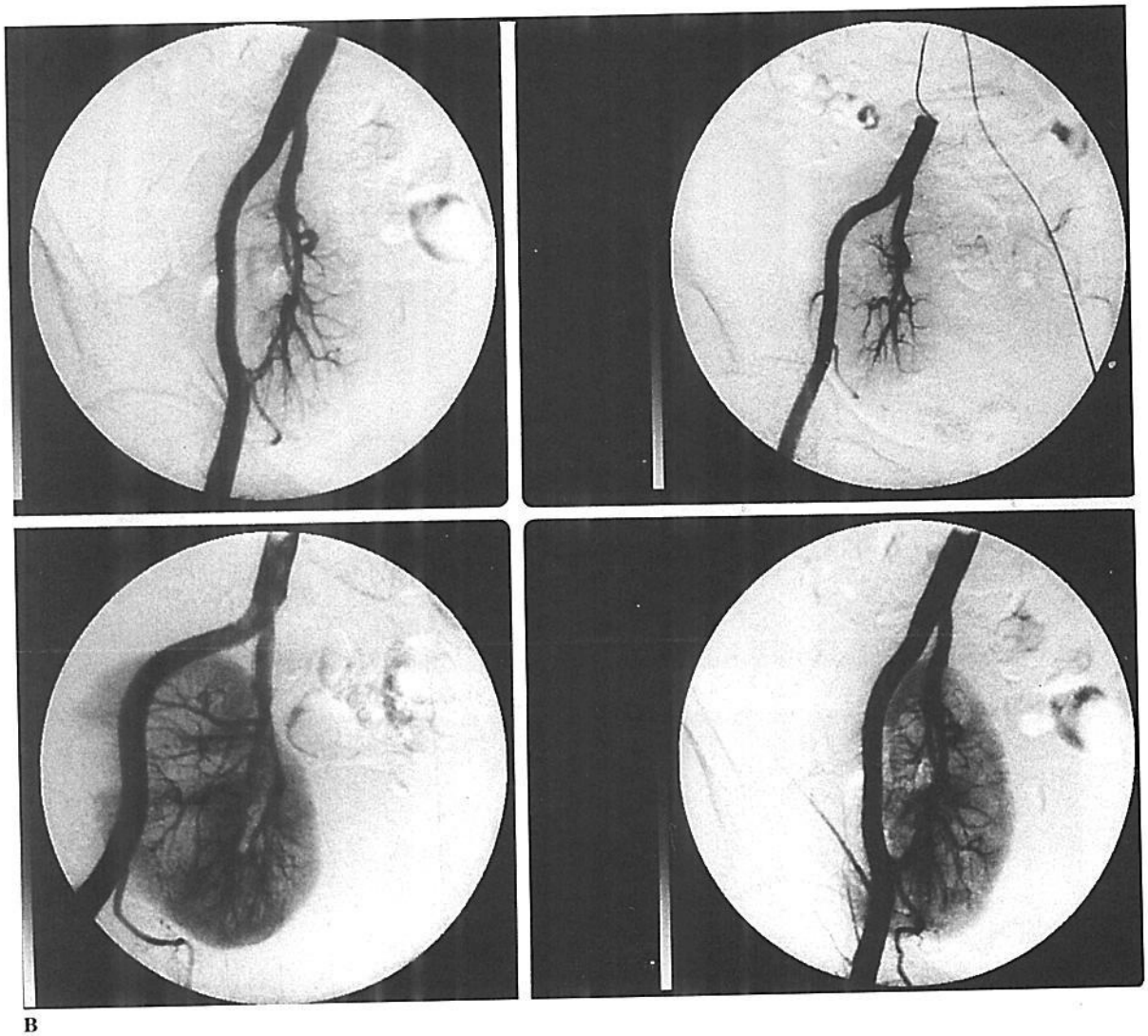
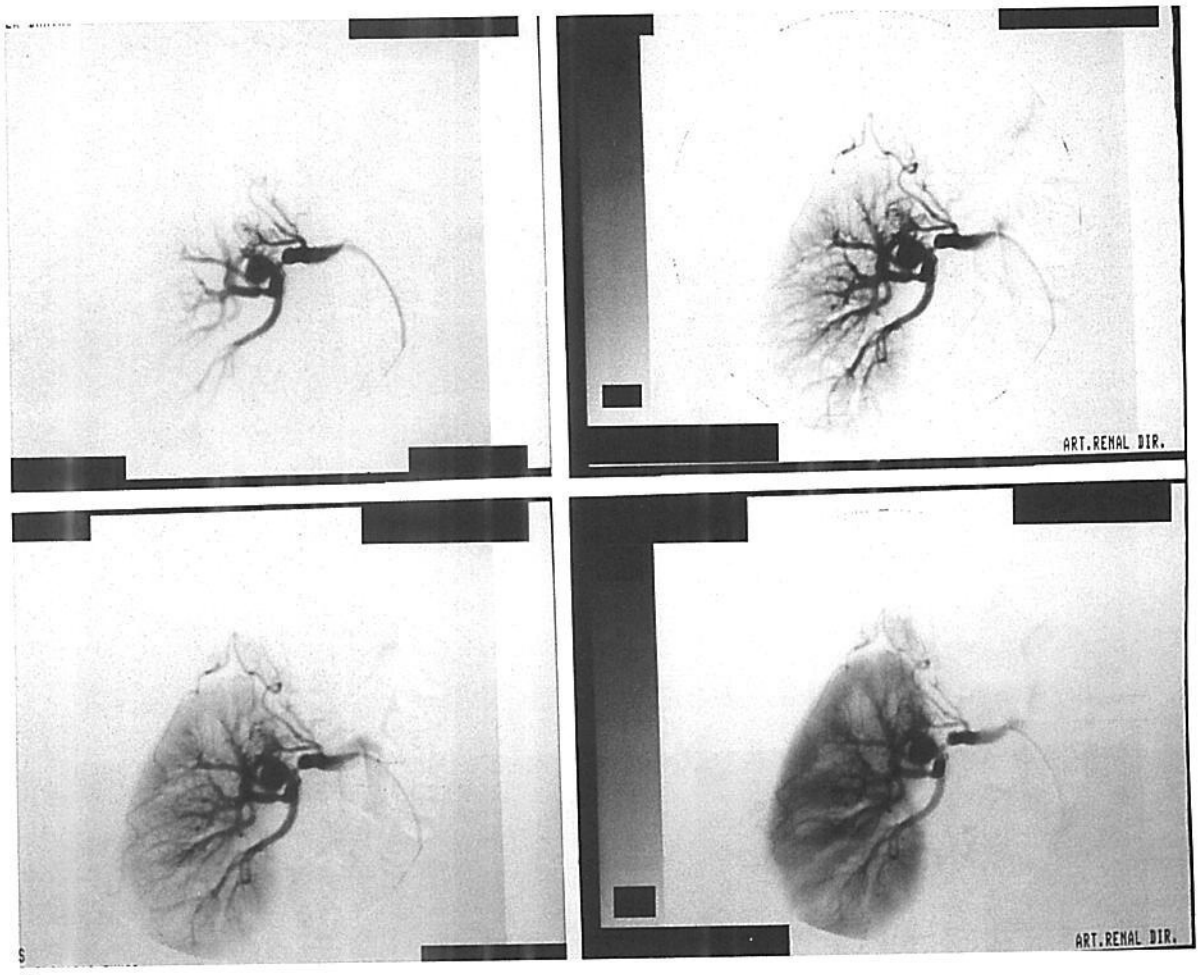


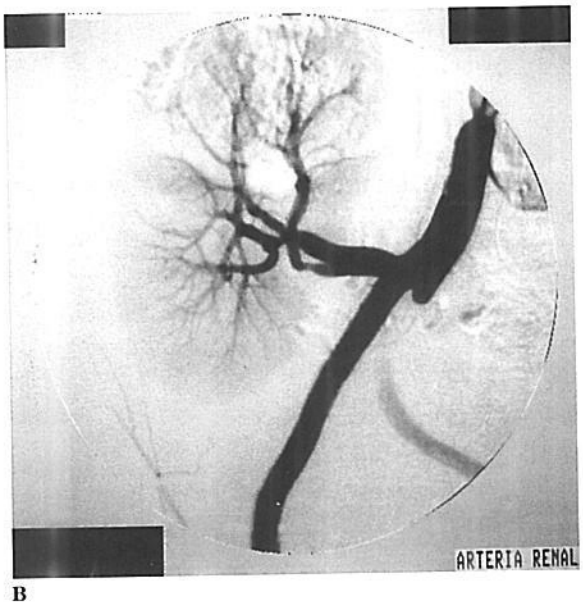
Figura 49.5 – A) Paciente feminina de 48 anos portadora de rim único à direita (nefrectomia esquerda por exclusão renal) com estenose crítica no terço proximal da artéria renal. **B)** Resultado da revascularização cirúrgica por autotransplante com controle pressórico adequado. Histologia: displasia fibromuscular.



B

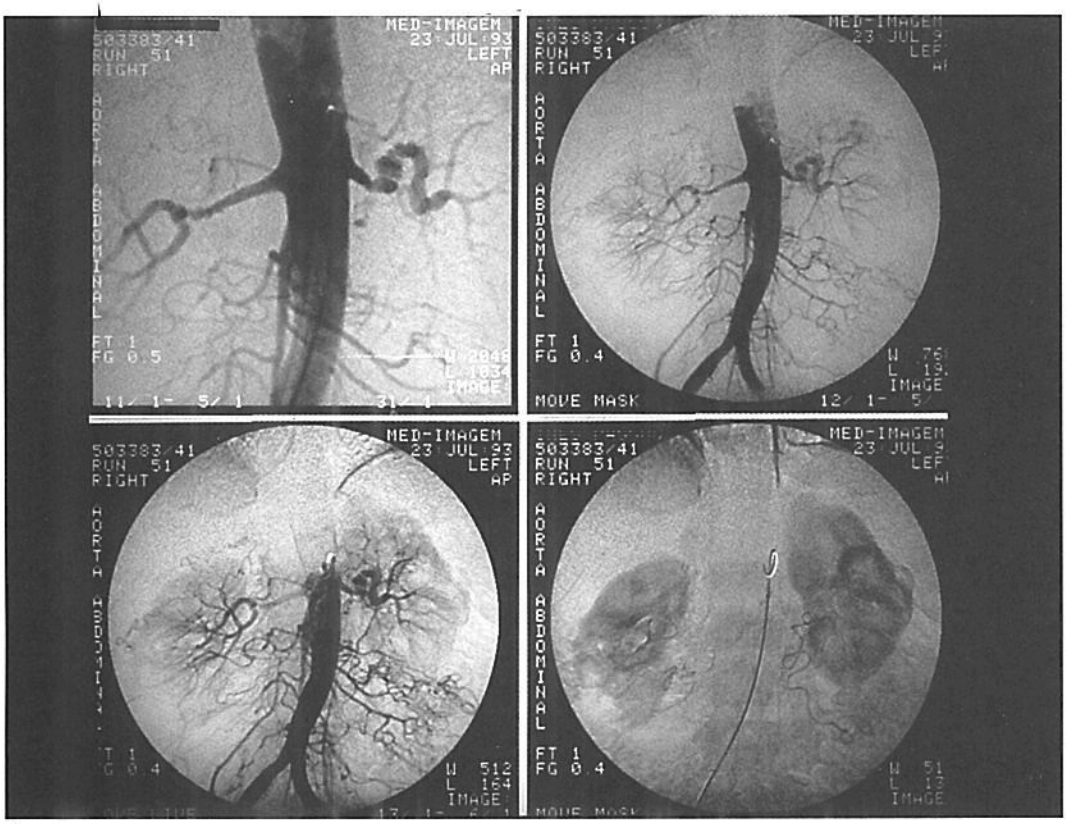


A

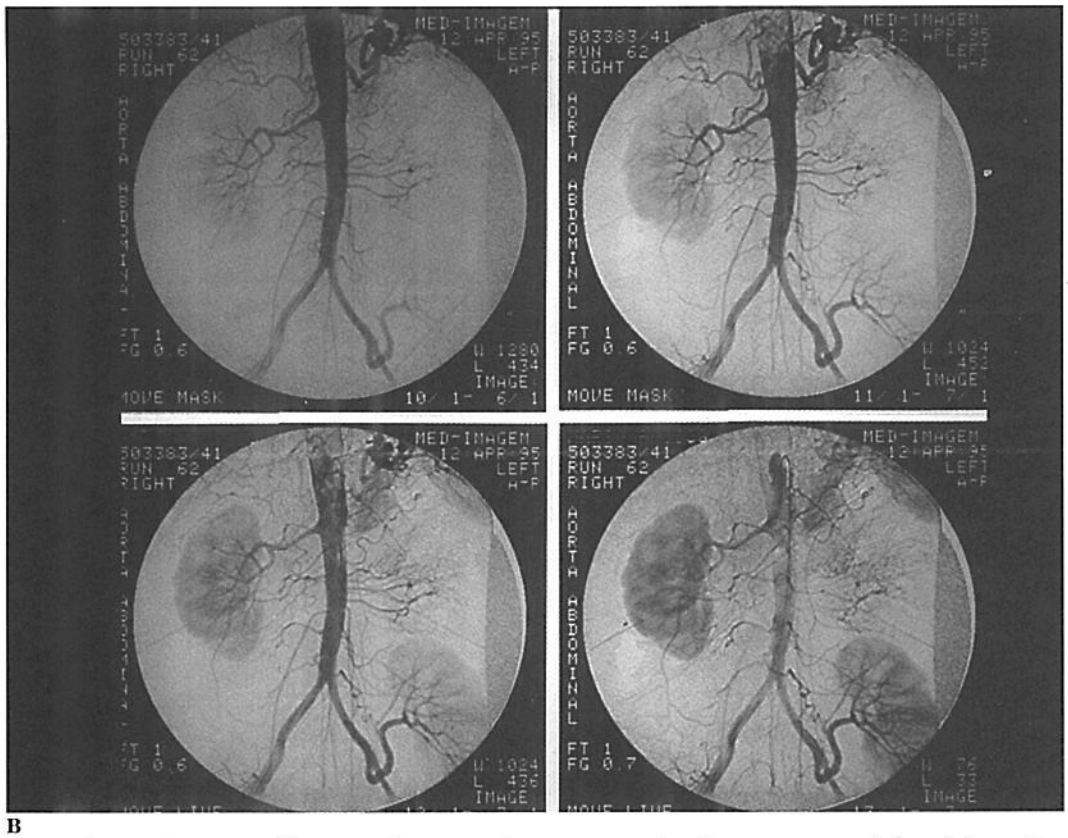


B

Figura 49.6 – A) Estenose de artéria renal direita no terço distal tipo displasia fibromuscular em paciente feminina de 36 anos, com hipertensão recente, grave. Observa-se a presença de aneurisma em ramo intra-hilar da artéria renal. **B)** Resultado após ressecção das lesões e reconstrução da artéria renal com a artéria hipogástrica pela técnica do autotransplante. Nota-se o coto da artéria hipogástrica e o reimplante renal na artéria ilíaca comum.



A



B

Figura 49.7 – A) Paciente feminina, de 38 anos, hipertensão acelerada com estenose bilateral de artérias renais, tipo displasia fibromuscular "em rosário". **B)** Angioplastia com sucesso à direita e autrotransplante à esquerda com reconstrução da artéria renal utilizando ramos da artéria hipogástrica. Tentativa de angioplastia à esquerda sem sucesso, devido à complexidade da lesão.

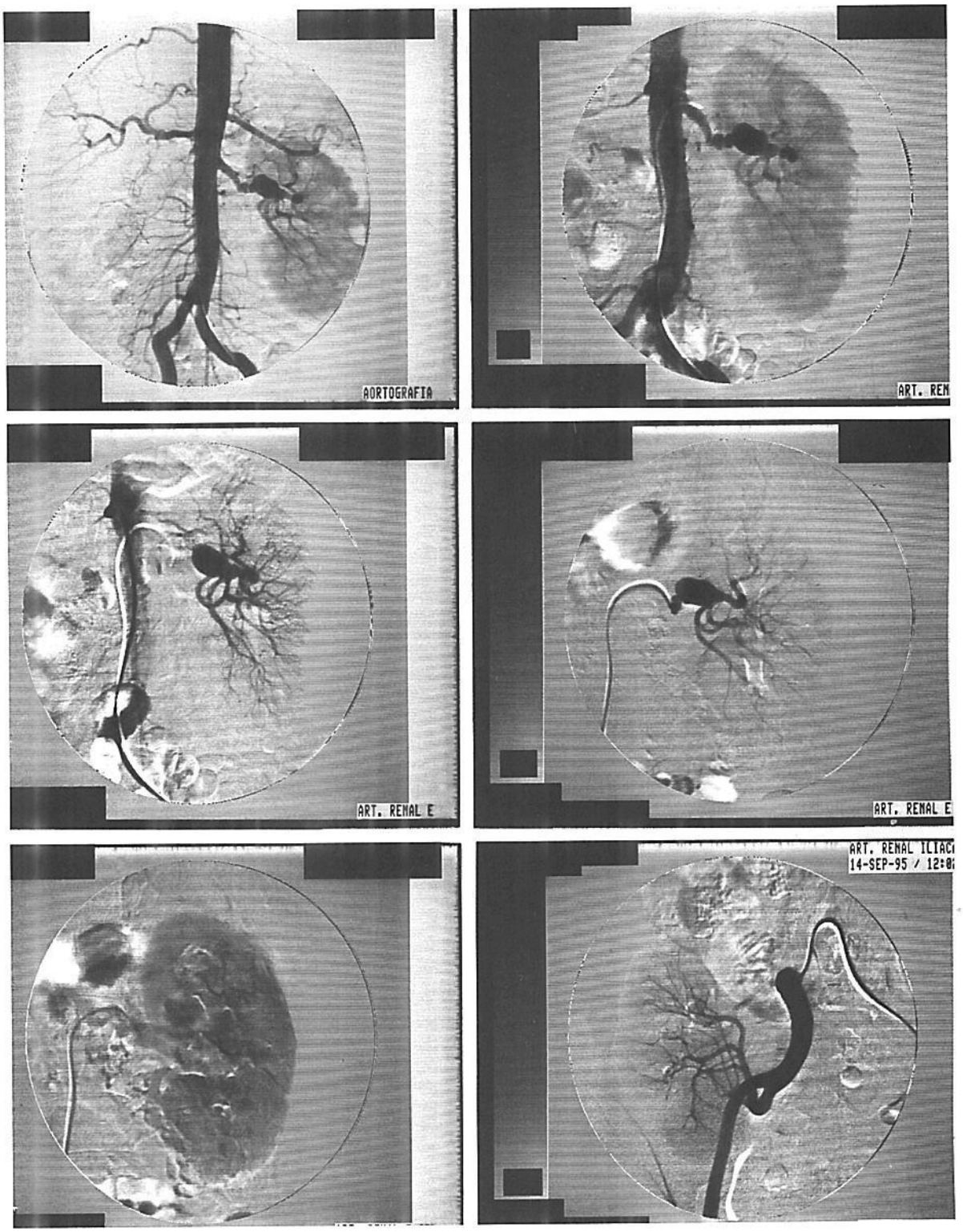


Figura 49.8 – A) Paciente de 42 anos, feminina, hipertensa há 20 anos, portadora de displasia fibromuscular bilateral. Autotransplante renal à direita após tentativa de angioplastia sem sucesso. Observa-se lesão complexa à esquerda com presença de grande aneurisma intra-hilar.

(continua, ver pág. seguinte)

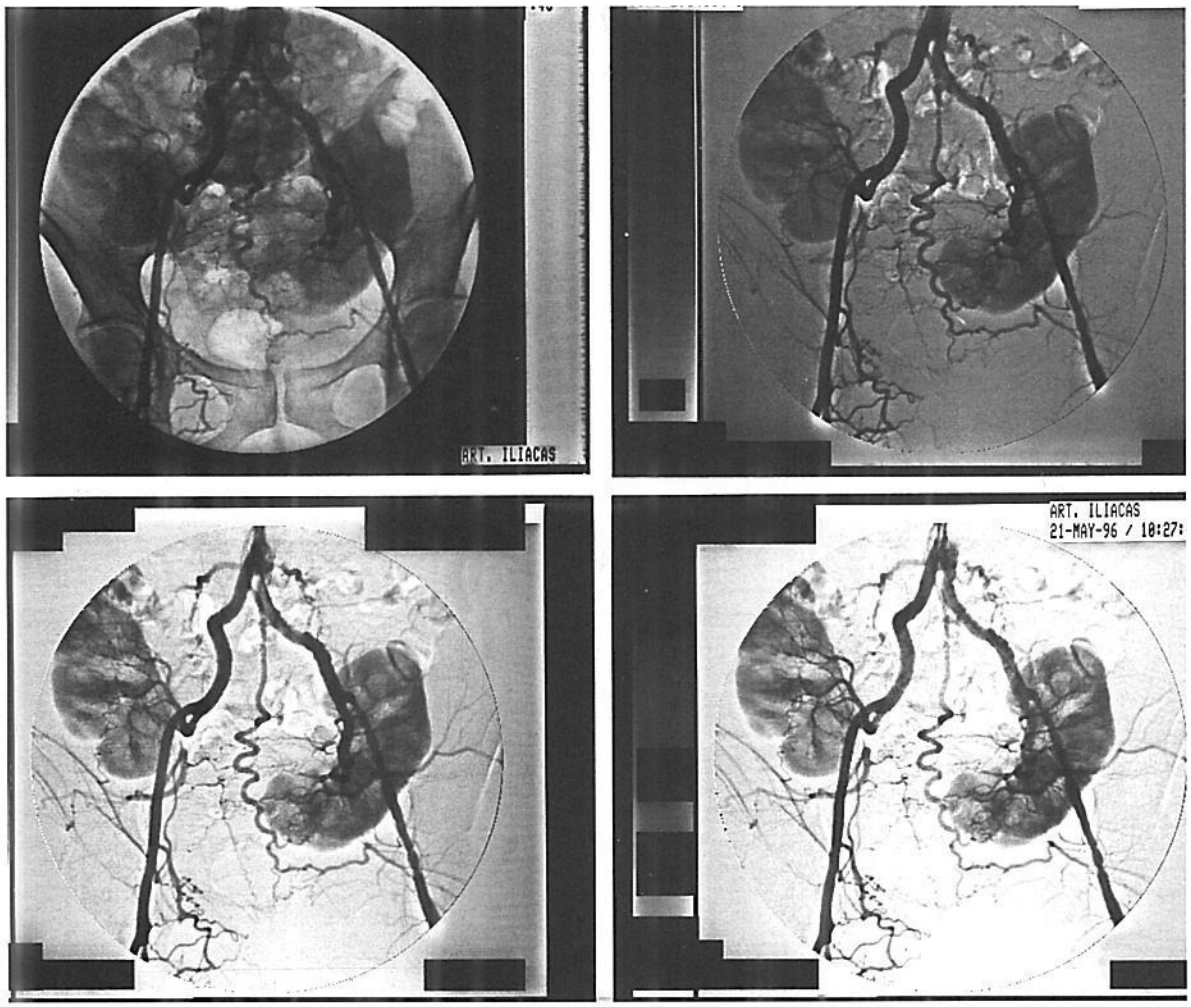
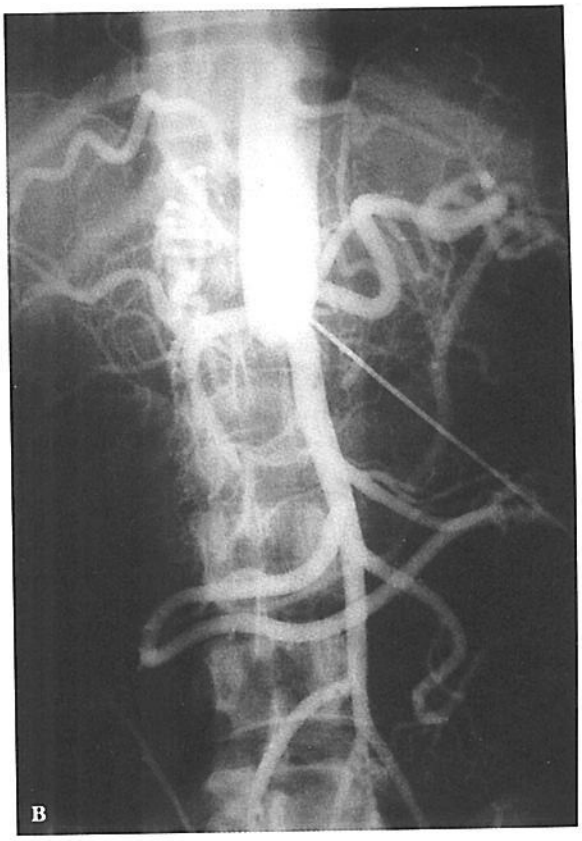
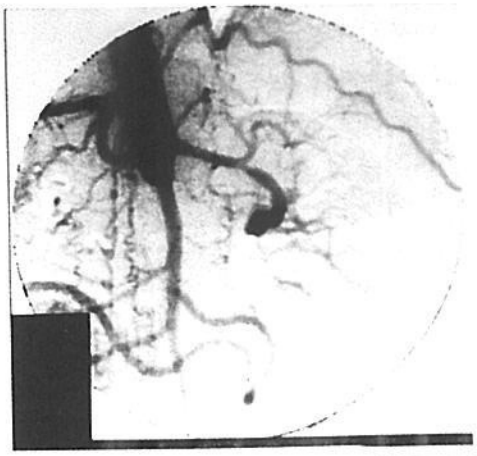


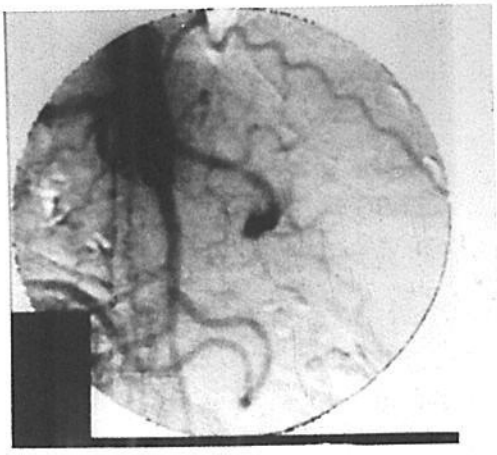
Figura 49.8 – B) Aspecto após ressecção da estenose e do anerisma e reconstrução da artéria renal esquerda, também por autotransplante.

Figura 49.9 – A) Obstrução da aorta e artéria renal esquerda por arterite de Takayasu em paciente feminina, de 28 anos, hipertensa grave. Suplência arterial abdominal, pélvica e de membros inferiores pela arterite mesentérica superior. **B)** Aspecto cerca de um ano após com trombose de artéria renal direita. Quadro agudo de oligoanúria, uremia e encefalopatia hipertensiva. **C)** Após revascularização do rim direito com ponte de safena, da artéria hepática (ramo gastroduodenal) para a artéria renal. Paciente recuperou a função renal (creatinina 1,5mg%) e melhorou o controle pressórico. Em seguimento há seis anos. ▶

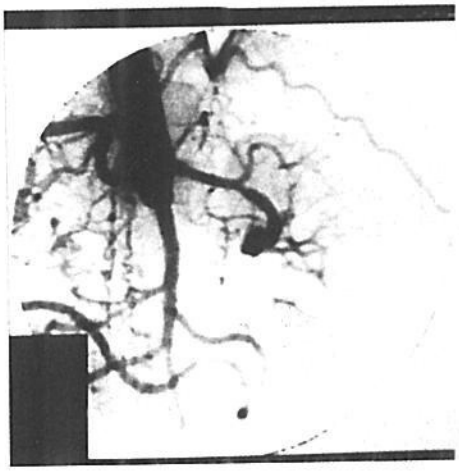
A


B





C



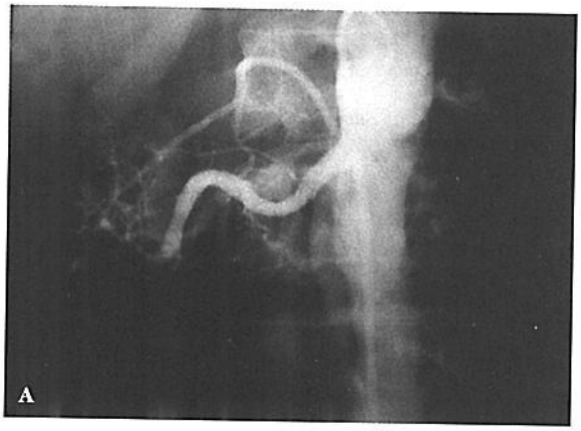
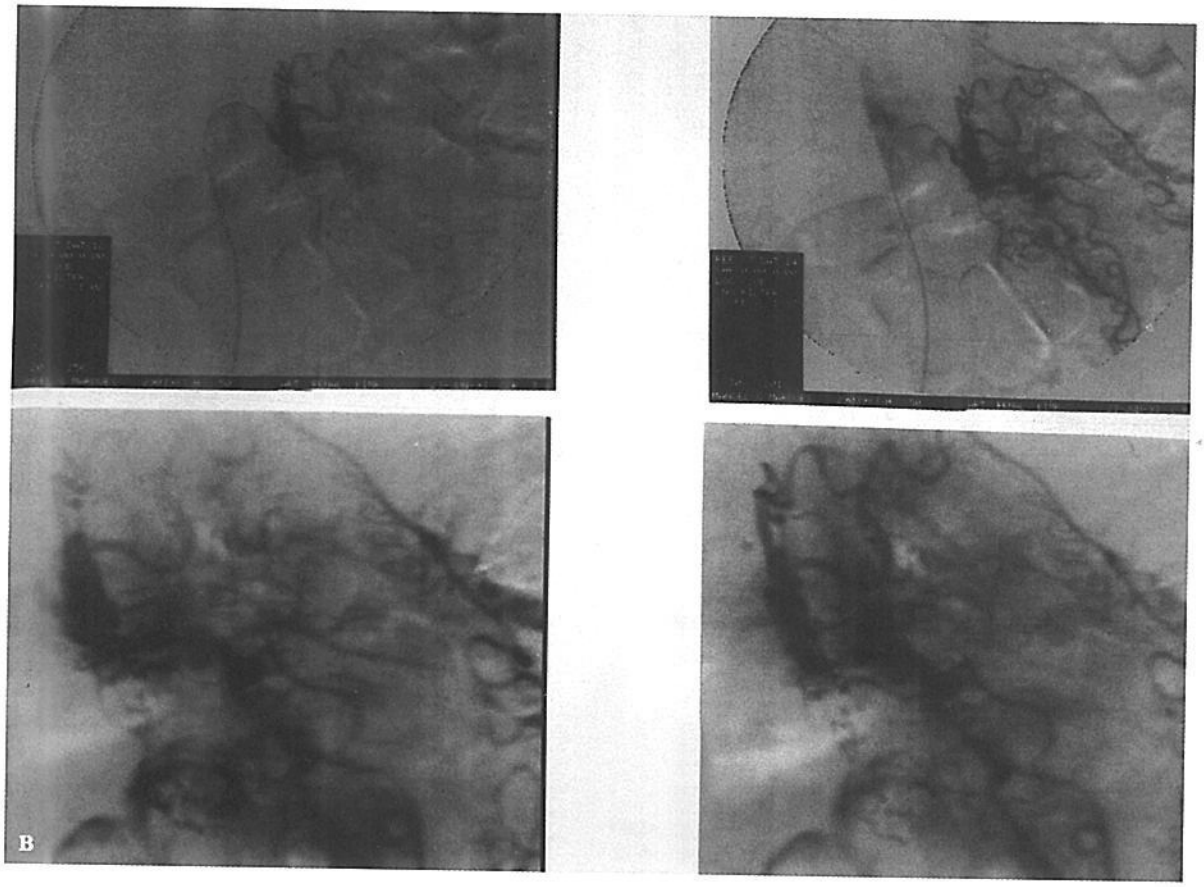


Figura 49.10 – A) Obstrução total da artéria renal esquerda por aterosclerose. Paciente masculino, 52 anos, tabagista, hipertensão grave há dois anos, cardiopatia hipertensiva grave. Aspecto de lesões microvasculares por nefrosclerose ("galho seco") no rim contralateral "não protegido". **B)** Após revascularização por anastomose da artéria esplênica com a artéria renal esquerda. Melhora do controle pressórico e recuperação parcial da hipertrofia miocárdica, após nefrectomia esquerda (histologia renal: nefrosclerose maligna à direita e alterações microvasculares discretas à esquerda).



Numa avaliação parcial de nossos pacientes, em um total de 157 casos predominou a ateromatose como causa de estenose (Tabela 49.3), sendo a angioplastia o tratamento mais utilizado, seguido do autotransplante (Tabela 49.4). Em números globais, os resultados assemelharam-se entre angioplastia tecnicamente bem-sucedida e cirurgia, estando as diferenças no controle da pressão arterial muito mais relacionadas com a natureza da lesão da artéria renal (Tabela 49.5), mais favoráveis na fibrodisplasia e na arterite do que na ateromatose.

Tabela 49.4 – Tratamento realizado.

Tratamento realizado	n	%
Angioplastia	72	45,8
Autotransplante	32	20,4
Angioplastia + autotransplante	7	4,5
Ponte hepatorrenal	6	3,8
Anastomose esplenorrenal	4	2,5
Nefrectomia	24	15,3
Conservador	12	7,7
Total	157	100

Tabela 49.5 – Resultados globais da revascularização renal.

	Cura (%)	Melhora (%)	Inalterado (%)	Total (%)
Aterosclerose	15	64	21	100
Fibrodisplasia	50	48	2	100
Arterite	20	60	20	100

Nefrectomia

A nefrectomia é realizada apenas quando as características anatômicas impossibilitam a revascularização e quando se estabelece uma relação risco/benefício favorável à remoção do rim isquêmico[35-37]. O risco é avaliado pela perda de função residual que irá acarretar e pode ser medido pelo tamanho e pela participação percentual na função renal global medida por radioisótopo (DTPA ou Hipuran®). O benefício é avaliado pela demonstração de que o rim a ser removido é gerador de renina e angiotensina e, portanto, de hipertensão arterial, e pode ser medido pela dosagem de renina das veias renais ou pelo teste do captopril com renina periférica. Em um estudo de nosso grupo de 26 pacientes com rim contraído de causa vascular, a nefrectomia realizada em 17 que apresentavam função residual menor que 20% resultou em cura de 75% e melhora em 25% dos pacientes. Portanto, quando bem indicada, a nefrectomia pode ser uma boa decisão[35].

Quanto à recuperação da função renal, em 16 dos nossos pacientes revascularizados, com insuficiência renal, 13 tiveram melhora, sendo que 2 foram retirados da hemodiálise crônica. A média da creatinina sérica caiu de 4,8 para 3,1mg%. Em confronto com a literatura, estes dados estimulam a valorização da causa isquêmica na nefropatia e na insuficiência renal[38,39].

Tratamento clínico

O tratamento clínico tem-se restringido muito ultimamente devido aos avanços da angioplastia e da cirurgia, e pelo consenso de que o tratamento clínico a longo prazo, mesmo bem conduzido, pode resultar em comprometimento significativo de órgãos-alvo. Atualmente, ele se reserva para as situações de impossibilidade técnica, pelo risco clínico do procedimento ou pela recusa do paciente[40,41]. Até a década de 70, os resultados com vasodilatadores e simpatolíticos eram precários. Com o advento dos β-bloqueadores, os índices de controle pressórico se elevaram para os níveis de 80%. Na era dos inibidores da ECA, embora o controle pressórico tenha sido muito eficaz, tem-se verificado com grande freqüência comprometimento da função renal, principalmente em pacientes com estenose bilateral, em rim único ou em rim transplantado, mas também em estenoses unilaterais com nefrosclerose contralateral. Consiste na queda da filtração glomerular e na elevação dos níveis de creatinina, geralmente reversíveis, produzidas pela vasodilatação eferente por inibição da angiotensina II. Uma boa opção tem sido os bloqueadores dos canais de cálcio com controle satisfatório da pressão arterial, sem comprometer a função renal[40].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. KAPLAN NM: *Clinical Hypertension*, 6th ed, Baltimore, Williams & Wilkins, 1994, 319-341.
2. RAM CVSR, CLAGETT GP, RADFORD LR: Renovascular hypertension. *Semin Nephrol* 15(2):152-174, 1995.
3. CAJAS LM, SOUZA JAC, LUCON AM, FRATEZZI A, PRAXEDES JN, MARCONDES M: Hipertensão renovascular por arterite de Takayasu. Incidência, tratamento e evolução. (abstract) *J Bras Nefrol* 16(supl 1):S168, 1994.
4. CHUGH KS, VINAY S: Takayasu's arteritis as a cause of renovascular hypertension in Asian Countries. *Am J Nephrol* 12:1-8, 1992.
5. ISHIKAWA K, MAETANI S: Long-term outcome for 120 Japanese patients with Takayasu's disease. *Circulation* 90:1855-1860, 1994.
6. LUPI-HERRERA, E, SÁNCHEZ-TORRES G, MARCUSHAMER J, MISPIRETA J, HORWITZ S, VELA JE: Takayasu's arteritis. Clinical study of 107 cases. *Am Heart J* 93:94-103, 1977.
7. IMANISHI M, AKABANE S, TAKAMIYA M, KAWAMURA M, MATSUSHIMA Y, KURAMOCHI M, OMAE T: Critical degree of renal arterial stenosis that causes hypertension in dogs. *Angiology* 43:833-842, 1992.

8. GOLDBLATT H, LYNCH J, HANZAL RF, SUMMERVILLE WW: Studies in experimental hypertension. I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med* 59:347-379, 1934.
9. SCOTT Jr HW, BAHNSON HT: Evidence for a renal factor in the hypertension of experimental coarctation of the aorta. *Surgery* 30:206-217, 1951.
10. MARTINEZ-MALDONADO M: Pathophysiology of renovascular hypertension. *Hypertension* 17:707-719, 1991.
11. MANN S, PICKERING TG: Detection of renovascular hypertension. *Ann Intern Med* 117:845-853, 1992.
12. PICKERING TG: Diagnosis and evaluations of renovascular hypertension. *Circulation* 83(Suppl I):I-147-I-154, 1991.
13. WILKINSON R: Renal and renovascular hypertension, in *Textbook of Hypertension*, edited by Swales JD, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1994, pp 831-857.
14. CANZENELLO, VJ, TEXTOR SC: Noninvasive diagnosis of renovascular disease. Mayo *Clin Proc* 69:1172-1181, 1994.
15. MEIER, GH: Diagnosis of renovascular hypertension; an overview, in *Modern Management of Renovascular Hypertension and Renal Salvage*, edited by Calligaro KD, Dougherty MJ, Dean RH, Baltimore, Williams & Wilkins, 1996, pp 47-73.
16. SOS TA, TROST DW: Renal vascular disease as a cause of hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 4:76-81, 1995.
17. TAYLOR Jr A, NALLY J: Clinical applications of renal scintigraphy. *AJR Am J Roentgenol* 164:31-41, 1995.
18. NALLY Jr JV: Provocative captopril testing in the diagnosis of renovascular hypertension. *Urol Clin North Am* 2:227-234, 1994.
19. NIZO FER, FRATEZZI AC, OLIVEIRA IRS, PRAXEDES JN: Avaliação de estenose de artéria renal pelo Doppler colorido intra-renal. *J Bras Nefrol* 17(Supl 1):S 32, 1995.
20. STAVROS AT, PARKER SH, YAKES NF, CHANTELOIS AE, BURKE BJ, MEYERS PR, SCHENCK JJ: Segmental stenosis of the renal artery: Pattern recognition of fardus and pervus abnormalities with duplex sonography. *Radiology* 184:487-492, 1992.
21. PRAXEDES JN: Hipertensão renovascular. *J Bras Nefrol* 14:166-172, 1992.
22. PRAXEDES JN, LUCON AM, FRATEZZI AC: Hipertensão renovascular. *Hiperativo* 2(2):41-49, 1995.
23. JENSEN G, ZACHRISSON B, DELIN K, VOLKMANN R, AURELL M: Treatment of renovascular hypertension: one year of renal angioplasty. *Kidney Int* 48(6):1936-1945, 1996.
24. GRUNTZIG A: Transluminal dilatation of coronary stenosis. (letter) *Lancet* 1:263, 1978.
25. SOS TA, TROST DW: Indications for and result of renal angioplasty and stenting, in *Modern Management of Renovascular Hypertension and Renal Salvage*, edited by Calligaro KD, Dougherty MJ, Dean RH, Baltimore, Williams & Wilkins, 1996, pp 145-171.
26. MARTIN L: Renal revascularization using percutaneous balloon angioplasty for fibromuscular dysplasia and atherosclerotic disease, in *Modern Management of Renovascular Hypertension and Renal Salvage*, edited by Calligaro KD, Dougherty MJ, Dean RH, Baltimore, Williams & Wilkins, 1996, pp 125-144.
27. HANSEN KJ, STARR SM, SANDS RE, BURKART JM, PLONK Jr GW, DEAN RH: Contemporary surgical management of renovascular disease. *J Vasc Surg* 16:319-330, 1992.
28. MULHERIN Jr JL, EDWARDS WH: Alternative methods of renal revascularization. *Ann Surg* 205:740-746, 1987.
29. DEAN RH: Renal revascularization: an overview of surgical technique and exposure, in *Modern Management of Renovascular Hypertension and Renal Salvage*, edited by Calligaro KD, Dougherty, MJ, Dean RH, Baltimore, Williams & Wilkins, 1996, pp 225-238.
30. BRAYMAN KL, GINCHERMAN Y, LEVY MM, PATEL A, CARPENTER J, NAJI A, BARKER CF: Ex vivo reconstruction of renal artery for aneurysm and other abnormalities of renal vascular anatomy, in *Modern Management of Renovascular Hypertension and Renal Salvage*, edited by Calligaro KD, Dougharty MJ, Dean RH, Baltimore, Williams & Wilkins, 1996, pp 269-283.
31. GOES GM, LUCON AM: Renal autotransplantation in the treatment of hypertension associated with unilateral renal artery stenosis. *J Urol* 126:14-16, 1991.
32. NOVICK AC: Management of renovascular disease surgical perspective. *Circulation* 83 (Suppl I):I-167-I-171, 1991.
33. WEIBULL H, BERGQVIST D, BERGENTZ SE, JONSSON K, HULTHÉN L, MANHEM P: Percutaneous transluminal renal angioplasty versus surgical reconstruction of atherosclerotic renal artery stenosis: prospective randomized study. *J Vasc Surg* 18:841-852, 1993.
34. BECKER GJ, KATZEN BT, DAKE MD: Noncoronary angioplasty. *Radiology* 170:921-940, 1989.
35. CAJAS LM, PRAXEDES JN, SANTELLO JL, LUCON AM, FRATEZZI AC, MARCONDES M: Rim contraído unilateral e hipertensão arterial. (abstract) *Nefrol Latinoam* 2(1):145, 1995.
36. DEAN RH, HANSEN KJ: Renal revascularization or nephrectomy for renovascular hypertension, in *Modern Management of Renovascular Hypertension and Renal Salvage*, edited by Calligaro KD, Dougherty MJ, Dean RH, Baltimore, Williams & Wilkins, 1996, pp 111-115.
37. GEYSKES GG, OEI HY, KLINGE J, KOOIKER CJ, PUYLAERT CBAJ, MEES EJD: Renovascular hypertension: the small kidney updated. *QJ Med* 251:203-217, 1988.
38. NOVICK AC: Atherosclerotic ischemic nephropathy. *Urol Clin North Am* 21:195-200, 1994.
39. KRASILSIC S, PRAXEDES JN, FRATEZZI AC, LUCON AM, SANTELLO JL, MARCONDES M: Tratamento da nefropatia isquêmica renovascular: resultados após revascularização. (abstract) XVI Congresso Brasileiro de Nefrologia, Livro de Resumo vol 2, Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Nefrologia, 1992, p 126.
40. Rosenthal T: Drug therapy of renovascular hypertension. *Drugs* 45:895-909, 1993.
41. MIMRAN A: Renal effects of antihypertensive agents in parenchimal renal disease and renovascular hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 19(Suppl 6):S-45-S-50, 1992.

50

TRATAMENTO NÃO-FARMACOLÓGICO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL: RESTRIÇÃO DE SAL E EXERCÍCIO FÍSICO

Joel C. Heimann
Nereida Kilza da Costa Lima
Celso Amodeo
Carlos Eduardo Negrão

RESTRIÇÃO DE SAL: UMA VISÃO EPIDEMIOLÓGICA

INTRODUÇÃO

Um forte vínculo entre o consumo de sal (NaCl) e os níveis pressóricos é matéria aceita por praticamente todos os que estudam o assunto[1-11].

Estudos populacionais, de pequenos grupos de humanos normotensos e hipertensos e em animais foram discutidos e comentados no capítulo 37 em Atualidades em Nefrologia 3[12]. O papel da restrição de sal no tratamento de portadores de hipertensão arterial também foi matéria abordada, tendo sido apresentada a opinião pessoal dos autores.

Apesar do enorme número de estudos realizados, principalmente nos últimos 20 anos, cujos resultados permitem afirmar com toda a segurança que ingestão excessiva de sal eleva a pressão arterial[13], várias questões em aberto ainda merecem estudos adicionais para ser respondidas.

O termo "ingestão excessiva de sal" necessita de quantificação mais precisa. Todos ou somente parte dos seres humanos elevam a pressão arterial em resposta a incremento da ingestão de sal? Na prevenção primária e secundária da hipertensão arterial, qual é o papel da restrição de sal? Existem efeitos adversos decorrentes do reduzido conteúdo de sal na alimentação dos seres humanos?

Discussão destas indagações será abordada a seguir.

ALGUMAS PALAVRAS SOBRE OS MÉTODOS DE ESTUDO DA TEMÁTICA SAL E PRESSÃO ARTERIAL

Os dois principais métodos de estudo na área "sal *versus* pressão arterial" são os "observadores" e os "interventores". Os primeiros são aqueles nos quais grupos de indivíduos ou populações são observados quanto à sua ingestão de sal e seus respectivos níveis pressóricos[13]. Tais estudos podem ser realizados de forma longitudinal ou então ser um corte efetuado em determinado momento[14,10]. Realizar um corte tem a vantagem de permitir uma avaliação em menor espaço de tempo. No entanto, a correlação entre ingestão de sal e níveis de pressão arterial se faz, necessariamente, em amostra de uma população de diferentes indivíduos, os quais são heterogêneos quanto à carga genética e aos mecanismos pressores. Abstrair de estudos de corte conclusões sobre o comportamento evolutivo de um fenômeno é sujeito a restrições de ordem metodológica.

Os estudos que usam o método "interventores" são aqueles nos quais indivíduos ou populações são submetidos a modificações em seus hábitos alimentares, particularmente em relação à ingestão de sal[5]. Estes estudos podem ser do tipo "cross-over"[4], paralelos, randomizados ou não e duplo-cegos ou não.

A intensidade da sobrecarga ou restrição de sal, sua duração, o esquema do estudo e a aderência dos indivíduos às recomendações são variáveis, podendo interferir nos resultados obtidos.

Algumas considerações comuns aos estudos "observadores" e "interventores" são necessárias. A pressão arterial, diferente de variáveis, tais como colesterol sérico, glicemia de jejum, etc., modifica-se a cada momento. Dessa forma, uma fotografia instantânea da pressão arterial de um indivíduo não é, necessariamente, uma caracterização quantitativa desta variável no sujeito avaliado. Decorre daí a necessidade de múltiplas medidas para que se obtenha um valor mais aproximado daquilo que corresponde à intensidade "real" desta variável. Por outro lado, indivíduos nos quais as médias de medidas da pressão são iguais podem, assim mesmo, diferirem quanto ao seu ritmo circadiano. Em outras palavras, dois indivíduos podem ter a mesma média de pressões ao longo de 24 horas, enquanto um deles apresenta e o outro não queda noturna fisiológica da pressão arterial.

Considerações semelhantes podem ser feitas quanto à ingestão de sal. É conhecida a sua variabilidade ao longo de diversos dias de observação. Portanto, a medida da ingestão de sal em um período de 24 horas não reflete com precisão a ingestão em um período maior. Mais ainda, distribuições diferentes da ingestão de sal ao longo do dia parecem ter efeitos diversos sobre a pressão arterial[15].

TODOS OU SOMENTE PARTE DOS HUMANOS ELEVAM A PRESSÃO ARTERIAL EM RESPOSTA A INCREMENTO NA INGESTÃO DE SAL?

Esta questão coloca em discussão a existência ou não do fenômeno da sensibilidade/resistência ao sal. Na óptica da estatística, uma certa variável observada ao longo de um período de tempo pode ter o comportamento determinado pelo acaso. Tal variável pode sofrer incrementos e reduções de intensidade de forma aleatória. A resposta da pressão arterial à variação na oferta de sal pode, teoricamente, ser um fenômeno cujo comportamento é definido pelo acaso. A reprodutibilidade de um fenômeno e seu vínculo com outras variáveis são algumas das ferramentas de que se dispõe para determinar se ele é aleatório ou não. Alguns estudos recentes revelaram resultados favoráveis à reprodutibilidade da resistência/sensibilidade ao sal em indivíduos submetidos ao mesmo protocolo experimental em momentos distintos[16]. Vários estudos mostraram algumas características de indivíduos denominados sensíveis ao sal. Algumas destas características são: maior atividade nervosa simpática[17,18], níveis séricos mais altos de fator digoxina-símile[19], maior massa miocárdica[20], maior atividade do contratransporte Na^+-Li^+[21], menor sensibilidade à insulina[22], etc. Estas características, sendo específicas daqueles pacientes sensíveis ao sal, são uma demonstração de que a resposta pressórica à sobrecarga/restrição de sal não é obra do acaso. Se assim o fosse, esperar-se-ia um comportamento aleatório dos fenômenos biológicos citados em relação à sensibilidade/resistência ao sal.

Um comentário adicional interessante é decorrente dos resultados do conhecido estudo australiano[7]. Neste estudo, maior número de indivíduos do grupo "placebo" aumentou a pressão arterial em comparação com os do grupo submetido à restrição de sal. Em um fenômeno aleatório esperar-se-ia não somente um comportamento semelhante em ambos os grupos ("placebo" e restrição de sal), mas também variação pressórica semelhante em ambos os sentidos diante da redução ou do aumento da oferta nutricional de sal.

Não é nosso escopo esgotar o assunto sensibilidade/resistência ao sal. No entanto, algumas indagações e comentários finais ficam para a meditação e o estímulo dos leitores para verificações futuras. O fenômeno sensibilidade/resistência ao sal é do tipo "tudo ou nada" ou é uma variável analógica em indivíduos normotensos e hipertensos? Caso exista, qual é a intensidade e a duração da sobrecarga ou restrição de sal necessária para a identificação de indivíduos resistentes ou sensíveis ao sal? Qual é o incremento ou decréscimo pressórico para se identificar os mesmos indivíduos? Qual a duração da alteração detectada na pressão arterial para que se possa afirmar se alguém é ou não sensível ao sal? A sensibilidade/resistência ao sal é uma característica intrínseca, constitucional de cada indivíduo? A resposta pressórica às variações de ingestão de sal é definida por uma reta ou por outra curva qualquer?

NA PREVENÇÃO PRIMÁRIA OU SECUNDÁRIA DA HIPERTENSÃO ARTERIAL, QUAL É O PAPEL DA RESTRIÇÃO DE SAL?

Não há, até o presente, nenhum estudo prospectivo com o objetivo de verificar o efeito de ingestão de sal de diferentes intensidades sobre a morbimortalidade em humanos. O que existe são inúmeros estudos que relacionaram ingestão de sal e níveis pressóricos. Nesta área, encontram-se na literatura trabalhos com os mais diversos esquemas experimentais. O maior destes estudos é o conhecido por MRFIT ("Multiple Risk Factor Intervention Trial")[23], no qual foram avaliados cerca de 350.000 homens e mulheres normotensos e hipertensos. Por outro lado, existem estudos que mostraram maior risco cardiovascular em indiví-

Tabela 50.1 – Potencial de redução na mortalidade com menor PAS média de uma população.

Queda na PAS (mmHg)	Mortes coronarianas (%)	Mortes por AVCI (%)	Total de mortes (%)	Potencial de número de vidas salvas por ano*
2	–4	–6	–3	12.000
3	–5	–8	–4	16.000
5	–9	–14	–7	28.000

Estes valores foram obtidos em cinco estudos longitudinais de pressão sistólica (PAS) e mortalidade em grandes populações. AVCI = acidente vascular cerebral isquêmico.

* Estimativa com base no número de óbitos por todas as causas, em 1985, nos Estados Unidos da América, em homens e mulheres de 45 a 64 anos de idade.

duos com níveis pressóricos elevados. Sendo conhecido que o excesso de sal eleva a pressão e que a pressão alta aumenta o risco cardiovascular, inferência pode ser feita, a qual permite supor que a restrição de sal pode promover um decréscimo na morbimortalidade de uma população. Deve ser enfatizado de que esta inferência não tem suporte científico.

O efeito de restrição ou sobrecarga de sal sobre a pressão arterial depende da intensidade e da duração da restrição[24,25], da pressão inicial dos indivíduos estudados (normotensos ou hipertensos)[26], do esquema experimental[27], etc. Paul Elliott, em 1991, realizou uma metanálise dos estudos "observadores" realizados em indivíduos hipertensos. Obedecendo a critérios rígidos de inclusão, 14 trabalhos foram avaliados. Os resultados revelaram um incremento médio de 3,65 e 1,98mmHg, respectivamente, na pressão sistólica e diastólica para cada aumento de 100mmol de sódio ingerido por dia[13]. No conhecido estudo, denominado INTERSALT, os valores observados foram 0,56 e 1,31mmHg de incremento na pressão sistólica para cada 100mmol de sódio ingerido a mais por dia, respectivamente, em homens e mulheres[28]. Neste estudo, foram incluídos tanto normotensos quanto hipertensos. Em um estudo "interventor", randomizado e com "cross-over", indivíduos normotensos foram avaliados após cada um de dois períodos seqüenciais de dieta hipo e hipersódica, respectivamente. Para uma elevação média de 20,2 ± 3,6mmol de sódio excretado em um período de 8 horas, o aumento na pressão sistólica foi de 3,6 ± 0,9mmHg[4]. Diversos outros estudos "interventores" em normotensos e hipertensos existem na literatura[2,3].

A pergunta que se impõe é qual a eventual repercussão de determinada redução na ingestão de sal sobre o risco cardiovascular em uma população? Como já foi comentado acima, não há resposta para tal questão.

Por outro lado, Rose Stamler, com base em dados de mortalidade em indivíduos de 45 a 64 anos nos Estados Unidos da América em 1985, obteve os resultados expressos na tabela 50.1[29].

Reduções na pressão sistólica em magnitude como aquelas apontadas nos estudos citados acima, associadas aos dados da tabela 50.1, mostram a possibilidade de importante queda na mortalidade de uma população. Estas reduções na pressão sistólica foram obtidas com a diminuição na ingestão de sal da ordem de 70 a 100mmol de sódio por dia. É possível concluir, portanto, que uma estratégia que resulte em menor oferta de sal para uma população pode produzir apreciável queda de mortalidade, pelo menos em pessoas entre 45 e 64 anos de idade.

Qual é a melhor estratégia a ser usada para reduzir o consumo de sal de uma população ainda é matéria desconhecida. Provavelmente, a estratégia não é única, devendo ser usadas múltiplas abordagens para atingir o objetivo. Alguns métodos podem ser: atualização de conhecimentos das equipes de saúde, campanhas de esclarecimento da população, atuação junto à indústria de alimentos, legislação específica que dificulta o uso do sal em alimentos industrializados, etc.

EXISTEM EFEITOS ADVERSOS DECORRENTES DO REDUZIDO CONTEÚDO DE SAL NA ALIMENTAÇÃO DOS HUMANOS?

Há inúmeros estudos na literatura nos quais se identificaram alguns efeitos colaterais decorrentes de restrição de sal. Estes efeitos colaterais são: hiperlipidemia[30], hiperinsulinemia[31] e maior incidência de eventos cardiovasculares[32].

A hiperlipidemia observada em alguns trabalhos não foi confirmada em outros estudos[33]. Há informações também que sugerem ser a hiperlipidemia um fenômeno limitado no tempo, isto é, após um certo período há normalização dos ní-

veis séricos de lípides[34]. Neste campo, vários aspectos ainda não foram esclarecidos. Não se sabe se todos ou somente alguns indivíduos desenvolvem hipertrigliceridemia e/ou hipercolesterolemia quando sob restrição de sal. A intensidade da restrição de sal para que aconteça o aparecimento de distúrbios lipídicos é outra questão sem resposta. Qual é o efeito destes distúrbios sobre o risco cardiovascular é uma incógnita.

As alterações detectadas no metabolismo da glicose e da insulina foram citadas no capítulo 48.

Maior incidência de eventos cardiovasculares em indivíduos sob restrição de sal foi observada em um único estudo recente[32]. Este estudo foi retrospectivo, havendo várias dúvidas em relação à metodologia utilizada. Há, portanto, necessidade de confirmação destes resultados em pesquisas adicionais. Os próprios autores deste estudo não recomendam nenhuma modificação quanto à abordagem terapêutica em relação à recomendação de restrição de sal.

Em conclusão, até o presente momento nenhum efeito colateral do uso de dieta hipossódica supera os seus benefícios no tratamento da hipertensão arterial.

EXERCÍCIO FÍSICO

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem crescido o interesse pelos efeitos do exercício físico na hipertensão arterial. O fato de o exercício ser um dos comportamentos mais freqüentemente assumidos pelo homem e, ainda, um dos que mais influencia a pressão arterial tem levado muitos estudiosos a considerarem o exercício físico como uma conduta importante no tratamento não-farmacológico da hipertensão arterial. Nesse sentido, serão apresentadas as respostas da pressão arterial após uma sessão de exercício físico e após um programa de treinamento físico no indivíduo hipertenso, bem como os mecanismos que norteiam essas alterações.

Estudos recentes têm demonstrado que uma única sessão de exercício físico contínuo[35-37] ou intermitente[38,39] provoca diminuição significativa na pressão arterial de indivíduos hipertensos, no período pós-exercício. Esse efeito hipotensor, entretanto, nem sempre tem sido observado em indivíduos normotensos. Mais ainda, parece ser preciso maior duração de exercício para se obter queda da pressão arterial nesse último grupo. Bennett e cols[38] constataram que uma sessão de 10 minutos de exercício físico era suficiente para provocar uma queda significativa da pressão arterial em indivíduos hipertensos, mas que eram necessárias cinco séries desse mesmo exercício para se verificar o mesmo efeito no indivíduo normotenso.

Outro aspecto que tem merecido atenção daqueles que estudam o efeito agudo do exercício na pressão arterial diz respeito à duração do efeito hipotensor do exercício, isto é, o tempo em que a pressão arterial permanece abaixo dos níveis de repouso após uma sessão de exercício físico. Alguns investigadores verificaram que esse efeito hipotensor do exercício durava de 60 a 90 minutos[35,38] e que, a partir desse momento, a pressão arterial retornava aos valores de repouso. Em nossa experiência, uma sessão de 45 minutos de exercício físico dinâmico provoca queda na pressão arterial, não só no indivíduo hipertenso, como também no indivíduo normotenso, e que a média da pressão arterial nas 24 horas que sucedem esse exercício físico é significativamente menor do que após um repouso de 45 minutos, em que o indivíduo permanece sentado numa cadeira no laboratório[40]. Além disso, verificamos que essa queda pressórica ocorria principalmente no período de sono[40]. É interessante evidenciar também que o grau e a duração da hipotensão pós-exercício dependem do tempo do exercício físico. Overton e cols[41] demonstraram que 40 minutos de exercício físico dinâmico provocava uma queda mais pronunciada e duradoura da pressão arterial do que a queda observada após 20 minutos de exercício, em ratos espontaneamente hipertensos.

A influência da intensidade do exercício físico na hipotensão arterial não é muito clara. Hagberg e cols[42] verificaram que uma sessão de exercício físico realizado em 70% do consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_2$máx) provocava queda mais acentuada da pressão arterial do que um exercício físico realizado em 50% do $\dot{V}O_2$máx. Dados recentes de nosso laboratório, no entanto, não mostraram diferenças significativas na hipotensão provocada por um exercício realizado em 30, 50 e 80% do $\dot{V}O_2$máx[43]. É possível que essa diferença seja explicada pelos indivíduos investigados, isto é, Hagberg e cols[42] estudaram homens idosos hipertensos, enquanto nós estudamos homens jovens normotensos.

O efeito do treinamento físico na pressão arterial de repouso em condição de normotensão é distinto do efeito em condição de hipertensão. Ao contrário do que tem sido verificado em indivíduos normotensos, em quem a pressão arterial de repouso não é modificada pelo treinamento físico, em hipertensos leves ou moderados o treinamento físico atenua a hipertensão arterial. Esses resultados têm levado a World Hypertension

League[44] a recomendar o exercício físico como uma conduta não-farmacológica no tratamento da hipertensão arterial. No entanto, para se obter esse efeito hipotensor é preciso que se observe alguns aspectos, tais como o tipo de exercício físico e intensidade, a duração e a freqüência deste.

TIPO DE EXERCÍCIO

A grande maioria dos investigadores que estudou o efeito do treinamento físico sobre a hipertensão arterial utilizou um exercício físico dinâmico, isto é, caminhada, corrida, ou ciclismo[45]. Nesses estudos ficou evidenciado que o treinamento físico atenua a hipertensão arterial e que o exercício físico dinâmico é um modelo importante para se alcançar essa adaptação. Por outro lado, pouco se conhece a respeito do treinamento físico que envolve o exercício estático ou mesmo dinâmico com um pequeno número de repetições, como, por exemplo, exercício com sobrecarga. A resposta hemodinâmica desencadeada por esse tipo de exercício caracteriza-se por aumento exagerado da pressão arterial, em conseqüência de aumento do débito cardíaco e da ausência de queda, ou até mesmo aumento da resistência vascular periférica. Essa resposta tem desencorajado grande parte dos investigadores a utilizar esse tipo de exercício no treinamento físico do indivíduo hipertenso.

INTENSIDADE DO EXERCÍCIO

A intensidade moderada foi aquela mais utilizada nos estudos que abordaram o efeito crônico do exercício na hipertensão arterial[45]. E como esses estudos mostraram um efeito benéfico do exercício na hipertensão arterial, essa intensidade de exercício tem sido a mais freqüentemente preconizada aos indivíduos hipertensos. Mais recentemente, no entanto, alguns investigadores têm sugerido que o exercício de baixa intensidade também pode diminuir a pressão arterial[46]. Dados recentes do nosso laboratório têm demonstrado que o treinamento de baixa intensidade, isto é, realizado a 50% do $\dot{V}O_2$máx, atenua de maneira significativa a hipertensão arterial de ratos espontaneamente hipertensos. Ao contrário, o treinamento físico de alta intensidade, realizado a 85% do $\dot{V}O_2$máx, não modifica a hipertensão arterial desses ratos hipertensos. Esses resultados sugerem que tanto o treinamento físico de baixa intensidade como o de moderada intensidade causam um efeito benéfico na hipertensão arterial. Além disso, não parece existir relação entre a intensidade em que o treinamento físico é realizado e o grau de atenuação da hipertensão arterial.

DURAÇÃO E FREQÜÊNCIA DO EXERCÍCIO

A duração de cada sessão e a freqüência semanal de exercício que mais beneficia o indivíduo hipertenso ainda precisam ser mais bem definidas. Em nossa experiência, 30 a 45 minutos de exercício físico, realizado três vezes por semana, são suficientes para atenuar a hipertensão arterial no homem. No rato, cinco sessões de exercício físico por semana, com duração de 60 minutos cada, atenua significativamente a hipertensão arterial. E, segundo o American College of Sports Medicine[47], é preciso realizar de três a cinco sessões semanais com duração de 15 a 60 minutos para se alcançar um efeito benéfico sobre a hipertensão arterial. Considerando-se esses resultados, é possível recomendar para o indivíduo hipertenso a realização de exercício de 30 a 60 minutos com uma freqüência de três a cinco vezes por semana.

Se por um lado existem poucas dúvidas de que o exercício físico diminui a pressão arterial de indivíduos hipertensos, por outro, os mecanismos que norteiam esse fenômeno ainda não estão totalmente esclarecidos. De qualquer maneira, já é possível identificar alguns comportamentos fisiológicos que estão possivelmente envolvidos nessa atenuação da hipertensão arterial. Portanto, a seguir serão apresentados alguns desses comportamentos e suas contribuições para a diminuição da pressão arterial.

Para abordar os mecanismos determinantes da diminuição da pressão arterial é preciso diferenciar aqueles que ocorrem após uma sessão aguda de exercício físico daqueles provocados por treinamento físico. Dessa forma, inicialmente serão abordados os mecanismos de hipotensão pós-exercício e, em seguida, os mecanismos desencadeados pelo efeito crônico do exercício físico.

Dentre os mecanismos mais freqüentemente sugeridos para explicar a hipotensão pós-exercício estão a diminuição da resistência vascular periférica e do débito cardíaco. Um dos primeiros estudos a sugerir um envolvimento da resistência vascular periférica na queda da pressão arterial pós-exercício foi aquele realizado por Shyu & Thorén[48]. Esses autores constataram a existência de uma associação entre a queda da pressão arterial e a diminuição da atividade nervosa simpática ao verificarem que a eliminação da ação inibitória de opióides peptídicos sobre o sistema nervoso simpático, por infusão de naloxona, abolia a hipotensão pós-exercício em ratos espontaneamente hipertensos. Nesse estudo ficou evidenciado que o exercício físico agudo modulava a atividade simpática periférica e que esse mecanismo poderia diminuir a resistência vascular periférica

e a pressão arterial. Posteriormente, Floras e cols[36], utilizando abordagem mais específica, mostraram que, de fato, a atividade nervosa simpática neuromuscular estava significativamente diminuída após uma sessão de exercício físico realizada a 60% do $\dot{V}O_2$máx por um período de 45 minutos. Mais recentemente, Cléroux e cols[35] observaram que a queda da pressão arterial no período de recuperação de um exercício agudo estava associada a uma diminuição significativa da resistência vascular periférica e dos níveis plasmáticos de noradrenalina em indivíduos hipertensos. Os resultados desses estudos, considerados em conjunto, sugerem que uma sessão aguda de exercício físico diminui a atividade nervosa simpática periférica e que essa diminuição pode provocar atenuação da resistência vascular periférica e, conseqüentemente, da pressão arterial.

Uma diminuição do débito cardíaco no período pós-exercício tem sido apontada como mecanismo importante para explicar a queda da pressão arterial pós-exercício. Hagberg e cols[42], por meio da técnica de reinalação de dióxido de carbono, observaram que uma sessão aguda de exercício provocava queda do débito cardíaco no período pós-exercício em indivíduos idosos hipertensos e que essa queda era devida à diminuição do volume sistólico. Resultados recentes do nosso laboratório, onde se estudou o fluxo na aorta ascendente de ratos espontaneamente hipertensos, confirmaram que a diminuição do volume sistólico no período pós-exercício é o principal responsável pela queda da pressão arterial nesse período.

Com relação aos mecanismos de atenuação da pressão arterial provocados pelo treinamento físico, pode-se dizer que eles são de origem neural, hemodinâmica e humoral. A seguir serão identificados esses fatores e os mecanismos pelos quais eles podem modificar a pressão arterial.

Estudo recente em nosso laboratório[49] demonstrou que o treinamento físico dinâmico provocava diminuição significativa da atividade nervosa simpática renal e da sensibilidade dos receptores vasculares α_1-noradrenérgicos em ratos normotensos. Resultados semelhantes foram verificados por Grassi e cols[50] ao observarem diminuição da atividade do nervo simpático peroneiro após treinamento físico no homem. Embora esses resultados não garantam que a diminuição da atividade simpática periférica provoque vasodilatação, eles representam fortes evidências de que a resistência vascular pode estar reduzida na periferia e que essa diminuição ocasione atenuação da pressão arterial.

Urata e cols[46] têm sugerido que o treinamento físico provoca diminuição do volume total de sangue em indivíduos hipertensos. Dados do nosso laboratório têm demonstrado que o treinamento físico dinâmico diminui o débito cardíaco (medido na aorta ascendente) de repouso em ratos espontaneamente hipertensos e que esse comportamento parece ser devido à diminuição da freqüência cardíaca. Dessa forma, a diminuição da volemia e/ou do débito cardíaco podem explicar, em parte, a atenuação da pressão arterial após o treinamento físico.

Quanto aos efeitos humorais, Kiyonaga e cols[51] verificaram que os níveis plasmáticos de prostaglandina E duplicaram após um período de treinamento físico. Uma vez que a prostaglandina E parece inibir a liberação de noradrenalina na terminação nervosa simpática, é legítimo propor que ela esteja envolvida na diminuição da atividade simpática periférica e, conseqüentemente, na atenuação da pressão arterial após um período de treinamento físico. Tanabe e cols[52] demonstraram que o treinamento físico por um período de 10 semanas provocava aumento de 26% nos níveis plasmáticos da taurina altamente correlacionado com diminuição significativa nos níveis plasmáticos de noradrenalina. A partir desses resultados, alguns autores[53] têm sugerido que o aumento nos níveis de prostaglandina E e da taurina, provocado pelo treinamento físico, pode exercer também efeito inibitório no sistema nervoso simpático, tornando-se um agente hipotensor importante.

Koga e cols[54] observaram que um período de 10 semanas de treinamento físico provocava queda significativa na concentração de substância endógena semelhante à ouabaína e que essa diminuição era correlacionada à redução plasmática da noradrenalina ($r = 0,76$) e da pressão arterial média ($r = 0,66$). Apesar de a substância endógena semelhante à ouabaína exercer um papel inibitório importante na bomba Na^+-K^+-ATPase na membrana basolateral das células tubulares renais e, portanto, aumentar a excreção de sódio, ela provoca também retenção de sódio e cálcio por meio do sistema de transporte de sódio-cálcio em tecidos, tais como músculo liso vascular, células sangüíneas e terminações nervosas simpáticas. Esses fatores, reconhecidamente, contribuem para o aumento da pressão arterial. Por essa razão, a diminuição plasmática de substância endógena semelhante à ouabaína provocada pelo treinamento físico acaba contribuindo para a atenuação da hipertensão arterial. Além disso, parece que a queda dessa substância aumenta a reabsorção de noradrenalina nas terminações nervosas simpáticas, o que poderia auxiliar na diminuição da resistência vascular periférica e, conseqüentemente, da pressão arterial.

Portanto, até o presente momento, já é possível identificar alguns mecanismos que estão envolvidos na queda da pressão arterial. No entanto, é difícil ainda saber o quanto cada um deles está efetivamente contribuindo para a atenuação da hipertensão arterial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The fifth report of the joint national committee on detection, evaluation, and treatment of high blood pressure (JNC V). *Arch Intern Med* 153:154-183, 1993.
2. GROBBEE DE, HOFMANN A: Does sodium restriction lower blood pressure? *Br Med J* 293:27-29, 1986.
3. GRIMM RH, PRINEAS RJ: The effects of sodium reduction on control of blood pressure elevation: a review. *Bibl Cardiol* 41:40-56, 1987.
4. MASCIOLI S, GRIMM Jr R, LAUNER C, SVENDSEN K, FLACK J, GONZALES N, ELMER P, NEATON J: Sodium chloride raises blood pressure in normotensive subjects. The study of sodium and blood pressure. *Hypertension* 17(Suppl 1):I-21-I-26, 1991.
5. CUTLER JA, FOLLMANN D, ELLIOTT P, SUH I: An overview of randomized trials of sodium reduction and blood pressure. *Hypertension* 17(Suppl 1):I-27-I-33, 1991.
6. MacGREGOR GA, MARKANDU ND, BEST FE, ELDER DM, CAM JM, SAGNELLA GA, SQUIRES M: Double-blind randomized crossover trial of moderate sodium restriction in essential hypertension. *Lancet* 1:351-355, 1982.
7. Australian National Health and Medical Research Council Dietary Salt Management Committee: Fall in blood pressure with modest reduction in dietary salt intake in mild hypertension. *Lancet* 1:399-402, 1989.
8. MacGREGOR GA, MARKANDU ND, SAGNELLA GA, SINGER DRJ, CAPPUCCIO P: A double-blind study of three sodium intakes and the long-term effects of sodium restriction in essential hypertension. *Lancet* 2:1244-1247, 1989.
9. MASCIOLI S, LAUNER C, SVENDSEN K, GRIMM R, NEATON J, ELMER P, GONZALEZ N, FLACK J, WITTE L, BELL M, COX J, CLEARMAN D: Sodium chloride raises blood pressure (BP) in normotensives-the study of sodium (Na) and blood pressure (SNaP). (abstract) *Circulation* 80(Suppl II):II-381, 1989.
10. INTERSALT Cooperative Research Group: INTERSALT: An international cooperative study of electrolyte excretion and blood pressure: Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. *Br Med J* 297:319-328, 1989.
11. INTERSALT Cooperative Research Group: An international cooperative study of electrolyte excretion and blood pressure: Further results. *J Human Hypertens* 3:279-407, 1989.
12. HEIMANN JC, DICHTCHEKENIAN V, SANTELLO JL: Sal e hipertensão: aspectos fisiopatológicos e clínicos, em *Atualidades em Nefrologia 3*, editado por Cruz J, Barros RT, Sesso RCC, David Neto E, Suassuna JHR, Heilberg IP, Gouveia Filho WL, São Paulo, Sarvier, 1994, pp 299-302.
13. ELLIOTT P: Observational studies of salt and blood pressure. *Hypertension* 17(Suppl 1):I-3-I-8, 1991.
14. INTERSALT Cooperative Research Group: INTERSALT Study: An international cooperative study on the relation of blood pressure to electrolyte excretion in populations: I. Design and methods. *J Hypertens* 4:781-787, 1986.
15. KAWASAKI T, ITOH K, CUGINI P: Influence of reapportionment of daily salt intake on circadian blood pressure pattern in normotensive subjects. *J Nutr Sci Vitaminol Tokyo* 40:459-466, 1994.
16. SHARMA AM, SCHATTENFROH S, KRIBBEN A, DISTLER A: Realiability of salt sensitivity testing in normotensive subjects. *Klin Wochenschr* 67:632-634, 1989.
17. CAMPESE VM, ROMOFF MS, LEVITAN D, SAGLIKES Y, FRIEDLER RM, MASSRY SG: Abnormal relationship between sodium intake and sympathetic nervous system activity in salt-sensitive patients with essential hypertension. *Kidney Int* 21:371-378, 1982.
18. DICHTCHEKENIAN V, SEQUEIRA DMC, ANDRIOLLO A, MARCONDES M, HEIMANN JC: Salt sensitivity in human essential hypertension: effect of renin-angiotensin and sympathetic nervous system blockade. *Clin Exp Hypertens* A11(Suppl 1):379-387, 1989.
19. DICHTCHEKENIAN V, GISIGER S, QUENTAL I, SANTOS SRCJ, MARCONDES M, HEIMANN JC: Higher salt consumption, digoxin-like factor, and nifedipine response are associated with salt sensitivity in essential hypertension. *Am J Hypertens* 5:707-712, 1992.
20. HEIMANN JC, DRUMOND S, ALVES ATR, BARBATO AJG, DICHTCHEKENIAN V, MARCONDES M: Left ventricular hypertrophy is more marked in salt-sensitive than in salt-resistant hypertensive patients. *J Cardiovasc Pharmacol* 17(Suppl 2):S122-S124, 1991.
21. WEDER AB: Membrane sodium transport and salt sensitivity of blood pressure. *Hypertension* 17(Suppl 1):I-74-I-80, 1991.
22. ROCCHINI AP: The relationship of sodium sensitivity to insulin resistance. *Am J Med Sci* 307(Suppl 1):S75-S80, 1994.
23. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group: Multiple risk factor intervention trial: risk factor changes and mortality results. *JAMA* 248:1465-1477, 1982.
24. LUFT FC, RANKIN LI, BLOCH R, WEYMAN AE, WILLIS LR, MURRAY RH, GRIM CE, WEINBERGER MH: Cardiovascular and humoral responses to extremes of sodium intake in normal black and white men. *Circulation* 60:697-706, 1979.
25. SULLIVAN JM: Salt sensitivity. Definition, conception, methodology, and long-term issues. *Hypertension* 17(Suppl 1):I-61-I-68, 1991.
26. LAW MR, FROST CD, WALD NJ: III – Analysis of data from trials of salt reduction. *Br Med J* 302:819-824, 1991.
27. SULLIVAN JM: Salt sensitivity. Definition, conception, methodology, and long-term issues. *Hypertension* 17(Suppl 1):I-61-I-68, 1991.
28. STAMLER J, ROSE G, ELLIOTT P, DYER A, MARMOT M, KESTELOOT H, STAMLER R: Findings of the international cooperative INTERSALT study. *Hypertension* 17(Suppl 1):I-9-I-15, 1991.
29. STAMLER R: Implications of the INTERSALT study. *Hypertension* 17 (Suppl 1):I-16-I-20, 1991.
30. SHARMA AM, ARNTZ HR, KRIBBEN A, SCHATTENFROH S, DISTLER A: Dietary sodium restriction: adverse effect on plasma lipids. *Klin Wochenschr* 68:664-668, 1990.
31. FLISER D, FODE P, ARNOLD U, NOWICKI M, KOHL B, RITZ E: The effect of dietary salt on insulin sensitivity. *Eur J Clin Invest* 25:39-43, 1995.
32. ALDERMAN MH, MADHAVAN S, COHEN H, SEALEY JE, LARAGH JH: Low urinary sodium is associated with greater risk of myocardial infarction among treated hypertensive men. *Hypertension* 25:1144-1152, 1995.
33. MELAND E, LAERUM E, AAKVAAG A, ULVIK RJ: Salt restriction and increased insulin production in hypertensive patients. *Scand J Clin lab Invest* 54:405-409, 1994.
34. FLISER D, NOWACK R, ALLENDORF-OSTWALD N, KOHL B, BÜBINGER A, RITZ E: Serum lipid changes on low salt – effect of alpha-1 adrenergic blockade. *Am J Hypertens* 6:320-324, 1993.
35. CLÉROUX J, N'GUESSAN K, NADEAU A, COULOMBE D, LACOURCIEERE Y: After effects of exercise on regional and systemic hemodynamics in hypertension. *Hypertension* 19:183-191, 1992.

36. FLORAS JS, SINKEY CA, AYLWARD PE, SEALS DR, THORÉN PN, MARX AL: Postexercise hypotension and sympathoinhibition in borderline hypertensive men. *Hypertension* 14:28-35, 1989.
37. HARA K, FLORAS JS: Effects of naloxone on hemodynamics and sympathetic activity after exercise. *J Appl Physiol* 73:2028-2035, 1992.
38. BENNETT T, WILCOX RG, MacDONALD IA: Post exercise reduction of blood presure in hypertensive men is not due to acute impairment of baroreflex function. *Clin Sci* 67:97-103, 1984.
39. KAUFMAN FL, HUGHSON RL, SCHAMAN JP: Effect of exercise on recovery blood pressure in normotensive and hypertensive subjects. *Med Sci Sports Exerc* 19:17-20, 1987.
40. FORJAZ CL, MION Jr D, NEGRÃO CE: The fall in blood pressure following a single bout of exercise is sustained for 24 hours. (abstract) *Hypertension* 25:1400, 1995.
41. OVERTON JM, JOYNER MJ, TIPTON CM: Reduction in blood pressure after acute exercise by hypertensive rats. *J Appl Physiol* 64:748-752, 1988.
42. HAGBERG JM, MONTAIN SJ, MARTIN III WH: Blood pressure and hemodynamic responses after exercise in older hypertensives. *J Appl Physiol* 63:270-276, 1987.
43. FORJAZ CLM, RODRIGUES FB, MATSUDAIRA Y, NEGRÃO CE: Efeito de diferentes intensidades de exercício físico no comportamento da pressão arterial no período de recuperação, em XVI Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. Anais, Campinas, São Paulo, Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo (no prelo), São Paulo, 1995.
44. World Hypertension League: Physical exercise in the management of hypertension: a consensus statement by the World Hypertension League. *J Hypertens* 9:283-287, 1991.
45. KELLEY G, McCLELLAN P: Antihypertensive effects of aerobic exercise. *Am J Hypertens* 7:115-119, 1994.
46. URATA H, TANABE Y, KIYONAGA A, IREKA M, TANAKA H, SHINDO M, ARAKAWA K: Antihypertensive and volume-depleting effects of mild exercise on essential hypertension. *Hypertension* 9:245-252, 1987.
47. American College of Sports Medicine: Guidelines for exercise testing and prescription, Philadelphia, Lea & Febiger, 1991.
48. SHYU BC, THORÉN P: Circulatory events following spontaneous muscle exercise in normotensive and hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 128:515-524, 1986.
49. NEGRÃO CE, IRIGOYEN MC, MOREIRA ED, BRUM PC, FREIRE PM, KRIEGER EM: Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control, and blood pressure responsiveness. *Am J Physiol* 265:R365-R370, 1993.
50. GRASSI G, SERAVALLE G, CALHOUN DA, MANCIA G: Physical training and baroreceptor control of sympathetic nerve activity in humans. *Hypertension* 23:294-301, 1994.
51. KIYONAGA A, ARAKAWA K, TANAKA H, SHINDO M: Blood pressure and hormonal responses to aerobic exercise. *Hypertension* 7:125-131, 1985.
52. TANABE Y, URATA H, KIYONAGA A, IKEDA M, TANAKA H, SHINDO M: Changes in serum concentrations of taurine and others amino acids in clinical antihypertensive exercise therapy. *Clin Exp Hypertens* A11:149-165, 1989.
53. ARAKAWA K: Antihypertensive mechanism of exercise. *J Hypertens* 11:223-229, 1993.
54. KOGA M, IDEISHI M, MATSUSAKI M, TASHIRO E, KINOSHITA A, IKEDA M, TANAKA H, SHINDO M, ARAKAWA K: Mild exercise decreases plasma endogenous digitalis like substance in hypertensive individuals. *Hypertension* 19(Suppl 2):II231-II236, 1992.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abordagem de familiares na doação de órgãos de cadáveres 276-279
  abordagem 278-279
  aspectos legais 276-277
  princípios básicos 279
  rotina operacional 277-278
  termo de doação 279
Addis 9,10
Adesividade plaquetária 53
Aerobactina 338
AGE ("advanced glycosilated end products") 246-247
AIDS 105, 106
Alça de Henle 1, 10, 36
Alo-anticorpos 303-308
Amiloidose
  e hanseníase 148-149
  primária 131-133
  renal 129-137
    algumas formas de amiloidose 131-133
    classificação 130
    experimental 134-135
    fisiopatologia 129-130
    histopatologia 130-131
    transplante 134
    tratamento e prognóstico 133-134
  secundária 132-133
ANCA (anticorpo anticitoplasma de neutrófilo) 60
Angiotensina II 73, 76, 77
Anemia falciforme 138-143
Anfotericina B 162-167
Angioplastia 389
Angiorressonância nuclear magnética 388
Antiuvomerulina 4
Arginina 16
Artrite reumatóide 99, 126, 132
Aspectos moleculares das doenças auto-imunes 93-103
  clínica e modelos experimentais das principais doenças auto-imunes 99-102
    artrite reumatóide 99
    Diabetes mellitus insulino-dependente 99-100
    glomerulonefrites 101
    lúpus eritematoso sistêmico 100-101
    principais modelos experimentais 102
  doença auto-imune 98-99
  mecanismo da tolerância imunológica 94-96
  papel dos genes do MHC na auto-imunidade 97-98
  perspectivas 102
  quebra de tolerância 96-97
Aspectos nutricionais observados em crianças em diálise peritoneal ambulatorial contínua 197-199
  abordagem nutricional de crianças em tratamento dialítico 201
  avaliação nutricional 201-202
  recomendações nutricionais 203-206
Atividade da enzima conversora da angiotensina I (cininase II) na urina de hipertensos e normotensos 369-374
  ECA na urina de normotensos 371
  ECA na urina de pacientes hipertensos essenciais e renovasculares 371-372
  ECA na urina humana 370-371
  importância clínica e perspectiva de estudos 372-373
  propriedades da enzima conversora de angiotensina 369-370
Atividade de renina plasmática (PRA) 25, 36, 386
Auto-anticorpos 303
Avaliação da eficiência dialítica da diálise peritoneal ambulatorial contínua 197-199
Avanços da biologia celular e molecular na insuficiência renal aguda 168-178
  fase de instalação da insuficiência renal aguda 168-171
  fase de recuperação da insuficiência renal aguda 172-175
  fase de reperfusão 171-172

B

Bacteriologia e quadro clínico da infecção do trato urinário na infância 337-343
  classificação 337
  conceito de bacteriúria significativa de Kass 339
  exame de urina da ITU 339
  fatores de virulência 337-338
  outras bactérias causadoras de ITU 341
  outros agentes de ITU 342
  quadro clínico 339-340
  sexo e freqüência 337
  trajeto das bactérias 338-339
β_2-microglobulina 43, 44, 45, 49
Blastema metanéfrico 1
Borda "em escova" 2
Buflomedil 23

C

Ca^{++}-calmodulina 23
Ca^{++} intracelular 169-170
Canais
  de cálcio mecanotransdutores 22-23
  de potássio 22
Captação e manutenção de doadores cadáveres 280-285
  acompanhamento do doador cadáver 281-284
Célula "natural killer" 98, 99, 232, 233
Células
  nucleadas da urina 10-11
  CD4+ 10, 125, 232, 314-321, 324
  CD8+ 10, 314-321, 324
  MDCK (IMCD – ducto coletor medular interno) 3, 4, 5, 6
Citoqueratina 2
Complexo
  de ataque à membrana 86
  maior de histocompatibilidade (MHC) 93-102, 313-315, 316, 323

Comprometimento renal na hanseníase 144-153
amiloidose 148-149
considerações finais 152-153
estudos anátomo-patológicos 144-147
hematúria 147
infecções associadas e drogas 149-150
modelos animais da nefropatia por hanseníase 150
nossa experiência 150-152
proteinúria 147
síndrome nefrótica 147-148
surto reacional e lesão renal 149
transplante renal na hanseníase 150
Contraste de fase 8, 9
Cor pulmonale 23, 24

D

Densitometria óssea 270-272
Depósitos densos 87
Desmoplaquinas 5
Desmossomos 5
Desoxipiridolina 270
Diabetes insipidus 32, 130, 284
Diabetes mellitus 28, 44, 53, 74, 99-100, 131, 154-161, 187, 248, 287, 288, 359-360
Diagnóstico de morte encefálica 282-283
Diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD) 133, 160, 197-199, 200-207, 214, 234, 235, 238, 241, 245, 246
Dislipidemia 53
Dismorfismo (hemácias dismórficas) 11, 12
Distúrbios
do metabolismo do sódio 28-33
hipernatremia 32-33
hiponatremia 28-32
eletrolíticos no paciente crítico 28-42
referentes ao potássio 33-42
hipercalemias 37-40
hipocalemias 34-37
Doença
antimembrana basal 102
causada por células T 98
de lesões mínimas 45, 46
de soro aguda 102
de soro crônica 102
de Wegener 127
óssea na hipercalciúria 268-275
densitometria óssea 270-272
hipercalciúria idiopática 268-269
histomorfometria óssea 272-273
investigação metabólica 269-270
renal policística 16

E

Embriogênese renal 1-7
cultura de células epiteliais em gel de três dimensões 5-6
cultura de rim embrionário 2-4
modelos de cultura para o estudo de morfogênese do epitélio polarizado 4-5
nefrogênese 1-2
Endotelina 73, 76, 77, 222, 295
Epimorfina 1, 1-2
Eritropoetina (EPO) 25, 160, 243
Esclerodermia 132
Espessura da prega cutânea 202
Estromelisina 6
Exercício físico (no tratamento da hipertensão arterial) 406-409

F

Falência de múltiplos órgãos 190-196
Fator
de crescimento
de fibroblasto básico (bFGF) 3
derivado de plaquetas (PDGF) 61-63, 73, 75-79, 173
transformador α (TGF-α) 3, 58-61, 73, 75-79, 173, 313
transformador β (TGF-β) 3, 58-61, 73-79, 173, 313
epidérmico (EGF) 65-67, 173, 174
hepático (HGF) 3, 5, 67-68, 173, 174
semelhante à insulina (IGF) 3, 63-65, 173, 174
de necrose tumoral (TNF-α) 107, 233, 236, 246
natriurético atrial 29, 186, 242, 244
nefrítico-C3 86
Fibronectina 3
Filtração glomerular (FG) 15, 25, 26, 64, 65, 139, 155, 157, 160, 186, 187, 188, 241-242
Filtração glomerular por néfron (SNGFR) 23, 25, 26
Fisiopatologia da insuficiência renal aguda pós-renal 179-185
acidificação urinária 183
conclusão 184
efeitos da obstrução bilateral sobre a excreção de solutos e água (diurese pós-desobstrutiva) 182-183
efeitos da obstrução unilateral sobre a excreção de solutos e água 182
fisiopatologia 179
manipulação renal de potássio 183
obstrução ureteral unilateral 179-182
reabsorção renal de íons divalentes 184
Fluxo
glomerular (QA) 23, 25, 26
plasmático renal (FPR) 23, 64, 65
sangüíneo renal (FSR) 23, 25, 26, 139
Fração de filtração (FF) 25, 26

G

Galactosiltransferase 108
Genoma 2
Glomerulonefrite
difusa aguda (GNDA) 48, 49
antimembrana basal glomerular 59
e vírus da hepatite B 115-118
e vírus da hepatite C 118-121
membranoproliferativa (GNMP) 45, 47-48, 115, 117, 121
membranoproliferativa idiopática 81-92
anatomia patológica 81-84
membranoproliferativa progressiva. Papel da hipertensão e da hipertrofia glomerulares 73-80
natureza multifatorial das glomerulopatias 75-78
novas perspectivas 78-79
teoria da hipertrofia e contestação da teoria hemodinâmica 74-75
teoria hemodinâmica 73-74
membranoproliferativa tipo I 81-83, 117, 121
membranoproliferativa tipo II 83-84, 121
incidência, idade e sexo 84
patogenia 87
quadro clínico e história natural 84-85
sistema do complemento e glomerulonefrite membranoproliferativa 85-87
transplante renal e glomerulonefrite membranoproliferativa 88
tratamento 87-88
membranoproliferativa tipo III 117, 121
membranosa (GNM) 45, 47, 115, 117, 118
mesangial da IgA 111-114
aspectos clínicos que predizem mau prognóstico 113
aspectos patológicos que predizem resultado pobre 112-113
curso clínico 113
tratamento 114
proliferativa 48
proliferativa mesangial 59, 61, 63
rapidamente progressiva (GNRP) 11
Glomerulonefrites 101, 360
Glomerulopatia associada aos vírus das hepatites B e C 115-123

Glomerulosclerose 61, 76, 77
segmentar e focal (GEF) 45, 46-47
Glucagon 16

H

Hanseníase 144-153
Hemácias na urina 11-13
Hematúria 48
em portadores de traço falciforme 138-143
hematúria e quadro falciforme 140-142
o rim da anemia falciforme 138-140
Hemolisina 338
Hepatite B 115-123, 256-262
Hepatite C 115-123, 256-262
Hidroxilisina 270
Hiperaldosteronismo primário 36
Hipercalemia 37-40
Hipernatremia 32-33
Hipertensão
arterial renovascular 382-402
causas 383
definição 382
diagnóstico 384, 388
angiorressonância nuclear magnética 388
atividade de renina plasmática (ARP) periférica 386
atividade de renina plasmática estimulada 386
renograma radioisotópico 387
ultra-sonografia com Doppler 387-388
urografia excretora seqüenciada 386-387
incidência 382-383
mecanismos 383-384
tratamento 388-401
angioplastia 389
cirurgia 389
nefrectomia 401
resultados 389-401
tratamento clínico 401
arterial sistêmica pós-transplante renal 331-336
prevalência 331-335
tratamento 335
e resistência à insulina 375-381
evidências a favor do vínculo entre hipertensão arterial e resistência à insulina 376-377
evidências contra o vínculo entre hipertensão arterial e resistência à insulina 377-379
influência de presença de resistência à insulina no tratamento da hipertensão arterial 379-380
métodos para estimar a resistência à insulina 375-376
resumo 380
essencial como causa de insuficiência renal crônica 248-255
clínica 251-252
epidemiologia 248-249
fisiopatologia 249-251
patologia 252-253
prognóstico e implicações terapêuticas 253
Hipocalemia 34-37
Hipocomplementemia 85, 86
Hiponatremia 28-32
dilucional 30-32
verdadeira 29-30
Histomorfometria óssea 272-273
Hormônio do crescimento (GH) 64, 65

I

Imunidade
celular 236-237
humoral 230-232, 236
Indometacina 24
Influência de fatores reológicos na função renal 21-27
considerações elementares sobre hemorreologia 21-24
diâmetro vascular e viscosidade sangüínea, variação da viscosidade
sangüínea ao longo do leito vascular 21-22
importância da deformidade eritrocitária na viscosidade sangüínea 22-23
"shear rate" e viscosidade sangüínea 21
policitemia e função renal 24-26
Inibidores da enzima conversora da angiotensina I (IECA) 157, 158, 187, 188, 253, 369-374
Insuficiência
cardíaca 44, 186-189
renal aguda 16, 17-19, 64-68, 168-178, 179-185, 188-189, 190-196, 220, 292, 361
renal aguda associada à insuficiência cardíaca 186-189
outros fatores 187-188
prognóstico 189
tratamento 188
renal aguda e falência de múltiplos órgãos 190-196
comentários 194-195
conclusões 195
epidemiologia 191
modelos preditivos 194
nutrição em insuficiência renal aguda 193
patogênese 191-193
tratamento dialítico 192-193
uso de antibióticos 193-194
renal crônica 24, 241-247, 248-255, 362
INTERSALT 405

L

Lamilina 3
Lesões histológicas hepáticas em pacientes renais crônicos com hepatites B e C 256-262
hepatite B 256-257
hepatite B em hemodialisador e transplantados renais 259-260
hepatite C em hemodialisador e transplantados renais 260
hepatite não A-não B (NANB) e hepatite C 257-259
Linfócitos T 231-233
Litotripsina extracorpórea por ondas de choque (LECO) 344-356
complicações 353
contra-indicações 350-351
efeitos colaterais 351-353
equipamentos 345
história 344
indicações em casos especiais 345-350
indicações 345
princípios físicos 345
resultados clínicos 354
L-NAME 24
Lúpus eritematoso sistêmico 44, 48-49, 100-101, 124-128, 132

M

MAPA 366-368
Matriz extracelular (MEC) 3, 5, 6
Mecanismos imunológicos da nefropatia da IgA. Papel dos receptores celulares 104-110
Metanéfron 1
Métodos dialíticos em unidade de terapia intensiva 215-221
acesso vascular 216
anticoagulação 216
biocompatibilidade da membrana 217
complicações do tratamento dialítico 220-221
conceito de "clearance" 216
considerações gerais sobre a escolha do método dialítico 219-220
diálise peritoneal 217
hemodiálise 217-218
indicação de diálise 215-216
indicações não-renais de hemofiltração e hemodiafiltração 220
solução de reposição 219
terapia contínua de substituição renal 218-219
Microalbuminúria 157
Microalbuminúria em diabéticos, hipertensos e idosos 52-57
conceito 53
microalbuminúria
em diabéticos 53-54
em hipertensos 54
em idosos 54-55

Monitorização da pressão arterial na criança 366-368
MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial) 404

N

Na^+-K^+-ATPase 5
Necrose tubular aguda 11, 188
Nefrite
de Heymann 102
intersticial aguda 11
lúpica 48-49, 124-128
soronefrotóxica 102
Néfron 3, 10, 23
Nefropatia da IgA 48, 61, 104-110, 111-114
Nefrotoxicidade da anfotericina B 162-167
conclusão 167
efeito em membranas 163
efeitos tubulares 163-164
efeitos vasculares 164
farmacocinética 162
mecanismo da toxicidade 163
mediadores da ação tóxica vascular 164-165
outras formulações da anfotericina B 166-167
papel do "feedback" tubuloglomerular 165
papel dos metabólitos do ácido araquidônico 165-166
papel dos radicais livres 166
prevenção da nefrotoxicidade da anfotericina B 166
Nefrotoxicidade por ciclosporina 291-300
conclusão 296
nefrotoxicidade aguda 291-293
nefrotoxicidade crônica 295-296
patogênese da nefrotoxicidade aguda causada pela CsA 293-295
Nephropathy in type II diabetes 154-161
magnitude of the problem 154-155
predictors of renal risk in type II diabetes 157
renal involvement in early type II diabetes 155-157
the diabetic patient with preterminal renal failure 159-160
therapeutic options in the patient with type II diabetes on renal replacement therapy 160
the renal risk in type I and type II diabetes 155
the role of hypertension in the genesis and renal progression of nephropathy in type II diabetes 158-159
Neuropatia autossômica 53
Nitrovasodilatador 22
Non-pharmacological mechanisms of graft tolerance 312-330
antigen administration and immunologic tolerance 320
antigen recognition and T cell activation 315-318
blood components 321-323
conclusions 325
major histocompatibility (MHC) antigens: general aspects 313-315
MHC molecules and transplantation tolerance 323
monoclonal antibodies 318-320
the blood transfusion effect 320-321
tolerance induction before transplantation 323-324
towards a more selective immunosuppressive therapy 318
NO-sintase 24, 357
Novas técnicas de provas cruzadas utilizadas no transplante renal 301-311
alo-anticorpos 303-308
auto-anticorpos 303
conclusão 308-309
teste de microlinfocitoxicidade 302-303

O

Osmolaridade plasmática, equação da 28
Óxido nítrico (NO) 22-25, 73, 76, 77, 222, 295, 357-365
Óxido nítrico e o rim 357-365
derminação em modelos biológicos 358
implicação fisiopatológica 359-362
importância biológica: fisiologia renal 358-359
síntese e metabolismo 357-358

P

Pentoxifilina 23
Piridinolina 270
Policitemia 23
Prescrição de antibióticos em peritonites 208-214
antibioticoterapia profilática para pacientes em CAPD 214
avaliação clínica e laboratorial inicial do paciente 208
coloração pelo Gram: negativa ou não realizada 209
coloração pelo Gram: revela fungos 209-210
início da terapêutica baseado no Gram 208
modificação do regime terapêutico de acordo com o resultado da cultura 211-213
seleção inicial do antibiótico 208-209
Properdina 86
Proteína
de baixo peso glomerular em glomerulopatias: uma primeira abordagem 43-51
G 23
quinase C 5
transportadora de retinol 43-51
e outros marcadores de lesão tubular em glomerulopatias 44-50
Proteinúria
intermitente 52
persistente 52
postural 52
Prova cruzada
contra linfócitos B 306
contra linfócitos T 304-306
Púrpura de Henoch-Schönlein 105

R

Ratos espontaneamente hipertensos (SHR) 26
Renina plasmática 25, 36
Renograma radioisotópico 387
Reserva funcional renal 15-20
e insuficiência renal aguda 17-19
fisiopatologia 16-17
Resistência
à insulina 53
vascular renal total (RVRT) 23, 24, 25, 26
Resposta imunológica na uremia 230-240
biocompatibilidade 235-239
células NK 233
citocinas inflamatórias 233
imunidade humoral 230-232
linfócitos T 231-233
polimorfonucleares 233-234
sistema fagocítico-mononuclear 234-235
Restrição de sal (no tratamento da hipertensão arterial) 403-406
Rim
e fatores de crescimento 58-72
fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) 61-63
fator de crescimento transformador (TGF) 58-61
fator de crescimento epidérmico (EGF) 65-67
fator de crescimento hepático (HGF) 67-68
fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) 63-65
embrionário 2, 3
metanefrético 1
policístico 2
RNAm 23
"Rouleaux" 22

S

Sedimento urinário revisitado 8-14
células nucleadas da urina 10-11
hemácias na urina 11-13
microscópio 8-9
questão da quantificação das células na urina 9-10
tendências atuais 13
"Shear rate" 21, 22, 23
"Shear stress" 21, 25
Sindean 2
Síndrome
de Behçet 126, 132
de Conn 36
hemolítico-urêmica 293
X 158
Sistema
complemento 85-87, 235-236
pielocalicial 2
renina angiotensina 24
vasoativos atuantes na hemodiálise 222-229
Somatostatina 16
"Steinstrasse" 353

T

Teoria da hipertrofia glomerular 74-75
Teoria hemodinâmica 73-74
Terapia imunossupressora e tecido ósseo 263-267
azatioprina 264-265
ciclosporina 264
corticosteróides 263-264
FK 506 265
metotrexato 265
rapamicina 265
tratamento 265
Teste
de supressão da insulina 376
de tolerância à glicose endovenosa (GTTev) com insulinemia 376
de tolerância à glicose oral (GTTo) com insulinemia 376
do nitrito 339
T "helper" (CD4) 93-102
Torbafilina 23
Toxicidade da uremia 241-247
a uréia (60 daltons) como toxina urêmica 242
distúrbios lipídicos na uremia 244-245
fatores urêmicos da hipertensão arterial 243-244
fosfato e hiperparatireoidismo secundário 243
infecções na uremia 245
miocardite urêmica 243
moléculas médias (MM) 245-246
outros solutos urêmicos 246-247
queda da filtração glomerular e ausência de trabalho tubular de reabsorção e secreção (insuficiência renal aguda ou crônica) 241-242
solutos urêmicos que se ligam às proteínas do plasma 246
Transplante renal
e glomerulonefrite membranoproliferativa 88
em situações urológicas especiais 286-290
arteriopatias graves 288-289
disfunção vesical neurogênica 287-288
preparo do receptor 286-287
refluxo vesicoureteral 288
rins anômalos e rins de doadores do grupo pediátrico 289-290
rins policísticos 288
tuberculose no trato geniturinário 288
tumor renal em rins primitivos 289
Transtirretina 44
Tratamento
da hipertensão renovascular 388-401
angioplastia 389
cirurgia 389
nefrectomia 401
resultados 389-401
tratamento clínico 401
imunossupressor da nefrite lúpica 124-128
ação imunossupressora da ciclosporina 126
ações biológicas da ciclosporina 125
efeitos biológicos dos antimetabólitos 125-126
terapêutica imunossupressora da ciclosporina 127-128
toxicidade dos agentes imunossupressores 126-127
não farmacológico e hipertensão arterial: restrição de sal e exercício físico 403-409
exercício físico 406-409
restrição de sal: uma visão epidemiológica 403-406

U

Ultra-sonografia com Doppler 387-388
Urografia excretora seqüenciada 386-387
Urotélio 10

W

World Hypertension League 406-407