

# Indução imunológica com timoglobulina: redução no número de doses em transplante de rim com doador falecido

Immunological induction with thymoglobulin: reduction in the number of doses in renal transplant from deceased donor

Lucio Roberto Requião Moura<sup>1</sup>, Eduardo José Tonato<sup>1</sup>, Érika Arruda Ferraz<sup>1</sup>, Thiago Corsi Filliponi<sup>1</sup>, Rogério Chinen<sup>1</sup>, Ana Cristina Carvalho Matos<sup>1</sup>, Maurício Rodrigues Fregonesi da Silva<sup>1</sup>, Marcelino de Souza Durão<sup>1</sup>, Alvaro Pacheco-Silva<sup>1</sup>

## RESUMO

**Objetivo:** Comparar três regimes diferentes de indução com timoglobulina. **Métodos:** Cento e setenta e dois pacientes submetidos a transplante de rim com doador falecido foram divididos em três grupos, de acordo com o número total de doses de timoglobulina utilizada no pós-operatório: Grupo 1, até 14 doses – Maio de 2002 a Junho de 2004 (n = 48); Grupo 2, até 7 doses – Julho de 2004 a Dezembro de 2006 (n = 57); Grupo 3, até 4 doses – Janeiro de 2007 a Julho de 2009 (n = 67). Os três grupos foram comparados de acordo com os principais desfechos. **Resultados:** As principais diferenças demográficas entre os três grupos foram: tempo em diálise, que foi maior no Grupo 3 (p < 0,001 para o Grupo 1; p = 0,04 para o Grupo 2); idade do doador, maior nos Grupos 2 e 3 (p = 0,02; p = 0,01, respectivamente); e o tempo de isquemia fria, progressivamente maior do Grupo 1 ao 3: 19,5 ± 5,1 para 24,6 ± 5,7 horas (p < 0,001). Em relação ao inibidor de calcineurina utilizado, a relação entre Tac/Csa foi de 14,6/66,7% no Grupo 1, 78,9/12,3% no Grupo 2 e de 100/0% no Grupo 3. Refletindo o aumento no tempo de isquemia fria, a incidência de *delayed graft function* foi de 64,6%, 68,4% e 82,1% nos Grupos 1, 2 e 3, respectivamente (p = ns). A incidência de rejeição aguda foi semelhante nos três grupos: 16,7% (1), 16,3% (2) e 16,4% (3) – p = ns. A prevalência de viremia para citomegalovírus foi de 61,7% no Grupo 1; 66,1% no Grupo 2; e 83,3% no Grupo 3 (p = ns). Não houve diferenças quanto ao número de células infectadas com o citomegalovírus na antigenemia, de acordo com os grupos; entretanto, os pacientes do Grupo 3 tiveram diagnóstico mais precoce: de 64,3 ± 28,5 dias no Grupo 2, para 47,1 ± 22,5 dias no Grupo 3 (p < 0,001). A sobrevida do enxerto em um ano foi de 89,6%, 92,9% e 91,0%, nos Grupos 1, 2 e 3, respectivamente (p = ns). A função do enxerto foi substancialmente melhor com menor número de doses de timoglobulina: Grupo 1: 57,0 ± 20,0 mL/min; Grupo 2: 67,0 ± 18,4 mL/min (p = 0,008); Grupo 3: 71,2 ± 18,4 mL/min (p < 0,001, Grupo 1 *versus* Grupo 3; p = 0,06, Grupo 1 *versus* Grupo 2). Houve uma redução significativa no custo do protocolo de indução de US\$ 7.567,02 para US\$ 3.485,56 (p < 0,001). **Conclusão:** O número total de doses de

timoglobulina para indução imunológica pôde ser reduzido de forma segura e eficaz, sem impacto negativo na incidência de rejeição ou sobrevida do enxerto, com preservação da função renal, sendo significativamente mais barato.

**Descritores:** Anticorpos/administração & dosagem; Sistema imunológico/efeito de drogas; Rejeição de enxerto; Sobrevida

## ABSTRACT

**Objective:** To compare three different regimens of thymoglobulin induction. **Methods:** One hundred seventy two patients submitted to renal transplantation from a dead donor were divided into three groups according to the total number of thymoglobulin doses used in the post-transplantation surgery: Group 1, until 14 doses – May 2002 to June 2004 (n = 48); Group 2, until 7 doses – July 2004 to December 2006 (n = 57); Group 3, until 4 doses – January 2007 to July 2009 (n = 67). The three groups were compared according to the main outcomes. **Results:** The main demographic differences among the groups were: greater dialysis time in Group 3 (p < 0.001 for Group 1; and p = 0.04 for Group 2); donor age, greater in Groups 2 and 3 (p = 0.02; p = 0.01, respectively); and cold ischemia time progressively greater from Group 1 to 3: 19.5 ± 5.1 to 24.6 ± 5.7 hours (p < 0.001). In relation to the inhibitor of calcineurin, the relation Tac/Csa was 14.6/66.7% in Group 1, 78.9/12.3% in Group 2 and 100/0% in Group 3. Reflecting the increase in cold ischemia time, the incidence of delayed graft function was 64.6%, 68.4% e 82.1% in Groups 1, 2 and 3, respectively (p = ns). The incidence of acute rejection was similar in the three groups: 16.7% (1); 16.3% (2) and 16.4 (3) – p = ns. The prevalence of viremia for cytomegalovirus was 61.7% in Group 1, 66.1% in Group 2 and 83.3% in Group 3 (p = ns). There were no difference related to the number of infected cells with cytomegalovirus in antigenemia, according to the groups, however, patients in Group 3 had an earlier diagnosis: from 64.3 ± 28.5 days in Grup 2, to 47.1 ± 22.5 days, in Group 3, p < 0.001. Survival of the graft in one year was 89.6%, 92.9% and 91.0%, in Groups 1, 2 and 3,

Estudo realizado no Serviço de Transplantes do Hospital Israelita Albert Einstein - HIAE - São Paulo (SP), Brasil

<sup>1</sup> Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE – São Paulo (SP), Brazil.

Autor correspondente: Lucio Roberto Requião Moura - Rua Agostinho Gomes, 1326, Ap 1062 - Ipiranga - CEP 04206000 - Sao Paulo (SP), Brasil - Tel.: 11 9577-1568 - e-mail: lrequiao@einstein.br

Data de submissão: 31/07/2010 - Data de aceite: 24/01/2011

\*Conflito de interesse: não há.

respectively ( $p = ns$ ). The graft function was much better with the lower doses of thymoglobulin: Group 1:  $57.0 \pm 20.0$  mL/min; Group 2:  $67.0 \pm 18.4$  mL/min ( $p = 0.008$ ); Group 3:  $71.2 \pm 18.4$  mL/min ( $p < 0.001$ , Group 1 *versus* Group 3;  $p = 0.06$ , Group 1 *versus* Group 2). There was a significant reduction in the costs of induction protocol from US\$ 7,567.02 to US\$ 3,485.56 ( $p < 0.001$ ). **Conclusions:** The total number of thymoglobulin doses for immunologic induction could be reduced in a safe and effective way, without a negative impact in graft rejection or survival, preserving renal function and being significantly cheaper.

**Keywords:** Antibodies/administration & dosage; Immune system/drug effects; Graft rejection; Survival

## INTRODUÇÃO

Anticorpos antilinfócitos humanos têm sido utilizados desde a década de 1960 em transplante de órgãos e tecidos<sup>(1)</sup>. Inicialmente, esses preparados tinham como indicação o condicionamento de receptores de medula óssea, tratamento da doença do enxerto *versus* hospedeiro e da rejeição aguda (RA). Recentemente, eles passaram a ter papel importante na profilaxia da RA, especialmente em transplante de rim<sup>(2)</sup>. O uso de anticorpos depletors de linfócitos tendo como finalidade a redução de eventos imunológicos é conhecido como indução imunológica e está indicado em receptores de alto risco<sup>(3)</sup>.

Além da RA, outro evento precoce no transplante de rim com impacto negativo na evolução do enxerto é a lesão de isquemia e reperfusão (LIR), traduzida clinicamente como *delayed graft function* (DGF)<sup>(4,5)</sup>. Pacientes com DGF têm risco aumentado de RA porque, após a reperfusão, há *up-regulation* de moléculas imunogênicas e aumento na expressão de moléculas HLA na superfície das células do tecido renal<sup>(6,7)</sup>. Já está demonstrado que DGF e RA interferem no prognóstico do enxerto, de modo que pacientes mais suscetíveis aos efeitos da LIR são, *per se*, considerados de alto risco imunológico<sup>(8)</sup>. O conhecimento atual sobre a fisiopatologia da LIR mostra que o sistema imune, especialmente o linfócito CD4+, é fundamental para a ocorrência da lesão, e as moléculas da superfície do linfócito, com funções de ativação celular, adesão ao endotélio e migração para o sítio de lesão, têm participação essencial nesse processo<sup>(9)</sup>. Anticorpos policlonais antilinfócitos são capazes de bloquear essas moléculas, além de promover intensa linfopenia, o que reduz, de forma significativa, os efeitos da LIR<sup>(10)</sup>. A indução imunológica com anticorpos policlonais tem como objetivos, assim, reduzir o risco de RA e atenuar os efeitos da LIR.

Atualmente, cerca de 70% dos receptores de transplante de rim recebem alguma terapia de indução, seja com timoglobulina, globulina anti-timócito humano produzida a partir de soro de coelho, que é um potente

anticorpo policlonal depletor de linfócitos e tem como alvos os múltiplos epítomos imunológicos, com anticorpos monoclonais não depletors de linfócitos<sup>(2)</sup>, como o basilixmab ou o daclizumab, que têm como alvo o receptor da interleucina 2<sup>(11)</sup>. O uso de indução imunológica com timoglobulina está relacionado à redução na incidência de RA e de DGF<sup>(12)</sup>.

Historicamente, diferentes protocolos com doses intravenosas variando de 7 a 14 dias têm sido descritos<sup>(2)</sup>. Recentemente, um estudo que comparou um curso breve de 3 dias de timoglobulina com um controle histórico que utilizou mais doses demonstrou que o curso breve foi tão efetivo e seguro quanto o curso prolongado, tendo reduzido o tempo de internação pós-transplante<sup>(13)</sup>. Os protocolos atuais têm como principal foco a dose acumulada, havendo variações da frequência e do tempo de administração, existindo, inclusive, um protocolo com dose única de 5,0 mg/kg, capaz de provocar profunda e duradoura linfopenia e ser tão eficaz quanto os demais<sup>(14)</sup>.

## OBJETIVO

Comparar três regimes diferentes de indução imunológica com timoglobulina em pacientes receptores de transplante de rim com doador falecido.

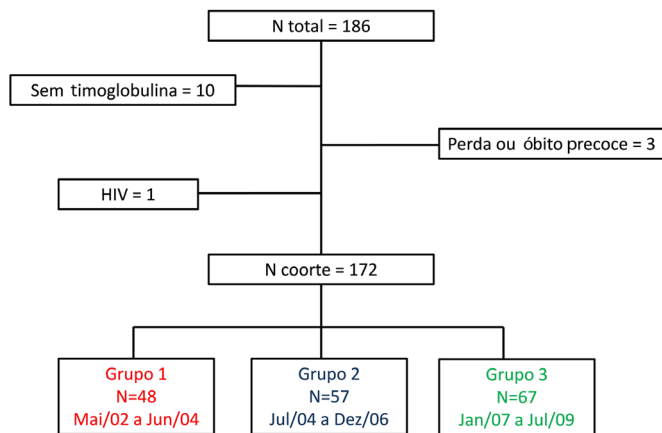
## MÉTODOS

Esta pesquisa foi desenhada como um estudo prospectivo, não randomizada e não cega, com receptores de transplante de rim com doador falecido em um único centro utilizando três grupos históricos que empregaram uma dose intraoperatória de timoglobulina seguida de doses sequenciais, com base na contagem de linfócitos CD3+ circulantes. Os desfechos avaliados foram sobrevida do enxerto, prevalência de DGF, RA e infecção pelo citomegalovírus (CMV), além de função do enxerto renal ao final de um ano após o transplante.

## População do estudo

Trata-se de um estudo longitudinal, observacional, de coorte histórica, no qual foram incluídos todos os pacientes que realizaram transplante de rim com doador falecido no Hospital Israelita Albert Einstein, entre Maio de 2002 e Julho de 2009. A coleta dos dados foi realizada em Julho de 2010, para que todos os pacientes incluídos tivessem pelo menos um ano de seguimento.

Dois populações distintas foram consideradas (Figura 1): inicialmente, todos os pacientes submetidos a transplante de rim com doador falecido ( $n = 186$ ), sendo que, para a análise do número de doses de timoglobulina, foram excluídos os pacientes que evoluíram



**Figura 1.** Distribuição da população de acordo com o protocolo de indução utilizado. Grupo 1 – até 14 doses de Thymoglobulina, sendo o principal inibidor de calcineurina a Ciclosporina; Grupo 2 – até 7 doses, sendo o principal inibidor de calcineurina o Tacrolimo; Grupo 3 – até 4 doses, sendo o único inibidor de calcineurina o Tacrolimo

para perda do enxerto renal ou óbito precoce (ainda na internação para o transplante), bem como aqueles que não puderam receber o protocolo de indução em análise ( $n = 14$ ), que foram excluídos.

### Protocolo de indução imunológica e imunossupressão

A indução imunológica com timoglobulina é utilizada de forma protocolar para todos os pacientes submetidos a transplante de rim com doador falecido no Serviço em questão. O protocolo de indução consta de uma dose intraoperatória de 1,5 mg/kg de Thymoglobulina®, seguida por doses sequenciais de 1,0 mg/kg, de acordo com a contagem de células CD3+ circulantes, realizada por citometria de fluxo, sendo indicada quando a contagem de CD3+ é maior do que 20 células<sup>(15-16)</sup>.

A administração do anticorpo foi realizada em infusão contínua lenta, durante 6 horas, em acesso central ou fístula arteriovenosa, sendo precedida em 30 minutos por uma dose de Solu-Medrol de 0,5 mg/kg, Novalgina® e Difenidramina®. O total de doses de timoglobulina utilizado no protocolo variou de acordo com a época em que o transplante foi realizado. A imunossupressão foi completada com micofenolato e um inibidor de calcineurina, sendo este introduzido apenas após a última dose do anticorpo, desde que a contagem de CD3+ fosse maior do que 20 células. Os inibidores de calcineurina foram ciclosporina ou tacrolimo. A dose do inibidor de calcineurina foi ajustada de acordo com o nível sérico e a do micofenolato, de acordo com os efeitos colaterais (diarreia ou leucopenia). Todos os pacientes receberam profilaxia com albendazol, por 5 dias após o transplante e sulfametoxazol-trimetoprim até completarem 6 meses de transplante.

### Divisão dos grupos de acordo com o total de doses de timoglobulina

No período entre Maio de 2002 e Junho de 2004, o protocolo de indução consistiu em um máximo de 14 doses de timoglobulina, sendo interrompido antes quando o paciente recuperava a função do enxerto: volume de urina maior do que 2,0 L/dia e/ou creatinina sérica menor do que 5,0 mg/dL. Nesse período foram incluídos 48 pacientes que receberam média de  $9,0 \pm 3,8$  doses de timoglobulina. Uma análise dos resultados obtidos com esse protocolo e publicada anteriormente demonstrou que os pacientes que receberam até 7 doses do anticorpo evoluíram de forma semelhante àqueles que receberam mais de 7 doses e, por esse motivo, entre Julho de 2004 e Dezembro de 2006, o número máximo de doses de timoglobulina foi reduzido de 14 para 7. Nesse segundo período, foram incluído 57 pacientes que receberam, em média,  $4,9 \pm 1,5$  doses do anticorpo. Baseados em resultados obtidos em outros estudos, a partir de Janeiro de 2007, o número máximo de doses foi reduzido de sete para quatro, sendo que o anticorpo passou a ser interrompido após a quarta dose, independentemente da recuperação da função do enxerto renal. Nesse terceiro período foram realizados 67 transplantes e foi utilizada média de  $3,9 \pm 0,8$  doses. Sete pacientes receberam mais de quatro doses, por indicações específicas da equipe assistente: cinco pacientes receberam cinco doses e dois receberam seis doses. Esses pacientes não foram excluídos do Grupo 3 porque, mesmo tendo recebido mais do que quatro doses, não chegaram a utilizar as sete doses como os pacientes no segundo período. Para fins de análises e comparações, os pacientes transplantados no primeiro período foram incluídos no Grupo 1, os do segundo período no Grupo 2 e os do terceiro período no Grupo 3 (Figura 1).

### Definições e desfechos

DGF foi considerada quando os pacientes necessitaram de diálise na primeira semana após o transplante. Os pacientes que persistiram com DGF após uma semana foram submetidos à biópsia do enxerto renal. Os diagnósticos de RA foram todos confirmados por biópsia do enxerto, de acordo com a classificação de Banff vigente no período em que o transplante foi realizado. Biópsias que não apresentaram critérios que definissem RA, mas com alterações limítrofes (rejeição *boderline*) também foram consideradas como aguda.

A estratégia adotada para a redução de risco de infecção pelo CMV foi o tratamento preemptivo. Sendo assim, todos os pacientes foram seguidos com pesquisa de viremia para o CMV regularmente entre 30 e 90 dias após o transplante. A viremia foi detectada por meio

da antigenemia, utilizando imunofluorescência para o antígeno pp65<sup>(17)</sup>. O tratamento com ganciclovir foi indicado para os pacientes com antigenemia acima de quatro células ou naqueles com antigenemia abaixo de quatro células, entretanto com sintomas ou alterações laboratoriais que definissem infecção pelo vírus.

Inicialmente, foram avaliados os desfechos na população total de pacientes transplantados (n = 186): perda do enxerto, definida como retorno à diálise; óbito; incidência acumulada de RA no primeiro ano de transplante; infecção pelo CMV e sobrevida do enxerto renal em um ano de transplante, não censurada para o óbito. Entre os pacientes divididos em grupos, de acordo com o número de doses de timoglobulina utilizadas, os desfechos avaliados foram: prevalência de DGF, RA e CMV; sobrevida do enxerto renal após um ano de seguimento, não censurada para o óbito; função do enxerto renal, estimada pelo cálculo do *clearance* de creatinina por meio da fórmula de Cockcroft-Gault.

A estimativa do custo com a timoglobulina foi calculada a partir do número de ampolas utilizadas por cada paciente, sendo calculado pelo coeficiente da dose acumulada pela dose por ampola: 25 mg. O valor da ampola da timoglobulina utilizado neste estudo foi em dólar americano (US\$ 68 milhões) como é cobrado pela instituição.

### Análise estatística

As variáveis numéricas foram resumidas sob a forma de média e desvio-padrão, acrescida de mediana, com variação do valor mínimo ao máximo, quando a distribuição dos valores seguiu um padrão não normal. Na apresentação dos resultados, as medianas foram descritas na sequência das médias no seguinte formato: (med- [Min – Max]). As variáveis categóricas foram resumidas sob a forma de frequência e apresentadas em porcentagem. As variáveis numéricas foram comparadas pelo teste *t* de Student ou do teste U-Mann-Withney, quando a distribuição foi normal ou não normal, respectivamente. As variáveis categóricas foram comparadas por meio do  $\chi^2$  ou do teste exato de Fischer, de acordo com o número de eventos numa tabela 2x2. Incidência acumulada de RA e CMV e sobrevida do enxerto foram calculadas pelo método atuarial de Kaplan-Meier e comparados pelos testes Wixxon e Tarone-Ware. Um banco de dados com as informações dos pacientes foi construído no Excel 2007 e a análise estatística foi realizada no Statistical Package for Social Science (SPSS), ambos no Windows. Para significância estatística, foi considerado o valor de  $p < 0,05$ , dentro de um intervalo de confiança de 95%.

Este estudo foi realizado como uma análise parcial do projeto intitulado “Impacto Funcional e Morfológi-

co da Infecção pelo Citomegalovírus no Enxerto Renal”, aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Israelita Albert Einstein.

## RESULTADOS

### Resultados relacionados à população geral do estudo

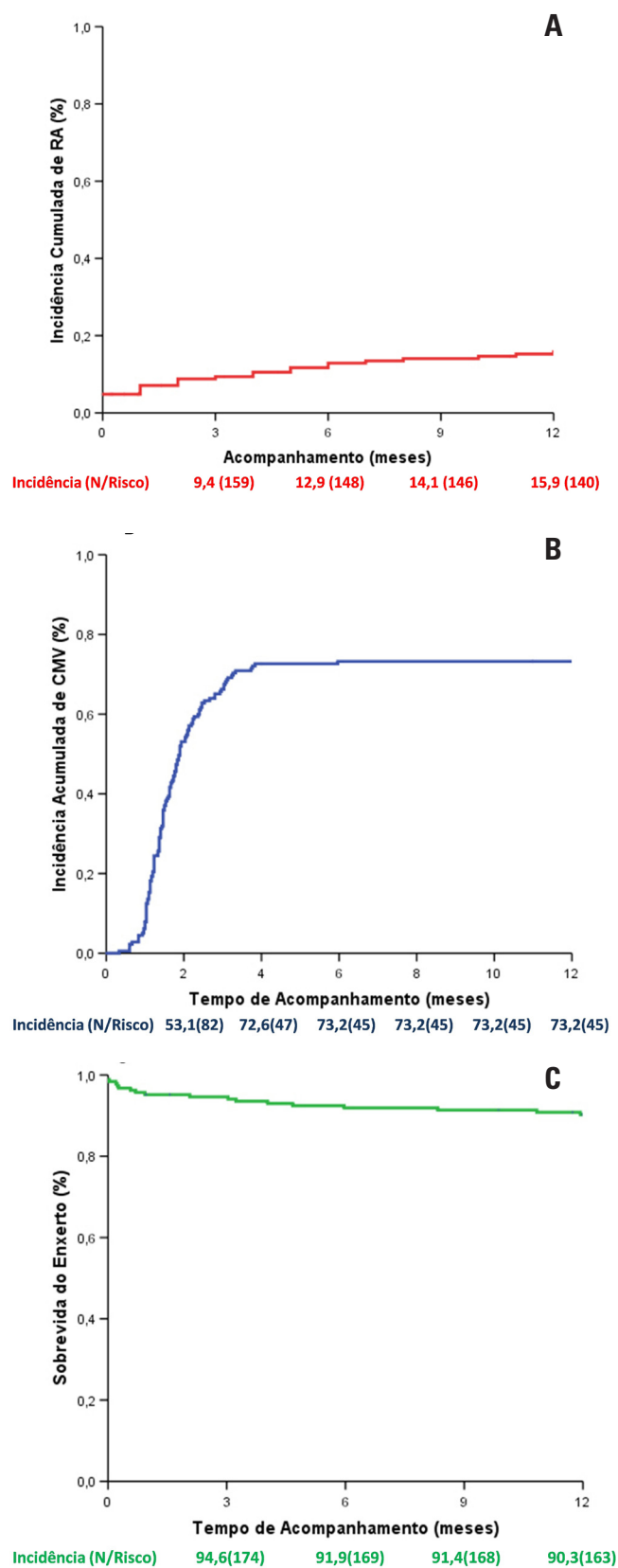
Entre Maio de 2002 e Julho de 2009 foram realizados 186 transplantes com doador falecido, com um tempo médio de acompanhamento de  $42,9 \pm 26,8$  meses. Entre esses pacientes 6,4% (12/186) evoluíram com perda do enxerto em um tempo médio de  $16,6 \pm 23,2$  meses (med-9,6 [0-79,5]), e 8,6% (16/186) faleceram em um período médio de  $14,0 \pm 16,3$  meses (med-9,0 [0-44,5]). A incidência acumulada de RA após um ano de transplante foi de 15,9% (Figura 2A) e infecção pelo CMV foi de 73,2% (Figura 2B). Nessa coorte, a sobrevida do enxerto após um ano de transplante, não censurada para óbito, foi de 90,3% (Figura 2C).

### Dados demográficos dos pacientes incluídos nos grupos de acordo com protocolo de indução

As principais variáveis, de acordo com o grupo em estudo, estão apresentadas na tabela 1. Os receptores que realizaram transplante no período mais recente (Grupo 3) tiveram idade inferior em relação aos realizados nos demais períodos, mas essa diferença não foi significativa. O tempo em lista de espera aumentou significativamente de  $34,3 \pm 26,2$  meses (med-25 [0-93]) no Grupo 1 para  $55,6 \pm 48,2$  meses (med-39 [1-237]) no Grupo 2 ( $p = 0,02$ , Grupo 1 *versus* Grupo 2), sendo de  $67,3 \pm 42,3$  meses (med-60 [6-209]) no Grupo 3 ( $p < 0,001$ , Grupo 1 *versus* 3;  $p = 0,04$ , Grupo 3 *versus* Grupo 2).

Da mesma forma, houve um aumento significativo no tempo de isquemia fria (TIF) ao longo de período avaliado (Figura 3A). Os pacientes do Grupo 1 apresentaram TIF médio de  $19,5 \pm 5,1$  horas, enquanto os do Grupo 2 apresentaram  $21,6 \pm 6,3$  horas ( $p = 0,07$ , Grupo 1 *versus* Grupo 2) e os do Grupo 3 tiveram  $24,6 \pm 5,7$  horas ( $p < 0,001$ , Grupo 1 *versus* Grupo 3;  $p = 0,002$ , Grupo 2 *versus* Grupo 3). Por outro lado, houve redução significativa no número de incompatibilidades HLA (*mismatches*):  $3,2 \pm 1,2$  no Grupo 1;  $2,7 \pm 1,4$  no Grupo 2 ( $p = 0,02$ , Grupo 1 *versus* Grupo 2);  $2,7 \pm 1,3$  no Grupo 3 ( $p = 0,01$ , Grupo 1 *versus* Grupo 3;  $p = ns$ , Grupo 2 *versus* Grupo 3).

No Grupo 1, 75% dos pacientes utilizaram ciclosporina como inibidor de calcineurina e 14,6% utilizaram tacrolimo, enquanto no Grupo 2 ocorreu uma inversão na escolha do inibidor de calcineurina, sendo que 12,3% utilizaram ciclosporina e 78,9% tacrolimo ( $p < 0,001$ , Grupo 1 *versus* Grupo 2). No Grupo 3, todos os pacientes utilizaram tacrolimo ( $p < 0,001$ , Grupo 1 *ver-*



**Figura 2.** A – Incidência acumulada de rejeição aguda ao longo do primeiro ano de transplante; B – Incidência acumulada de infecção pelo CMV ao longo do primeiro ano de transplante; C – Sobrevida do enxerto renal, não censurada para o óbito. Dados relacionados ao total de pacientes transplantados no período (N=196)

sus Grupo 3;  $p = 0,77$ , Grupo 2 versus Grupo 3). Nos Grupos 1 e 2, respectivamente 10,4% e 8,8% dos pacientes fizeram uso apenas de duas drogas ou do sirolimo em lugar no inibidor de calcineurina.

### Complicações após o transplante renal: DGF, RA e CMV

A principal complicação após o transplante foi DGF, ocorrendo em 72,7% dos pacientes dessa coorte. Acompanhando o aumento progressivo do TIF (Figura 3A), houve um incremento de 5,9% na incidência de DGF do Grupo 1 para o Grupo 2, que passou de 64,6% para 68,4%, e de 17% do Grupo 1 para o Grupo 3, que foi de 82,1% (Figura 3B). Apesar desse aumento clinicamente significativo, não houve diferenças estatísticas quando as prevalências foram comparadas entre os três grupos. A despeito do aumento no TIF, não houve diferenças significativas no tempo em que o paciente permaneceu em diálise após o transplante: Grupo 1:  $11,0 \pm 7,3$  dias (med-19 [8-34]); Grupo 2:  $12,6 \pm 8,5$  dias (med-20,5 [7-34,1]) ( $p = 0,38$ , Grupo 1 versus Grupo 2); Grupo 3:  $13,5 \pm 9,6$  dias (med-23,8 [12,5-38]) ( $p = 0,19$ , Grupo 1 versus Grupo 3;  $p = 0,76$ , Grupo 2 versus Grupo 3).

Ocorreram 33 episódios de RA, o que correspondeu a uma prevalência de 19,2%. Destas, 26 ocorreram no primeiro ano após o transplante, sendo 16 nos primeiros 3 meses. Não houve diferenças quanto à prevalência de RA de acordo com a quantidade máxima de doses de timoglobulina utilizada (Figura 4): 16,7% no Grupo 1; 16,3% no Grupo 2 ( $p = 0,99$ ); 16,4% no Grupo 3 ( $p = 0,88$ , Grupo 1 versus Grupo 3;  $p = 0,88$ , Grupo 2 versus Grupo 3). Quando considerados apenas os episódios de RA ocorridos no primeiro ano, uma vez que o objetivo da análise foi a ocorrência de eventos adversos naquele período, observou-se que a redução no número de doses de timoglobulina fez reduzir de forma significativa o tempo para a ocorrência de RA, sendo mais precoce nos pacientes que receberam o protocolo de indução com até quatro doses:  $139,9 \pm 135,6$  dias (med-78 [10-357]) no Grupo 1;  $163,71 \pm 44,9$  (med-191 [7-298]) no Grupo 2 ( $p = 0,05$ , Grupo 1 versus Grupo 2);  $44,9 \pm 49,3$  (med-18 [9-137]) no Grupo 3 ( $p = 0,08$ , Grupo 1 versus Grupo 3;  $p=0,01$ , Grupo 2 versus Grupo 3).

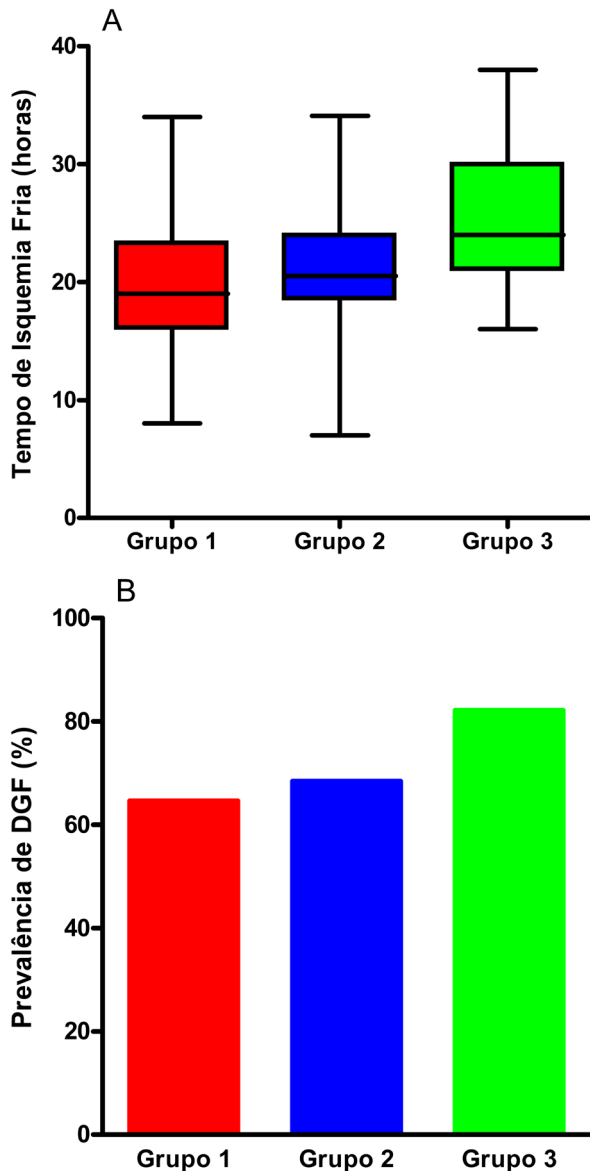
A infecção pelo CMV foi a principal complicação infecciosa, sendo detectada antigenemia positiva, independente de sintomatologia clínica, em 68,7% dos pacientes. Houve um aumento substancial na prevalência de CMV no Grupo 3, em relação ao Grupo 1 e 2. Como demonstrado na figura 4, a prevalência de CMV no Grupo 1 foi de 61,7%, enquanto no Grupo 2 foi de 66,1%. Já no Grupo 3, a prevalência de CMV foi de 83,3%; entretanto essas diferenças não foram estatisticamente significante:  $p = 0,85$ , Grupo 1 versus Grupo

**Tabela 1.** Dados demográficos de acordo com o grupo de pacientes

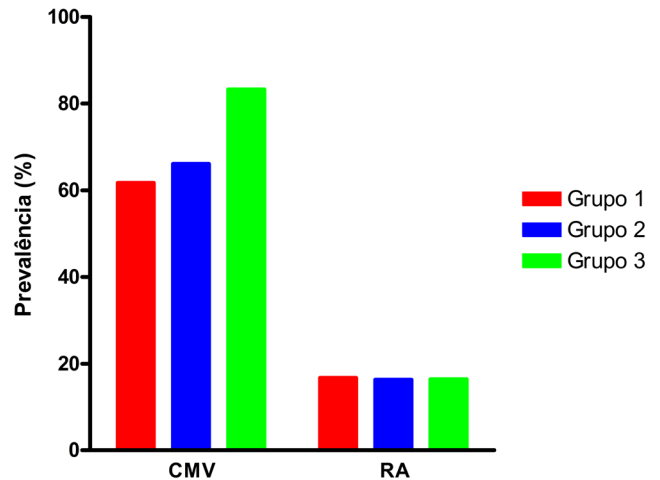
Variável	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
	n = 48	n = 57	n = 67
Idade (anos)	43,7 ± 14,1	43,9 ± 12,4	46,3 ± 13,5
Gênero (masculino) - %	60,4	54,4	50,7
Tempo em diálise (meses)	34,3 ± 26,2*	55,6 ± 48,2*	67,3 ± 42,3*
Idade do doador (anos)	34,8 ± 12,9	38,9 ± 12,5	39,2 ± 13,8
Gênero do doador (masculino) - %	66,7	40,4	54,5
Mismatches (números)	3,2 ± 1,2 <sup>†</sup>	2,7 ± 1,4 <sup>†</sup>	2,7 ± 1,3 <sup>†</sup>
TIF (horas)	19,5 ± 5,1 <sup>†</sup>	21,6 ± 6,3 <sup>†</sup>	24,6 ± 5,7 <sup>†</sup>
Tac / Csa (% / %)	14,6/75,0 <sup>#</sup>	78,9/12,3 <sup>#</sup>	100/0 <sup>#</sup>

TIF: tempo de isquemia fria; Tac: tacrolimo; Csa: ciclosporina.

\*Grupo 1 versus Grupo 2: p = 0,02; Grupo 1 versus Grupo 3: p < 0,001; Grupo 3 versus Grupo 2: p = 0,04; <sup>†</sup>Grupo 1 versus Grupo 2: p = 0,02; Grupo 1 versus Grupo 3: p = 0,01; Grupo 3 versus Grupo 2: p = 0,77; <sup>†</sup>Grupo 1 versus Grupo 2: p = 0,07; Grupo 1 versus Grupo 3: p < 0,001; Grupo 3 versus Grupo 2: p = 0,002; <sup>#</sup>Grupo 1 versus Grupo 2: p < 0,001; Grupo 1 versus Grupo 3: p < 0,001; Grupo 3 versus Grupo 2: p = 0,44.

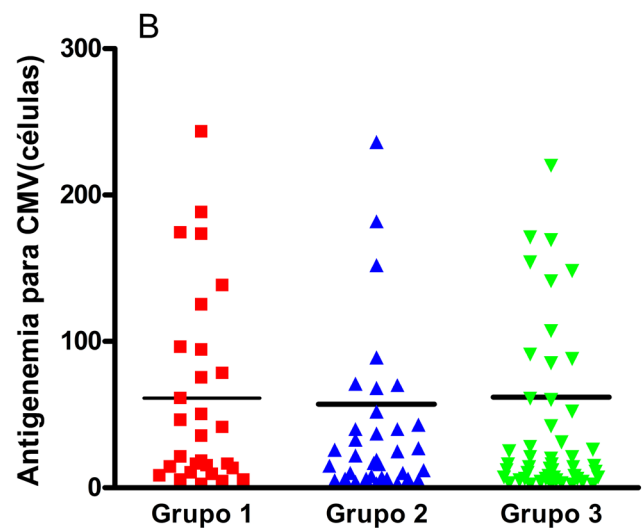
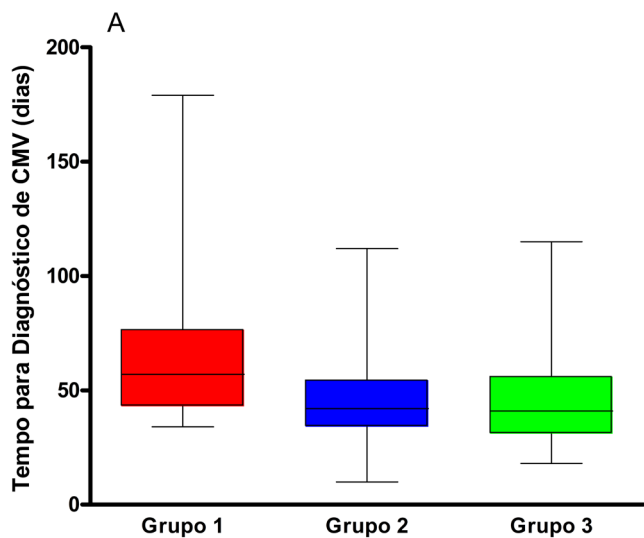


**Figura 3.** A – Faixa de variação do tempo de isquemia fria de acordo com os grupos: Grupo 1- 19,5±5,1 horas, Grupo 2- 21,6±6,3 horas (p=0,07) e Grupo 3- 24,6±5,7 horas (p<0,001, 1x3; p=0,002, 2x3). B – Prevalência de *delayed graft function* (DGF) de acordo com os grupos: Grupo 1 - 64,6%, Grupo 2 - 68,4% (p=0,97) e Grupo 3 - 82,1% (p=0,50, 1x3; p=0,60, 2x3).



**Figura 4.** Infecção pelo Citomegalovírus (CMV): grupo 1- 61,7%; grupo 2- 66,1% (p=0,85) e grupo 3- 83,3% (p=0,37, 1x3; p=0,48, 2x3). Rejeição Aguda (RA): grupo 1- 16,7%; grupo 2- 16,3% (p=0,99); grupo 3- 16,4% (p=0,88, 1x3; p=0,88, 2x3)

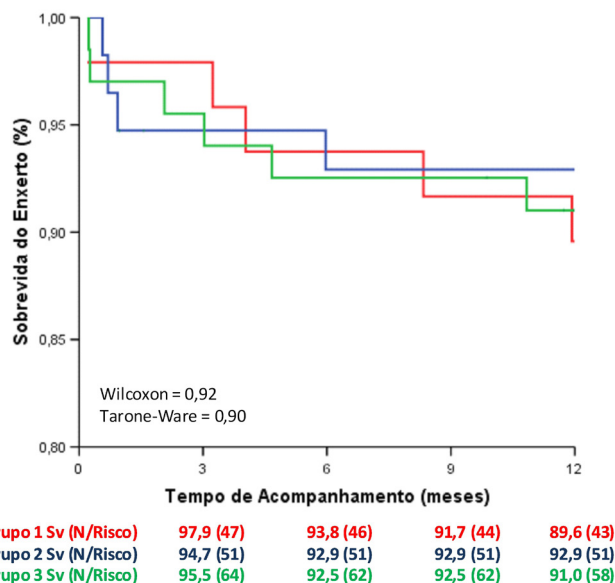
2; p=0,37, Grupo 1 versus Grupo 3; p=0,48, Grupo 2 versus Grupo 3. O diagnóstico da viremia, por outro lado, foi significativamente mais precoce nos Grupos 2 e 3 em relação ao Grupo 1 (Figura 5A). No Grupo 1, o diagnóstico de CMV foi estabelecido após 64,3 ± 28,5 dias (med-57 dias [34-179]), com uma redução para 56,8 ± 63,1 dias (med-42 [10-410]) no Grupo 2 (p = 0,005, Grupo 1 versus Grupo 2) e 47,1 ± 22,5 dias (med-41 [18-115]) no Grupo 3 (p < 0,001, Grupo 1 versus Grupo 3; p = 0,55, Grupo 2 versus Grupo 3). Como demonstrado na figura 5B, a carga viral detectada pelo número de células infectadas com o vírus por meio da antigenemia foi semelhante nos três grupos: Grupo 1: 61,1 ± 66,5 células (med-23 [2-243]); Grupo 2: 56,91 ± 118,8 células (med-20 [3-680]) (p = 0,25, Grupo 1 versus Grupo 2); Grupo 3: 61,9 ± 103,9 (med-15 [2-480]) (p = 0,19, Grupo 1 versus Grupo 3; p = 0,76, Grupo 2 versus Grupo 3).



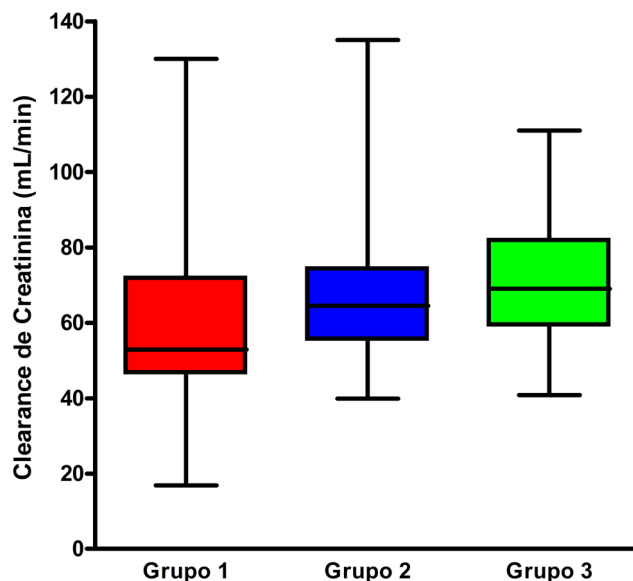
**Figura 5.A** – Tempo após o transplante para o diagnóstico de infecção pelo Citomegalovírus (CMV): grupo 1- 64,3±28,5 dias, grupo 2- 56,8±63,1 dias (p=0,005) e grupo 3- 47,1±22,5 dias (p<0,001, 1x3; p=0,55, 2x3). **B** – Antigenemia para o Citomegalovírus (CMV): grupo 1 – 61,1±66,5 células, grupo 2 – 56,91±118,8 células (p=0,25) e grupo 3 – 61,9±103,9 células (p=0,19, 1x3; p=0,76, 2x3).

**Sobrevida e função do enxerto renal**

A sobrevida do enxerto renal um ano após o transplante, não censurada para o óbito, foi semelhante nos três grupos (Figura 6): 89,6%, 92,9% e 91,0%, nos Grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Entre os pacientes que permaneceram com o enxerto funcionando ao final de um ano, a função do enxerto renal nesse período, conforme demonstrado na figura 7, foi melhor no Grupo 3, que alcançou uma média de 71,2 ± 18,4 mL/min, contra 67,0 ± 18,4 mL/min no Grupo 2 (p = 0,06, Grupo 3 versus Grupo 2) e 57,0 ± 20,0 mL/min no Grupo 1 (p < 0,001, Grupo 1 versus Grupo 3; p = 0,008, Grupo 1 versus Grupo 2).



**Figura 6.** Sobrevida do enxerto renal



**Figura 7.** Grupo 1- 57,0±20,0 mL/min; Grupo 2- 67,0±18,4 mL/min (p=0,008); Grupo 3- 71,2±18,4 mL/min (p<0,001, 1x3; p=0,06, 1x2).

**Custo com timoglobulina**

Como esperado, houve uma redução substancial no custo com a timoglobulina (Tabela 2) com a modificação do protocolo de indução ao longo do tempo. Como apresentado anteriormente, o Grupo 1 utilizou uma média de 9,0 ± 3,8 doses, com um custo estimado médio de US\$ 7.925,87 ± 4.493,83 (med- 7.576,02 [1.681,96-21.024,50]). Já o Grupo 2 utilizou um total de 4,9 ± 1,5 doses, com custo estimado de US\$ 4.409,87 ± 1772,71 (med-4.060,73 [1.547,40-10.308,01]) (p < 0,001, Grupo 1 versus Grupo 2). O Grupo 3 utilizou 3,9 ± 0,8 doses,

**Tabela 2.** Estimativa de custo de acordo com o grupo de pacientes

Variável	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Media ± DP	7.925,87 ± 4.493,83	4.409,87 ± 1.772,71	3.564,76 ± 1.046,76
Mediana	7.567,02	4.060,73	3.485,56
Min-Máx	1.681,96-21.024,50	1.547,40-10.308,01	468,55-5.406,30

DP: desvio padrão; Min: valor mínimo; Máx: valor máximo.

p < 0,001 (Grupo 1 versus Grupo 2); p < 0,001 (Grupo 1 versus Grupo 3); p = 0,006 (Grupo 2 versus Grupo 3).  
Valores expressos em dólares

sendo o custo estimado de US\$ 3.564,76 ± 1.046,76 (med-3.485,56 [468,55-5.406,30]) (p < 0,001, Grupo 1 versus Grupo 3; p=0,006, Grupo 2 versus Grupo 3).

## DISCUSSÃO

Indução imunológica com anticorpos antilinfócitos tem sido utilizada em larga escala como estratégia para redução do risco de RA em transplante de rim. Anticorpos policlonais depletadores de linfócitos, como timoglobulina, estão relacionados à menor incidência de rejeição grave em pacientes de alto risco, quando comparados a anticorpos monoclonais não depletadores, como o basilixmab<sup>(12)</sup>. Entre os anticorpos policlonais depletadores, a timoglobulina é o mais efetivo, sem apresentar aumento nos efeitos colaterais, quando comparados a ATGAM ou anticorpos antilinfócitos<sup>(18)</sup>. Por esses motivos, a indução imunológica com timoglobulina tem sido considerada uma das estratégias mais adequadas para redução de risco de RA, bem como para melhor sobrevida em longo prazo em pacientes de alto risco. Pacientes candidatos a transplante de rim com histórico de sensibilização, especialmente aqueles submetidos a retransplante, são considerados pacientes de alto risco; entretanto a LIR também tem sido implicada como um fator desencadeador de resposta imunológica celular, com consequente risco de rejeição e pior sobrevida do enxerto<sup>(6,19)</sup>. Já está demonstrado que o uso de timoglobulina antes da reperfusion está associado à redução na incidência de DGF, bem como à recuperação mais rápida da função<sup>(15)</sup>. Nesse contexto, pacientes submetidos a transplante de rim com alto risco de DGF têm se beneficiado com o uso de timoglobulina, com redução de eventos clínicos adversos.

O Serviço de Transplante em questão neste estudo iniciou o uso de timoglobulina em 2002 para todos os pacientes que receberam rim de doador falecido, não apenas visando à redução do risco de RA, mas tendo em vista também a redução dos efeitos da LIR. Durante o período avaliado, houve aumento significativo do TIF, o que significou aumento proporcional na prevalência de DGF, que alcançou 80% no período mais recente. Apesar de haver uma expectativa de redução na prevalência de DGF com o uso da dose intraoperatória de timoglobulina<sup>(15)</sup>, alguns autores afirmam que, em trans-

plantes realizados com TIF muito elevado, especialmente acima de 24 horas, poucas estratégias são eficazes em reduzir a prevalência de DGF<sup>(12)</sup>. A despeito disso, mesmo com o aumento do TIF e da taxa de DGF, não foi observado aumento da incidência de RA ou impacto na função do enxerto renal em até um ano de seguimento, o que sugere que, mesmo sem reduzir o risco de DGF, o uso de timoglobulina pode estar associado à proteção dos efeitos tardios da LIR no enxerto renal<sup>(20)</sup>.

Apesar de muitos trabalhos clínicos demonstrarem que a indução imunológica com timoglobulina é segura e eficaz<sup>(12-16)</sup>, o melhor esquema, quanto a número de doses, frequência e dose acumulada do anticorpo, ainda não está estabelecido. Grande parte da experiência com o uso de anticorpos em transplante de rim foi adquirida por meio do seu uso para o tratamento da RA que, em alguns protocolos, chegava a um total 14 doses. A partir de então, estudos compararam diversos protocolos de indução com o objetivo de definir quantas doses ou quantos dias de tratamento seriam necessários para estabelecer um perfil de segurança para o uso de timoglobulina como indução imunológica<sup>(13,14)</sup>. Neste estudo, o Grupo 1 utilizou um protocolo extrapolado daquele indicado para o tratamento da RA, podendo ser utilizado até 14 doses, desde que os pacientes permanecessem em DGF. A partir de 2004, após análise dos resultados obtidos numa primeira fase, demonstrou-se que o uso de 7 doses era tão seguro quanto o uso de até 14 doses<sup>(21)</sup>. Após esse período, alguns trabalhos clínicos publicados com comparação de protocolos de indução com timoglobulina confirmaram que o uso de cinco a sete doses era seguro e eficaz. Recentemente, novos dados publicados passaram a indicar que a dose acumulada de timoglobulina entre 4,0 e 7,0 mg/kg garantia excelentes resultados, independente da frequência da administração do anticorpo<sup>(12-16)</sup>. No último período em análise, definido como Grupo 3, passaram-se a utilizar quatro doses, o que significou dose acumulada de 4,5 mg/kg. Os resultados aqui apresentados demonstraram que a redução do número total de doses para até quatro doses de timoglobulina não aumentou a prevalência de RA, bem como não alterou a sobrevida do enxerto ao final de um ano de seguimento. Brennan et al., em estudo que utilizou de 5 a 7 dias de indução com timoglobulina, identificaram incidência de RA confirma-



da por biópsia (15,6%) semelhante à demonstrada no grupo 3<sup>(12)</sup>. O aumento na prevalência de DGF foi atribuído ao aumento progressivo no TIF e não à redução no número de doses do anticorpo; não houve, contudo, aumento significativo no tempo em que o paciente persistiu em DGF.

Uma observação interessante deste estudo foi a melhor função do enxerto renal ao final de um ano no Grupo 3. O desenho do estudo não permite atribuir tal melhora à modificação no protocolo de indução, especialmente porque não é possível comparar as diversas variáveis que podem interferir na evolução da função renal com o período em que o transplante fora realizado. No entanto, um importante estudo clínico utilizando timoglobulina em pacientes de alto risco demonstrou que a indução associada ao uso de tacrolimo em baixas doses foi o esquema associado à melhor função do enxerto, quando comparado com tacrolimo em doses habituais ou sirolimo<sup>(22)</sup>. Recentemente, o Serviço de Transplantes do Hospital Albert Einstein tem adotado a estratégia de utilizar doses mais baixas do inibidor de calcineurina, visando a níveis intermediários. Outra dificuldade para comparar os resultados da função renal em cada grupo avaliado aqui com os de outros estudos é que poucos têm utilizado a função renal como desfecho primário<sup>(23)</sup>.

Outro importante desfecho avaliado neste estudo foi a infecção pelo CMV. O uso de anticorpos depletors de linfócitos está claramente associado ao aumento no risco de infecção pelo CMV. Pacientes que utilizam anticorpos depletors de linfócitos, tanto para indução imunológica, quanto para tratamento de RA, podem apresentar prevalência de viremia para CMV de até 80%<sup>(17)</sup>. Por esse motivo, quando se opta pelo uso desses anticorpos, deve-se adotar um das duas estratégias de redução de risco para doença citomegálica: tratamento preemptivo ou profilaxia<sup>(24)</sup>. No protocolo em questão, a estratégia adota foi o tratamento preemptivo, que não reduz a incidência de viremia, entretanto é tão eficaz quanto à profilaxia para redução no risco de doença. Apesar de não ter sido demonstrado nos resultados deste trabalho, a prevalência de doença invasiva esteve entre 6% a 8%, o que é semelhante ao resultado de outros estudos, não havendo diferenças entre os grupos. Contrariando a expectativa, pacientes que receberam uma dose acumulada menor de timoglobulina (Grupo 3) tiveram maior prevalência de viremia, além do diagnóstico passar a ser mais precoce. Uma análise parcial do impacto da imunossupressão na prevalência de CMV foi avaliado numa coorte de pacientes incluídos neste trabalho e demonstrou que o tacrolimo esteve relacionado ao aumento de duas vezes no risco de viremia, quando comparado à ciclosporina<sup>(25)</sup>. Todos os pacientes no Grupo 3 utilizaram tacrolimo, enquanto

78,9% no Grupo 2 e apenas 14,6% no Grupo 1. Esse pode ter sido um dos motivos pelos quais houve aumento significativo na prevalência de CMV entre os pacientes que utilizaram menos doses de timoglobulina.

Em populações de pacientes com alto risco de DGF e RA, o uso de indução imunológica é uma estratégia eficaz e segura para redução dos efeitos adversos no curto e no longo prazo<sup>(12-16)</sup>. A análise apresentada aqui demonstrou que ajustar o protocolo de indução com timoglobulina com um número reduzido de doses, com dose acumulada de 4,5 mg/kg, não modificou a prevalência de RA ou a sobrevida do enxerto em um ano de seguimento. Apesar da diferença no tipo de inibidor de calcineurina utilizado (ciclosporina ou tacrolimo), é possível atestar que minimizar o número de doses de timoglobulina associado ao uso de tacrolimo é seguro e eficaz nesse tipo de paciente. Além de se observar uma melhora substancial da função do enxerto renal ao final de um ano, o que, como já discutido, não se pode atribuir à alteração no protocolo de indução, um benefício indiscutível e diretamente relacionado à adequação do número de doses de timoglobulina é o custo com o transplante. Apesar de ainda ser a terapia de substituição renal mais barata no longo prazo, quando comparada à diálise, os gastos no primeiro ano após o transplante ainda são substancialmente mais elevados, sobretudo por causa do custo da realização do transplante<sup>(26)</sup>. No que tange ao uso da indução imunológica, demonstrou-se aqui uma redução significativa no custo do tratamento inicial, avaliado pela estimativa de gasto com timoglobulina, o que pode ser considerado um benefício adicional.

## REFERÊNCIAS

1. Starzl TE, Marchioro TL, Hutchinson A, Porter KA, Cerilli GJ, Brettschneider L. The clinical use of antilymphocyte globulin in renal homotransplantations. *Transplantation*. 1967;5(4):1100-5.
2. Mueller TF. Thymoglobulin: an immunologic overview. *Curr Opin Organ Transplant*. 2003;8:305-12.
3. Lebranchu Y, Bridoux F, Büchler M, Le Meur Y, Etienne I, Toupance O, et al. Immunoprophylaxis with Basiliximab compared with Antithymocyte Globulin in renal transplant patients receiving MMF-containing triple therapy. *Am J Transplant*. 2002;2(1):48-56.
4. Chertow GM, Milford EL, Mackenzie HS, Brenner BM. Antigen-independent determinants of cadaveric kidney transplant failure. *JAMA*. 1996;276(21):1732-6.
5. Cecka JM, Cho YW, Terasaki PI. Analyses of the UNOS Scientific Renal Transplant Registry at three years—early events affecting transplant success. *Transplantation*. 1992;53(1):59-64.
6. Ojo AO, Wolf RA, Held PJ, Prot FK, Schmouder RL. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation*. 1997;63(7):968-74.
7. Lemay S, Rabb H, Postler G, Singh AK. Prominent and sustained up-regulation of gp130-signalin cytokines and the chemokine MPI-2 in murine renal ischemia-reperfusion injury. *Transplantation*. 2000;69(5):959-63.

8. Shokes DA, Cecka JM. Deleterious effects of delayed graft function in cadaveric renal transplant recipients independent of acute rejection. *Transplantation*. 1998;66(12):1697-701.
9. Burne MJ, Daniels F, El Ghandour A, Mauiyedi S, Colvin RB, O'Donnell MP, et al. Identification of the CD4+ T Cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure. *J Clin Invest*. 2001;108(9):1283-90.
10. Yokota N, Daniles F, Crosson J, Rabb H. Protective effect of T cell depletion in murine renal ischemia-reperfusion injury. *Transplantation*. 2002;74(6):759-63.
11. Woodside KJ, Hu M, Meng T, Hunter GC, Sower LE, Daller JA. Differential effects of interleukin-2 blockade on apoptosis in naïve and active human lymphocytes. *Transplantation*. 2003;75(10):1631-5.
12. Brennan DC, Daller JA, Lake KD, Cibrik D, Del Castillo DD; Thymoglobulin Induction Study Group. Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation. *N Eng J Med*. 2006;355(19):1967-77.
13. Agha IA, Rueda J, Alvarez A, Singer GG, Miller BW, Flavin K, et al. Short course induction immunosuppression with Thymoglobulin for renal transplant recipients. *Transplantation*. 2002;73(3):473-5.
14. Stevens RB, Mercer DF, Grant WJ, Freifeld AG, Lane JT, Groggel GC, et al. Randomized trial of single-dose versus divided dose rabbit anti-thymocyte globulin induction in renal transplantation: an interim report. *Transplantation*. 2008;85(10):1391-9.
15. Goggins WC, Pascual MA, Powelson JA, Magee C, Tolkooff-Rubin N, Farrell ML, et al. A prospective, randomized, clinical trial of intraoperative versus postoperative Thymoglobulin in adult cadaveric renal transplant recipients. *Transplantation*. 2003;76(5):798-802.
16. Peddi VR, Bryant M, Roy-Chaudhury P, Woodle S, First MR. Safety, efficacy, and cost analysis of Thymoglobulin induction therapy with intermittent dosing based on CD3+ lymphocyte counts in kidney and kidney-pancreas transplant recipients. *Transplantation*. 2002;73(9):1514-8.
17. Ozaki KS, Pestana JOM, Granato CFH, Pacheco-Silva A, Camargo LFA. Sequential cytomegalovirus antigenemia monitoring in kidney transplant patients treated with antilymphocyte antibodies. *Transplant Infect Dis*. 2004;6(2):63-8.
18. Hardinger KL, Schnitzler MA, Miller B, Lowell JA, Shenoy S, Koch MJ, et al. Five-years follow up of Thymoglobulin versus ATGAM induction in adult renal transplantation. *Transplantation*. 2004;78(1):136-41.
19. Goes N, Urmson J, Ramassar V, Halloran PF. Ischemic acute tubular necrosis induces an extensive local cytokine response. Evidence for induction of interferon-gamma, transforming growth factor-beta 1, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin-2, and interleukin-10. *Transplantation*. 1995;59(4):565-72.
20. Moura LR, Pereira MG, Durão M, Tonato EJ, Matos AC, Wroclawski ER, et al. Thymoglobulin as an induction therapy: protection against ischemia and reperfusion injury. *Einstein*. 2006;4(4):315-20.
21. Requião-Moura LR, Durão MS, Tonato EJ, Pereira MG, Wroclawski ER, Matos AC, et al. Effect of Thymoglobulin in graft survival and function 1 year after kidney transplantation using deceased donors. *Transplant Proc*. 2006;38(6):1895-7.
22. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gürkan A, Margreiter R, Hugo C, Grinyó JM, Frei U, Vanrenterghem Y, Daloz P, Halloran PF; ELITE-Symphony Study. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Eng J Med*. 2007;357(25):2562-75.
23. Demirbas A, Hugo C, Grinyó J, Frei U, Gürkan A, Marcén R, et al. Low toxicity regimens in renal transplantation: a country subset analysis of the Symphony study. *Transplant International*. 2009;22(12):1172-81.
24. Kalil AC, Levitsky J, Lyden E, Stoner J, Freifeld A. Meta-analysis: the efficacy of strategies to prevent organ disease by Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Ann Intern Med*. 2005;143(12):870-80.
25. Requião-Moura LR, Arruda EF, Tonato EJ, Chinen R, Durão MS, Pacheco-Silva A. Effect of Cytomegalovirus Viremia in Early Tubular Proximal Injury and Late Renal Graft Function. *Am J Transplant*. 2010;10:332 [abstract].
26. Zelmer JL. The economic burden of end-stage renal disease in Canada. *Kidney Internat*. 2007;72(1):1122-9. doi:10.1038/sj.ki.5002459.