

Citocinas e quimiocinas no transplante renal

Cytokines and chemokines in renal transplantation

Autores

André Barreto
Pereira¹

Nilton Alves de
Rezende²

Antônio Lúcio
Teixeira Junior²

Mauro Martins
Teixeira³

Ana Cristina Simões
e Silva⁴

¹Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Serviço de Nefrologia e Serviço de Transplante Renal da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte – Belo Horizonte, MG, Brasil

²Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFMG – Belo Horizonte, MG, Brasil

³Departamento de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG – Belo Horizonte, MG, Brasil

⁴Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFMG – Belo Horizonte, MG, Brasil

Data de submissão: 07/05/2009
Data de aprovação: 31/08/2009

Correspondência para:
Ana Cristina Simões e
Silva

Avenida Bernardo Monteiro, 1300/ apto 1104
Funcionários – Belo Horizonte – MG
CEP: 30150-281
E-mail: acsilva@hotmail.com

Declaramos a inexistência de conflitos de interesse.

RESUMO

O transplante renal é a melhor modalidade de terapia renal substitutiva até o momento. Infelizmente, a sobrevida do enxerto é interrompida pelos episódios de rejeição aguda ou mesmo de fibrose intersticial/atrofia tubular. A dosagem de quimiocinas e citocinas urinárias como ferramenta alternativa para o diagnóstico dessas complicações tem sido relatada nos últimos anos. Estas substâncias estão sabidamente relacionadas com os mecanismos imunoinflamatórios do transplante renal, podendo ser detectadas no tecido renal, no plasma e na urina de pacientes transplantados. Drogas anti-inflamatórias, inibidores do sistema renina angiotensina e alguns antagonistas de receptores de citocinas, ainda utilizados em nível experimental, podem interferir com a expressão desses mediadores do sistema imune e, por conseguinte, alterar a evolução do transplante renal. Neste sentido, pretende-se neste artigo fazer uma revisão dos estudos sobre a mensuração de citocinas/quimiocinas e dos seus receptores na urina, no plasma e no tecido renal de pacientes transplantados, no intuito de avaliar uma possível associação entre os níveis desses mediadores e as complicações do transplante renal e sobrevida do enxerto.

Palavras-chave: citocinas, quimiocinas, rejeição aguda, IF/TA, função renal.

[J Bras Nefrol 2009;31(4):286-296]©Elsevier Editora Ltda.

ABSTRACT

Renal transplantation is currently the best modality of renal substitutive therapy. Unfortunately graft survival is interrupted by episodes of acute rejection or even interstitial fibrosis/tubular atrophy. The measurement of urinary chemokines and cytokines as an alternative tool to diagnose these complications has been reported in past years. Those substances are clearly related to the immunoinflammatory mechanisms of renal transplantation, and can be detected in renal tissue, plasma, and urine samples of transplant recipients. Anti-inflammatory drugs, renin-angiotensin system inhibitors, and some antagonists of cytokines' receptors, although used only experimentally, can interfere with the expression of these immune system mediators and consequently alter renal transplantation outcome. This article reviewed studies on the measurement of cytokines/chemokines and their receptors in urine, plasma, and renal tissue of transplant recipients, aiming at evaluating a possible association of the levels of those mediators with renal transplantation complications and allograft survival.

Keywords: cytokines, chemokines, acute rejection, IF/TA, renal function.

INTRODUÇÃO

Vários estudos têm mostrado que a presença de rejeição aguda (RA) e a fibrose intersticial/atrofia tubular (IF/TA) são fatores importantes para a evolução do transplante renal.^{1,2} Embora a introdução de novas medicações imunossupressoras tenha propiciado melhor controle da RA, em torno de 10% dos pacientes transplantados ainda desenvolvem esta complicação no primeiro ano pós-transplante.³ Além disso, em torno de 10 anos após o transplante, quase a totalidade dos pacientes apresenta IF/TA.⁴ Neste contexto, trabalhos recentes têm mostrado que algumas citocinas/quimiocinas podem ser consideradas marcadores da RA e da IF/TA.⁵ Por meio de revisão sistemática da literatura, utilizando-se o *software* OVID no período de 1950 até a 4ª semana de janeiro de 2009, verificou-se grande variabilidade nos estudos referentes às citocinas e quimiocinas no transplante renal, desde a metodologia até os desfechos clínicos avaliados.

Dessa forma, este artigo de revisão tem por objetivo apresentar uma síntese da literatura atual com relação ao papel da mensuração de citocinas/quimiocinas e de seus receptores na urina, no plasma, no tecido renal de pacientes transplantados, no intuito de avaliar uma possível associação entre seus níveis e os eventos imunológicos do transplante renal, como a IF/TA, a RA e a sobrevida do rim transplantado. Serão também discutidos polimorfismos genéticos das citocinas e a relação dessas substâncias com o uso de drogas anti-inflamatórias e os processos infecciosos associados ao transplante renal.

CITOCINAS E QUIMIOCINAS – CONCEITO

As citocinas são proteínas solúveis, de baixo peso molecular, produzidas geralmente em resposta ao estímulo antigênico, e que funcionam como um mensageiro químico para regulação do sistema imune adaptativo e inato.⁶ Se forem sintetizadas por fagócitos mononucleares, são denominadas monocinas e, quando produzidas por linfócitos, linfocinas. Por outro lado, existem evidências de que uma mesma proteína possa ser elaborada por linfócitos, monócitos e outras células, incluindo as células endoteliais. Historicamente, algumas citocinas foram denominadas interleucinas (IL), por serem produzidas por leucócitos e agir em outros leucócitos. Apesar de estudos posteriores mostrarem que as interleucinas podem atuar e ser produzidas por outras células além dos leucócitos, a nomenclatura foi mantida por questões de padronização.⁷ De fato, estas proteínas são produzidas por todas as células envolvidas na resposta e na apresentação de antígeno, especialmente pelos linfócitos T *helper*.

As quimiocinas são citocinas que apresentam papel central na fisiologia leucocitária, ao controlar o tráfego basal e inflamatório. A denominação quimiocina advém da propriedade de algumas citocinas em exercer quimiotaxia para leucócitos e outras células inflamatórias. Em outras palavras, as citocinas quimiotáticas passaram a ser chamadas de quimiocinas.⁷ As quimiocinas são polipeptídeos de 8 a 12 kD, com duas alças internas de dissulfeto, classificadas em famílias com base no número e na localização de resíduos de cisteínas N-terminais. As duas principais famílias são a CC, quimiocinas com resíduos de cisteína adjacentes, e família CXC, em que estes resíduos são separados por um aminoácido.⁷ As quimiocinas podem ser categorizadas em induzíveis e constitutivas. As induzíveis podem ser estimuladas por qualquer fator que altere a homeostase celular, e seu RNA mensageiro pode aumentar mais de 300 vezes em poucas horas de ativação.⁸ As constitutivas são responsáveis pelo tráfego leucocitário basal e pela formação da arquitetura de órgãos linfóides secundários.⁸

CITOCINAS E QUIMIOCINAS NO TRANSPLANTE RENAL

MECANISMOS IMUNOINFLAMATÓRIOS DO TRANSPLANTE RENAL

O transplante renal deve ser visto como um processo indutor de intensa reação inflamatória, onde um órgão proveniente do doador, repleto de antígenos imunogênicos, é apresentado ao complexo sistema imune do receptor. Em consequência, é esperado que as citocinas e quimiocinas tenham papel importante na mediação desse processo.

O papel das citocinas e quimiocinas no transplante renal é bastante complexo e os estudos mostram a participação tanto de mediadores relacionados com a produção de células T *helper* 1 (Th1) quanto de células T *helper* 2 (Th2). Segundo Cardoni *et al.*,⁵ na etapa de indução da resposta inflamatória do transplante renal, células apresentadoras de antígenos, linfócitos T ativados e células *natural killers* (NK), na presença de IL-12, IL-18 e fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) levam ao aumento de produção de células Th1. Consequentemente, ocorre aumento da expressão de genes de CD-26 e LAG-3 (genes de ativação linfocitária), e de receptores CCR5 (receptor de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3 e MIP-1 β /CCL4) e CXCR3 (receptor de IP-10/CXCL10, I-TAC/CXCL11 e MIG/CXCL9), expressos em células Th1 ativadas. Por outro lado, se estiverem presentes as IL-4, IL-10, IL-13, ocorre aumento da produção de células Th2 e estímulo da expressão de CD30, CD62L (cuja expressão

promove recrutamento de órgãos linfoides periféricos), CCR3 (receptor de eotaxina em eosinófilos), CCR4 (receptor de TARC/CCL17, quimiocina do timo regulada por ativação), MDC/CCL22 (quimiocina derivada de macrófagos, expressa em células T, NK e células dendríticas), CCR8 (receptor de I-309/CCL1, derivado do gene 3 de ativação celular, que é expresso em células T e neutrófilos) e CXCR4 (receptor de SDF-1 α /CXCL12, que é um fator derivado do estroma expresso em células T-CD4 ativadas, células dendríticas e eosinófilos).⁵

De acordo com Hu e Knechtel,⁹ as quimiocinas podem influenciar pelo menos três aspectos da biologia do enxerto renal: 1) a restauração do fluxo sanguíneo no enxerto pode levar à lesão do tipo isquemia/reperfusão, na qual as quimiocinas recrutam leucócitos; 2) respostas do receptor à infecção durante a supressão imunológica envolvem as quimiocinas e 3) os componentes inflamatórios na RA e na IF/TA são controlados por quimiocinas.

DROGAS IMUNOMODULADORAS

Algumas drogas com ação imunomoduladora e anti-inflamatória foram avaliadas no cenário do transplante renal. Grone *et al.*¹⁰ avaliaram a ação de um antagonista do receptor de RANTES/CCL5, o Met-RANTES, em ratos transplantados em uso de ciclosporina (Csa), sem uso de Csa, usando Csa e Met-RANTES, e sem uso de Csa mas em uso de Met-RANTES. Esses autores demonstraram que o antagonista do receptor de RANTES reduz a adesão dos leucócitos ao endotélio e a expressão de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , TNF- β e IFN- δ .¹⁰ Avaliando, também, este mesmo antagonista, Song *et al.*¹¹ demonstraram uma redução da infiltração de linfócitos e macrófagos em enxertos de ratos tratados com Csa após 2 semanas de transplante, além da redução da expressão de RNA mensageiro para IL-2, IL-1 β , TNF- α e RANTES/CCL5. Após 28 semanas de tratamento, houve redução da glomerulosclerose, da fibrose intersticial, da atrofia tubular, da proliferação intimal arterial e da infiltração de monócitos.¹¹ O Met-RANTES também reduziu a expressão de TGF- β e PDGF-B (fator de crescimento derivado de plaquetas), apesar de não alterar a depuração de creatinina.¹¹ Horuk *et al.*¹² utilizaram um potente antagonista do receptor CCR1 (ligante de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3 e MCP-3/CCL7), o BX 471, em coelhos transplantados renais em uso de Csa, e demonstraram que este antagonista reduz a necrose do tecido renal, mas não é capaz de substituir o inibidor de calcineurina. O BX 471 está sendo apontado como um possível candidato para a terapêutica imunossupressora.¹²

Os inibidores de enzima conversora de angiotensina (IECA) são amplamente conhecidos como renoprotetores, em razão de suas ações antifibróticas e atividade no endotélio vascular.^{13,14} Avaliando biópsias renais de grupos de ratos transplantados em uso de IECA, Noris *et al.*¹⁵ demonstraram melhora da função renal e menor expressão de MCP-1/CCL2, mas não de RANTES/CCL5 e TGF- β após 13 meses de acompanhamento.

As estatinas são drogas efetivas no tratamento das dislipidemias. Estudos têm demonstrado sua ação anti-inflamatória nos vasos sanguíneos, estabilizando placas de ateroma e melhorando a função endotelial.¹⁶ Wang *et al.*¹⁷ estudaram pacientes transplantados renais em uso de estatinas e mostraram redução dos níveis séricos de MCP-1/CCL2, RANTES/CCL5, CCR5 e CCR2 após o início da administração da droga.

Em resumo, o potencial terapêutico desses novos imunomoduladores e de fármacos que interferem com o sistema imunológico nos processos de RA e IF/TA ressalta a importância das citocinas e quimiocinas no transplante renal.

CITOCINAS E QUIMIOCINAS NO TECIDO RENAL E NO SANGUE DE TRANSPLANTADOS RENAIIS

Várias quimiocinas e citocinas têm sido pesquisadas no sangue e no tecido renal de transplantados renais.⁵ Algumas dessas substâncias têm sido relacionadas com IF/TA, RA, presença de dislipidemia e infecções.⁵

Na prática clínica do transplante renal, a biópsia renal ainda é o exame de referência para o diagnóstico de RA ou IF/TA.¹⁸ Por outro lado, na avaliação do tecido renal, existe controvérsia quanto à predominância de quimiocinas e citocinas. Acredita-se que receptores, CCR5 e CXCR3, e seus ligantes apresentem maior expressão na RA.⁵

Robertson *et al.*¹⁹ mostraram maior expressão de MCP-1/CCL2 e MIP-1/CCL4 em rejeições agudas classificadas como BANFF 2 com relação aos casos BANFF 1, em um estudo de 47 biópsias renais com menos de 48 dias de transplante. Além disso, RANTES/CCL5 e MIP-1 α /CCL3 tenderam ao mesmo comportamento, sem atingir, no entanto, diferença estatística na comparação entre os dois subgrupos.¹⁹ Por outro lado, Oliveira *et al.*²⁰ não demonstraram aumento de expressão de MCP-1/CCL2, IL-8/CXCL8 e MIP-1 α /CCL3 em uma avaliação de biópsias renais com RA. Nos casos com RA, houve aumento de IL-1-Ra e IL-6, enquanto MIP-1 α /CCL3 mostrou-se mais elevada na IF/TA.²⁰ RANTES/CCL5 é uma quimiocina para células T de memória, monócitos e eosinófilos, que é expressa, durante a rejeição celular aguda, 3 a 5 dias após

ativação das células T. Seu RNAm é detectado em células mononucleares infiltrativas e no epitélio tubular renal.²¹ RANTES/CCL5 é quimioatraente para linfócitos T, monócitos, células NK, basófilos e eosinófilos, além de ativar células inflamatórias. Por estes motivos, alguns autores consideram essa quimiocina um possível biomarcador da rejeição no transplante renal.²² No entanto, Baer *et al.*²³ não demonstraram diferença nos níveis séricos e urinários de RANTES/CCL5 entre o 1º e o 12º dia de transplante renal.

Avaliando segmentos do enxerto, Ruster *et al.*,²⁴ em 2004, perceberam maior infiltração de células positivas para MCP-1/CCL2 e CCR5 (receptor celular de RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3 e MIP-1 β /CCL4) na região tubulointersticial justacortical em 15 enxertos renais com RA, comparados a nove com IF/TA. Nestes últimos, houve maior expressão glomerular de MCP-1/CCL2 e tendência a menor infiltração generalizada de células positivas para RANTES/CCL5, MCP-1/CCL2, CCR2 e CCR5.²⁴

Apesar da observação desses autores, Segerer *et al.*²⁵ não encontraram diferença na expressão de MCP-1/CCL2 em 26 biópsias com rejeição aguda, com relação a cinco controles não transplantados, mas um aumento de CXCR3 (receptor celular de IP-10/CXCL10, MIG/CXCL9 e I-TAC/CXCL11) e CCR5. Em estudo anterior, este mesmo grupo de pesquisadores já havia demonstrado que IP-10/CXCL10 (que se liga ao receptor CXCR3), MIP-1 α /CCL3 e MIP-1 β /CCL4 (que se ligam ao receptor CCR5) estavam aumentados em biópsias renais durante RA.²⁶ Células inflamatórias infiltrativas, especialmente as células T e os macrófagos, expressaram os receptores de quimiocinas, CCR5 e CXCR3.²⁶

Outro estudo demonstrou, em biópsias de 16 pacientes transplantados, maior expressão de MIG/CXCL9, CXCR3 e IP-10/CXCL10 naqueles com IF/TA e glomerulopatia do transplante, com relação àqueles somente com IF/TA.²⁷

A medida dos níveis plasmáticos pré-transplante destas citocinas e quimiocinas pode ser capaz de prever a evolução para IF/TA e RA. Neste sentido, alguns estudos têm mostrado que a dosagem sérica pré-transplante de IP-10/CXCL10 é capaz de prever o risco para complicações no pós-transplante.²⁸⁻³¹

CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA URINA DE TRANSPLANTADOS RENAI

De modo geral, Hu & Knechtel,⁹ avaliando as citocinas e quimiocinas urinárias em transplantados renais, propuseram a divisão desses marcadores em três grupos:

1) Citocinas/quimiocinas que estão aumentadas em receptores com RA, NTA (Necrose Tubular Aguda), IF/TA, função normal do enxerto, assim como indivíduos hígidos: angiogenina, TIMPs (*tissues inhibitors of metalloproteinase*) e receptor 2 solúvel de TNF- α , ligante de receptor 3 indutor de apoptose relacionado ao TNF- α .

2) Citocinas/quimiocinas que têm baixa expressão em receptores de transplante renal e indivíduos hígidos: IL-1beta, IL-2, sRA, IL-6, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, MIP-3 α /CCL20, IL-18 e TNF- α .

3) Citocinas/quimiocinas que estão mais aumentadas em receptores com RA, NTA e IF/TA do que naqueles com função normal do enxerto e indivíduos hígidos: Adiponectina, IGFBP-1 (proteína ligadora de fator de crescimento “insulina-like”-1), IGFBP-2, IGFBP-6, IL-8/CXCL8, leptina, MCP-1/CCL2, MIP-1 δ , sTNFR1, osteoprotegerina e receptor ativador de uroquinase plasminogênio.⁹

Nesse sentido, Li *et al.*³² mostraram um método para diagnóstico de RA em enxertos renais, mensurando RNA mensageiro de perforina e granzima B em células de sedimento urinário com sensibilidade e especificidade maior que 80%. Em artigo de revisão recente, foi sugerido que os compostos de NGAL (lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos humanos) e cistatina C, para um painel plasmático, e NGAL, IL-18 (citocina induzida e clivada em túbulo proximal) e KIM-1 (molécula de lesão renal 1, expressa em células tubulares renais proximais), para um painel urinário, podem ser biomarcadores de lesão renal aguda.³³

Em estudo com amostras de urina de 80 pacientes, Woltman *et al.*³⁴ detectaram que MIP-3 α /CCL20 está aumentado na RA, correlacionando-se com os níveis de creatinina. No entanto, tal elevação não precede a alteração de função renal.³⁴

Outros trabalhos tentaram relacionar a excreção urinária de TGF- β com a rejeição crônica do rim transplantado. Yamada *et al.*,³⁵ avaliando 16 pacientes com função renal estável após 1 ano de transplante, associaram o aumento dos níveis urinários de TGF- β e da atividade de renina plasmática à perda da função renal. Neste estudo, sete pacientes com IF/TA apresentaram maior excreção urinária de TGF- β e atividade de renina plasmática, em resposta a inibidores de enzima conversora de angiotensina, do que aqueles sem IF/TA.³⁵ Teppo *et al.*³⁶ avaliaram 79 receptores, 6 meses após o transplante renal, e verificaram que o aumento da excreção urinária de TGF- β

está relacionado com a lesão tubular proximal e com a piora da função renal. Matl *et al.*³⁷ observaram em biópsias renais que a expressão tecidual de TGF- β estava relacionada com a vasculopatia crônica, mas não com a presença de IF/TA. Avaliando polimorfismos genéticos para citocinas, Tinckam *et al.*³⁸ e Alakulppi *et al.*³⁹ verificaram que determinados polimorfismos para o gene do TGF- β apresentam risco aumentado de RA. De acordo com Citterio *et al.*,⁴⁰ o uso de diferentes imunossuppressores tem influência na expressão de TGF- β sanguíneo. Portanto, a determinação das

concentrações sérica e urinária de TGF- β tem mostrado resultados promissores, correlacionando-se bem com o padrão de evolução da rejeição de enxerto renal. Existe a perspectiva de que as dosagens sanguínea e urinária de TGF- β possam ser instrumentos importantes na abordagem do transplante renal, principalmente no que diz respeito à intervenção terapêutica precoce da RA e ao seu prognóstico.

A Tabela 1 resume os principais estudos sobre citocinas/quimiocinas urinárias em transplantados renais.

Tabela 1 RESUMO DAS PRINCIPAIS PUBLICAÇÕES SOBRE CITOCINAS/QUIMIOCINAS URINÁRIAS EM TRANSPLANTADOS RENAIIS								
Autor	Ref	N	Citocina	VPP	VPN	Sens.	Espec.	Objetivo
Prodjosudjadi	49	20	MCP-1	100%	84%	64%	100%	RA
Paolo	46	29	EGF, IL-6	NA	NA	NA	NA	RA e NIA
Grandaliano	50	20	MCP-1	NA	NA	NA	NA	RA
Sibbring	60	27	IL-8, MIP-1 β	NA	NA	NA	NA	RA
Smith	47	13	IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF	NA	NA	NA	NA	RA, ITU
Yamada	35	16	TGF	83%	78%	71%	88%	FE
Hu	54	99	IP-10+MIG	86,6%	88,9%	88,6%	87%	RA, BK e NTA
			MIG	92,1%	82,7%	79,5%	93,5%	
			IP-10	90,5%	87,5%	86,4%	91,3%	
Kanmaz	55	7 *	MIG, IP-10	NA	NA	NA	NA	RA
Kotsch	59	26	RANTES, IL-10, IL-2, TGF, TNF, IFN	NA	NA	NA	NA	RA
Tatapudi	58	58	IP-10,	NA	NA	100%	78%	RA
			CXCR3	NA	NA	63%	83%	
Teppo	36	79	TGF	NA	NA	NA	NA	FE
Woltman	34	80	MIP-3 α	NA	NA	NA	NA	RA
Jimenez	48	19	IL-4	100%	77%	66%	100%	RA
			IL-5	100%	71%	55%	100%	RA
			IL-10	100%	90%	88%	100%	RA
			IFN- γ	100%	83%	77%	100%	RA
Hauser	56	54	MIG	70%	97%	93,3%	89%	RA
			IP-10	81,8%	89%	60%	96,2%	RA
Baer	23	17	RANTES	NA	NA	NA	NA	Proteinúria
Sadeghi	75	66	IL-6, IL-8, sIL-1RA	NA	NA	NA	NA	Bacteriúria assintomática
Matz	57	35	IP-10	NA	NA	58%	75%	FE
Ciszek	74	47	IL-6, IL-8	NA	NA	NA	NA	Bacteriúria assintomática
Boratynska	76	17	MCP-1	NA	NA	NA	NA	Decoy cells
Helantera	77	46	TGF- β , I-CAM-1, TNF- α	NA	NA	NA	NA	CMV

RA: rejeição aguda; FE: função do enxerto; CMV: citomegalovírus; NA: não se aplica;

BK: poliomavírus; NIA: nefrite intersticial aguda; NTA: necrose tubular aguda; Ref: referência bibliográfica.

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; ITU: infecção do trato urinário.

O fator de crescimento epidermoide (EGF) é um peptídeo promotor de crescimento, que se encontra expresso na alça de Henle e no túbulo contorcido distal.⁴¹⁻⁴⁴ Este peptídeo é sintetizado quase exclusivamente dentro do rim, e sua concentração se reduz dramaticamente em pacientes com insuficiência renal aguda.⁴⁵ Paolo *et al.*⁴⁶ avaliaram níveis urinários e a expressão em biópsia renal de EGF e IL-6 em 29 pacientes transplantados renais, aos 7 e 21 dias de transplante, e antes do tratamento de rejeição. Três transplantados renais com função renal estável e 10 amostras de tecidos viáveis de rins com carcinoma foram usados como controle. Dos pacientes transplantados, 16 apresentavam RA e 13 NTA ou nefrotoxicidade por ciclosporina. O EGF estava reduzido nessas situações. Já a IL-6 apresentou-se aumentada na RA, mas inalterada na NTA ou nefrotoxicidade por ciclosporina.⁴⁶ Smith *et al.*⁴⁷ detectaram aumento de IL-6, IL-8/CXCL8 e TNF- α em amostras únicas de urina de três transplantados renais com RA em um grupo de 13 pacientes. Jimenez *et al.*⁴⁸ relataram que pacientes que desenvolvem rejeição ao enxerto renal apresentam níveis mais elevados de IL-10/CXCL10 e IFN- γ no plasma e na urina, em comparação com pacientes sem rejeição. Estes autores acreditam que as citocinas e quimiocinas podem-se originar tanto de células inflamatórias infiltrativas quanto de células renais.⁴⁸

Prodjosudjadi *et al.*, na Holanda, avaliaram o nível de MCP-1/CCL2 em plasma e urina de 24 horas de 20 pacientes com RA e em 20 pacientes sem rejeição. Foi possível correlacionar o nível urinário desta citocina com o grau de rejeição, demonstrando seu aumento no grupo que apresentava rejeição mais acentuada.⁴⁹ Em urina de nove horas, Grandaliano *et al.*, avaliando 13 transplantados renais com RA e sete com NTA, detectaram aumento da expressão de MCP-1/CCL2 nos pacientes com RA em comparação aos casos de NTA.⁵⁰

Níveis urinários elevados de TGF- β foram encontrados no período pós-transplante inicial. Os níveis elevados dos primeiros dias se reduzem gradualmente em um período de 2 meses, mantendo-se, entretanto, maiores do que em indivíduos hígidos.⁵¹ Os níveis de TGF- β têm sido correlacionados com excreção urinária de albumina e de α 1-microglobulina 6 meses após o transplante renal.³⁶ A elevação urinária do TGF- β tem sido associada também ao grau de fibrose intersticial na IF/TA.^{52,53}

Hu *et al.*,⁵⁴ analisando amostras únicas de urina pré-biópsia renal de 99 pacientes, demonstraram elevação de I-TAC/CXCL11, MIG/CXCL9 e IP-10/

CXCL10 em vigência de RA, nefropatia por polioma vírus e NTA, mas não em casos de rejeição borderline, IF/TA e função estável de enxerto. MIG/CXCL9 e IP-10/CXCL10 apresentaram níveis mais elevados, com sensibilidade de 88,6% e especificidade de 87% para diagnóstico das complicações mencionadas.⁵⁴ Ressalta-se ainda que, com o tratamento da RA, os níveis urinários de MIG/CXCL9 e IP-10/CXCL10 se reduziram dias antes da diminuição da creatinina sanguínea. IP-10/CXCL10 urinária se reduziu em todos os pacientes 2 a 5 dias antes da diminuição da creatinina sérica. Estes resultados indicam que a elevação de níveis urinários de quimiocinas ligadoras a CXCR3 se correlaciona bem com a disfunção do enxerto, e a determinação destas quimiocinas na urina pode ser útil para monitorar a efetividade da terapia antirrejeição, em conjunto com a medida da creatinina.⁵⁴ Kanmaz *et al.*⁵⁵ mostraram que os níveis urinários de MIG/CXCL9 e IP-10/CXCL10 de sete macacos transplantados renais aumentaram antes da elevação da creatinina na presença de RA. Nas biópsias renais, houve aumento da expressão de MIG/CXCL9 em glomérulos, túbulos e células infiltrativas.⁵⁵ Hauser *et al.*⁵⁶ verificaram, em 15 pacientes com RA dentro de um grupo de 69 transplantados renais, que a dosagem de MIG/CXCL9 e IP-10/CXCL10 em amostras únicas de urina permitia a predição de RA, assim como de resposta ao tratamento. MIG/CXCL9 apresentou maior sensibilidade (93,3%) e especificidade (89%) para RA, com boa correlação com IP-10/CXCL10 ($p < 0,01$), e não se alterou em presença de NTA.⁵⁶ O aumento dessas citocinas ocorreu de 2 a 3 dias antes do aumento da creatinina e 6 a 7 dias antes do diagnóstico histopatológico de RA.⁵⁶ Matz *et al.*⁵⁷ acompanharam 35 transplantados renais por 6 meses e mostraram que a medida do RNA mensageiro para IP-10/CXCL10 urinário no primeiro mês pós-transplante apresentava sensibilidade de 58% e especificidade de 75% para predizer a função renal medida 3 e 6 meses após o transplante. Sensibilidade de 71% e especificidade de 95% para o diagnóstico de RA foram atribuídas à dosagem urinária de IP-10/CXCL10 2 a 3 dias antes da biópsia renal.⁵⁷ Tatapudi *et al.*⁵⁸ sugerem que a mensuração do RNA mensageiro para o IP-10/CXCL10 ou para o receptor de quimiocina CXCR3 em células urinárias pode tornar-se uma forma não invasiva de elucidar o tráfego celular durante os episódios de RA em enxertos renais humanos. Esses autores

obtiveram 63 espécimes de urina de 58 transplantados submetidos à biópsia renal e 27 amostras urinárias de 24 indivíduos sem alteração de função renal.⁵⁸ Foi detectado que o nível de RNA mensageiro para o IP-10/CXCL10 ou CXCR3 prediz o tráfego celular intraenxerto, relacionando-se com a RA.⁵⁸

Resultados referentes ao aumento da expressão do RANTES/CCL5 urinário em presença de RA têm sido relatados por alguns autores.^{21-24,59} Baer *et al.*²³ avaliaram amostras de urina de 24 horas e sangue de 17 transplantados renais com e sem RA nos primeiros 12 dias de transplante renal. Esses autores não detectaram diferença estatisticamente significativa, apesar de haver aumento dos níveis de RANTES/CCL5 com relação ao grupo-controle.²³ Entretanto, encontraram correlação da proteinúria ($r = 0,83$, $p = 0,0001$) e da albuminúria ($r = 0,727$, $p = 0,0062$) dos 17 pacientes com o nível de RANTES/CCL5 urinário, além de redução significativa destes valores entre o 1º e o 12º dia de transplante.²³ Neste mesmo estudo, também foram dosados os níveis séricos desta quimiocina, sem que fossem detectadas diferenças ou correlação com os níveis urinários.²³ Kotsch *et al.*⁵⁹ estudaram principalmente a expressão urinária de RNA mensageiro para RANTES/CCL5, CD3 e granulosa em 14 pacientes transplantados renais com RA comprovada por biópsia renal. Corroborando os achados de Baer *et al.*,²³ esses autores detectaram aumento de granulosa associado à elevação de RANTES e CD3 em, respectivamente, oito e cinco pacientes, no momento do diagnóstico da rejeição.⁵⁹

Na avaliação das citocinas e quimiocinas urinárias na vigência da RA, tomados em conjunto, os trabalhos relatados mostraram elevações dos níveis urinários de MIP-3 α /CCL20, IL-8/CXCL8, IL-6, TNF, IL-10, IFN, MCP-1/CCL2, IP10/CXCL10, MIG/CXCL9, I-TAC/CXCL11, RANTES/CCL5.^{59,24,60,46-50,75,54-56,59,16} Somente MIP-1 β /CCL4⁶⁰ urinária não se mostrou aumentada, enquanto o EGF apresentou redução.⁴⁶ Como preditores de complicações e alterações futuras da função renal, os níveis de TGF- β e IP-10/CXCL10 apresentaram associação à função renal de 6 meses e 4 anos após o transplante.^{35,36} IP-10/CXCL10, MIG/CXCL9, CXCR3, RANTES/CCL5 e o percentual de ligação de IL-2 relacionaram-se com a ocorrência de RA.^{47,56,58} IP-10/CXCL10 e MIG/CXCL9 também foram considerados úteis como preditores da resposta ao tratamento da RA.^{9,54,56}

POLIMORFISMO GENÉTICO DAS QUIMIOCINAS E CITOCINAS

No estudo de polimorfismos genéticos de citocinas/quimiocinas e seus receptores, verificam-se resultados conflitantes com relação à ocorrência de RA e IF/TA. Apesar disso, alguns trabalhos mostraram as seguintes associações:

1) Estudos demonstraram que aqueles pacientes com polimorfismos genéticos que determinam aumento da produção de TGF- β apresentam menos episódios de rejeição,³⁸ sugerindo um papel imunossupressor e de regulação da resposta imune para o TGF- β .

2) RA apresentou associação a alguns polimorfismos e alterações genotípicas de diversas citocinas, tais como MCP-1/CCL2 (2518 GG), CCR2 (V64I), CCR5, TNF- α (-308 A/A), TGF- β (T/C, G/G, 10TT/25GG, 10CC/25GG), IFN- γ (+874 T/T, T/A), IL-10 (ATA/ATA, ACCACC, GCCATA), IL-2(T/G), IL-1Ra (genótipo com alelos 1/2) e IL-18 (-137GG).^{38,39,61-67}

3) IF/TA foi associada ao genótipo 308 A/A de TNF- α de pacientes com mismatches em DRB e ao genótipo 10 T/T de TGF- β .⁶⁷

4) Alguns polimorfismos genéticos de MCP-1/CCL2 (-2518 G) se mostraram associados à função do enxerto a longo prazo.⁶⁵

5) No doador renal, o genótipo 308 G/A do TNF- α influenciou na ocorrência de função tardia do enxerto e se relacionou com a IF/TA, assim como o polimorfismo 174C/C de IL-6.^{39,68}

6) O polimorfismo -403G/A e In 1.1T/C de RANTES/CCL5 apresentou associação somente com a recorrência de RA.⁶⁹

7) Os polimorfismos genéticos de IL-1 α (-889), IL-1 β (-511 e +3962), IL-1R (PstI 970), IL-4 (-590), IL-4R (1902) e IL-6 (+3247) não apresentaram relação com a ocorrência de RA. Os genótipos estudados para TNF- α (+488, -238, -308), TGF- β (-800, -509 e +915 cod 25), e IFN- γ (+874) também não tiveram alteração significativa na vigência de IF/TA ou RA, nem mesmo associação com a função do enxerto renal. Polimorfismos genéticos de CCR2 (V64I) e RANTES/CCL5 (-403, -109 e -28) não apresentaram correlação com IF/TA ou função do enxerto renal.⁷⁰⁻⁷¹

A Tabela 2 resume os principais estudos sobre polimorfismo genético de citocinas/quimiocinas em transplantados renais.

Tabela 2 RESUMO DAS PRINCIPAIS PUBLICAÇÕES SOBRE POLIMORFISMO GENÉTICO DE CITOCINAS/QUIMIOCINAS EM TRANSPLANTADOS RENAIIS					
Autor	Ref	N	Citocina	Alelo	Objetivo
Kruger	64	232	MCP-1/CCL2	2518 GG	FE
			CCR2	V64I	FE
Abdi	62	163	CCR2	V64I	RA
			CCR5	59029 G/G ou A/G	RA
Mc Daniel	65	77	TGF- β	T/C, G/G,	RA, FE
			IFN- γ	+874 T/T, T/A	RA, FE
			IL-10	ATA/ATA	RA, FE
			IL-2	T/G	RA
Alakulppi	39	206	TNF- α doador	-308 G/A do doador	RA
			TNF- α	-308 A/A	RA
			TGF- β	10TT/25GG e 10CC/25GG	RA
			IL-10	ATA/ATA, ACCACC e GCCATA	RA
Nikolova	68	66	TGF- β	10TT	IF/TA
			TNF- α doador	-308 G/A do doador	IF/TA
					IL-6
Tinckam	38	118	TGF- β	25 G/G	RA (protetor)
Manchanda	66	136	IL-1Ra	Intron 2 – ½	RA
Kang	61	167	MCP-1/CCL2	2518 GG	RA tardia
			MCP-1/CCL2 + CCR2	2518 GG + V64I GG	RA e RA tardia
Kruger	69	261	RANTES/CCL5	-403G/A, In 1.1T/C	RA recorrente
Singh	63	296	CCR2	+/64I	RA (protetor)
Kim	67	226	IL-18	-137GG	RA
			TNF- α	308A/A	FE

RA: rejeição aguda; FE: função do enxerto; IF/TA: atrofia tubular/fibrose intersticial;

Ref: referência bibliográfica.

CITOCINAS, QUIMIOCINAS E INFECÇÕES

Considerando-se a elevada frequência e o caráter imunomodulador da infecção pelo CMV, Nordoy *et al.*⁷² avaliaram 10 pacientes com doença por este vírus, cinco com antigenemia positiva, mas sem doença, e 10 com antigenemia negativa e sem doença. Esses autores correlacionaram a antigenemia de CMV com os níveis séricos de IL-8/CXCL8 ($r = 0,63$) e MCP-1/CCL2 ($r = 0,44$) durante o pico da doença ou período de positividade, e com o IL-8/CXCL8 ($r = 0,57$), durante o seguimento da infecção. MIP-1 α /CCL3 não apresentou correlação com antigenemia ou doença por CMV.⁷² Em estudo recente em biópsias renais de ratos transplantados com e sem esta infecção, Soule *et al.*⁷³ demonstraram que os ratos infectados desenvolviam IF/TA mais precocemente, além de apresentarem maior expressão de RANTES/CCL5, MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3, e IP-10/CXCL10. RANTES/CCL5 e MCP-1/CCL2 ao final do período de acompanhamento, e IP-10/CXCL10 no início do processo.

Na bacteriúria assintomática, foi verificada maior excreção de IL-8/CXCL8, IL-6, e sIL-1Ra.⁷⁴⁻⁷⁵ Durante infecções virais oportunistas, MCP-1/CCL2 apresentou maior excreção urinária relacionada à doença causada por poliomavírus,⁷⁶ e o TGF- β urinário se elevou na infecção por CMV.⁷⁷

Analisando 22 transplantados renais com bacteriúria assintomática (17 mulheres e cinco homens) e 25 (18 mulheres e sete homens) sem estas alterações infecciosas, foi demonstrado que a IL-8/CXCL8 em amostra única de urina está aumentada nos transplantados e que não há diferença nos níveis de IL-6.⁷⁴ Em amostras de urina de 24 horas, na ausência de infecção urinária ou infecção por citomegalovírus (CMV), Sibbring *et al.*⁶⁰ detectaram aumento de IL-8/CXCL8 em 21 pacientes com RA celular, com relação a seis com rejeição vascular crônica, mas sem alterações imuno-histoquímicas sugestivas de rejeição nas biópsias renais. A produção de MIP-1 β /CCL4 urinário não diferiu entre os grupos estudados.⁶⁰

A expressão desta citocina nos túbulos renais contorcidos e coletores, assim como a expressão de IL-8/CXCL8, foram maiores do que a de MCP-1/CCL2.⁶⁰

Sadeghi *et al.*⁷⁵ avaliaram dois grupos de 66 pacientes com e sem bacteriúria assintomática, 12 a 21 meses após o transplante renal. Em análise de amostra única de urina e plasma verificaram que os homens com bacteriúria apresentavam maior nível de IL-6, IL-8/CXCL8, antagonista do receptor solúvel de IL-1 (sIL-1Ra) e razão urina/plasma de IL-6 do que aqueles sem bacteriúria.⁷⁵ Entre as mulheres, os níveis de IL-6 e IL-8/CXCL8 foram similares, com leve aumento dos níveis sIL-1Ra e da razão urina/plasma de IL-6.⁷⁵

Ilkka *et al.*⁷⁷ verificaram maior excreção urinária de TGF- β em transplantados renais na vigência de infecção por CMV. Em outra avaliação de infecção oportunista em 174 transplantados renais em um período de 5 anos, Boratynska *et al.*⁷⁶ mostraram aumento de MCP-1/CCL2 urinário em 17 pacientes que apresentavam “decoy cells” em amostras únicas de urina com relação aos controles.⁷⁶

Para diferenciar RA de ITU, Smith *et al.* mostraram que as concentrações de IL-2 e IL-2B são 3,6 a 2,8 vezes maiores, respectivamente, em RA que em ITU.⁴⁷ De acordo com Hauser *et al.*, os níveis urinários de MCP-1 na RA podem ser afetados pela presença de ITU, o que não aconteceria com MIG.⁵⁶

CONCLUSÃO

Este artigo de revisão mostra que as quimiocinas e citocinas, sobretudo urinárias, podem refletir e prever a função do enxerto nos meses subsequentes à sua mensuração e, algumas vezes, suas concentrações se elevam alguns dias antes da ocorrência de rejeição. Além disso, algumas dessas substâncias podem ser úteis na detecção de processos infecciosos nos pacientes transplantados. No entanto, é importante ressaltar que os resultados dos estudos ainda são controversos e não permitem a recomendação de mensurar quimiocinas e citocinas e/ou determinar polimorfismos genéticos durante o seguimento clínico dos transplantados renais. Por outro lado, analisando os principais achados em conjunto, acredita-se que não apenas uma substância seja importante na avaliação dos pacientes transplantados, mas um conjunto delas, que poderiam vir a ser utilizadas para uma predição não invasiva e mais eficaz do estado do enxerto renal, comportando-se como mais uma ferramenta ou mesmo um biomarcador no controle dos transplantados renais.

REFERÊNCIAS

1. Tesi RJ, Elkhammas EA, Henry ML, Davies EA, Salazar A, Ferguson RM. Acute rejection episodes, best predictor of long-term primary cadaveric renal transplant survival. *Transplant Proc* 1993; 25:901-2.
2. Jevnikar AM, Mannon RB. Late Kidney Allograft Loss: What We Know about It, and What We Can Do about It. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3:S56-67.
3. www.usrds.org Acessado em abril 2008.
4. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CLS, O'Connell PJ, Allen RDM, Chapman JR. The Natural History of Chronic Allograft Nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349:2326-33.
5. Cardoni RL, Prigoshin N, Tambutti ML, Ferraris JR. Regulatory cytokines in the response to the allogeneic renal transplant. *Medicina* 2005; 65:54-62.
6. Dallman MJ. Cytokines and transplantation: Th1/Th2 regulation of the immune response to solid organ transplants in the adult. *Curr Opin Immunol* 1995; 7:632-8.
7. Abbas AK, Lichtman AH. Cytokines. Cellular and Molecular Immunology. 5th Edition. Philadelphia: Saunders, Elsevier Science, 2003, pp. 243-74.
8. Gerard C, Rollins BJ. Chemokines and disease. *Nat Immunol* 2001; 2:108-15.
9. Hu H, Knetchle SJ. Elevation of multiple cytokines/chemokines in urine of human renal transplant recipients with acute and chronic injuries: potential usage for diagnosis and monitoring. *Transpl Rev* 2006; 20:165-71.
10. Grone H-J, Weber C, Weber KSC *et al.* Met-RANTES reduces vascular and tubular damage during acute renal transplant rejection: blocking monocyte arrest and recruitment. *FASEB J* 1999; 13:1371-83.
11. Song E, Zou H, Yao Y *et al.* Early application of Met-RANTES ameliorates chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 2002; 61:676-85.
12. Horuk R, Shurey S, Ng HP *et al.* CCR1-specific non-peptide antagonist: efficacy in a rabbit allograft rejection model. *Immunol Lett* 2001; 76:193-201.
13. Remuzzi G, Perico N. Protecting single-kidney allografts from long-term functional deterioration. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:1321-32.
14. Taal MW, Brenner BM. Renoprotective benefits of RAS inhibition: from ACEI to angiotensin II antagonists. *Kidney Int* 2000; 57:1803-17.
15. Noris M, Mister M, Pezzotta A *et al.* ACE inhibition limits chronic injury of kidney transplant even with treatment started when lesions are established. *Kidney Int* 2003; 64: 2253-61.
16. Sorrentino S, Landmesser U. Nonlipid-lowering Effects of Statins. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2005; 7:459-66.
17. Wang J, Zou H, Li Q, Wang Y, Xu Q. The expression of monocyte chemoattractant protein-1 and C-C chemokine receptor 2 in post-kidney transplant patients and the influence of simvastatin treatment. *Clinica Chimica Acta* 2006; 373:44-8.
18. Silva DM, Garcia JP, Ribeiro AR *et al.* Utility of biopsy in kidney transplants with delayed graft function and acute dysfunction. *Transplant Proc* 2007; 39:376-7.

19. Robertson H, Morley A, Talbot D, Callanan K, Kirby J. Renal allograft rejection: β -chemokine involvement in the development of tubulitis. *Transplantation* 2000; 69:684-7.
20. Oliveira JGG, Xavier P, Neto S, Mendes AA, Guerra LER. Monocytes-macrophages and cytokines/chemokines in fine-needle aspiration biopsy cultures: enhances interleukin-1 receptor antagonist synthesis in rejection-free kidney transplant patients. *Clin Transpl* 1997; 63:1751-6.
21. Pattison J, Nelson PJ, Huie P *et al.* RANTES chemokine expression in cell mediated transplant rejection of the kidney. *Lancet* 1994; 343:209-11.
22. Krensky AM, Ahn Y-T. Mechanism of Disease: regulation of RANTES (CCL5) in renal disease. *Nature Clin Pract* 2007; 3:164-70.
23. Baer PC, Koziolok M, Fierlbeck W, Geiger H. CC-chemokine RANTES is increased in serum and urine in the early post-transplantation period of human renal allograft recipients. *Kidney Blood Press Res* 2005; 28:48-54.
24. Ruster M, Sperschneider H, Funfstuck R, Stein G, Grone H-J. Differential expression of β -chemokines MCP-1 and RANTES and their receptors CCR1, CCR2, CCR5 in acute rejection and chronic allograft nephropathy of human renal allografts. *Clin Nephrol* 2004; 61:30-9.
25. Segerer S, Cui Y, Eitner F *et al.* Expression of chemokines and chemokine receptors during human renal transplant rejection. *Am J Kidney Dis* 2001; 37:518-31.
26. Segerer S, Mack M, Regele H, Kerjaschki D, Schlöndorff D. Expression of the C-C chemokine receptor 5 in human kidney diseases. *Kidney Int* 1999; 56:52-64.
27. Akalin E, Dikman S, Murphy B, Bromberg JS, Hancock. Glomerular infiltration by CXCR3+ ICOS+ activated T cells in chronic allograft nephropathy with transplant glomerulopathy. *Am J Transplant* 2003; 3:1116-20.
28. Romagnani P. From basic science to clinical practice: use of cytokines and chemokines as therapeutic targets in renal diseases. *J Nephrol* 2005; 18:229-33.
29. Rotondi M, Rosati A, Buonamano A *et al.* High pre-transplant serum levels of CXCL10/IP-10 are related to increased risk of renal allograft failure. *Am J Transplant* 2004; 4:1466-74.
30. Dufour JH, Dziejman M, Liu MT, Leung JH, Lane TE, Luster AD. IFN-gamma-inducible protein 10 (IP-10;CXCL10)-deficient mice reveal a role for IP-10 in effector T cell generation and trafficking. *J Immunol* 2002; 168:3195-204.
31. Wang X, Yue TL, Ohlstein EH, Sung CP, Feuerstein GZ. Interferon-inducible protein 10 involves vascular smooth muscle cell migration, proliferation, and inflammatory response. *J Biol Chem* 1996; 271:24286-93.
32. Li BG, Hartono C, Ding R *et al.* Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. *N Engl J Med* 2001; 344:947-54.
33. Devarajan P. Emerging Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Contrib Nephrol. Basel Karger* 2007; 156:203-12.
34. Woltman AM, Fijter JW, van der Kooij SW *et al.* MIP-3 α /CCL20 in renal transplantation and its possible involvement as dendritic cell chemoattractant in allograft rejection. *Am J Transplant* 2005; 5:2114-25.
35. Yamada K, Hatakeyama E, Arita S, Sakamoto K, Kashiwabara H, Hamaguchi K. Prediction of chronic renal allograft dysfunction from evaluation of TGF β -1 and the renin-angiotensin system. *Clin Exp Nephrol* 2003; 7:238-42.
36. Teppo AM, Honkanen E, Finne P, Tornroth T, Gronhagen-Riska C. Increased urinary excretion of alpha1-microglobulin at 6 months after transplantation is associated with urinary excretion of transforming growth factor-beta1 and indicates poor long-term renal outcome. *Transplantation* 2004; 78:719-24.
37. Matl I, Viklicky O, Voska L, Lodererova A, Vitko S. The effect of different immunosuppressive regimens on TGF-beta1 expression in kidney transplant patients. *Transpl Int.* 2005; 18:668-71.
38. Tinckam K, Rush D, Hutchinson I *et al.* The Relative Importance of Cytokine Gene Polymorphisms in the Development of Early and Late Acute Rejection and Six-Month Renal Allograft Pathology. *Transplantation* 2005; 79:836-41.
39. Alakulppi NS, Kyllönen LE, Jäntti VT *et al.* Cytokine Gene Polymorphisms and Risks of Acute Rejection and Delayed Graft Function after Kidney Transplantation. *Transplantation* 2004; 78:1422-8.
40. Citterio F, Pozzetto U, Romagnoli J *et al.* Plasma levels of Transforming Growth Factor- β 1 in Renal Transplant Recipients Receiving Different Immunosuppressive Regimens. *Transplant Proc* 2004; 36:698-9.
41. Rall LB, Scott J, Bell GI *et al.* Mouse prepro-epidermal growth factor synthesis by the kidney and other tissues. *Nature* 1985; 313:228-31.
42. Salido EC, Yen PH, Shapiro LJ, Fisher DA, Barajas L. In situ hybridization of pre-pro epidermal growth factor mRNA in the mouse kidney. *Am J Physiol* 1989; 256:F632-8.
43. Nouwen EJ, De Broe ME. EGF and TGF-beta in the human kidney: identification of octopole cells in the collecting duct. *Kidney Int* 1994; 45:1510-21.
44. Gesualdo L, Di Paolo S, Calabro A *et al.* Expression of epidermal growth factor and its receptor in normal and diseased human kidney. An immunohistochemical and in situ hybridization study. *Kidney Int* 1996; 49:656-65.
45. Taira T, Yoshimura A, Iizuka K, Iwasaki S, Ideura T, Koshikawa S. Urinary epidermal growth factor levels in patients with acute renal failure. *Am J Kidney Dis* 1993; 22:656-61.
46. Di Paolo S, Gesualdo L, Stallone G, Ranieri E, Schena FP. Renal expression and urinary concentration of EGF and IL-6 in acutely dysfunctioning kidney transplanted patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12:2687-93.
47. Smith SD, Wheeler MA, Lorber MI, Weiss RM. Temporal changes of cytokines and nitric oxide products in urine from renal transplant patients. *Kidney Int* 2000; 58:829-37.
48. Jimenez R, Ramirez R, Carracedo J *et al.* Cytometric bead array (CBA) for the measurement of cytokines in urine and plasma of patients undergoing renal rejection. *Cytokine* 2005; 32:45-50.
49. Prodjosudjadi W, Daha MR, Gerritsma JSJ *et al.* Increased urinary excretion of monocyte chemoattractant protein-1 during acute renal allograft rejection. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11:1096-103.

50. Grandaliano G, Gesualdo L, Ranieri E, Monno R, Stallone G, Schena FP. Monocyte chemotactic peptide-1 expression and monocyte infiltration in acute renal transplant rejection. *Transplantation* 1997; 63:414-20.
51. Goumenos DS, Tsakas S, Savidaki I et al. Urinary transforming growth factor (TGF- β 1) excretion in renal allograft recipients during the early post-transplantation period. *Ren Fail* 2003; 25:561-8.
52. Boratynska M. Urine excretion of transforming growth factor-beta 1 in chronic allograft nephropathy. *Ann Transplant* 1999; 4:23-8.
53. Grandaliano G, Di Paolo S, Monno R et al. Protease-activated receptor 1 and plasminogen activator inhibitor 1 expression in chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2001; 72:1437-43.
54. Hu H, Aizenstein BD, Puchalski A, Burmania JA, Hamawy MM, Knechtle SJ. Elevation of CXCR3-binding chemokines in urine indicates acute renal-allograft dysfunction. *Am J Transplant* 2004; 4:432-7.
55. Kanmaz T, Feng P, Torrealba J et al. Surveillance of acute rejection in baboon renal transplantation by elevation of interferon-gamma inducible protein-10 and monokine induced by interferon-gamma in urine. *Transplantation* 2004; 78:1002-7.
56. Hauser IA, Spiegler S, Kiss E et al. Prediction of acute renal allograft rejection by urinary monokine induced by IFN-gamma (MIG). *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:1849-58.
57. Matz M, Byer J, Wunsch D et al. Early post-transplant urinary IP-10 expression after kidney transplantation is predictive of short- and long-term graft function. *Kidney Int* 2006; 69:1683-90.
58. Tatapudi RR, Muthukumar T, Dadhania D et al. Noninvasive detection of renal allograft inflammation by measurements of mRNA for IP-10 and CXCR3 in urine. *Kidney Int* 2004; 65:2390-7.
59. Kotsch K, Mashreghi MF, Bold G et al. Enhanced granulysin mRNA expression in urinary sediment in early and delayed acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2004; 77:1866-75.
60. Sibbring JS, Sharma A, McDicken IW, Sells RA, Christmas SE. Localization of C-X-C and C-C chemokines to renal tubular epithelial cells in human kidney transplants is not confined to acute cellular rejection. *Transplant Immunol* 1998; 6:203-8.
61. Kang SW, Park SJ, Kim YW et al. Association of MCP-1 and CCR2 polymorphisms with the risk of late acute rejection after renal transplantation in Korean patients. *Int J Immunogenet* 2008; 35:25-31.
62. Abdi R, Tran TB, Sahagun-Ruiz A et al. Chemokine receptor polymorphism and risk of acute rejection in human renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:754-8.
63. Singh R, Kapoor R, Srivastava A, Mittal RD. Impact of chemokine receptor CCR2 and CCR5 gene polymorphism on allograft outcome in North Indian renal transplant recipients. *Scand J Immunol* 2009; 69:51-6.
64. Kruger B, Schroppel B, Ashkan R et al. A monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) polymorphism and outcome after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:2585-9.
65. McDaniel DO, Barber WH, Nguyen C et al. Combined analysis of cytokine genotype polymorphism and the level of expression with allograft function in African-American renal transplant patients. *Transpl Immunol*. 2003; 11:107-19.
66. Manchanda PK, Bid HK, Kumar A, Mittal RD. Genetic association of interleukin-1beta and receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism with allograft function in renal transplant patients. *Transpl Immunol* 2006; 15:289-96.
67. Kim CD, Ryu HM, Choi JY et al. Association of G-137C IL-18 promoter polymorphism with acute allograft rejection in renal transplant recipients. *Transplantation* 2008; 86:1610-44.
68. Nikolova PN, Ivanova MI, Mihailova SM et al. Cytokine gene polymorphism in kidney transplantation – impact of TGF-beta 1, TNF-alpha and IL-6 on graft outcome. *Transpl Immunol* 2008; 18:344-8.
69. Kruger B, Borger CA, Obed A et al. RANTES/CCL5 polymorphism as a risk factor for recurrent acute rejection. *Clin Transplant* 2007; 21:385-90.
70. Marshall SE, McLaren AJ, Haldar NA, Bunce M, Morris PJ, Welsh KL. The impact of recipient cytokine genotype on acute rejection after renal transplantation. *Transplantation*. 2000; 70:1485-91.
71. Brabcova I, Petrsek J, Hribova P et al. Genetic variability of major inflammatory mediators has no impact on the outcome of kidney transplantation. *Transplantation* 2007; 84:1037-44.
72. Nordøy I, Müller F, Nordal KP, Rollag H, Aukrust P, Frøland SS. Chemokines and soluble adhesion molecules in renal transplant recipients with cytomegalovirus infection. *Clin Exp Immunol* 2000; 120:333-7.
73. Soule JL, Streblow DN, Andoh TF, Kreklywich CN, Orloff SL. Cytomegalovirus accelerates chronic allograft nephropathy in a rat renal transplant model with associated provocative chemokine profiles. *Transplant Proc* 2006; 38:3214-20.
74. Cizek M, Paczek L, Bartłomiejczyk I, Mucha K. Urine Cytokines Profile in Renal Transplant Patients with Asymptomatic Bacteriuria. *Transplantation* 2006; 81:1653-7.
75. Sadeghi M, Daniel V, Naujokat C et al. Strong inflammatory cytokine response in male and strong anti-inflammatory response in female kidney transplant recipients with urinary tract infection. *Transplant Intern* 2005; 18:177-85.
76. Boratynska M, Dubinski B, Rybka K, Jezior D, Szyber P, Klinger M. Immunocytological Urinalysis and Monocyte Chemotactic Peptide-1 in Renal Transplant Recipients With Polyomavirus Replication. *Transplantation Proceedings*. 2006; 38:151-4.
77. Helanterä I, Teppo A-M, Koskinen P, Törnroth T, Grönhagen-Riska C, Lautenschlager I. Increased urinary excretion of transforming growth factor- β 1 in renal transplant recipients during cytomegalovirus infection. *Transplant Immunol* 2006; 15:217-21.