



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA TROPICAL**

TÂNIA MARIA CAVALCANTE MAIA

**ESTUDO CITOLÓGICO EM URINA DE PACIENTES
TRANSPLANTADOS RENAIIS PARA PESQUISA
DO POLIOMAVIRUS HUMANO TIPO BKV**

**FORTALEZA
2008**

TÂNIA MARIA CAVALCANTE MAIA

**ESTUDO CITOLÓGICO EM URINA DE PACIENTES
TRANSPLANTADOS RENAIIS PARA PESQUISA
DO POLIOMAVIRUS HUMANO TIPO BKV**

Dissertação submetida à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Patologia
Tropical da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em Patologia
Tropical.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Valéria
Pitombeira Ferreira

FORTALEZA
2008

M188e Maia, Tânia Maria Cavalcante

Estudo citológico em urina de pacientes transplantados renais
para pesquisa do poliomavirus humano tipo BKV / Tânia Maria
Cavalcante Maia. – Fortaleza, 2008.

87 f.: il., color; 30 cm.

Orientadora: Márcia Valéria Pitombeira Ferreira

Área de concentração: Patologia Tropical

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará.

Departamento de Patologia e Medicina Legal.

1. Polyomavirus. 2. Falência Renal Crônica. 4. Transplante de
Rim. 5. Citologia. I. Ferreira, Márcia Valéria Pitombeira (orient.) II.
Universidade Federal do Ceará – Mestrado em Patologia Tropical
III. Título.

CDD 616.614

TÂNIA MARIA CAVALCANTE MAIA

**ESTUDO CITOLOGICO EM URINA DE PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS
PARA PESQUISA DO POLIOMAVIRUS HUMANO TIPO BKV**

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Patologia Tropical da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção de Título de Mestre.

Aprovada em 08 / 08 / 2008

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Márcia Valéria Pitombeira Ferreira
UFC/DPML/ Orientadora

Profa. Dra. Sonia Leite da Silva
Universidade de Fortaleza

Prof. Dr. Rivelilson Mendes Freitas
Universidade Federal do Piauí

Ms. Régia Maria do Socorro Vidal do Patrocínio
UFC/DPML/ Faculdade de Medicina

AGRADECIMENTOS

Idealizar um trabalho, quando temos como ponto de partida um referencial concreto, torna-se fácil, principalmente, quando entram em cena profissionais qualificados, sempre disponíveis, para ajudar-nos com seus conhecimentos e experiências. Por este motivo, agradeço carinhosamente aos médicos do Transplante Renal do Hospital das Clínicas, principalmente a Dra. Cláudia e a Dra. Paula Fernandes que pacientemente me ajudaram a levar a termo este trabalho.

Quando pessoas reúnem-se e tornam-se amigas tudo flui mais fácil e, sobre este prisma, retorno ao início do mestrado e visualizo pessoas como Paula e meus colegas de turma com os quais compartilhei tristezas, alegrias e, por que não dizer, traumas da vida acadêmica, a eles minha gratidão e a certeza de sempre poder compartilhar de minha amizade.

Retornar à vida acadêmica depois de tanto tempo sem desfrutar desta experiência, com certeza seria um caminho árduo se não tivesse a ajuda e o apoio de professores experientes que, ao longo deste mestrado, me acompanharam com seus conselhos, críticas e apoio nas horas difíceis. Por isso minha eterna gratidão a Dra. Silvia Fernandes que me abriu as portas da UNIFOR, e tem sido uma mestra, um anjo-da-guarda e uma amiga muito especial, por suas críticas coerentes e a sua amizade em todas as horas. Ao Professor Talapala Naidu eficiente na coordenação do mestrado, por ter me recebido de forma tão acolhedora e amiga, por suas aulas fantásticas e por sua abertura para novas reflexões e conhecimento. Agradeço também aos outros professores que me aceitaram incondicionalmente e com os quais aprendi inesquecíveis lições. A Dra. Sonia Leite, médica do Transplante Renal do Hospital Geral de Fortaleza e Hospital Universitário Walter Cantídio por ter acreditado em mim e me dado a oportunidade de hoje estar aqui escrevendo este trabalho, sendo responsável, em grande parte, por este momento tão especial da minha vida, oferecendo-me sua confiança e amizade.

Agradecimento especial ao Dr. Ronaldo Esmeraldo, chefe do serviço de transplante renal do Hospital Geral de Fortaleza, por ter me oferecido a oportunidade ímpar de treinamento na UNICAMP ao lado da Dra. Marilda Mazalli, médica do ambulatório do Transplante Renal em Campinas a quem também vai o meu muito obrigado não só pela disponibilidade, mas também pela paciência com que me

repassou seus conhecimentos e provou que o sucesso não destrói a generosidade. Um agradecimento carinhoso também a toda a equipe do Laboratório de Nefrologia da UNICAMP que me recebeu de braços abertos e me permitiu o convívio e o prazer de desfrutar de sua amizade.

Não poderia deixar de registrar um agradecimento especial a duas pessoas vitais na conclusão deste trabalho: a Professora Márcia, da Unifor, que gratuitamente se envolveu nesta pesquisa com o único intuito de me ajudar, sendo responsável em grande parte pelo material teórico que utilizei, me apoiando nas horas em que as dificuldades me faziam querer desistir, nunca faltando uma palavra de alento e força. Ao Joselito, aluno do curso de enfermagem da UNIFOR, estagiário, a mim enviado pela professora Márcia que, com seu desprendimento e boa vontade, foi o responsável pela coleta dos dados desta pesquisa, nunca me faltando nem mesmo quando a vida o testou com a doença incurável de seu pai.

Quero agradecer também a todas as pessoas que direta ou indiretamente me ajudaram neste caminhar, não citarei nomes para não correr o risco de esquecer alguém. Outra pessoa especial neste momento de minha vida foi minha orientadora Dra. Márcia Valéria que se disponibilizou a me aceitar e ajudar na realização deste trabalho, permitindo-me liberdade de raciocínio e de abordagem teórica e ao mesmo tempo oferecendo sua sabedoria e guiando-me entre os obstáculos, as dúvidas e receios.

Também não poderia deixar de lembrar e agradecer a minha família, principalmente a meus pais (*in memoriam*) que com seu amor e carinho construíram a base sobre a qual edifiquei minha vida, e em especial a meu marido e filho que sempre estiveram ao meu lado, mesmo quando o trabalho árduo me fez ausente em suas vidas.

E, finalmente, queria agradecer a DEUS, o Editor de minha vida, “Principio e Fim” de todas as coisas que em sua imensa misericórdia não olhou os meus defeitos, somente a minha vontade de acertar e deu-me a chance de quase ao entardecer da vida começar novamente como professora, vocação que eu sempre tive, mas que as circunstâncias da vida me fizeram abdicar deste desejo.

A todos...

Obrigada! Obrigada! Obrigada!

Quanto mais me aprofundo na ciência
mais me aproximo de DEUS.

Einstein

RESUMO

MAIA, T. M. C. **Estudo citológico em urina de pacientes transplantados renais para pesquisa do poliomavírus humano tipo BKV**. 2008. Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical) Curso de Pós-Graduação em Patologia Tropical da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

O poliomavírus tipo BK tem sido associado à nefropatia nos pacientes transplantados renais com uma incidência variando entre 3 - 4% e em 60% dos casos podendo levar à perda do enxerto. Diversos estudos têm demonstrado a importância do achado da célula decoy na urina destes pacientes como primeira triagem para a replicação viral fazendo o diagnóstico diferencial entre a rejeição celular aguda e a nefropatia pelo BK vírus. Neste contexto, o presente estudo objetivou detectar a presença do BKV através da observação da célula decoy na urina dos transplantados renais, correlacionando este achado com os níveis séricos de uréia e creatinina e o aspecto histopatológico através da biópsia renal. Para tanto, a urina de 50 pacientes transplantados renais (28 homens e 22 mulheres) atendidos em dois hospitais de Fortaleza (Hospital Universitário Walter Cantídio e Hospital Geral de Fortaleza) foram analisadas quanto à presença de células decoy detectadas através da citologia urinária pela coloração de Papanicolau. As citologias foram analisadas e classificadas em negativa e positiva (≥ 1 célula decoy).

Resultado: Das 50 citologias urinárias analisadas 28 pacientes eram do sexo masculino e 22 do sexo feminino, receptores de doador vivo ($n = 43$) ou cadavérico ($n = 7$) com positividade para célula decoy de 24% (12 pacientes). Níveis de creatinina e uréia aumentados, isoladamente, não foram úteis para suspeitar da nefropatia pelo BKV ou rejeição do transplante ($p > 0,05$). A correlação dos níveis alterados de uréia e creatinina, com a presença ou ausência das células decoy, foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). A biópsia revelou nefropatia pelo BKV em cinco (20%) dos pacientes com células decoy na urina e os achados histológicos mais frequentes foram fibrose e infiltrado inflamatório mononuclear. A imunossupressão mais empregada nos pacientes em estudo foi o esquema 1 (50%) (ciclosporina / azatioprina / zenapax), seguidos por esquemas 2 (16%) (MMF/FK 506 / zanapax) 1 esquema 3 (16%) (ciclosporina / prednizona / azatioprina). **Conclusão:** A positividade para células decoy neste estudo (24%) é coincidente com a literatura (8 -26%) sugerindo infecção ativa. A presença das células decoy na urina foi útil para definir os grupos de pacientes com possível nefropatia pelo BKV daqueles com nefropatia por rejeição, pois a negatividade para células decoy na urina afasta em 100% dos casos a nefropatia pelo BKV, e a sua presença serve de guia para avançar na investigação de nefropatia pelo BKV. A biópsia confirmou em 5 dos 12 casos com células decoy positivas na urina (20%) a nefropatia pelo poliomavírus sendo que um deles veio a perder o enxerto. O esquema de imunossupressão utilizado pelos pacientes em estudo e a presença de nefropatia pelo BKV não foi o que mais se relaciona na literatura. Também os pacientes com nefropatia pelo BKV que utilizaram esquemas menos associados a esta condição tiveram evolução pior. Estes últimos resultados indicam a necessidade de novos estudos com maior número de pacientes, tempo de acompanhamento maior e estudo das cepas virais.

Palavras-chave: Polyomavirus. Falência Renal Crônica. Transplante de Rim. Citologia.

ABSTRACT

MAIA, T. M. C. **Study of urine cytology in kidney transplant patients in search of human kind polyomavirus BKV**. 2008. Dissertation (Master in Tropical Diseases) Post-Graduate Course in Tropical Diseases of the Federal University of Ceará, Fortaleza, 2008.

The polyomavirus type BK has been associated to the nephropathy in the patients transplanted renal with an incidence varying among 3 - 4% and in 60% of the cases could take to the loss of the graft. Several studies have been demonstrating the importance of the discovery of the decoy cells in these patients' urine as first selection for the viral replication making it diagnose differential between the sharp cellular rejection and the nephropathy for the BK virus. In this context, the present study aimed at to detect the presence of BKV through the observation of the decoy cells in the urine of the transplanted renal, correlating this discovery with the serum urea levels and creatinine and the histopathology features through the renal biopsy. For so much, the 50 transplanted patients' urine renal (28 men and 22 women) assisted at two hospitals of Fortaleza (Academical Hospital Walter Cantídio and General Hospital of Fortaleza) they were analyzed as for the presence of decoy cells detected through the urinary cytology by the coloration of Papanicolau. Were the cytology analyzed and done classify in negative and positive (≥ 1 decoy cell). **Result:** Of the 50 cytology analyzed urinary 28 patients they were male and 22 female, alive donor's receivers ($n = 43$) or cadaverous ($n = 7$) with assertiveness for decoy cells of 24% (12 patient). Creatinine levels and increased urea, separately, they were not useful to suspect of the nephropathy for BKV or rejection of the transplant ($p > 0,05$). The correlation of the altered levels of urea and creatinine, with the presence or absence of the decoy cells, was significant for the statistics ($p < 0,05$). The biopsy revealed nephropathy for BKV in five (20%) of the patients with cells decoy in the urine and the more frequent histological discoveries were fibrose and infiltrated inflammatory mononuclear. The most employed immune suppression in the patients in study was the outline 1 (50%) (ciclosporina / azatioprina / zenapax), following for outlines 2 (16%) (MMF/FK 506/zanapax) 1 outline 3 (16%) (ciclosporina / prednizona / azatioprina). **Conclusion:** The assertiveness for decoy cells in this study (24%) it is coincident with the literature (8 -26%) suggesting active infection. The presence of the decoy cells in the urine was useful to define the patients' groups with possible nephropathy for BKV of those with nephropathy for rejection, because the negativity for decoy cells in the urine moves away in 100% of the cases the nephropathy for BKV, and his/her presence serves as guide to move forward in the nephropathy investigation for BKV. The biopsy confirmed in 5 of the 12 cases with decoy cells positive in the urine (20%) the nephropathy for the polyomavirus and one of them vein to lose the graft. The immunosuppressive outline used by the patients in study and the nephropathy presence for BKV was not it that more it links in the literature. Also the patients with nephropathy for BKV that used less associated outlines this condition had worse evolution. These last results indicate the need of new studies with larger number of patients, time of larger attendance and study of the stumps turn.

Key words: Polyomavirus. Kidney Failure, Chronic. Kidney Transplantation. Cytology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Tubulite severa: destruição da camada basal dos túbulos.....	23
Figura 2	Estrutura genômica da família poliomavírus.....	29
Figura 3	Mecanismo de infecção do BKV nas células do hospedeiro.....	34
Figura 4	Esquema da medula renal onde se observa corpos de inclusão viral do núcleo.....	35
Figura 5	Esquema para o provável risco no desenvolvimento da nefropatia pelo BKV.....	37
Figura 6	Células decoy (citoplasma em “rabo de cometa” e ausência de inclusão nuclear).....	38
Figura 7	Padrões de inclusões nucleares características de infecção pelo poliomavírus.....	40
Figura 8	Biópsia renal com tubulite severa.....	41
Figura 9	Infecção tubular com células com inclusão viral nas proximidades dos capilares peritubulares.....	42
Figura 10	Inclusão típica do CMV em “olho de coruja”.....	42
Figura 11	Percentual de pacientes distribuídos segundo a procedência.....	51
Figura 12	Percentual dos pacientes transplantados renais em função do sexo.....	52
Figura 13	Percentual de pacientes distribuídos em função do tipo de doador.....	52
Figura 14	Distribuição dos 12 pacientes com células decoy na urina em função da doença de base.....	53
Figura 15	Percentual de pacientes com células decoy na urina em função do tipo de doador.....	54
Figura 16	Percentual dos pacientes transplantados renais em função do esquema imunossupressor utilizado.....	55
Figura 17	Percentual dos esquemas de imunossupressão dos 12 pacientes com células decoy na urina.....	56
Figura 18	Percentual dos imunossupressores inibidores da interleucina 2 nos 12 pacientes com células decoy na urina.....	57

Figura 19	Distribuição dos resultados de sumário de urina em função da presença de hematúria e leucocitúria.....	56
Figura 20	Distribuição dos valores de uréia sérica dos 50 pacientes estudados em função do período de acompanhamento.....	58
Figura 21	Distribuição dos valores de creatinina sérica dos 50 pacientes estudados em função do período de acompanhamento.....	59
Figura 22	Distribuição dos valores de uréia sérica dos 50 pacientes estudados em função da presença ou ausência de células decoy na urina.....	59
Figura 23	Distribuição dos valores de creatinina sérica dos 50 pacientes estudados em função da presença ou ausência de células decoy na urina.....	60
Figura 24	Citologia urinária positiva para célula decoy.....	61
Figura 25	Incidência dos pacientes com presença de células decoy na urina (n = 50).....	61
Figura 26	Distribuição dos 12 pacientes que apresentaram células decoy na urina em função do gênero e faixa etária.....	62
Figura 27	Encontro de células decoy na urina de 12 pacientes em função do tempo decorrido pós-transplante.....	63
Figura 28	Distribuição dos resultados da biópsia dos 12 pacientes com células decoy na urina.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Esquemas de imunossupressão dos pacientes transplantados renais.....	54
Tabela 2	Esquemas de imunossupressão dos 12 pacientes com células decoy na urina.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS

APC	Células apresentadoras de antígeno
AZA	Azatioprina
BKNV	Nefropatia pelo BKV
BK / BKV	Vírus
CSA	Ciclosporina
DECOY	Células tubulares infectadas
DNA	Ácido dextrorribonucleico
HCMV	Citomegalovirus humano
HLA	Antígeno leucocitário humano
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
HGF	Hospital Geral de Fortaleza
IL-4, IL-6	Interleucinas
JCV e BKV	Tipos de poliomavirus
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
NC	Núcleo/citoplasma
PCR	Reação de polymerase em cadeia
PVH	Poliomavirus humano
RCA	Rejeição celular aguda
RCT	Receptor da célula T
TAC	Tracolimus
T CD4	Linfócito CD4
TCR	Receptor do linfócito T
TMO	Transplante de medula óssea
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
UNIFOR	Universidade de Fortaleza

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Os rins e suas funções.....	15
1.2	Transplante renal.....	16
1.2.1	Histórico.....	16
1.2.2	Procedimento.....	18
1.2.3	Rejeição do transplante renal.....	19
1.2.3.1	Tipos de rejeição celular ao transplante renal.....	19
1.2.4	Mecanismo da resposta imune.....	20
1.2.5	Reconhecimento dos antígenos pelo linfócito T.....	21
1.2.6	Mecanismos efetores da resposta imune.....	25
1.3	Imunossupressão.....	
1.4	Infecção por poliomavírus humano (tipo BKV) em pacientes trans- plantados renais.....	25 26
1.4.1	Histórico.....	27
1.4.2	Características biológicas.....	30
1.4.3	Epidemiologia.....	31
1.4.4	Transmissão.....	32
1.4.5	Patogênese.....	36
1.4.6	Manifestações clínicas.....	37
1.4.7	Diagnóstico do BKV.....	38
1.4.7.1	Citologia urinária.....	40
1.4.7.2	Biópsia renal.....	43
1.5	Recomendações para seguimento de pacientes transplantados renais	43
1.6	Tratamento antiviral.....	
2.	OBJETIVOS.....	45
2.1	Objetivo geral.....	45
2.2	Objetivos específicos.....	45
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
3.1	Casuística.....	46
3.1.1	Pacientes.....	46
3.1.2	Critérios de inclusão.....	46
3.1.3	Critérios de exclusão.....	46

3.1.4	Grupo controle para células decoy	47
3.2	Aspectos éticos da pesquisa.....	47
3.3	Instrumentos e procedimentos de coleta de dados.....	47
3.4	Métodos para detecção do poliomavirus (BKV).....	48
3.4.1	Citologia urinária.....	48
3.5	Análise estatística.....	49
3.6	Programas computacionais.....	50
4	RESULTADOS.....	51
4.1	Clínico-epidemiológico.....	51
4.1.1	Procedência dos pacientes.....	51
4.1.2	Distribuição dos pacientes transplantados renais quanto à idade e sexo.....	49 51
4.1.3	Tipo de doador dos pacientes transplantados.....	52
4.1.4	Pacientes com células decoy na urina em função da doença de base..	53
4.1.5	Pacientes com células decoy na urina em função do tipo de doador....	53
4.1.6	Imunossupressão.....	54
4.2	Laboratorial.....	56
4.2.1	Sumário de urina.....	56
4.2.2	Valores séricos de uréia e creatinina nos 6 meses de acompanhamento dos pacientes transplantados.....	56
4.2.3	Níveis séricos de uréia em função da presença ou ausência de células decoy na urina dos pacientes dos diversos grupos.....	58
4.2.4	Níveis séricos de creatinina em função da presença ou ausência de células decoy na urina dos diversos grupos.....	59
4.3	Citologia urinária.....	59
4.3.1	Pacientes com células decoy na urina em função da idade e sexo.....	61
4.3.2	Pacientes com células decoy na urina em função do tempo pós-transplante.....	61
4.4	Biópsia renal.....	62
5	DISCUSSÃO.....	63
5.1	Clínico-epidemiológica.....	63
5.1.1	Procedência dos pacientes.....	63
5.1.2	Distribuição dos pacientes transplantados renais quanto à idade e sexo.....	63

5.1.3	Tipo de doador dos pacientes transplantados.....	63
5.1.4	Pacientes com células decoy na urina e em função da doença de base.....	63
5.1.5	Pacientes com células decoy na urina em função do tipo de doador.....	64
5.1.6	Imunossupressão.....	64
5.2	Laboratorial.....	65
5.2.1	Sumário de urina.....	65
5.2.2	Valores séricos de uréia e creatinina nos 6 meses de acompanhamento dos pacientes transplantados.....	66
5.2.3	Níveis séricos de uréia em função da presença ou ausência de células decoy na urina dos pacientes nos diversos grupos.....	66
5.2.4	Níveis séricos de creatinina em função da presença ou ausência de células decoy na urina dos pacientes nos diversos grupos.....	66
5.3	Citologia urinária.....	67
5.3.1	Pacientes com células decoy na urina em função da idade e sexo.....	67
5.3.2	Pacientes com células decoy na urina em função do tempo de pós-transplante.....	68
5.4	Biópsia renal.....	68
5.5	Considerações gerais.....	69
6	CONCLUSÕES.....	70
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
	APÊNDICES.....	77
A	Tabela de pacientes com presença de células decoy na urina.....	78
B	Tabela de pacientes com ausência de células decoy na urina e com alterações séricas de uréia e/ou creatinina.....	79
C	Tabela de pacientes com ausência de células decoy na urina e sem alterações séricas de uréia e/ou creatinina.....	80
D	Tabela de resultados da biopsia dos pacientes com células decoy positivas.....	81
	ANEXOS.....	82
A	Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa.....	83
B	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	84
C	Apresentação em Congresso.....	86

1 INTRODUÇÃO

1.1 Os rins e suas funções

Possuímos dois rins que têm cor vermelho-escura, forma de grão de feijão e medem cerca de 12 cm em uma pessoa adulta. Localizam-se na parte posterior do abdome, um de cada lado da coluna, onde estão protegidos pelas últimas costelas (ROBBINS *et al.*, 2000; UNIFESP, 2008).

As principais funções dos rins são a excreção de resíduos metabólicos através da filtração do sangue, remoção de sais e outras substâncias que estejam presentes em quantidades excessivas, manutenção do volume do fluido extracelular através de um balanço adequado de líquidos no organismo e a síntese hormonal (ROBBINS *et al.*, 2000; UNIFESP, 2008).

Os rins também produzem hormônios responsáveis pelo controle de pressão arterial e pela produção e liberação de glóbulos vermelhos pela medula óssea, evitando assim a anemia. O sangue chega aos rins através das artérias renais que, no interior dos rins dividem-se em vasos cada vez menores até que formam enovelados de vasos muito finos que constituem os glomérulos (ROBBINS *et al.*, 2000; UNIFESP, 2008).

Em cada rim existem milhões de glomérulos que são os verdadeiros filtros do sangue. O sangue passando através desses pequenos vasos elimina o excesso de líquidos e sais iniciando-se a formação de urina que, após atravessar vários tubos e sofrer várias transformações será eliminado para um tubo comum, o ureter e então para a bexiga, sendo esta urina levada para o exterior através da uretra. Aproximadamente dois mil litros de sangue passam pelos rins todos os dias, sendo produzidos ao final 1,2 litros de urina por dia. (ROBBINS *et al.*, 2000; UNIFESP, 2008).

1.2 Transplante renal

1.2.1 Histórico

Foi observada uma grande evolução na história da medicina sobre o desenvolvimento dos transplantes no tratamento das doenças terminais de alguns órgãos. O transplante de órgãos evoluiu nas últimas três décadas, de um procedimento com riscos, somente realizado em pacientes com doença renal grave, para uma intervenção terapêutica eficaz em outros pacientes com doenças terminais do coração, fígado, e pulmão. Os novos progressos no manejo imunológico dos pacientes, nas técnicas cirúrgicas, nos cuidados intensivos, na introdução de drogas imunossupressoras mais modernas e de técnicas de captação de órgãos mais eficientes contribuíram para melhorar os resultados dos transplantes.

Devido a este grande êxito, as indicações para transplante de órgãos sólidos estão se tornando cada vez mais liberais, aceitando-se pacientes idosos ou com doenças sistêmicas associadas, levando a uma expansão no número de potenciais receptores. Estima-se que anualmente, em todo o mundo, em torno de 500.000 pacientes desenvolvam insuficiência renal crônica, 300.000 insuficiência cardíaca e 200.000 insuficiência hepática, provocando uma demanda, apenas destes órgãos, se todas as pessoas tivessem acesso ao tratamento, de um milhão de transplantes por ano (OJO *et al*, 2001; GARCIA *et al*, 2006).

Para a maioria dos pacientes com insuficiência renal crônica, o transplante oferece a melhor oportunidade de sobrevida e de reabilitação em longo prazo, com um menor custo social que a diálise (OJO *et al*, 2001).

Com exceção de uma parcela dos transplantes renais, de alguns casos de transplantes hepáticos e de casos excepcionais de transplante pulmonar e pancreático, na grande maioria dos transplantes, os órgãos são obtidos a partir de doadores falecidos. Calcula-se de 1 a 4% das pessoas que morrem em hospital e 10 a 15% que morrem em unidades de cuidados intensivos apresentam o quadro de morte encefálica (SPINEL *et al*, 1989; NAVARRO *et al*, 1993) sendo, doadores potenciais. A taxa estimada de potenciais doadores, isto é, de pessoas com diagnóstico de morte encefálica sem contra-indicação para a doação, é em torno de 50 a 60 por milhão de população por ano (pmp/ano) (MATESANZ *et al*, 1999).

Estudos sugerem que no Brasil possa haver uma maior taxa de potenciais doadores, que nos países desenvolvidos, em torno de 60 a 100 pmp/ ano, possivelmente relacionado a acidentes de trânsito e ferimentos por arma de fogo (PESTANA *et al* 1993; SANTOS *et al* 2006). Então, com uma população de 180 milhões de habitantes, e em torno de um milhão de mortes por ano, podem-se estimar entre 11.000 e 18.000 casos de morte encefálica por ano (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS, 2005).

Com relação à necessidade de doadores para transplante renal, há relatos de que em torno de 50% dos pacientes que fazem diálise poderiam beneficiar-se do transplante (STUART *et al*, 1981; GARCIA *et al*, 1993). Como a incidência dos pacientes em diálise, na maioria dos países, situa-se entre 100 a 160 pmp/ano, com exceção dos Estados Unidos, Taiwan e Japão que apresentam uma incidência maior (US RENAL DATA SYSTEM, 2002) e entre 3 a 5% dos transplantados tardios retornam anualmente à diálise por perda do enxerto e, conseqüentemente, à lista de espera, estima-se que sejam necessários, para atender à demanda, em torno de 60 a 70 transplantes renais pmp/ ano (US RENAL DATA SYSTEM, 2002).

Os transplantes de órgãos no Brasil iniciaram-se na década de 1960, sendo relatado o primeiro caso de transplante renal com doador vivo, no Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela equipe chefiada pelo Dr. Emil Sabbaga, no ano de 1965.

Enquanto houve um desenvolvimento progressivo no transplante renal, o programa de transplante dos demais órgãos foi suspenso sendo retomados em meados dos anos 1980. Entre 1965 e 1993 houve um progressivo aumento nos transplantes renais, entretanto, a partir daí até 1997, praticamente estabilizou, entre 1.500 e 1.800 transplantes, em torno de 10 a 12 pmp/ano (GARCIA *et al*, 2006).

Com o estabelecimento de uma política de transplante no país através da implantação de medidas consideradas essenciais, houve um aumento importante nas taxas de realização de transplantes. Em 2005 foram realizados 3.362 transplantes renais (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS, 2005) tornando o país o terceiro do mundo em números absolutos, atrás apenas dos Estados Unidos e da China.

Na última década houve um avanço significativo no resultado dos transplantes, com um aumento substancial na sobrevida do enxerto e do paciente a curto e longo prazo. Uma série de fatores contribuiu para este resultado dentre eles

o aprimoramento na técnica cirúrgica, o progresso nas técnicas de exames imunológicos para seleção de doador, um conhecimento mais profundo do mecanismo de rejeição através do desenvolvimento de técnicas de biologia molecular, a descoberta de potentes agentes antimicrobianos utilizados no tratamento das infecções, e o aparecimento de novas e poderosas drogas imunossupressoras (IANHEZ *et al*, 2003).

1.2.2 Procedimento

O transplante renal é um procedimento que transfere um rim saudável de uma pessoa (doador) em outro corpo (receptor) e este novo rim fará todo o trabalho que os dois rins doentes não mais faziam. O novo rim é colocado na fossa ilíaca e anastomosado a artéria e veia renal do corpo à artéria e veia ilíaca do novo rim. O sangue flui pelo novo rim e produz urina, da mesma maneira como faziam os rins quando eram saudáveis. O rim transplantado pode começar a funcionar imediatamente ou pode levar algumas semanas para funcionar. Os rins comprometidos permanecem onde estão, a menos que estejam causando complicações como infecção ou hipertensão (IANHEZ *et al*, 2003).

O rim transplantado pode ser de um membro familiar, este tipo de doador é chamado de doador vivo-relacionado, ou pode ser de uma pessoa com morte encefálica, sendo este tipo de doador chamado de doador-cadáver. Às vezes um cônjuge ou o amigo pode doar um rim. Este tipo de doador é chamado de doador vivo - não relacionado e necessita de autorização judicial. (IANHEZ *et al*, 2003).

Os candidatos que receberão os rins do doador cadáver são selecionados com base em suas características genéticas, sendo o principal critério a compatibilidade do HLA (antígeno leucocitário humano) com o doador. (IANHEZ *et al*, 2003).

O rim de doador vivo relacionado: trata-se de um órgão ofertado por um familiar do indivíduo renal crônico (tio, pais, irmãos ou primos). O doador deve fazer isso de livre e espontânea vontade, e passar por uma extensa avaliação antes de ser aprovada a doação, para garantir que exista compatibilidade com o doador, e que o risco da cirurgia de doação seja aceitável. Feito isso, é marcada a cirurgia de forma eletiva, ou seja, programada (IANHEZ *et al* 2003).

É muito importante que o sangue e tecidos do doador sejam compatíveis com os do receptor. Esta compatibilidade ajudará a impedir que o sistema imunológico do organismo passe a agredir, ou rejeitar, o novo rim será feito então testes especiais nas células sanguíneas do doador e receptor para verificar se haverá rejeição ou não. (IANHEZ *et al*, 2003).

1.2.3 Rejeição do transplante renal

Como o transplante não é uma cura, sempre haverá a possibilidade de rejeição do novo rim, não importa a total compatibilidade entre doador e receptor. A possibilidade de um corpo aceitar o novo rim depende, além da histocompatibilidade, da idade, raça, e condições clínicas do paciente (SOLEZ *et al*, 2008).

1.2.3.1 Tipos de rejeição celular ao transplante renal

- Rejeição hiperaguda: é a falha do enxerto nos primeiros minutos ou horas após o transplante em decorrência de anticorpos pré-formados dirigido contra o doador presentes no soro do receptor. (SOLEZ *et al*, 2008).

- Rejeição humoral aguda: se desenvolve entre uma a duas semanas após o transplante acarretando alterações severas da função e morfologia renal [lesões vasculares] (SOLEZ *et al*, 2008).

- Rejeição celular aguda: pode ocorrer em qualquer período pós transplante e é a complicação mais grave e freqüente , podendo se desenvolver precocemente (depois da primeira semana e até o primeiro mês pós-transplante) necessitando de drogas imunossupressoras adicionais e, portanto, favorecendo o aparecimento de seus efeitos colaterais. É mediado, porém, não exclusivamente pela imunidade celular (SOLEZ *et al*, 2008).

A rejeição aguda leva também a uma diminuição da sobrevida a longo prazo dos aloenxertos. A meia vida estimada (período de tempo necessário para falharem 50% dos rins que estavam funcionando após um ano de pós-transplante)

do enxerto é de 8,6 anos nos pacientes sem rejeição e de 7,4 anos nos pacientes com um ou mais episódios de rejeição (NETO *et al*, 2000).

- Rejeição crônica: é uma diminuição progressiva da função renal de causa imunológica que se inicia, por convenção, depois do terceiro mês pós-transplante. É mediado pela imunidade celular e em alguns casos pela imunidade humoral (SOLEZ *et al*, 2008).

Normalmente, um ano depois da cirurgia 75% a 80% dos transplantes de doadores cadáver estão funcionando. Porém, os transplantes realizados com doador vivo relacionados funcionam freqüentemente melhor do que aqueles transplantados de doadores cadáver, isso devido ao fato deles terem normalmente uma melhor compatibilidade (SOLEZ *et al*, 2008).

1.2.4 Mecanismo da resposta imune

Com a natureza imunológica da rejeição aos tecidos, estabelecida há mais ou menos 40 anos, sabe-se, desde então, da importância do reconhecimento do aloantígeno para o início da resposta imune.

Os antígenos do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) são as principais moléculas que participam e são responsáveis pela resposta imune aos transplantes de órgãos e tecidos e são glicoproteínas presentes na superfície da membrana celular. Havendo incompatibilidade entre o doador e o receptor de um órgão ou tecido, condicionada pelo MHC, será desencadeada a resposta imune contra este enxerto que, se não tratado, leva à destruição do mesmo (NETO *et al*, 2000).

O MHC em humanos é denominado antígeno leucocitário humano (HLA), sendo geneticamente determinado por genes que se localizam no braço curto do cromossomo 6. Os antígenos de histocompatibilidade podem ser divididos em duas classes: HLA classe I e HLA classe II e suas diferenças são baseadas na distribuição dos mesmos nos tecidos e suas funções (NETO *et al*, 2000).

As principais proteínas de classe I do HLA I (A, B, C) são expressas em quase todas as células nucleadas do organismo e são responsáveis pela ativação dos linfócitos T CD8+. As principais proteínas do HLA classe II (DR, DP e DQ) são

expressas principalmente pelos macrófagos, células dendríticas, linfócitos B e são responsáveis pela ativação das células T CD4+. Algumas outras células, como as endoteliais e tubulares renais, podem ser induzidas a expressarem proteínas do HLA classe II, em resposta a citocinas inflamatórias durante a resposta imune e passando a adquirir papel estimulatório na resposta imune ao transplante (NETO *et al*, 2000).

1.2.5 Reconhecimento dos antígenos pelos linfócitos T

Os aloantígenos são reconhecidos através do receptor presente na superfície da célula T (TCR), que os reconhece apenas quando apresentados na superfície de outras células, chamadas de células apresentadoras de antígenos (APC), sempre ligados ao MHC (NETO *et al*, 2000).

Estas células apresentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas e linfócito B) podem estar presentes dentro dos órgãos vascularizados quando transplantados, sendo chamadas de “leucócitos passageiros”, que podem expressar tanto antígenos de classe I quanto de classe II, estimulando diretamente as células T, iniciando o processo de rejeição, caracterizando assim a chamada **via direta** do alo-reconhecimento. Na **via indireta**, as células apresentadoras de antígenos do receptor fagocitam os aloantígenos, os processam e expressam nas fendas da superfície celular (NETO *et al*, 2000).

Os receptores de células T estão associados à molécula CD3 (complexo TCR/CD3), sendo encarregada da transmissão do sinal de ativação para o citoplasma da célula, pela sua porção intracitoplasmática, ativando através das vias de proteína-quinase e outras quinases dependentes de cálcio e de calmodulina, sítio de ação de imunossuppressores como a ciclosporinas e tacrolimus, vários sítios de fosforilação (NETO *et al*, 2000).

A apresentação antigênica ao receptor do linfócito T cria o estímulo à sua ativação chamado de **primeiro sinal**, importante para o desencadeamento do processo de rejeição ao enxerto, porém não suficiente. Para tanto é necessário que ocorram sinais adicionais (co-estimulatórios) induzidos nas células T por outros receptores. A esse estímulo secundário dá-se o nome de **segundo sinal** (NETO *et al*, 2000).

Atualmente, o sistema melhor documentado do segundo sinal é o associado ao resultado da ligação de moléculas CD28 do linfócito T CD4 com seus ligantes da família da proteína B7 (B7-1 e B7-2) presentes na superfície da APC (NETO *et al*, 2000).

Na verdade, os sinais do complexo TCR/CD3 podem levar a um estado refratário da célula ao estímulo antigênico, chamado de estado de anergia celular, caso este primeiro sinal não seja acompanhado pelo segundo sinal (NETO *et al*, 2000).

O primeiro sinal atua pela via do TCR e um antígeno específico, enquanto um segundo sinal atua pela integração adequada entre as moléculas de superfície presentes nos linfócitos T e células apresentadoras de antígenos (NETO *et al*, 2000).

O sinal desencadeado pelo contato de um segundo - mensageiro, mobiliza o íon cálcio dos estoques intracelulares, além de outras substâncias promotoras que ativam uma proteína quinase que, ao final, irá fazer com que haja a expressão de IL-2 e de seu receptor (IL-2R), essenciais para a resposta imune ao transplante favorecendo a expansão clonal das células T (NETO *et al*, 2000).

Os linfócitos T CD4⁺ ou auxiliares são de grande importância para a ativação do mecanismo imune de rejeição ao aloenxerto e são subdivididos em duas subpopulações, os linfócitos T auxiliares 1 e 2 (Th₁ e Th₂). Estes são diferenciados pelo perfil das interleucinas produzidas por cada um, sendo chamados Th₁ quando produzem interleucina 2 (IL2), interleucina 3 (IL3), fator de necrose tumoral-beta, interferon-alfa, beta e gama; e são responsáveis pelo componente celular inflamatório da resposta imune; os linfócitos Th₂ por sua vez são produtores de interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10) sendo responsáveis pelo componente humoral na resposta imune pela ativação do linfócito B (NETO *et al*, 2000).

As células Th₁ e Th₂ se desenvolvem a partir de um mesmo precursor e podem apresentar função regulatória uma sobre a atividade da outra. O interferon-gama inibe a expressão das citocinas produzidas por células Th₂, enquanto IL-4 e IL-10 inibem as produzidas pelas células Th₁. A citocina chave na rejeição é o interferon-gama. Ele atrai e ativa os macrófagos, células endoteliais e aumenta a expressão de MHC (NETO *et al*, 2000).

As citocinas produzidas e secretadas pelas células T e por outras células se ligam aos seus receptores presentes na superfície dos: linfócitos T citotóxicos, células B, dos próprios linfócitos T auxiliares, macrófagos e outras células, induzindo sinais de ativação nas células alvo levando a nova produção de citocinas, proliferação celular e diferenciação (NETO *et al*, 2000).

Uma vez ativados os linfócitos T, o passo seguinte é a migração dos leucócitos para o tecido transplantado, seguido por sua infiltração e posterior ação citotóxica ao enxerto. Após a entrada das células de defesa no órgão transplantado, ocorrerá então o processo de citotoxicidade que levará, finalmente, ao dano tecidual do aloenxerto [Figura 1] (NETO *et al* 2000).

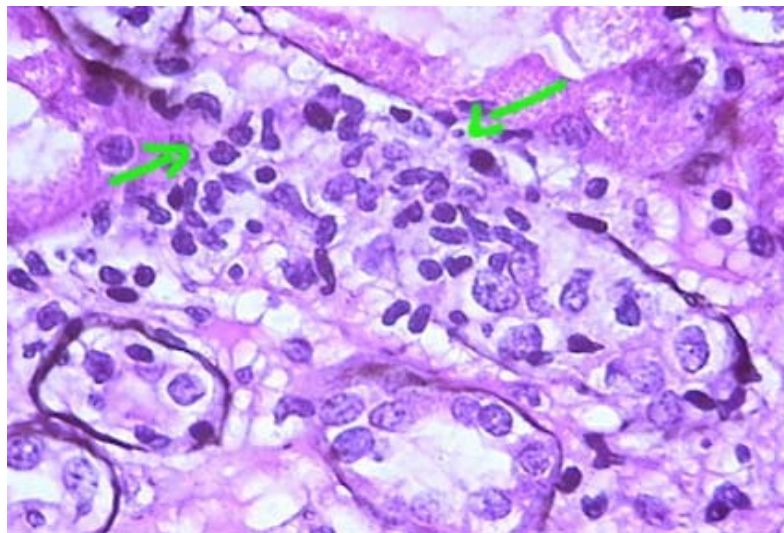


FIGURA 1 - Tubulite severa: destruição da camada basal dos túbulos (flechas) (PAS X400) (Solez *et al* 2008)

Após todo o processo de alorreconhecimento e ativação celular serem estabelecidos, inicia-se agora o mecanismo final que é a destruição celular. Apesar de bem estabelecido o papel das células T nessa resposta, muito se tem feito na tentativa de um maior esclarecimento dos mecanismos efetores finais da resposta imune (AGHA *et al*, 2002a).

A resposta imune pode ser dividida em dois grupos: a humoral, mediada por anticorpos produzidos por plasmócitos; e a resposta imune celular, que é mediada pelos linfócitos T e substâncias por eles produzidas: as citocinas, fatores de crescimento e enzimas (AGHA *et al*, 2002a).

A ação dos anticorpos em resposta ao aloenxerto, depende da ativação dos linfócitos B, que é dependente do estímulo produzido por citocinas secretadas pelas células T CD₄⁺. Estes linfócitos produtores de IL-4, IL-6 e IL-10, fazem com que haja expansão e proliferação dos linfócitos B que iram se diferenciar em plasmócitos, com conseqüente produção de imunoglobulinas que, ligando-se à parede da célula enxertada e daí, através da ação do sistema complemento ocasionará a lesão da membrana celular, levando à destruição do tecido enxertado (MCLEAN *et al*, 1997, AGHA *et al*, 2002a).

Uma vez ativada a resposta imune celular, os linfócitos Tcitotóxicos irão atuar lisando diretamente as células do enxerto ou pela produção de citocinas, que recrutam e ativam as células efetoras. As células T ativadas são ricas em grânulos intracelulares contendo proteínas que estão envolvidas na destruição definitiva das células alvo do enxerto. Após o reconhecimento da célula alvo, os grânulos do linfócito T citotóxico são mobilizados para a superfície da célula citotóxica ligada à célula alvo sendo então liberados no espaço intercelular por um processo chamado exocitose de grânulos (AGHA *et al*, 2002b).

Na imunidade mediada por células e rejeição aos enxertos, os macrófagos têm um papel importante. As células T citotóxicas produzem e secretam citocinas que atraem e ativam os macrófagos para o local do enxerto e fazendo com que desenvolvam atividade citotóxica, aumentando com isso o número de células efetoras para a lesão do enxerto (AGHA *et al* 2002b).

Nessa simplificada revisão do mecanismo imunológico de rejeição aos enxertos, observa-se a importância do aloreconhecimento para o início da resposta imune, e a seqüência de eventos, através da ativação da célula T, para posterior produção de citocinas, atração de células inflamatórias, expressão de moléculas de adesão, entrada no tecido enxertado, e finalmente ação citotóxica contra o enxerto, levando à destruição celular (AGHA *et al*, 2002b).

A utilização da biologia molecular tem levado a grandes avanços no entendimento do mecanismo imune da rejeição ao enxerto e esse progresso, com toda certeza, levará no futuro a uma imunossupressão mais refinada, agindo em locais específicos, minimizando assim os seus efeitos indesejáveis. (AGHA *et al*, 2002b).

1.3 Imunossupressão

Na tentativa de reduzir ou prevenir a rejeição aos enxertos têm sido utilizados medicamentos imunossupressores que o transplantado terá que usar durante o resto de sua vida. São utilizados sob estreito controle vários regimes imunossupressores envolvendo a monoterapêutica, a terapêutica dupla ou tripla com Prednisolona, Azatioprina, Ciclosporina Tacrolimus, Micofenolato Mofetil ou Rapamicina (PATTISON; KRENSKY 1997; SCANTLEBURY *et al*, 2002).

O tratamento com drogas imunossupressoras pode causar efeitos colaterais, sendo mais sério o fato destas drogas debilitarem o sistema imunológico tornando-o mais propenso a adquirir infecções. Em um número menor de pacientes, estas drogas podem causar também danos ao fígado ou rim quando usadas por um período longo de tempo. O uso contínuo destas drogas, cada vez mais potentes, pode favorecer a expressão de doenças oportunistas, bactérias, fungos e a replicação viral (PATTISON; KRENSKY 1997; SCANTLEBURY *et al*, 2002).

1.4 Infecção por poliomavírus humano (tipo BKV) em pacientes transplantados renais

Com o êxito dos transplantes, surgiu a necessidade de manejar pacientes imunodeprimidos e, com isto, a obrigatoriedade da suspeita clínica de infecções oportunistas são responsáveis pela alta morbimortalidade nesta área (MONTAGNER *et al*, 2007).

Nos pacientes com imunodeficiência primária ou adquirida, a presença de bactérias e fungos pouco patogênicos na população imunocompetente e, principalmente vírus latentes, passaram a colocar constantemente estes pacientes em risco (MONTAGNER *et al*, 2007).

A prevalência de infecções latentes pelos poliomavírus é alta na população em geral. O sítio de latência dos seus principais representantes com potencial patogênico em humanos, JCV e BKV são os tecidos cerebral e renal respectivamente. Dessa forma, os pacientes transplantados renais são especialmente vulneráveis aos danos de uma eventual reativação viral durante a

imunossupressão profilática e a terapêutica dos processos de rejeição. Os receptores de qualquer tipo de transplante, como consequência da imunossupressão a que são submetidos, estão expostos a esse mesmo risco (MONTAGNER *et al*, 2007).

1.4.1 Histórico

O primeiro caso de poliomavirus foi descrito em 1971, no Hospital St. Mary's, de Londres, pela Dra. Sylvia Gardner, da urina de um paciente transplantado renal do sexo masculino que também apresentava disfunção do enxerto e características de estenose uretral quatro meses após o transplante (AZZI *et al*, 1999; FIORITI *et al*, 2005). O paciente apresentava células decoy na urina e a histopatologia da estenose mostrou BKV nas células epiteliais do ureter.

O BKV pertencente ao gênero Poliomavirus e a subfamília Papovaviridae, são vírus da família Pappoviridae e existem dois poliomavirus humanos conhecidos, o JC e o BK vírus. Embora estes vírus, particularmente o BK, sejam altamente prevalentes na população humana (60-80%) parecem só causar doença significativa em indivíduos imunocomprometidos (RAMOS *et al*, 2002a).

O terceiro membro desta família o SV 40, foi isolado em 1960 do rim do macaco Rhesus e está associado com uma síndrome clínica de tumores como o linfoma não-Hodgkin (RANDHAWA *et al*, 2002a; FIORITTI *et al*, 2005).

Embora apresentem alguma homologia genética entre si, todos os poliomavirus (BKV, JCV e SV 40) são sorológico e geneticamente distintos. O SV 40 foi o primeiro poliomavirus a ser descoberto como contaminante das vacinas contra a poliomielite (HILLEMANN, 1998; RANDHAWA *et al*, 2002a).

Em 1995, na era dos novos medicamentos imunossupressores, foi descrito o primeiro caso de nefropatia pelo BKV. Com o uso de drogas como o tacrolimus (TAC), micofenolato de mofetil (MMF) e sirolimus, tem aumentado o número de casos reportados de nefropatia por PVM (MENGEL *et al* 2003; MANNON *et al* 2004).

De acordo com o primeiro estudo prospectivo realizado para nefropatia pelo BKV esta ocorreu em 8% dos pacientes transplantados renais que fizeram uso de TAC-aziotioprina-prednisolona e ciclosporina-MMF-prednisolona (MENGEL *et al* 2003).

1.4.2 Características biológicas

O BKV é um *virion* da família poliomavírus pequeno (40 a 45 nm de diâmetro), que possui capsídeo icosaédrico descoberto, 72 capsômeros pentamérico, um DNA de fita dupla circular super-helicoidal com o peso molecular de $3,2 \times 10^6$ e 5Kb de tamanho (BOUBENIDER *et al*, 1999; AHSAN; SHAH, 2002). A dupla fita do DNA genômico viral constitui quase 12% da massa do *virion* e está complexada com quatro histonas nucleossomais celulares, H2A, H2B, H3 e H4, que são em conjunto, chamadas de minicromossoma viral (AHSAN; SHAH, 2002).

O genoma do BKV consiste de duas regiões: uma codificante geneticamente conservada e outra regulatória não codificante, hipervariável conhecida como NCRR (CUBITT; STONER, 2002). [Vide figura 2]

- Região codificante:

A região codificante é funcionalmente dividida em região precoce e região tardia, sendo a primeira transcrita antes e a segunda depois da replicação viral (WHITE; KHALILI, 2004).

- Região precoce: (codifica proteínas não estruturais)

Os genes desta região codificam os antígenos T (TAg) e t(tAg) transcritos antes da replicação do DNA e expressos logo após a infecção das células dos hospedeiros e durante o estagio tardio. Os TAg são fatores de ativação essenciais para a replicação do DNA e regulam a transcrição e replicação do genoma viral. Assim, o TAg regula sua própria transcrição sendo responsável pela capacidade de transformação celular induzida após a infecção pelo BKV (CUBITT; STONER, 2002).

O antígeno TAg modula a via de sinalização celular induzindo as células hospedeiras a entrarem na fase S do ciclo celular, controlando desta maneira a progressão do ciclo e a apoptose das células infectadas. O papel do tAg no ciclo da vida do poliomavírus não é muito conhecido (WHITE; KHALILI, 2004).

- Região tardia, os genes desta região codificam:

a) proteínas estruturais do capsídeo (VP1, VP2 e VP3) que se reúnem com o DNA viral replicado para formar *virions*, sendo que a VP1 constitui 70% da massa

molecular viral (360 cópias) com peso molecular de 44 KDa (WHITE; KHALILI, 2004). Ela participa da conexão viral aos receptores nas células susceptíveis, contém epitopos de neutralização, possui determinantes imunológicos próprios e outros compartilhados com as células hospedeiras (AHSAN; SHAH, 2002). O capsídeo contém também de 30 a 60 cópias de Vp2 e Vp3, que dão forma aos 72 capsômero pentaméricos (HIRSCH *et al*, 2005). Como a replicação viral e a reunião dos *virions* ocorrem no núcleo da célula infectada, estas proteínas VP1, VP2 e VP3 localizam-se no compartimento intranuclear (RANDHAWA *et al*, 2002b).

b) agnoproteínas participam da liberação celular do vírus replicado e diferem das outras proteínas codificadas pelas regiões precoce e tardia por se localizarem primariamente no citoplasma e na região perinuclear das células infectadas. Esta distribuição intracelular sugere que as agnoproteínas participem da reunião do capsídeo viral, da lise celular e da liberação do vírus da célula hospedeira (RANDHAWA *et al*, 2002b).

- Região regulatória não-codificante (NCRR):

As regiões NCRR contem a origem da replicação (ORI) e ainda codifica numerosos fatores envolvidos na regulação da transcrição e na replicação viral (CUBITT; STONER, 2002).

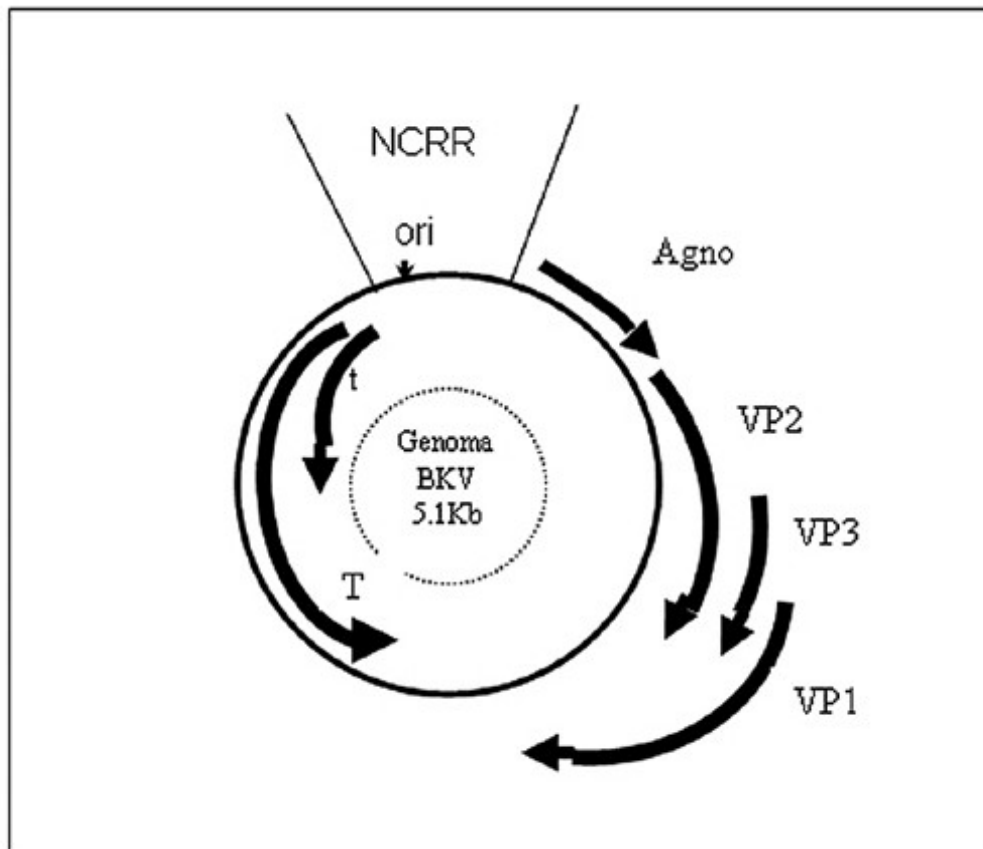


FIGURA 2 - Estrutura genômica da família poliomavírus (CUBITT; STONER, 2002).

Dentro do núcleo o vírus é transcrito na célula do hospedeiro pela RNA polimerase, uma vez que a simplicidade do seu genoma o torna altamente dependente desta célula para a realização da transcrição e replicação do seu genoma (HILLEMANN *et al*, 1998).

Depois que a replicação do DNA ocorreu, a transcrição dos genes tardios promove a síntese de proteínas estruturais (Vp1, Vp2 e Vp3) para garantir a geração infecciosa do vírus (HILLEMANN *et al*, 1998).

A replicação do PVH depende de fatores das células hospedeiras (HIRSCH, 2005). Nestas células a expressão de proteínas dos capsídeos é seguida pela formação do corpo do *virion* no núcleo, com lise da célula permitindo assim a liberação do vírus que desencadeia uma resposta imune - específica, onde a célula natural Killer do sistema imune inato promove uma ação citotóxica antiviral, sendo seguida pela resposta imune adaptativa (HIRSCH, 2003).

Em consequência da grande variabilidade antigênica do BKV, especialmente na região da proteína VP1 do capsídeo viral, nos torna possível

determinar diferentes sorotipos antigênicos (CUBITT; STONER, 2002). Aparentemente, esta instabilidade genética tem impacto direto na regulação da imunidade do hospedeiro podendo afetar tanto a patogênese da nefropatia pelo BKV como desenvolver resistência a agentes antivirais (CUBITT; STONER, 2002; RANDHAWA, 2002b).

1.4.3 Epidemiologia

As infecções em humanos podem ser causadas por dois tipos de poliomavirus humano (PVH): o BK vírus (BKV) e o JC vírus (JCV) que foram isolados em 1971 de pacientes com estas iniciais. O JCV e o BKV possuem 70% de homologia genômica (DEMETER, 2000).

A maior parte (60% a 80%) da população adulta tem anticorpo contra JCV, BKV ou ambos e a eliminação assintomática na urina ocorre em pacientes com imunossupressão relacionada com a infecção pelo vírus HIV, neoplasias e após transplante (DEMETER, 2000).

A infecção primária ocorre tipicamente durante a infância, depois da diminuição dos anticorpos maternos sendo, na maioria das vezes, completamente assintomática, persistindo indefinidamente como infecção latente nos órgãos-alvo. (EASH *et al*, 2006). Até os 10 anos de idade, a soropositividade terá aumentado em 50% e podendo atingir aproximadamente 70% nos adultos (KNOWLES; PIPKIN; ANDREWS, 2003). Esta prevalência pode aumentar durante a gravidez, nos idosos ou por ocasião de imunodeficiência, onde o nível de replicação pode aumentar a carga viral do DNA do BKV de $< 10^5$ para $> 10^7$ cópias/ml na urina (HIRSCH, 2005).

A infecção secundária deve-se à reativação do vírus latente ou reinfecção com uma nova linhagem. Estudos clínicos incluindo pacientes imunossuprimidos e imunocompetentes sugeriram que a reativação do BKV em latência está associada principalmente à imunossupressão (WALI *et al*, 2004).

Os achados clínicos mais freqüentes na primo-infecção são sintomas respiratórios inespecíficos. A presença de tonsilite supõe que o tecido linfóide associado à mucosa da região orofaríngea possa ser um dos locais de infecção primária. Manifestações neurológicas, tais como síndrome de Guillain-Barre e encefalites são raramente associadas ao BKV (RANDHAWA *et al*, 2002b). O trato

urogenital é o local de latência preferencial do BKV em humanos (AHSAN; SHAH, 2002).

Durante os primeiros seis meses pós-transplante renal ocorre o pico de incidência de infecção pelo poliomavírus, no entanto, a infecção pode persistir durante meses ou até anos (RANDHAWA *et al*, 1999).

Nos transplantados renais a ocorrência de nefropatia pelo BKV varia nas diferentes populações, dependendo principalmente do esquema de imunossupressão utilizado.

Foi observada uma associação entre o aumento do BKV e o uso de novas e potentes drogas imunossupressoras sugerindo que esses agentes além de reduzir a rejeição celular aguda (RCA), têm também tornado mais propício o ambiente para a reativação viral. De qualquer modo a maioria dos pacientes com nefropatia causada pelo BKV entra em um ciclo desanimador, alternado entre a nefropatia intersticial pelo BKV e a rejeição celular aguda acelerada pela diminuição da dose dos imunossupressores (ANDREWS *et al*, 1988; RANDHAWA *et al*, 1999).

1.4.4 Transmissão

Acredita-se que o modo natural de transmissão do BKV ocorra tanto por via respiratória como também pelo trato gastrointestinal (SUNDSJORD *et al*, 1994). Ele pode ser encontrado nas amídalas podendo causar amidalite aguda e também na saliva de indivíduos adultos imunossuprimidos ou imunocompetentes tendo o trato intestinal como via de entrada do poliomavírus. O BKV pode ser transmitido também pela via transplacentária, onde normalmente a reativação do vírus ocorre durante a gestação (PIETROPAOLO *et al*, 1998; MAS, 2003).

O BKV pode ser transmitido ainda por doadores de órgãos uma vez que o genoma viral vem frequentemente sendo detectado em rins saudáveis, ou pode ser adquirido na comunidade. Alguns sintomas clínicos como febre moderada, mal estar, vômito, doenças respiratórias, pericardite, disfunção hepática e cistite hemorrágica em pacientes transplantados de medula óssea também foram relatados (SMITH *et al*, 2001).

Fluidos corporais tais como aspirados nasofaringeais de crianças internadas por infecção respiratória grave, sêmen e sangue de doadores saudáveis podem estar também envolvidos na transmissão de infecções por BKV e o seu DNA pode ser isolado também a partir de tecidos do trato genital e de pele normal (RANDHAWA *et al*, 2006).

O estado de infecção não replicativo denominado latência, é estabelecido no epitélio tubular renal e nas células uroepiteliais após a primo-infecção. A reativação e replicação com virúria assintomática ocorrem em 5% dos indivíduos sadios (HIRSCH, 2005).

Os seguintes critérios são utilizados para definir a infecção, replicação e doença pelo BKV (HIRSCH, 2005):

- Infecção pelo BKV: ocorre nos casos de evidência sorológica de exposição ao vírus tendo sido desenvolvido imunidade.
- Replicação do BKV: ocorre nos casos com evidência de multiplicação do vírus (infecção ativa) com a evidência do efeito citopático na urina (células decoy) ou presença do RNAm da proteína estrutural VB1, em estado de não latência, no plasma e na urina através da imunohistoquímica e pesquisa de células decoy respectivamente.
- Doença pelo BKV: ocorre quando há evidência histológica do dano tecidual (nefropatia) pelo BKV.

1.4.5 Patogênese

Apesar do BKV ter sido isolado pela primeira vez em 1971 na urina de um transplantado renal, somente nas últimas décadas ele foi reconhecido como causa de doença clínica. O BKV pode causar nefrite intersticial em cerca de 6% dos transplantados renais (MYLONAKIS *et al*, 2001; HIRSCH *et al*, 2002; MANNON, 2004) associada à disfunção e perda do enxerto renal em 45% dos pacientes afetados. Esta doença pode progredir para fibrose e atrofia tubular com conseqüente

diminuição da sobrevida do enxerto. De acordo com o tempo de seguimento este efeito pode atingir até 80% dos pacientes transplantados se comparados com outros enxertos com disfunção (RAMOS *et al*, 2002b).

O vírus BK também está associado à estenose uretral pós-transplante renal, hematúria assintomática e cistite hemorrágica nos receptores de medula óssea (RANDHAW *et al*, 1999).

Após o advento e uso de drogas imunossupressoras bem mais potentes, em particular a associação Tacrolimus (TAC) e Micofenolato mofetil [MMF] (RAMOS *et al*, 2002b; MENGEL *et al*, 2003) o BKV tem sido frequentemente a causa de infecção nos pacientes transplantados renais, sua reativação pode ser detectada em 20% dos pacientes (BOUDENIDER *et al*, 1999).

A patologia relacionada com o vírus BK está restrita ao trato urinário, e a virúria assintomática é freqüente na população transplantada renal. No entanto, a patologia renal (nefropatia) associada à infecção pelo vírus BK só foi reconhecida recentemente com uma incidência de 2-3% nas biopsias renais de pacientes transplantados que faziam uso de drogas imunossupressoras bem mais potentes. O aumento da replicação viral nestes pacientes pode ser monitorado através da presença de células decoy na urina (NICKELEIT, 2000a).

A disfunção renal causada pela infecção pelo vírus BK tem como causa a necrose tubular e a perda das membranas basais tubulares que permite a passagem do fluido tubular para o interstício, podendo ainda evoluir para uma atrofia tubular e fibrose intersticial, ambas relacionadas com a insuficiência renal. Dada a falta de tratamento específico para esta patologia, o diagnóstico precoce é muito importante uma vez que as lesões tubulares são reversíveis quando em sua fase inicial (RANDHAWA *et al*, 1999).

A patogenia da infecção pelo poliomavírus inicia-se com a entrada do vírus nas células hospedeiras e multiplicação do genoma viral, sendo seguido pela viremia até os órgãos alvo e conseqüente replicação do vírus nestes sítios específicos (MYLONAKIS *et al*, 2001; AHSAN; SHAH, 2002).

O vírus entra na célula por um processo de endocitose e de fusão intracelular, que permite a sua liberação nas regiões perinucleares da célula

hospedeira. A replicação ocorre no núcleo da célula infectada onde começa a reunião de novas partículas virais (DEMETER, 2000). [Figura 3]

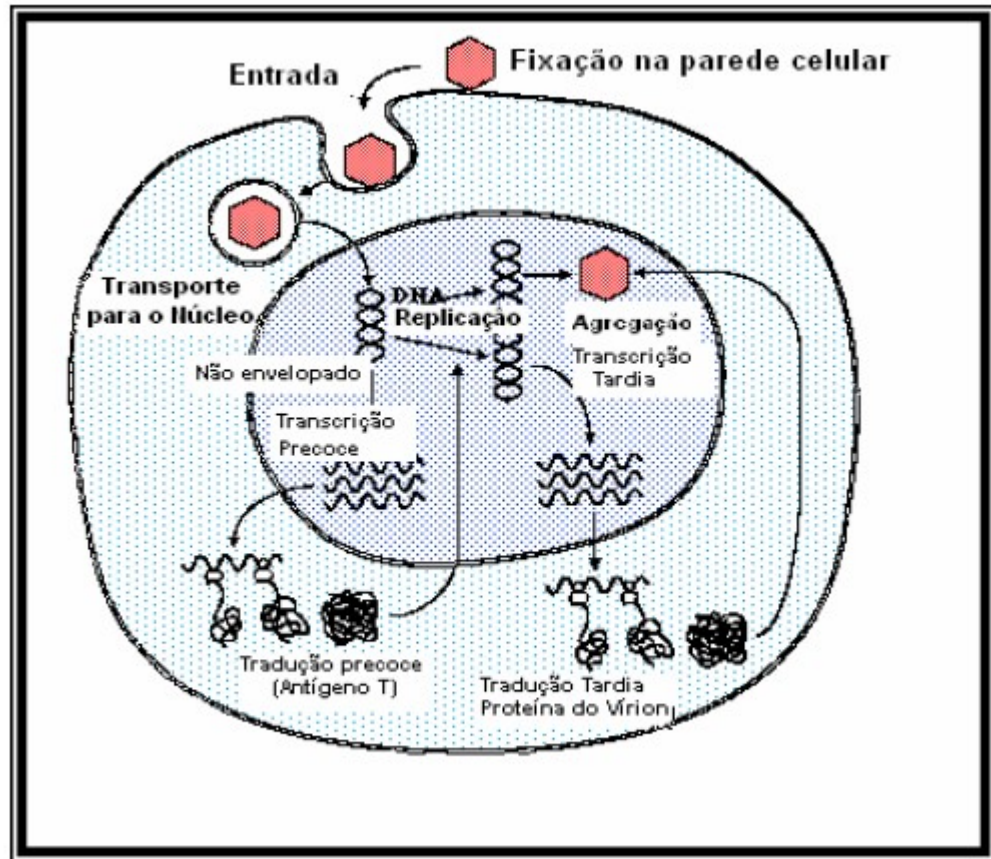
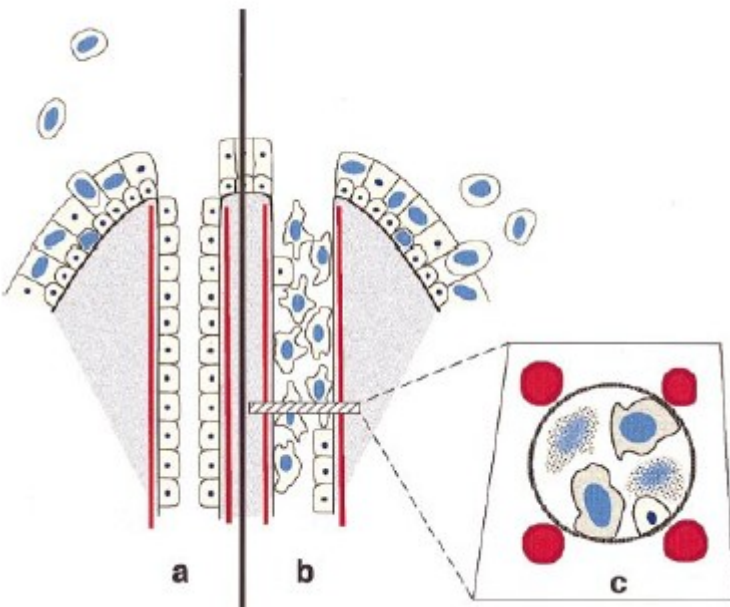


FIGURA 3 - Mecanismo de infecção do BKV nas células do hospedeiro (HILLEMANN, 1998; TAVARES, 2006).

A fixação do vírus na célula hospedeira é feita pela proteína externa do capsídeo Vp1, através de receptores específicos (proteínas glicosílicas) presentes na superfície das células susceptíveis e que interagem com esta proteína. O

no citoplasma que entra no núcleo através de (ALMEIDA, 1999). É então iniciada a replicação do vírus. Quando o vírus atinge a via hematogênica e estabelece a infecção, as proteínas VP2 e VP3 são responsáveis pela facilitação, assim, a entrada do vírus através do núcleo (HILLEMANN, 1998; AHSAN; SHAH, 2002). [Figura 4]

no qual se observa corpos de inclusão viral



(ilustradas na parte azul) do núcleo. (a) alterações reversíveis da nefropatia pelo poliomavírus (BKVN), pois os túbulos e ductos coletores estão normais, somente uma camada das células de transição apresenta inclusões virais sendo vista no sedimento urinário (células decoy). (b e c) BKVN: inclusões virais presente nas células dos túbulos renais e ductos. A replicação viral causa a separação e necrose das células tubulares desnudando a membrana basal. Esta é a razão da disfunção do enxerto e as partículas virais têm facilmente acesso ao fluxo sanguíneo através dos capilares peritubulares (NICKELEIT *et al*, 2000).

Imediatamente após a infecção celular, as células naturais killer (células NK) do sistema imune inato promovem uma atividade citotóxica antiviral, seguida pela ativação da resposta imune adaptativa. As células T CD₄⁺ reconhecem os antígenos apresentados pelas moléculas HLA de classe II do hospedeiro, ativam macrófagos, facilitam a produção de anticorpos e potencializam a citotoxicidade antiviral levando a perda do genoma viral e o restabelecimento normal da célula (MANNONN, 2004). Em casos excepcionais, o DNA viral é integrado aleatoriamente ao genoma da célula hospedeira (MYLONAKIS *et al*, 2001), conferindo assim, um potencial oncogênico ao vírus (WHITE; KHALILI, 2004).

Nos paciente imunossuprimidos a infecção pelo BKV esta associada à estenose uretral em pacientes transplantados renais e cistite hemorrágica em pacientes submetidos à TMO. O BKV pode também estar associado com malignidade hematológica, imunodeficiência congênita e adquirida e síndrome de Wiskott-Aldrich, causando doenças no trato geniturinário (KWARAK *et al*, 2002).

Uma vez que não há terapia antiviral específica para o poliomavírus e o aumento da imunossupressão tem uma implicação importante na reativação viral, estudos têm sugerido que uma diminuição desta imunossupressão pode estar associada tanto a uma diminuição da carga viral do BKV como a uma redução da inflamação no enxerto (KWARAK *et al*, 2002).

Todos os pacientes transplantados, principalmente os transplantados renais e de medula óssea, compõem o grupo de risco mais frequentemente afetado pelo BKV. Em um estudo prospectivo com pacientes transplantados foi revelado que aproximadamente 45% deles tiveram alguma evidência sorológica para reativação do BKV, mas somente 2,5 a 5% desenvolveram doenças sintomáticas e nefrite tubulo intersticial (RANDHAWA; DEMETRIS, 2000).

1.4.6 Manifestações clínicas

A prevalência de infecção latente por poliomavírus tem sido relatada ser de até 65% dos receptores de rim (RANDHAWA; DEMETRIS, 2000), no entanto a ocorrência da nefropatia pelo poliomavírus (PVN) varia de 3-10% mas pode acarretar a perda do enxerto em até 50% dos casos.

Para o diagnóstico de nefropatia pelo BKV (BKVN) é obrigatória a identificação de alterações virais nas células epiteliais na biópsia do enxerto. As células epiteliais com inclusões podem ser erroneamente consideradas células gigantes, sugestivas de rejeição celular, um erro de diagnóstico clínico que pode levar a um aumento da dose de imunossupressores, facilitando a replicação viral e acelerando a perda do enxerto pela PVN (SMITH *et al*, 2001; WALI *et al*, 2004).

É consenso que sempre que um receptor de transplante renal apresentar hematúria macroscópica, obstrução do trato urinário ou um aumento persistente dos níveis de creatinina sérica sem causa aparente, a suspeita de nefropatia pelo poliomavírus (PVN) deve ser cogitada (SMITH *et al*, 2001; MYLONAKIS *et al*, 2001).

Em 5% dos pacientes com viruria pode ocorrer tardiamente estenose uretral em decorrência de fibrose e ulceração (MYLONAKIS *et al*, 2001).

Os riscos de um paciente transplantado renal vir a desenvolver a nefropatia pelo BKV está esquematizada na Figura 5.

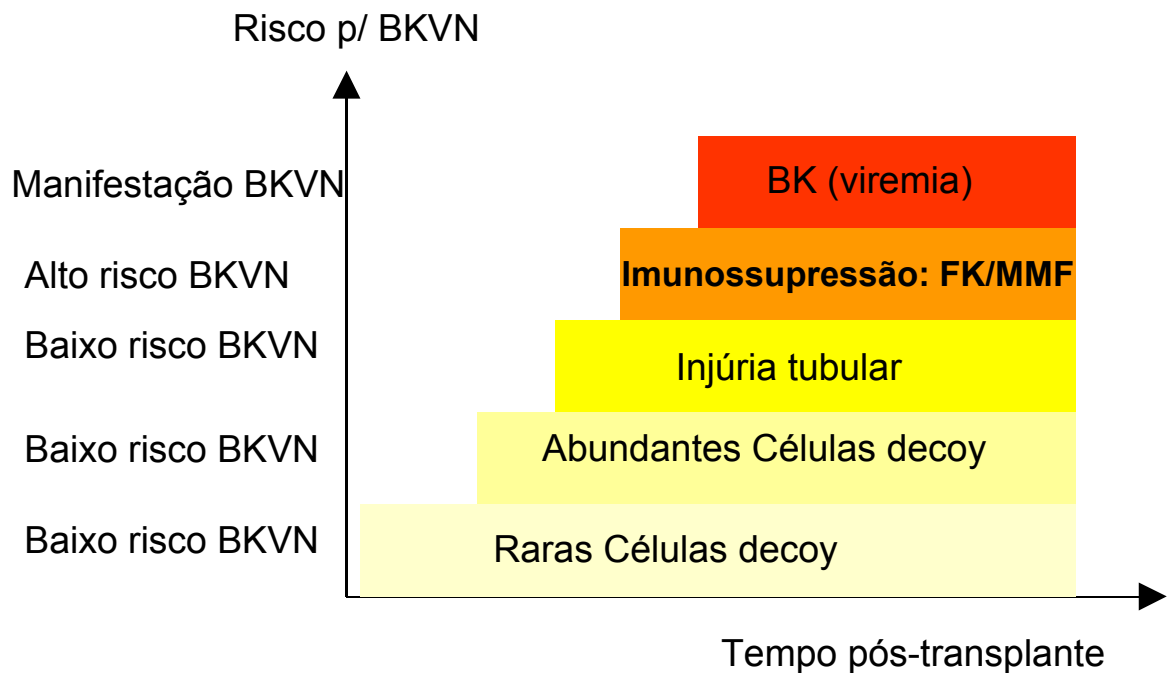


FIGURA 5 - Esquema para o provável risco no desenvolvimento da nefropatia pelo BKV. Observe que alguns fatores estão intimamente relacionados indicando um alto risco para o desenvolvimento da doença. A idéia fundamental parece ser o uso de novas drogas imunossupressoras (MMF-tracolimus) administradas em alta dose (BLANCKAERT *et al*, 2006).

1.4.7 Diagnóstico do BKV

Considerando-se que os quadros clínicos irreversíveis associados à alta morbidade a que a população de risco (transplantados) é susceptível, torna-se necessária a implantação de técnicas de diagnóstico com alta sensibilidade, que permita identificar precocemente aqueles casos de infecção viral com um potencial de evolução para a doença, e com uma especificidade suficiente a fim de minimizar os riscos de perda do enxerto decorrente de uma redução inadvertida da imunossupressão. A escolha dos testes deve ainda contemplar a preocupação com o risco e o custo-benefício garantindo a alta eficácia diagnóstica sem esquecer a disponibilidade econômica de cada centro (MONTAGNER *et al*, 2007).

1.4.7.1 Citologia urinária

O termo célula “decoy” foi utilizado inicialmente para descrever as células com inclusão viral, onde pode-se observar um núcleo aumentado com inclusão

basofílica “gelatinosa”, substituindo a cromatina nuclear ou deslocando-a para a periferia e espessando a membrana nuclear. Um halo claro pode raramente aparecer ao redor da inclusão viral, requerendo então a diferenciação com inclusão de CMV. Esta distinção é geralmente fácil porque as células infectadas pelo BKV têm o núcleo aumentado de tamanho, o citoplasma em forma de “rabo de cometa” e ausência de inclusão citoplasmática (DRACHENBERG *et al*, 2007). [Figura 6]

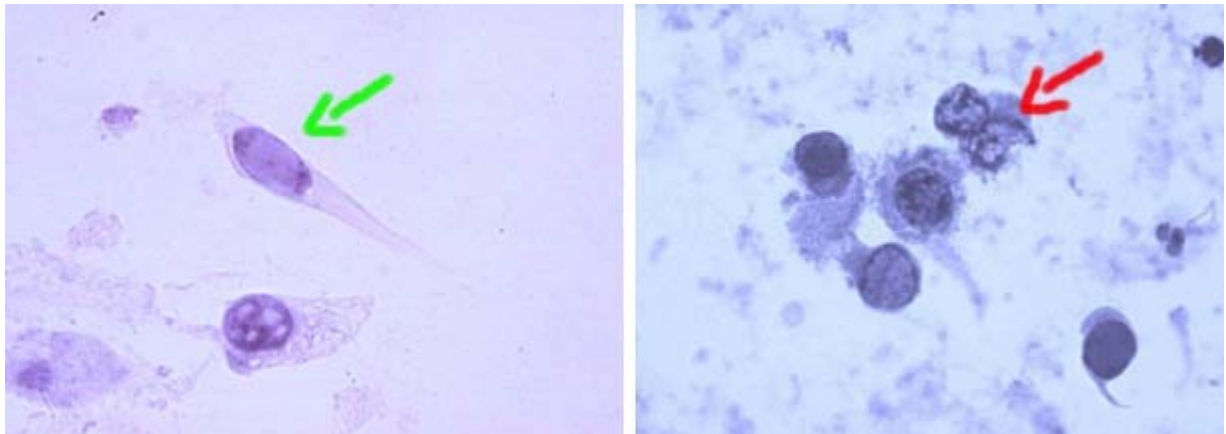


FIGURA 6 - **Células decoy** (citoplasma em “rabo de cometa” e presença de inclusão nuclear). Papanicolaou X 400 (Patologia del transplante renal pg. 3, 2008)

Nos pacientes transplantados renais 10-60% excretam células decoy assintomaticamente. A replicação viral pode ocorrer tanto nas células uroteliais como nas células epiteliais tubulares, no entanto a sua identificação na citologia urinaria não é patognomônico de nefropatia renal (RAMOS *et al*, 2002b).

A citologia urinária é o método mais simples e de baixo custo usado para o escrutineio de infecção pelo BKV nos pacientes transplantados renais. Observam-se células decoy (células tubulares infectadas) na urina a partir da 16ª semana do pós-transplante com uma incidência estimada em 30% (FISHMAN *et al*, 1998; MENGEL *et al*, 2003). A ausência de células decoy na urina confirma a hipótese de que a infecção ativa pelo BKV é nula (HIRSCH *et al*, 2002) e descarta em até 99,4% a presença de nefropatia pelo BKV, quando é usada à coloração de Papanicolaou e estas células observadas em microscópio óptico (DRACHENBERG *et al*, 2003). No entanto, o seu valor preditivo positivo para a nefropatia pelo BKV é de 30% naqueles pacientes que apresentaram disfunção do enxerto (NICKELEIT *et al*, 2000b; HIRSCH *et al*, 2002). Porém a avaliação seriada da citologia urinaria, têm

demonstrado ser um método adequado para rastreamento. (COLVIN; MAUIYIEDI, 2001).

Devido à natureza invasiva da biópsia renal novas técnicas têm sido investigadas a fim de permitir um diagnóstico precoce de nefrite por poliomavírus. A correlação entre a histologia e os testes urinários e sanguíneos para a pesquisa de BKV tem sido amplamente estudados (NICKELEIT *et al*, 2000b).

A detecção de partículas virais no sangue através de PCR é necessária para o diagnóstico de infecção ativa pelo PV (NICKELEIT *et al*, 1999), entretanto estudos recentes sugerem que o diagnóstico de nefropatia pelo BKV pode ser feito baseado na persistência de células decoy na urina sendo tão eficaz quanto a detecção de DNA viral no sangue (MOHAJER *et al*, 2003; DRACHENBERG *et al*, 2003).

Nos indivíduos sãos e não transplantados é difícil determinar a verdadeira incidência da excreção de PV na urina, oscilando entre 0,3 a 8% (DRACHENBERG *et al*, 1999), já alguns estudos demonstram que a excreção urinária de poliomavírus em pacientes transplantados é em torno de 8 a 26%. Existe uma boa correlação entre a biópsia renal com infecção pelo poliomavírus e as citologias urinárias positivas (DRACHENBERG *et al*, 1999; HIRSCH *et al*, 2002).

Pode-se observar ainda a excreção transitória de células infectadas em casos de rejeição aguda, nefrotoxicidade por tracolimus e necrose tubular aguda. A presença de excreção persistente de células decoy esta associado à ocorrência de viremia (cargas virais entre 12.000 a 360.000/ml) e a possibilidade de nefropatia nestas condições é muito elevada (DRACHENBERG *et al*, 2003).

O significado clínico do achado de células decoy na urina depende da carga viral e da qualidade do sedimento analisado: a presença de um grande número de células decoy tem um pior prognóstico sendo estas células características de replicação viral, mas não necessariamente de nefropatia por BKV (DRACHENBERG *et al*, 1999).

1.4.7.2 Biópsia renal

O diagnóstico de nefropatia pelo vírus BK se baseia nos achados histológicos da biópsia do enxerto renal onde se realiza a identificação do antígeno

ou do DNA viral (imunohistoquímica) e ainda se caracterizam os padrões histológicos que orientam o prognóstico em cada caso (LIPTAK; KEMENY; IVANYI, 2006). [Figura 7]

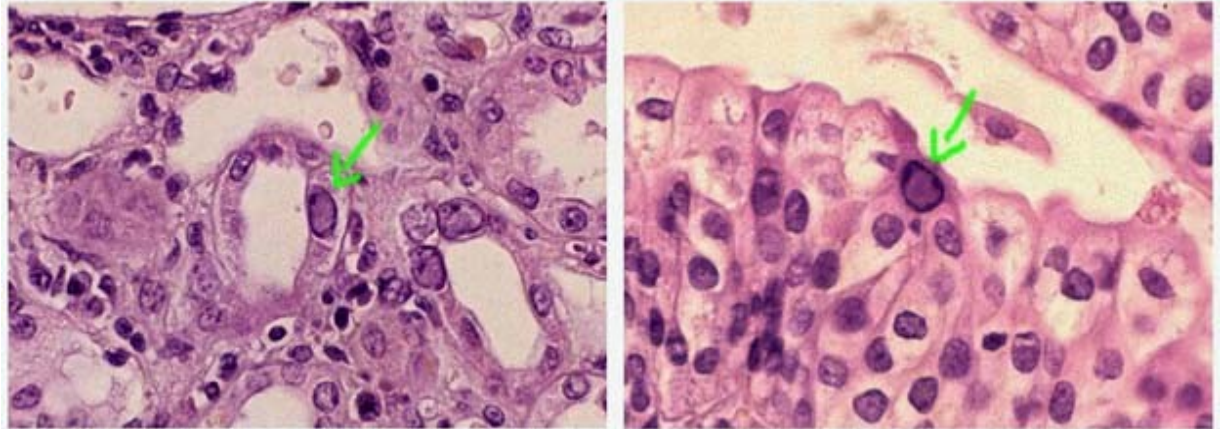


FIGURA 7 - Padrões de inclusões nucleares características de infecção pelo poliomavírus. À esquerda em forma de “vidro esmerilhado” em uma célula tubular. À direita de aspecto gelatinoso em uma célula da camada superficial do endotélio, sitio inicial da reativação viral em muitos (ou na maioria) dos casos. (H&E X400) (DRACHENBERG *et al*, 2007)

O achado patognomônico de nefropatia pelo BK vírus é a observação ao longo de todo o nefron de inclusões virais intranucleares vistas exclusivamente em células epiteliais e acompanhadas de necrose focal das células tubulares. Nestas células sinais citopáticos podem ser encontrados, sendo mais abundantes nos segmentos tubulares distais, ductos coletores e de forma ocasional nas células parietais da cápsula de Bowman (NICKELEIT, 2000a).

A presença de plasmócitos no infiltrado intersticial e um maior grau de comprometimento tubular são mais comuns na BKNV do que nos processos de rejeição, podendo auxiliar no diagnóstico diferencial entre os dois processos (DRACHENBERG *et al*, 1999).

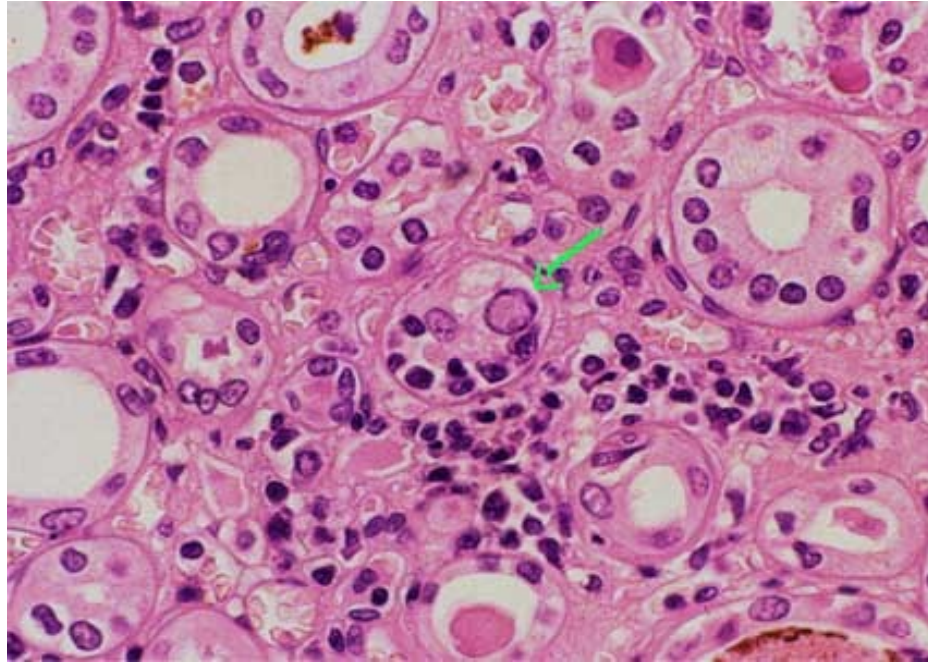


FIGURA 8 - Biopsia renal com tubulite severa: destruição da camada basal dos túbulos, infiltrado mononuclear e célula com inclusão viral do tipo “vidro esmerilhado” (Flecha). (H&E X400) (SOLEZ *et al*, 2008).

Com a finalidade de auxiliar este diagnóstico, um arsenal de técnicas complementares e menos invasivas está disponível. Atualmente, a sorologia, a investigação citológica, com microscopia óptica e coloração de Papanicolaou das células esfoliadas do trato urinário para detecção do efeito citopático viral, métodos que identificam antígenos específicos ou DNA viral, isolamento em cultura celular, ensaio imuno-enzimático específico para antígeno e PCR (ARTHUR *et al*, 1988; BOUBENIDER *et al*, 1999) servem como ferramentas auxiliares para o diagnóstico e a monitorização da nefropatia pelo BKV bem como o acompanhamento destes pacientes (RADHAWA; DEMETRIS, 2000).

Técnicas de imunohistoquímica têm sido aplicadas em espécimes de biópsia do enxerto renal e em sedimento urinário utilizando anticorpos do SV40 ou JCV para identificação do BKV (TONG *et al*, 2004), como visualizado na Figura 9.

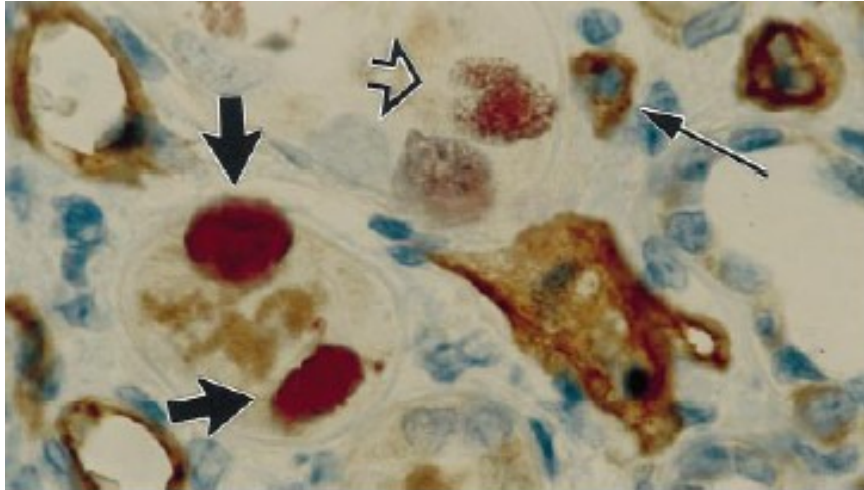


FIGURA 9 - Infecção tubular com células com inclusão viral (em vermelho) nas proximidades dos capilares peritubulares. Imunohistoquímica com dupla técnica para a detecção do SV40T antígeno (em vermelho) e CD34 (em marrom) no endotélio. Aumento de 160X (NICKELEIT *et al*, 2000).

Do ponto de vista morfológico, as células infectadas pelo PV precisam ser diferenciadas do dano citopático causado pelo citomegalovirus e de alterações malignas. As células infectadas apresentam um núcleo grande com uma relação núcleo/citoplasmática (N/C) aumentada, o que junto com seu padrão cromatínico pode levar a uma falsa interpretação de malignidade. Já as inclusões típicas do citomegalovirus (CMV) no núcleo são orangiofílicas, rodeadas por um halo perinuclear e acompanhadas de inclusões citoplasmáticas (DRACHENBERG, 1999; NICHELEIT, 2000b). [Figura 10]

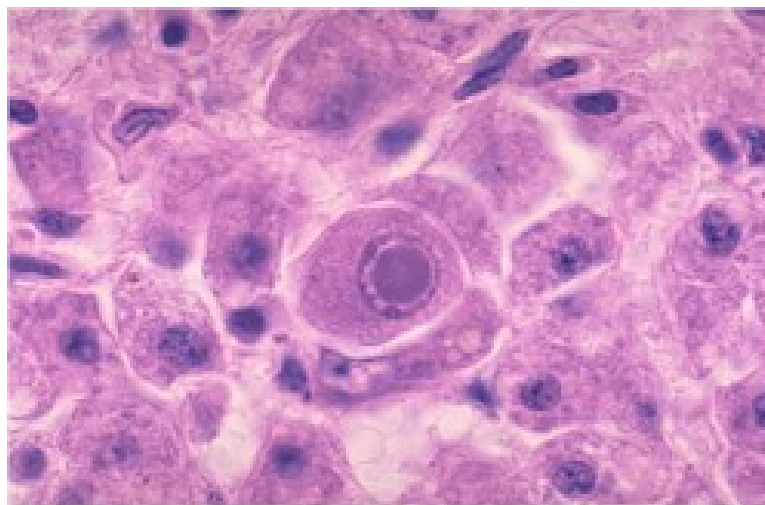


FIGURA 10 - Inclusão típica do CMV em “olho de coruja” (www.medlib.ed.utah.edu)

1.5 Recomendações para seguimento de pacientes transplantados renais

A pesquisa das células decoy na urina deve ser realizada em todo paciente de transplante renal a cada três meses durante os dois primeiros anos após o transplante e anualmente por três anos em todo paciente que desenvolver disfunção do enxerto (HIRSCH *et al*, 2005).

O resultado de uma primeira triagem positiva deve ser seguido da avaliação quantitativa do DNA do BKV no plasma através da PCR, sendo este teste também positivo a biópsia renal é indicada. Alternativamente tem sido recomendado realizar a biópsia renal se houver persistência de células decoy na urina por um período maior de três meses (DRACHEMBERG *et al*, 2004).

Os pacientes com viremia e biópsia renal negativa são sensíveis a redução da imunossupressão.

O avanço nas pesquisas das diversas sociedades científica sobre o BKV, poderá ser uma esperança para o aumento da viabilidade no manejo do BKV num futuro próximo (BLANCKAERT *et al*, 2006).

1.6 Tratamento antiviral

Não há uma terapia antiviral específica para PVH. Uma alternativa de tratamento é um amplo suporte clínico que envolve a redução da dose dos agentes imunossupressores visando, além de um controle da nefropatia por BKV uma diminuição da reativação viral, tendo como objetivo final a prevenção da progressão da viremia e da doença (MONTAGNER *et al*, 2007).

Na coexistência de rejeição celular e nefropatia pelo BKV, a melhor alternativa é o tratamento inicial da rejeição com um aumento nas doses de imunossupressão e, posteriormente, proceder a redução dessas drogas, uma vez que a implicação obvia associada a esta estratégia é o aumento no risco de rejeição (RAMOS *et al*, 2004).

Uma variedade de agente antivirais vem sendo estudada *in vitro* contra os poliomavírus. A droga mais promissora é o Cidofovir, que é um análogo acíclico de

nucleosídeo fosfonato capaz de inibir a replicação do DNA viral. É conhecido por sua atividade *in vitro* contra os três poliomavírus que são capazes de infectar os humanos (JCV, BKV e SV40). Outras drogas estudadas são os derivados do ácido retinóico, inibidores da topoisomerase e 5'-bromo 2'-dioxiuridina (DRACHENBERG *et al*, 2007).

A substituição dos imunossupressores de maior risco pelo sirolimus, que tem atividade antiproliferativa, é outra alternativa para o controle da replicação viral (MOHAJER *et al*, 2003).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Detectar a presença do BKV através do achado da célula decoy na urina de transplantados renais.

2.2 Objetivos específicos

- Detectar a presença do Poliomavírus tipo BKV em amostras de urina de pacientes após transplante renal utilizando citologia urinária;
- Correlacionar os valores séricos de uréia e creatinina com a presença ou ausência de células decoy na urina de pacientes transplantados renais;
- Correlacionar o resultado da biópsia com a presença ou não de nefropatia pelo BKV nas citologias urinárias positivas para células decoy;
- Correlacionar o esquema de imunossupressão com a infecção pelo BKV.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Casuística

3.1.1 Pacientes

Foram avaliados 50 pacientes submetidos a transplante renal no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) e Hospital Geral de Fortaleza (HGF) no período de novembro de 2005 a dezembro de 2007.

3.1.2 Critérios de inclusão

- Pacientes submetidos a transplante renal que apresentaram aumento de uréia e creatinina sérica e alteração do sumário de urina (hematúria e/ou leucocitúria);

- Pacientes em acompanhamento ambulatorial no período de outubro de 2005 a dezembro de 2007 com suspeita de BKV

- Concordar em participar do estudo e assinar o termo de consentimento informado necessário a aprovação do projeto deste estudo pelo Comitê de Ética Médica em Pesquisa do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

3.1.3 Critérios de exclusão

- Pacientes em acompanhamento ambulatorial fora do período estabelecido;

- Pacientes sem acompanhamento ambulatorial.

3.1.4 Grupo controle para células decoy

- Foram avaliadas 20 urinas provenientes de pacientes adultos atendidos no HUWC. Os pacientes não apresentavam insuficiência renal crônica , não eram transplantados renais e nem imunossuprimidos.

3.2 Aspectos éticos da pesquisa

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo nº. 41/06. O estudo seguiu as recomendações contidas nas Resoluções 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, que regulamentam as pesquisas envolvendo seres humanos.

Os indivíduos submetidos ao estudo foram previamente esclarecidos quanto à natureza da pesquisa e foram somente incluídos aqueles que concordaram em participar espontaneamente e assinaram o termo de consentimento esclarecido da pesquisa. [Anexo 1]

3.3 Instrumentos e procedimentos de coleta de dados

Os dados clínicos (idade, sexo, tipo de doador, doença renal de base, data do transplante e esquema de imunossupressão) e os dados laboratoriais (resultado do sumário de urina, valor da uréia e creatinina sérica) dos pacientes foram obtidos através de consulta ativa nos prontuários e transferidos para planilha do Programa Microsoft Excell 2003 (Anexo V, VI e VII). Os resultados de uréia e creatinina sérica foram avaliados no período de seis meses, sendo que o primeiro resultado foi no momento da pesquisa de células decoy e os demais nos meses seguintes.

Os dados histopatológicos tais como fibrose, infiltrado inflamatório, rejeição celular aguda e inclusões virais foram extraídos dos laudos histológicos, presentes nos respectivos prontuários (Anexo VIII).

3.4 Metodologia para detecção do poliomavírus (BKV)

3.4.1 Citologia urinária

a) Preparação das lâminas

As amostras de urina dos 50 pacientes foram coletadas durante as consultas ambulatoriais de rotina ou durante a visita médica à enfermaria do HUWC e HGF. Após a coleta, as urinas foram conservadas em etanol a 95% na proporção de 1:1 e encaminhadas ao Setor de Urinálise do Laboratório Central do HUWC onde foram processadas. Cerca de 10ml de urina foram transferidas para tubos de Falcon e centrifugadas a 1500rpm por 5 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento ressuspenso na urina residual. Para confecção das lâminas, 150µl do sedimento foram colocados no citofunil da Citocentrífuga e centrifugados por 10 minutos a 800rpm. Para cada paciente foram preparadas duas lâminas: uma foi corada imediatamente pelo método de Papanicolaou para pesquisa de células decoy e a outra lâmina não corada foi estocada, não corada, em freezer – 20 °C para esclarecimento de dúvidas e confirmação do diagnóstico.

b) Coloração de Papanicolaou

Após a citocentrifugação as lâminas foram mergulhadas em concentrações decrescentes de etanol e em água destilada por 5 vezes para hidratar o material. Feito isto, iniciou-se a coloração com Hematoxilina de Harris [MERCK 109253.1002] por 2 minutos e 30 segundos sendo em seguida lavadas com água destilada para retirar o excesso de corante. Posteriormente as lâminas foram imersas 5 vezes em concentrações crescentes de etanol para desidratar o material. Logo após utilizou-se a solução de Orange G [MERCK 10688.1002] por 1 minuto, lavando-se as lâminas em etanol 99% a fim de retirar o excesso de corante. A última solução utilizada foi a contra-coloração com o EA 36 [MERCK 109271.0500] por 3 minutos, seguida de imersão em etanol 99%, por 3 vezes, em cubas separadas para retirar o excesso de corante.

Após a coloração das lâminas, as mesmas foram secas em temperatura ambiente e posteriormente montadas em Entelan ou Bálsamo do Canadá para posterior leitura e conservação das lâminas.

c) Critérios para análise das lâminas

As lâminas foram examinadas por 2 observadores quanto à presença ou não de células “Decoy” usando microscopia de luz branca (NIKON) e objetiva de 400X. As lâminas que apresentaram ≥ 1 células decoy foram consideradas “positivas” (SANTOS *et al*, 2006).

Células positivas: aumento da relação N/C, ausência de inclusão citoplasmática, citoplasma em forma de “rabo de cometa”, halo perinuclear, membrana nuclear espessada e inclusões nucleares amorfas basofílicas ou eosinofílicas e granulosas. (SANTOS *et al*, 2003).

Células negativas: núcleo normal e citoplasma abundante.

3.5 Análises estatísticas

As análises estatísticas empregadas neste trabalho foram realizadas em programa SPSS 11.0 for Windows. Nas análises laboratoriais os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão utilizando ANOVA e o scheffe como *post hoc test*.

A significância foi considerada quando a possibilidade de ocorrência da hipótese nula foi inferior a 5% ($p < 0,05$).

3.6 Programas computacionais

- Microsoft Excel 2003 (Microsoft, EUA),
- Microsoft Word 2003 (Microsoft, EUA),
- SPSS 11.0 for Windows.

4. RESULTADOS

4.1 Clínico-epidemiológico

4.1.1 Procedência dos pacientes

A procedência dos 50 pacientes transplantados renais neste estudo, foi do município de Fortaleza, sendo 45 pacientes atendidos no serviço de transplante renal do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) e 5 do Hospital Geral de Fortaleza (HGF).

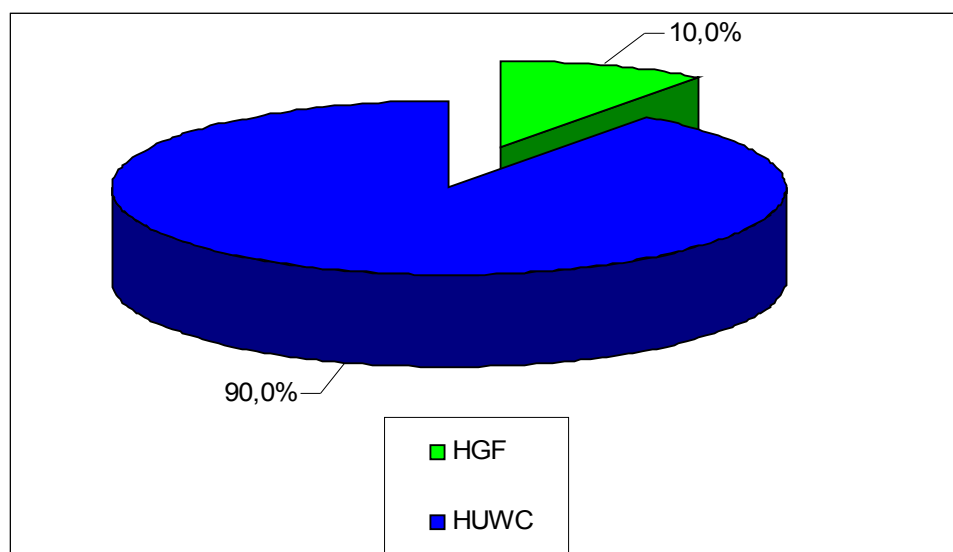


FIGURA 11- Percentual de pacientes distribuídos segundo a procedência.

4.1.2 Distribuição dos pacientes transplantados renais quanto à idade e sexo

Dos 50 pacientes estudados, 27 (54%) eram do sexo masculino e 23 (46%) do sexo feminino. A média de idade destes pacientes foi de 39 ± 11 anos.

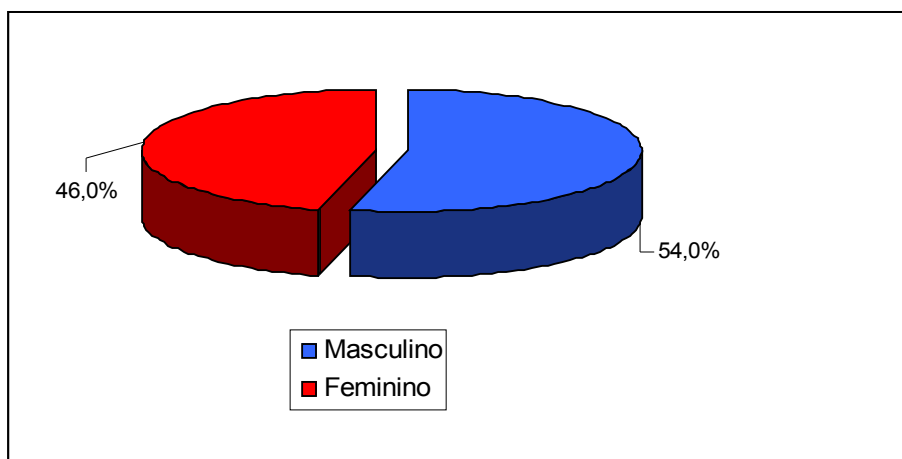


FIGURA 12 - Percentual dos pacientes transplantados renais em função do sexo.

4.1.3 Tipo de doador dos pacientes transplantados

Dos 50 pacientes estudados, 7 (14%) pacientes foram transplantados com rim proveniente de doador cadáver e 43 (86%) com rim de doador vivo.

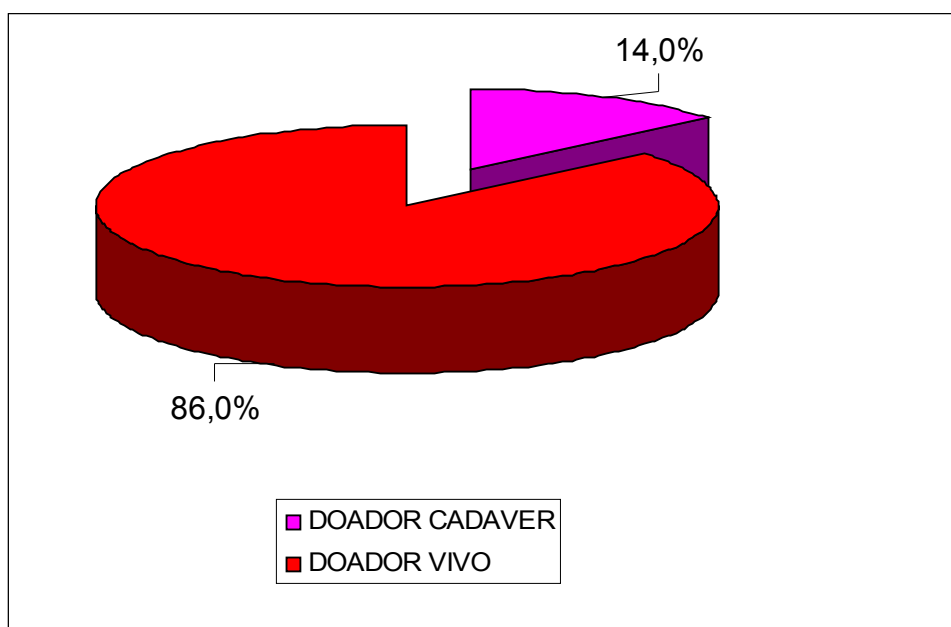


FIGURA 13 - Percentual de pacientes distribuídos em função do tipo de doador.

4.1.4 Pacientes com células decoy na urina em função da doença de base

A doença de base mais freqüente dos 12 pacientes que apresentaram células decoy na urina foi a nefroesclerose hipertensiva (33,4%) e a glomerulonefrite crônica (33,4%), seguida da nefroesclerose diabética (16,6%), nefrite (8,3%) e síndrome nefrótica (8,3%).

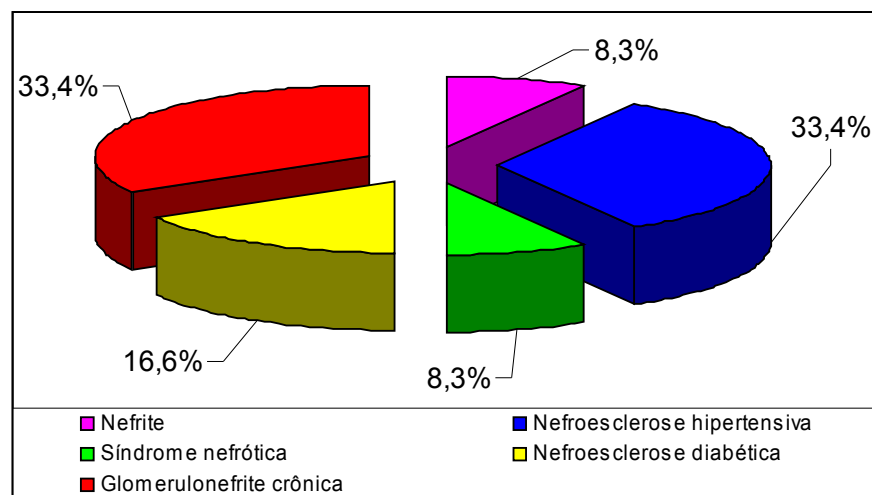


FIGURA 14 - Distribuição dos 12 pacientes com células decoy na urina em função da doença de base.

4.1.5 Pacientes com células decoy na urina em função do tipo de doador

Dos 12 pacientes que apresentaram células decoy na urina, 4 (33,3%) pacientes foram transplantados com rim proveniente de doadores cadáveres e 8 (66,7%) com rim de doadores vivos, sendo 7 doadores vivo-relacionado (irmão, tio, mãe) e 1 doador não relacionado (cônjuge).

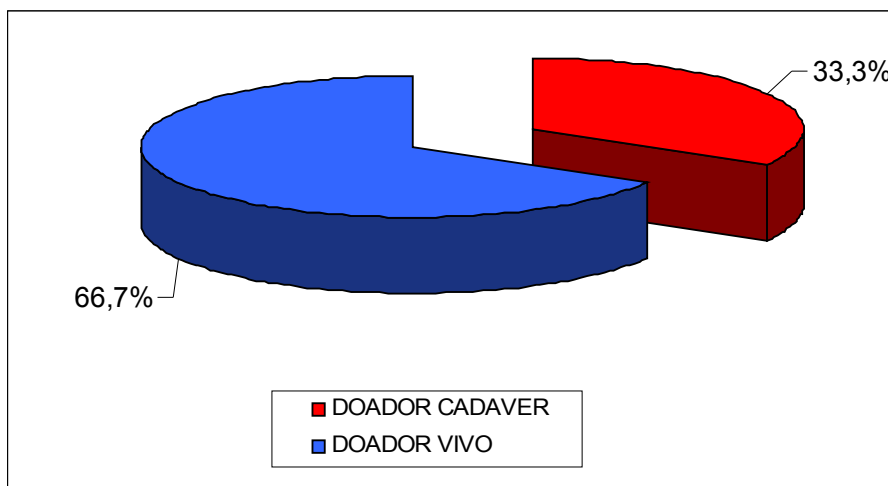


FIGURA 15 - Percentual de pacientes com células decoy na urina em função do tipo de doador.

4.1.6 Imunossupressão

Os esquemas de imunossupressão usados pelos pacientes transplantados renais estão discriminados na Tabela 1 conforme as drogas imunossupressoras utilizadas e representados graficamente na Figura 16.

TABELA 1 - Esquemas de imunossupressão dos pacientes transplantados renais

Esquema de Imunossupressão	Número de Pacientes
Esquema 1: ciclosporina/azatioprina/zenapax	25 (50%)
Esquema 2: MMF/FK 506/ zenapax	8 (16%)
Esquema 3: ciclosporina/prednizona/azatioprina	8 (16%)
Esquema 4: ciclosporina/zenapax	4 (8%)
Esquema 5: ciclosporina/zenapax/zanapac	1 (2%)
Esquema 6: azatioprina/zanapax	2 (4%)
Esquema 7: zenapax	2 (4%)

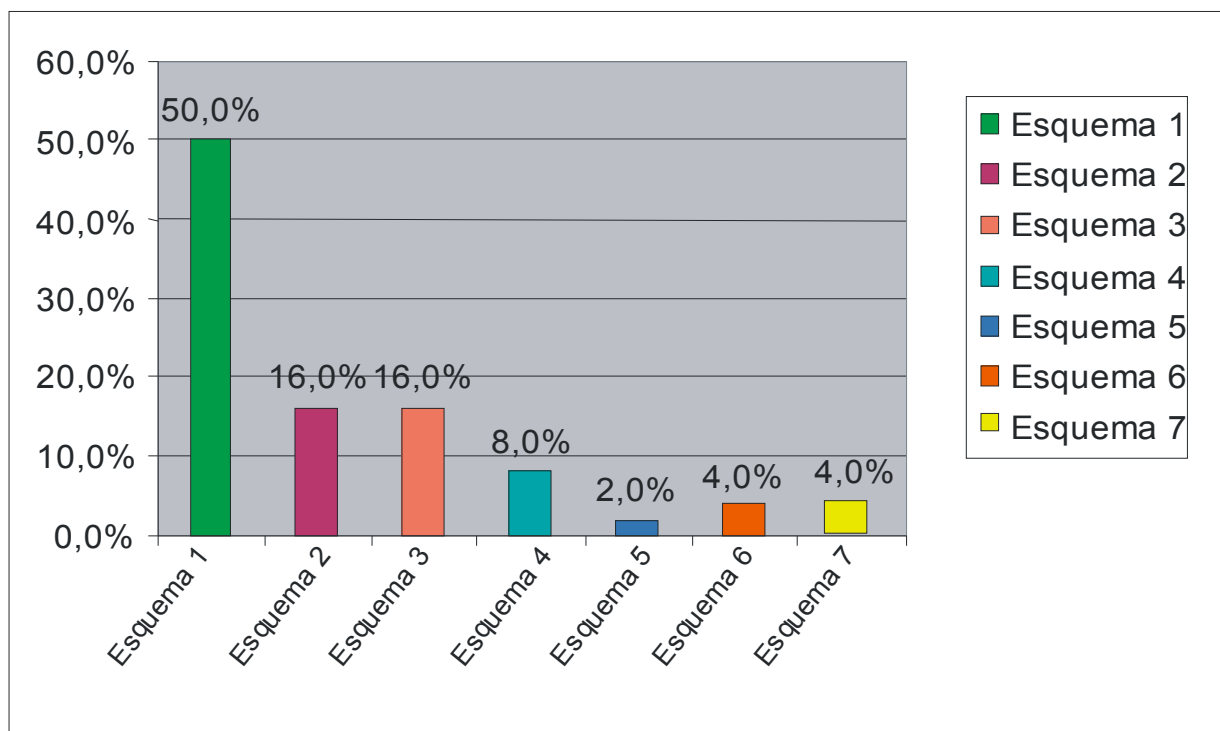


FIGURA 16 - Percentual dos pacientes transplantados renais em função do esquema imunossupressor utilizado.

Nos 12 pacientes que apresentaram células decoy na urina, os esquemas de imunossupressão utilizados estão expressos na Tabela 2.

TABELA 2 - Esquemas de imunossupressão dos 12 pacientes com células decoy na urina

Esquema	n	%
Csa+Aza	6	0
CsA+Aza+Pred	1	8,3
FK + Pred+MMF	3	0
FK+MMF	2	16,7
Total	12	100

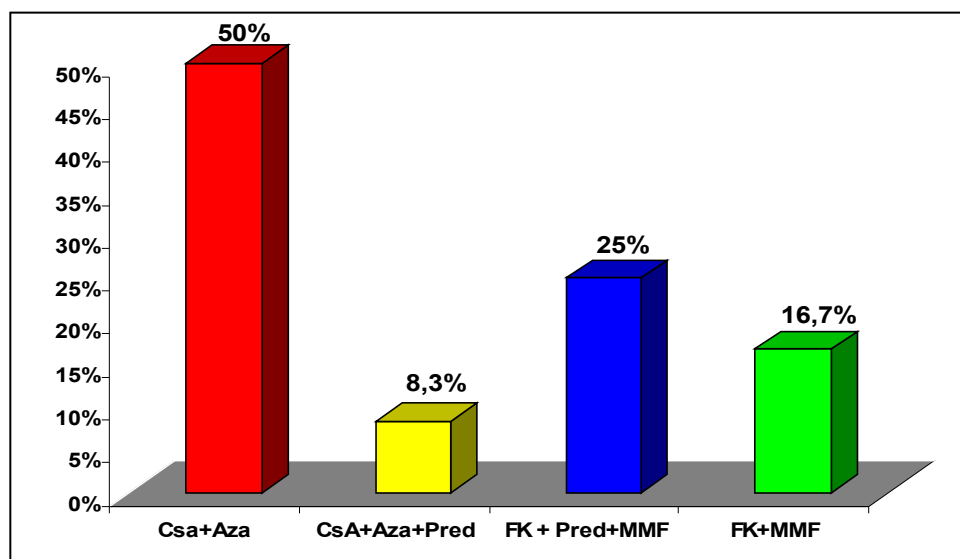


FIGURA 17 - Percentual dos esquemas de imunossupressão dos 12 pacientes com células decoy na urina.

TABELA 3 - Esquemas de imunossuppressores e inibidores da interleucina 2 nos 12 pacientes com células decoy na urina

Inibidor rIL2	n	%
Zenapax	9	75
Simulect	2	16,7
Ausente	1	8,3
Total	12	100

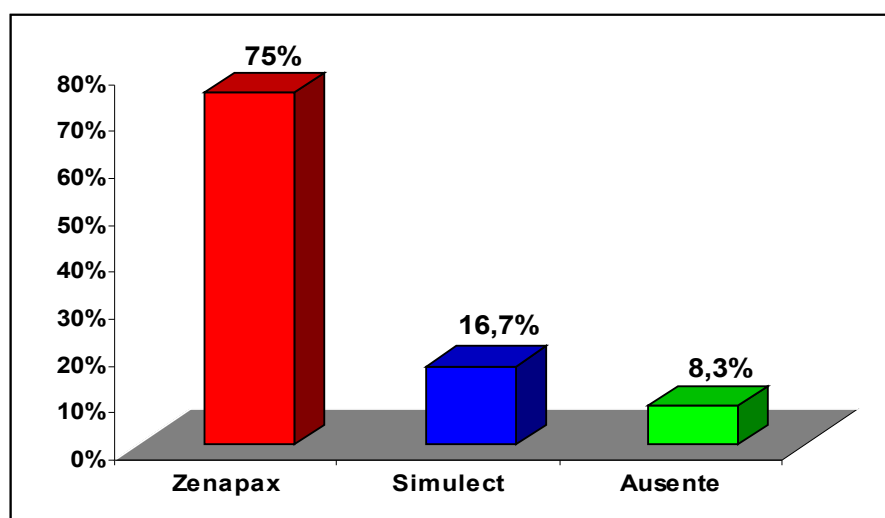


FIGURA 18 - Percentual dos imunossuppressores inibidores da interleucina 2 nos 12 pacientes com células decoy na urina.

4.2 Laboratorial

4.2.1 Sumário de urina

Dos 50 pacientes estudados foi obtido o resultado do sumário de urina em 45 pacientes, sendo que 16 (35,5%) apresentaram o sumário de urina normal e 29 (64,5%) alterado. Dos 29 positivos, 21 (72,4%) com hematúria e 8 (27,6%) com leucocitúria. Não foi possível obter o resultado do sumário de urina de 5 pacientes.

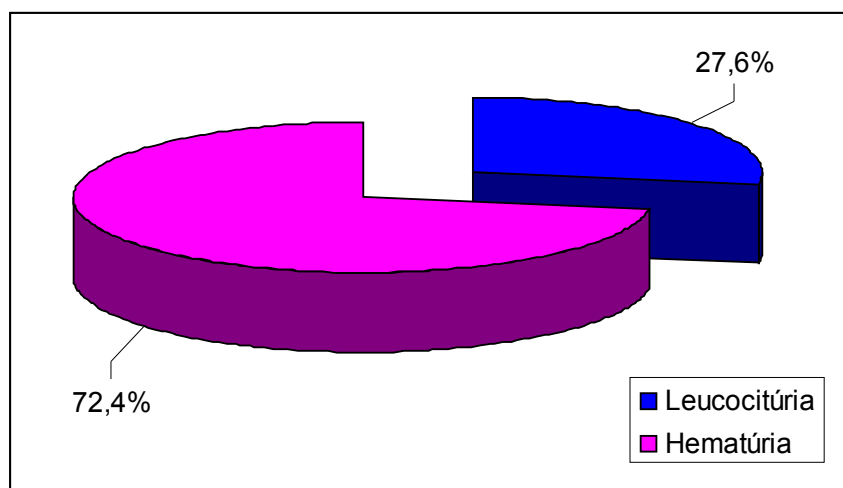


FIGURA 19 - Distribuição dos resultados de sumário de urina em função da presença de hematúria e leucocitúria.

4.2.2 Valores séricos de uréia e creatinina nos 6 meses de acompanhamento dos pacientes transplantados

Os anexos V, VI e VII mostram os valores séricos de uréia e creatinina dos 50 pacientes estudados e acompanhados durante 6 meses.

Estes pacientes foram divididos em três grupos em função dos resultados obtidos de uréia e creatinina e a presença ou não de células decoy na urina:

- **1º Grupo:** Pacientes com células decoy na urina - **Células decoy (+).**

- **2º Grupo:** Pacientes com ausência de células decoy na urina e valores séricos de uréia (15 a 40mg/dL) e creatinina (0,4 a 1,4mg/dL) dentro da normalidade - **Células decoy (-) com função renal normal.**

- **3º Grupo:** Pacientes com ausência de células decoy na urina e valores séricos de uréia (>40mg/dL) e creatinina alterados (> 1,4mg/dL) – **Células decoy (-) com função renal alterada.**

A Figura 20 mostra a evolução dos valores séricos de uréia nos seis meses de seguimento destes pacientes.

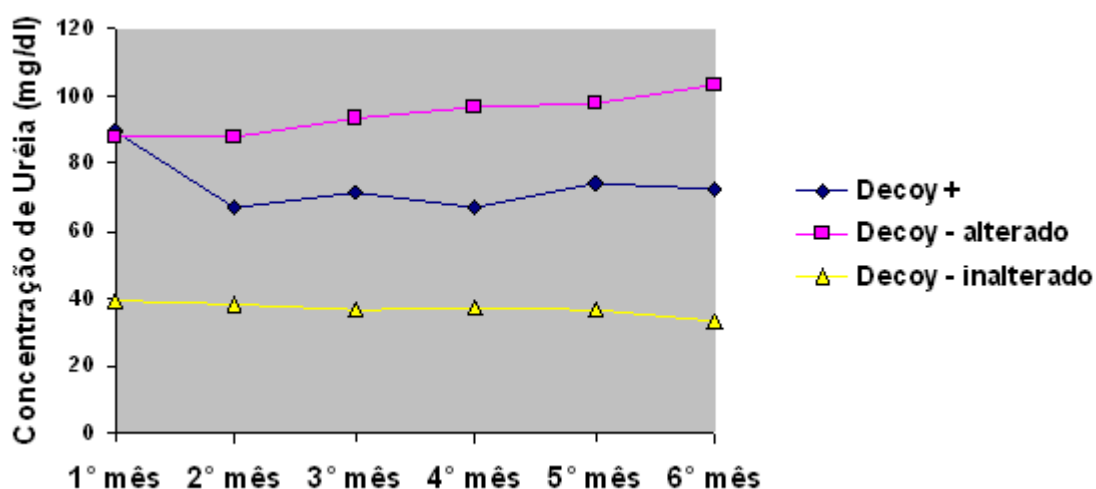


FIGURA 20 - Distribuição dos valores de uréia sérica dos 50 pacientes estudados em função do período de acompanhamento e presença ou não de células Decoy

Na Figura 21 está demonstrada a evolução dos valores séricos de creatinina dos 50 pacientes durante o tempo de acompanhamento.

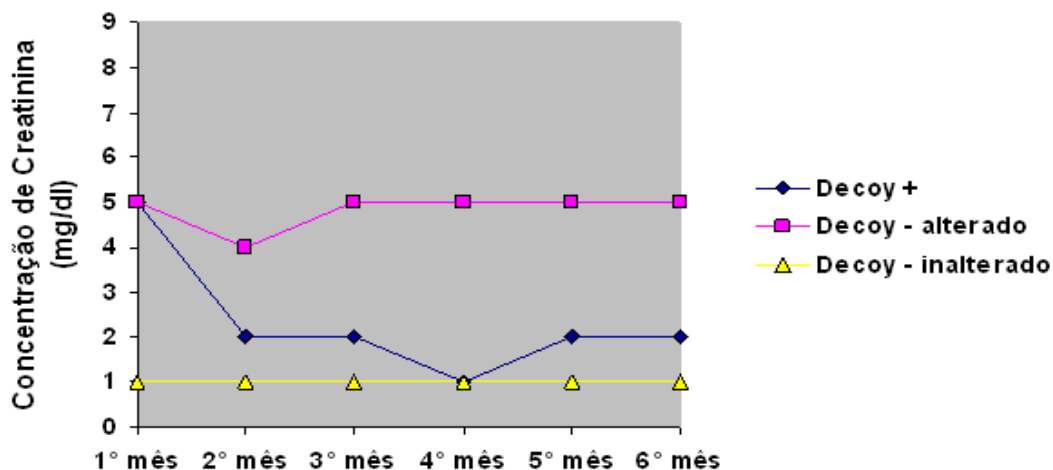


FIGURA 21 - Distribuição dos valores de creatinina sérica dos 50 pacientes estudados em função do período de acompanhamento e presença ou não de células Decoy

4.2.3 Níveis séricos de uréia em função da presença ou ausência de células decoy na urina dos pacientes dos diversos grupos

A análise dos resultados de uréia sérica mostrou que os grupos 1 e 3 são estatisticamente iguais ($p > 0,05$) enquanto que o grupo 2 é estatisticamente diferente dos grupos 1 e 3 ($p < 0,05$) (Figura 20).

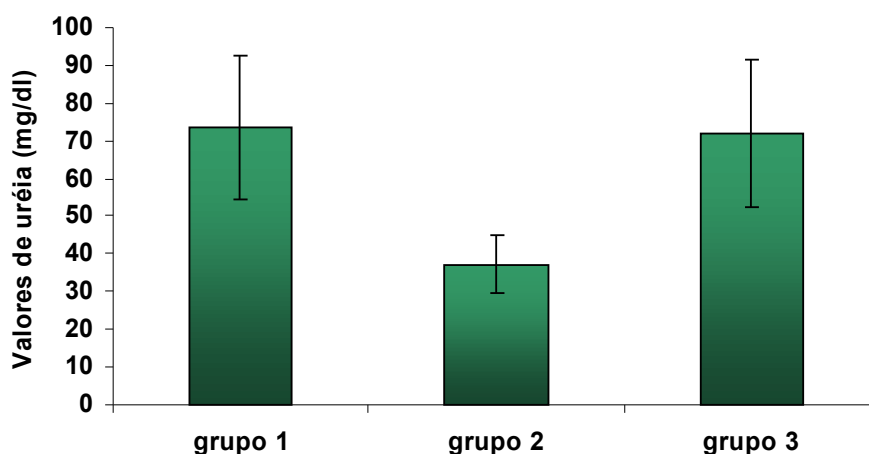


FIGURA 22 - Distribuição dos valores de uréia sérica dos 50 pacientes estudados em função da presença ou ausência de células decoy na urina.

1º Grupo: Pacientes com células decoy na urina.

2º Grupo: Pacientes com ausência de células decoy na urina e valores séricos de uréia (15 a 40mg/dL) e creatinina (0,4 a 1,4mg/dL) dentro da normalidade.

3º Grupo: Pacientes com ausência de células decoy na urina e valores séricos de uréia (>40mg/dL) creatinina alterados (>1,4mg/dL).

Grupo 2 versus grupo 1: $p < 0,05$

Grupo 2 versus grupo 3: $p < 0,05$

4.2.4 Níveis séricos de creatinina em função da presença ou ausência de células decoy na urina dos diversos grupos

A análise dos resultados de creatinina sérica mostrou que os grupos 1, 2 e 3 são estatisticamente iguais ($p > 0,05$) enquanto que o grupo 2 é estatisticamente diferente do grupo 3 ($p < 0,05$) (Figura 21).

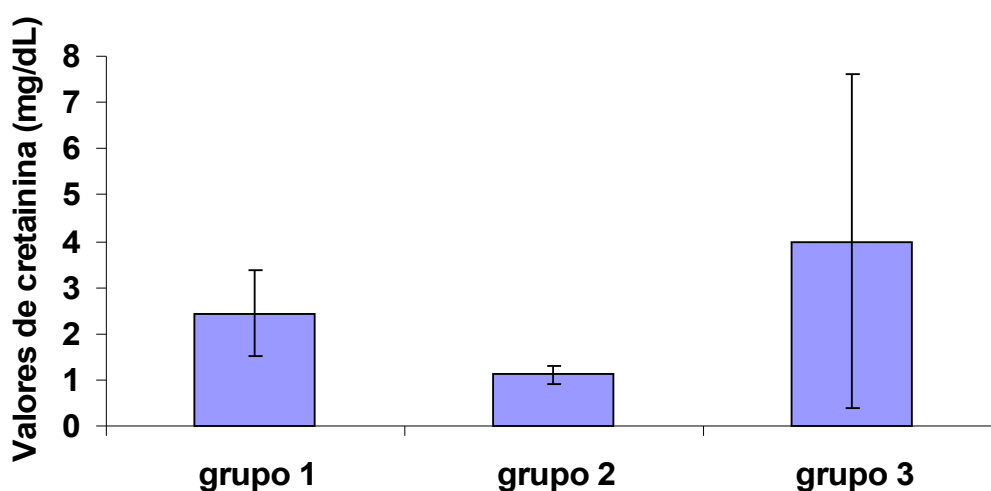


FIGURA 23 - Distribuição dos valores de creatinina sérica dos 50 pacientes estudados em função da presença ou ausência de células decoy na urina.

1º Grupo: Pacientes com células decoy na urina.

2º Grupo: Pacientes com ausência de células decoy na urina e valores séricos de uréia (15 a 40mg/dL) e creatinina (0,4 a 1,4mg/dL) dentro da normalidade.

3º Grupo: Pacientes com ausência de células decoy na urina e valores séricos de uréia (>40mg/dL) e creatinina alterados (> 1,4mg/dL)

Grupo 2 versus grupo 3: $p < 0,05$

4.3 Citologia urinária

Dos 50 pacientes estudados, 12 (24%) apresentaram células decoy na urina, como pode ser vista na Figura 24.

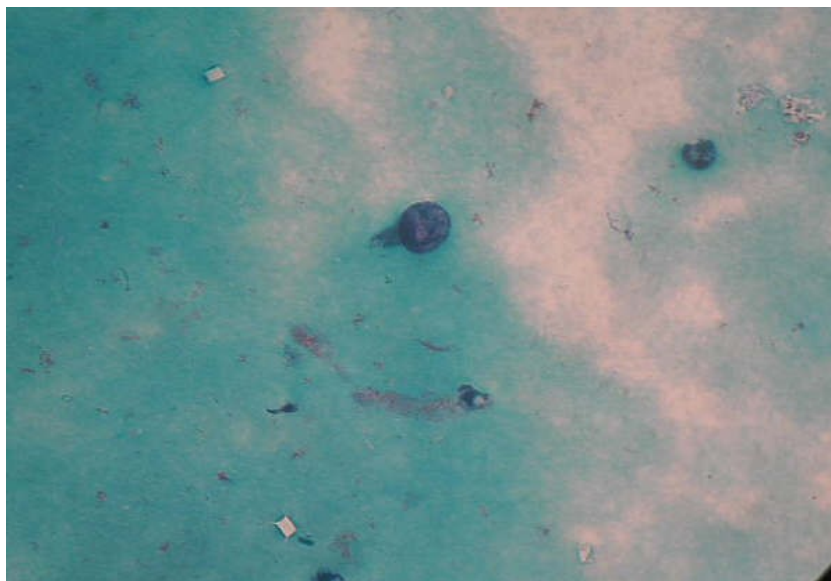


FIGURA 24 - Citologia urinária positiva para célula decoy (observar no centro uma célula epitelial com cromatina grosseira, relação n/c alterada e citoplasma em forma de “rabo de foguete”).

A figura abaixo mostra a positividade da célula decoy na urina dos pacientes transplantados renais.

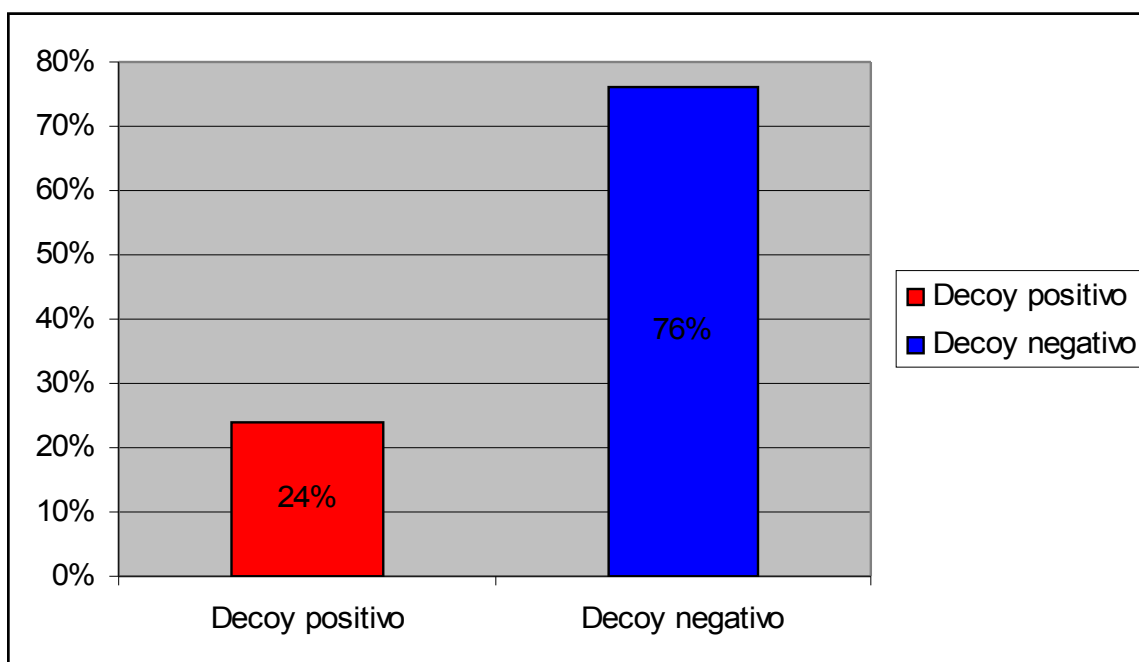


FIGURA 25 - Incidência dos pacientes com presença de células decoy na urina (n=50).

4.3.1 Pacientes com células decoy na urina em função da idade e sexo

A idade dos pacientes foi distribuída de acordo com a padronização da IARC (*International Agency for Research on Cancer*) .

Dos 12 pacientes que apresentaram células decoy na urina, 1 paciente do sexo feminino encontrava-se na faixa etária de 0-14 anos, 9 pacientes entre 15-44 anos (8 homens e 1 mulher) e 2 pacientes entre 45-54 anos ambos do sexo masculino.

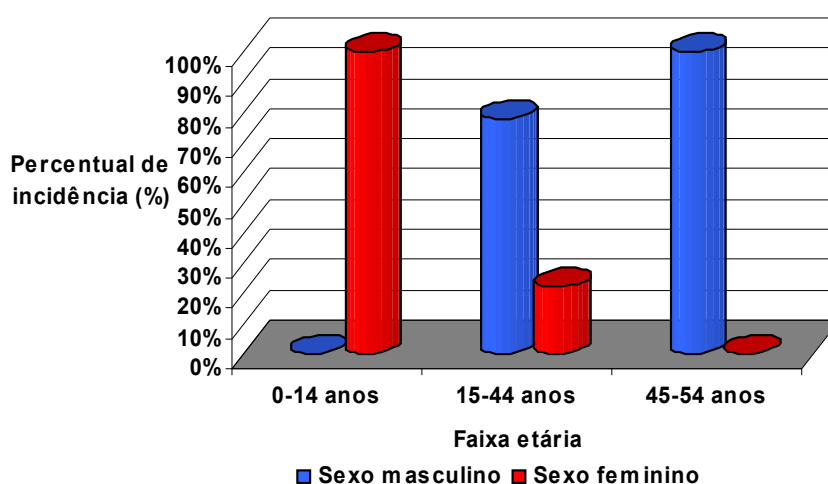


FIGURA 26 - Distribuição dos 12 pacientes que apresentaram células decoy na urina em função do gênero e faixa etária.

4.3.2 Pacientes com células decoy na urina em função do tempo pós-transplante

Células decoy foram encontradas na urina de 11 (91,6%) pacientes no intervalo entre 1 a 2 anos pós-transplante e em 1 (8,4%) paciente após 2 anos.

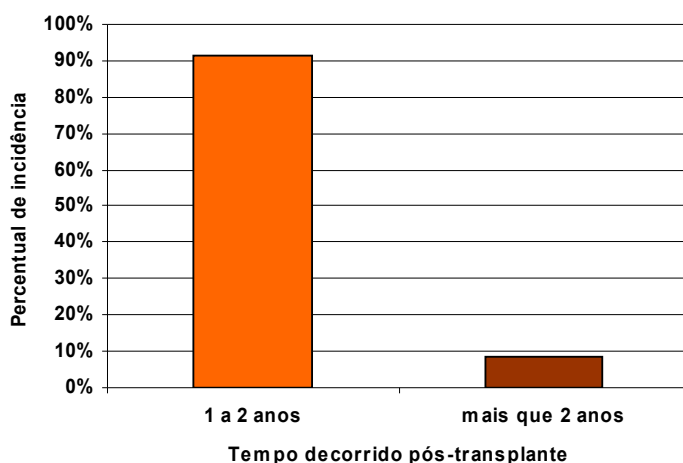


FIGURA 27 - Encontro de células decoy na urina de 12 pacientes em função do tempo decorrido pós-transplante.

4.4 Biópsia renal

Os 12 pacientes que apresentaram células decoy na citologia urinária foram submetidos à biópsia renal. Do total em 7 (58,4%) biópsias as estruturas tubulares estavam bem preservadas e dentro da normalidade. Em 4 (33,3%) a biópsia demonstrou nefropatia pelo BKV com presença de infiltrado linfomononuclear e fibrose e em 1 (8,3%) na biópsia foi evidenciada rejeição celular aguda com presença de infiltrado linfomononuclear sem fibrose.

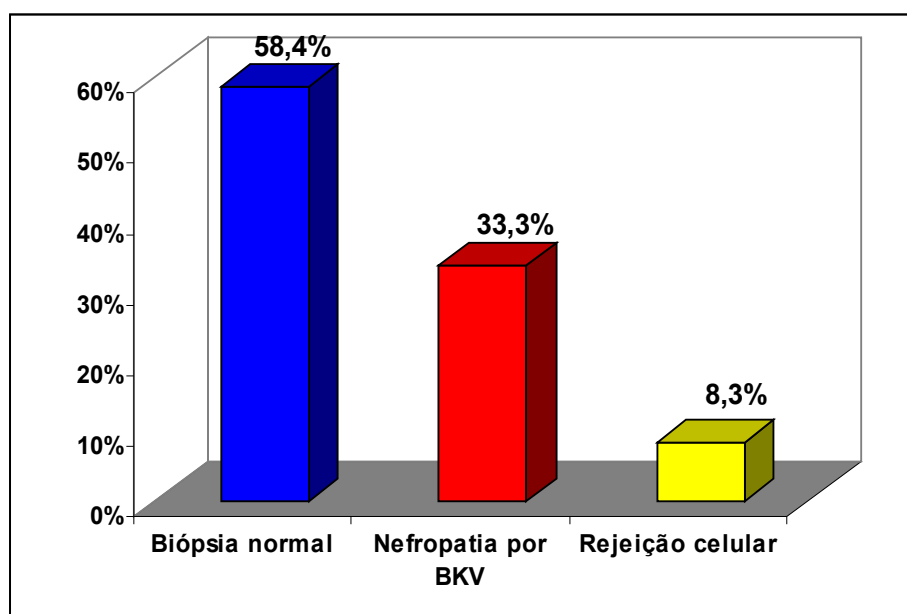


FIGURA 28 - Distribuição dos resultados da biópsia dos 12 pacientes com células decoy na urina.

5. DISCUSSÃO

5.1 Clínico-epidemiológica

5.1.1 Procedência dos pacientes

No presente estudo foram avaliados 50 pacientes provenientes dos dois centros de Transplante Renal de Fortaleza: Hospital Geral de Fortaleza e Hospital Universitário Walter Cantídio com um evidente predomínio de pacientes do segundo.

5.1.2 Distribuição dos pacientes transplantados renais quanto à idade e sexo

Neste estudo foi observado um ligeiro predomínio de pacientes do sexo masculino (54%) em relação ao feminino (46%) com uma média de idade de 41,3 anos para o sexo masculino e 38,3 anos para o sexo feminino.

5.1.3 Tipo de doador dos pacientes transplantados

Quanto ao tipo de doador este trabalho revelou um predomínio de doadores vivos 43 (86%) assim distribuídos: vivos relacionados mãe 3 (7%); irmão 19 (44,1%) ; tio 3 (7%); primo 10 (23,2%); vivos não relacionados: cônjuge 8 (18,7%).

5.1.4 Pacientes com células decoy na urina e em função da doença de base

Quanto à doença de base destes pacientes, parece não haver uma correlação definida com o aparecimento das células decoy na urina, estando este achado mais relacionado com o tipo de imunossupressão utilizado (HIRSCH *et al*, 2002). No entanto neste estudo as doenças de base mais prevalentes foram a

nefroesclerose hipertensiva e a glomerulonefrite crônica, ambas com um percentual de 33,4%.

5.1.5 Pacientes com células decoy na urina em função do tipo de doador

A raridade da nefropatia pelo BKV observada em receptores de coração, pulmão, fígado e pâncreas sugerem que fatores adicionais como tempo de isquemia do enxerto e a resposta aloimune podem contribuir para a ativação da infecção pelo BKV num contexto de imunossupressão intensa (RANDAWA *et al.*, 1999; DRACHENBERG *et al.*, 2001; MYLONAKIS *et al.*, 2001; MANNON *et al.*, 2004). Consistente com esta hipótese é a observação de que a nefropatia pelo BKV é menos prevalente nos receptores de doador vivo do que de cadáver (HIRSCH *et al.*, 2001). O presente estudo revelou que em 4 (33,3%) dos pacientes com células decoy na urina o doador era cadáver e 8 (66,4%) o doador era vivo. Este achado pode ser explicado pelo fato da amostragem apresentar um maior número de transplantes com doador vivo (n = 43) do que de cadáver (n = 7).

5.1.6 Imunossupressão

Os fatores de risco para o desenvolvimento de nefropatia por poliomavírus não estão completamente esclarecidos devido ao pequeno número de pacientes em cada estudo e a diversidade do esquema de imunossupressão realizado. A terapêutica imunossupressora é a variável mais implicada devido à emergência da nefropatia pelo BKV ter coincidido com a introdução de novos agentes imunossupressores mais potentes. (HIRSCH *et al.*, 2002).

A revisão da literatura demonstra que 90% dos doentes com nefropatia pelo BKV receberam imunossupressão com TAC (FK 506) e micofenolato mofetil (MMF) e esta entidade é rara sem o uso destes agentes (BINET *et al.*, 1999; MENGEL *et al.*, 2003; MANNON *et al.*, 2004). Segundo Kim (2004), o TAC é considerado o agente imunossupressor mais relacionado com nefropatia pelo BKV e com pior prognóstico de evolução do transplante. Neste estudo foi observado que 2 (16,6%) pacientes positivos para células decoy na urina faziam uso de TAC e MMF associado ao zenapax, e os achados histológicos de suas respectivas

biópsias reportaram apenas um infiltrado inflamatório com estruturas renais bem preservadas. Estes pacientes além de não desenvolverem a nefropatia pelo BKV, responderam satisfatoriamente à estratégia terapêutica utilizada e após seis meses do achado de células decoy na urina, a creatinina baixou significativamente. Nos outros 10 pacientes com células decoy positiva o esquema de imunossupressão usado foi a CSA / zenapax / AZA , CSA / PRED / AZA, CSA / zenapax, sem associação com FK 506 e/ou MMF. Em 5 (41,6%) destes pacientes foi diagnosticada a nefropatia pelo BKV através de biópsia, sendo que um deles perdeu o enxerto pois foi totalmente refratário ao tratamento utilizado. A discrepância destes resultados em relação à literatura, talvez possa estar relacionada ao pequeno grupo de pacientes estudados, ao tempo de acompanhamento destes pacientes, às diferentes cepas virais envolvidas e às diferenças individuais, difíceis de serem analisadas, tais como, doença de base e a resposta imunológica do receptor.

5.2 Avaliação Laboratorial

5.2.1 Sumário de urina

Dos 50 pacientes estudados, 45 tiveram resultado de sumário de urina, sendo que 29 destes pacientes apresentaram alterações do tipo hematúria e/ou leucocitúria, distribuídos conforme visto na Figura 17. Segundo a literatura a excreção urinária de células decoy em pacientes transplantados renais sem nenhuma sintomatologia é alta (8 a 26%). Em alguns casos, o primeiro indício de infecção pelo BKV é a presença de hematúria macroscópica sem causa aparente (NICKELEIT *et al*, 2000a; SMITH *et al*, 2001).

5.2.2 Valores séricos de uréia e creatinina nos 6 meses de acompanhamento dos pacientes transplantados

Quando comparados os valores séricos de uréia e creatinina durante os 6 meses de seguimento dos pacientes transplantados renais foi observado que

alguns pacientes que não apresentaram células decoy na urina tinham níveis mais elevados de uréia e creatinina do que aqueles que apresentaram células decoy na citologia urinária. Quando estes dois grupos foram comparados estatisticamente, não houve variação significativa ($p > 0,05$).

5.2.3 Níveis séricos de uréia em função da presença ou ausência de células decoy na urina dos pacientes nos diversos grupos

A média dos valores séricos de uréia do grupo 1 (pacientes com células decoy na urina), grupo 2 (pacientes sem células decoy e com níveis normais de uréia) e do grupo 3 (pacientes sem células decoy com níveis alterados de uréia) foi de $73,5\text{mg/dl} \pm 18,9$, $37,2\text{mg/dl} \pm 7,7$ e $71,9\text{mg/dl} \pm 19,6$, respectivamente. Estes resultados mostram que o grupo 1 e 2 são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), enquanto que o grupo 1 e 3 são estatisticamente iguais ($p > 0,05$). O encontro de níveis de uréia elevados, tanto no grupo 1 quanto no grupo 3, mostra que somente a análise isolada dos valores de uréia não é parâmetro para diferenciá-los quanto a etiologia da disfunção do enxerto devido a uma rejeição celular aguda ou infecção pelo BKV.

5.2.4 Níveis séricos de creatinina em função da presença ou ausência de células decoy na urina dos pacientes nos diversos grupos

A média dos valores séricos de creatinina do grupo 1, grupo 2 e grupo 3 foi de $2,4\text{mg/dl} \pm 0,9$, $1,1\text{mg/dl} \pm 0,2$ e $4,0\text{mg/dl} \pm 3,6$, respectivamente. O grupo 1, 2 e 3 são estatisticamente iguais ($p > 0,05$), enquanto que o grupo 2 e 3 são diferentes ($p < 0,05$). Apesar da dosagem sérica de creatinina ser um parâmetro que afere com sensibilidade e especificidade a função renal, a sua análise isolada não é capaz de definir a causa da disfunção dos pacientes transplantados renais. Estes achados estão de acordo com os dados da literatura que mostram não haver diferenças significativas entre os valores séricos de uréia e creatinina nos pacientes com células Decoy (+) e (-) na urina. (SANTOS *et al*, 2004).

5.3 Citologia urinária

A utilização de técnicas citológicas permite a identificação de células infectadas pelo BKV nos transplantados renais e a sua utilização para a pesquisa de células decoy na urina é de vital importância na detecção de infecção pelo BKV (COLVIN *et al*, 2001). No presente estudo a prevalência de pacientes com células decoy na urina foi de 24%, semelhante aos dados da literatura que reportam valores entre 20% a 30% (NICKELEIT *et al*, 2000; HIRSCH *et al.*, 2002).

Embora a confirmação diagnóstica da infecção ativa pelo BKV dependa da detecção de partículas virais no sangue através da técnica de PCR, estudos recentes sugerem que o valor preditivo do encontro de células decoy pela realização de exame citológico seqüencial seja tão eficaz quanto à detecção de partículas virais pela PCR (SANTOS *et al*, 2003). A citologia urinária para a pesquisa de células decoy, por se tratar de uma técnica de fácil realização e de baixo custo, é uma ferramenta útil na investigação da infecção ativa pelo BKV. Segundo Santos (2003) a citologia negativa permite afastar a hipótese de infecção pelo BKV, uma vez que o seu valor preditivo negativo é de 100%.

5.3.1 Pacientes com células decoy na urina em função da idade e sexo

Segundo Rocha (2004), pacientes com idade superior a 50 anos, o sexo masculino e a raça caucasiana são fatores de risco associados ao desenvolvimento da infecção ativa pelo BKV. No presente estudo a faixa etária prevalente foi de 15-44 anos, com uma média de idade de 33,3 anos para os pacientes do sexo masculino e 23,5 para os do sexo feminino.

5.3.2 Pacientes com células decoy na urina em função do tempo de pós-transplante

A maioria dos episódios de nefropatia pelo BKV ocorre nos seis primeiros meses pós-transplante renal, podendo também surgir alguns anos após o transplante (RANDHAWA *et al*, 1999; MONTAGNER *et al*, 2007). O intervalo de tempo observado no presente estudo entre a data da realização do transplante e a pesquisa de células decoy na urina foi de 1 a 2 anos, com média de 13 meses (91,6%), enquanto que em 8,4% dos casos ultrapassou 2 anos do transplante.

5.4 Biópsia renal

A biópsia renal é o padrão ouro para o diagnóstico de nefropatia pelo BKV (MONTAGNER *et al*, 2007). Neste estudo dos 12 pacientes com presença de células decoy na urina, 4 tiveram a confirmação de nefropatia pelo BKV através da biópsia renal e um paciente apresentou um quadro de RCA.

No caso que apresentou a biópsia reportada como RCA, apesar da interferência terapêutica, não houve melhora da função renal. Uma outra biópsia foi realizada 20 dias após confirmando rejeição aguda e presença de inclusões virais. A imunohistoquímica do fragmento renal foi negativa para BK vírus em dois laboratórios especializados. Apesar disto, como houvesse forte suspeita clínica de nefropatia pelo BKV, os fragmentos das biópsias renais prévias foram submetidos à técnica de imunohistoquímica em um terceiro laboratório que utilizando diferentes anticorpos, confirmou a nefropatia pelo BKV. Infelizmente neste caso houve perda do enxerto.

A sensibilidade da biópsia às vezes pode estar limitada pela amostra aleatória do rim, e à natureza focal da nefropatia pelo BKV. Deve ser feito então um diagnóstico diferencial entre a RCA, uma vez que os achados histológicos muitas vezes podem co-existir (COLVIN *et al*, 2001). Frente a estas dificuldades, o estudo imunohistoquímico da biópsia para a detecção do BKV é obrigatório para o diagnóstico diferencial entre a rejeição celular aguda e a nefropatia pelo BKV.

Os pacientes com alterações citopáticas consistente com BKV apresentaram um infiltrado inflamatório mononuclear, sendo a sua intensidade associada a um aumento da carga viral (ALBERÚ *et al*, 2005).

A biópsia revelou como achados histológicos mais freqüentes, a fibrose e o infiltrado inflamatório mononuclear intersticial.

5.5 Considerações gerais

De um modo geral, somente após um melhor conhecimento da biologia do BKV, da fisiopatologia das doenças causadas pelo vírus e dos fatores que afetam a sua reativação será possível desenvolver estratégias diagnósticas e terapêuticas eficazes, com uma melhor relação custo-benefício no seguimento de pacientes de risco para o desenvolvimento de nefropatia pelo BKV (SCANTLEBURY *et al*, 2002). Dentro desta realidade, a citologia urinária revela-se como um dos procedimentos de alta utilidade na investigação destes pacientes. Entretanto, devem ser consideradas as informações que outros testes laboratoriais podem fornecer tais como: PCR, imunohistoquímica e/ou biópsia. Todas essas metodologias têm importância diagnóstica e podem ser empregadas na monitorização dos pacientes de risco para nefropatia pelo BKV, todavia é imperativo que estes testes sejam hierarquizados, considerando-se a sua sensibilidade, especificidade, custo e complexidade clínica de cada caso (MONTAGNER *et al*, 2007).

A nefrite pelo BKV é uma complicação grave que pode se desenvolver nos transplantados renais com conseqüente perda do enxerto, se não tratada em tempo hábil. Desta forma, é importante que se utilizem técnicas que possibilitem um diagnóstico precoce e não invasivo, como a pesquisa seqüencial de células decoy na urina. Este método permite uma intervenção profilática, alterando drasticamente o curso da infecção. Novos estudos nesta área deverão ser realizados com um número maior de pacientes e um maior tempo de acompanhamento pós-transplante para melhor compreender a evolução clínica dos pacientes com nefropatia pelo BKV.

6 CONCLUSÕES

- A positividade para células decoy neste estudo (24%) é condizente com a literatura, sugerindo infecção ativa. A negatividade em 76% dos casos afastou a possibilidade de nefropatia pelo BKV.

- Nefropatia pelo BKV foi confirmada em 5 (20%) pacientes com células decoy positiva na urina.

- A presença de células decoy na urina dos pacientes transplantados renais foi estatisticamente significativa para diferenciar os grupos que apresentaram níveis séricos de uréia e creatinina igualmente aumentados.

- Os valores séricos de uréia e creatinina usados isoladamente não diferenciaram pacientes que apresentaram disfunção do enxerto devido à rejeição celular aguda ou em decorrência de replicação viral pelo BKV.

- A maioria dos pacientes com células decoy positiva estava em uso de ciclosporina associada à azatioprina, prednisona e/ou zenapaz.

7 REFERÊNCIAS

AGHA, I. A., BRENNAN, D. C. BK virus and current immunosuppressive therapy. **Graft**, v.5, p. 565-572, 2002a.

AGHA, I.A. et al. Short course induction immunosuppression with thymoglobulin for renal transplant recipients. **Transplantation**, v. 73, p. 473-475, 2002b.

AHSAN, N.; SHAH, K.V. Polyomaviruses: an overview. **Graft**. v. 5, p. 59-18, 2002.

ALBERÚ, J; VILLASIS, A. Virus, inmunosupresión y el receptor de transplante renal. **Revista de Investigación Clínica**, v. 57. n. 4, p. 582-595, jul./ago. 2005.

ANDREWS, C. A. et al. A serological investigation of BK virus and JC virus infection in recipients of renal allografts. ***The Journal of Infectious Diseases***, n. 158, p. 176-181, 1988.

ARTHUR, R. R. et al. BK and JC virus infections in recipients of bone marrow transplants. **Journal Infect Diseases**, n. 158 (3), p. 563-569, sep. 1988.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS. Dados globais da atividade de captação de órgãos por estado no ano de 2005. **Registro Brasileiro de Transplantes 2005**, vol. 11, n. 2, p. 28-29, 2005.

AZZI, A. et al. Human polyomavirus BK (BKV) load and haemorrhagic cystitis in bone marrow transplantation patients. **J Clin Virol**, v.14, n.2, p.79-86, oct. 1999.

BINET, I. et al. Polyomavirus under immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. **Transplantation**, 67(6), p. 918-922, March 27, 1999.

BLANCKAERT, K; DE VRIESE, S. Current recommendations for diagnosis and management of polyoma BK virus nephropathy in renal transplant recipients. **Nephrol Dial Transplant**, v. 21, p. 3364-3367, 2006.

BOUBENIDER, S. et al. Post-transplantation polyomavirus infection. **Journal of Nephrology**, 12(1): p. 24-29, 1999.

COLVIN, R. B.; MAUIYYEDI, S. Differential diagnosis between infection and rejection in renal allografts. **Transplantation Proceedings**, v 33, p. 1778-9. 2001.

CUBITT, C. L.; STONER, G. L., Molecular genetics of the BK virus. **Graft**, v.5 p. 528-535, 2002.

DEMETER, L. M.; JC, BK, and other polyomaviruses. Progressive multifocal leukoencephalopathy. In: MANDELL, GL; BENNETT, JE; DOLIN, B. **Principles and practice of infectious diseases**. 5. ed. New York: Churchill Livingstone Publishers, p. 1645-51. 2000.

DRACHENBERG, C.B. et al. Human polyomavirus in renal allograft biopsies: Morphological findings and correlation with urine cytology. **Human Pathology**, v. 30, p. 970-7, 1999.

_____. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. **American Journal of Transplantation**, v. 4, (Suppl 5), A 853, 2003.

_____. Cost efficiency in the prospective diagnosis and follow-up of polyomavirus allograft nephropathy. **Transplant Proc**, v. 36, p. 3028-3031, 2004.

_____. Polyomavirus BK versus JC replication and nephropathy in renal transplant recipients: a prospective evaluation. **Transplantation**, 84:323-330, 2007.

DRACHENBERG, R.C. et al. Morphological spectrum of polyomavirus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology. **American Journal of Transplantation**, v. 1, p. 373-81, 2001.

EASH, S. et al. The human polyomaviruses. **Cell Mol Life Sci**. v. 63, p.865-76, 2006.

FIORITI, D. et al. The human polyomavirus BK: Potential role in cancer. **Journal of Cellular Physiology**, v.204, n.2, p.402-406, 2005.

FISHMAN, J.A; RUBIN, R.H. Infection in organ transplant recipients. **New Eng Journal Med**, v.338, p. 1741-51, 1998.

_____. et al. Estimative of the number of kidney transplants needed in Rio Grande do Sul, Brazil. XII **International Congress of Nephrology**. Jerusalém. p.13-8 junho 1993.

_____. IANHEZ, L.E; PESTANA, J.O.M. História dos Transplantes no Brasil. In: GARCIA V.D. et al. **Transplante de Órgãos e Tecidos**. São Paulo: Segmento Farma Editora, p 27-42, 2006.

HILLEMANN, M. R. Decoberta do simio virus (SV 40) e sua relação com a vacina para a poliomielite. **Rev Biol Stand**, v. 94, p.186, 1998.

HIRSCH, H.H. et al. Prospective Study of polyomavirus type BK replication an nephropathy in renal transplant recipients (commented on N Eng) Med 2002; 347: 527-30. **New Eng Journal Med**, 347, p. 488-96, 2002.

_____. BK virus replication and disease in solid organ transplant recipients: an update. **Cur Opin in Organ Tranplantation**, v. 6, p.262-266, 2003.

_____. et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: Interdisciplinary analysis and recommendations. **Transplatation**, v.79, p.277-86, 2005.

IANHEZ, L.E. Manejo clínico do doador e do receptor de transplante renal. In: **Transplante Renal: aspectos clínicos e práticos**. 3. ed. Ed Scipient, 2003.

KIM, T.H. et al. Nocardiosis following renal allograft. **Transplantation**, v.78(2) Supplement 1, p.495, July 27, 2004.

KNOWLES, W.A. PIPKIN, P.; ANDREWS, N. Population-based study of antibody to human polyomaviruses BK and JC and the Simian polioma vírus SV40. **J Med Virol**, v.71, p.115–123, 2003.

KWARK E.J. et al. Pathogenesis and management of polyomavirus infection in transplant recipients. **Clinical Infect Disease**, v.35, p.1081-7, 2002.

LIPTAK, P; KEMENY E; IVANYI, B. Primer: histopathology of polyomavirus-associated nephropathy in renal allografts. **Nature Clinical Practice Nephrology**, vol. 2(11), p. 631-6, 2006.

MANNON, R. B. Polyomavirus nephropathy: what have we learned? **Transplantation**, v. 77, p. 1313-1318, 2004.

MAS, S.B. **Detecció i caracterització dels poliomavírus presents en la població a partir de mostres ambientals**. [Tese-Doutorado]. Barcelona: Universitat de Barcelona – Facultat de Biologia – Departament de Microbiologia 2003.

MATESANZ, R. Meeting the organ shortage: an european consensus document. **Newsletter Transplant**, vol.4, p.4-17, 1999.

MCLEAN, A.G. et al. Patterns of graft infiltration and cytokine gene expression during the first 10 days of kidney. **Transplantation**, v.63, p.374-380, Feb. 1997.

MENGEL, M. et al. Incidence of polyomavirus-nephropathy in renal allograft: influence of modern immunosuppressive drugs. **Nephrol Dial Transplant**, v.18, p. 1190-6. 2003.

MOHAJER, M; TOUPANCE, O; DURLACH, A. Urinary decoy cell monitoring for tailoring of immunosuppressive regiment in renal graft recipients with latent polyomavirus infection. **Am J Transplant**, suppl 5, p. A85 1, 2003.

MONTAGNER, J. M. et al. Poliomavírus: um patógeno emergente para receptores de transplante. **Avanços Médicos**, v.5, n.2, p. 184-189, 2007.

MYLONAKIS, E. et al. BK virus in solid organ transplant recipients: an emerging syndrome. **Transplantation**, v. 72(10), p.1587-92, Review, 2001.

NAVARRO, A.; ESCALANTE, J.L.; ANDRÉS, A. Donor detection and organ procurement in the Madrid region. **Transplant Proc**, v. 25, p.3130-1, 1993.

NETO, M.V.P. Aspectos imunológicos da rejeição ao aloenxerto. Medicina on line. **Revista Virtual de Medicina**, v. 1, n.5, Ano II, Ribeirão Preto, SP, 2000.

NICKELEIT, V. et al. Polyomavirus infection of renal allograft recipients: from latent infection to disease, **J Am Soc Nephrol**, v. 10, p.1080-9.I, 1999.

_____. Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral-nephropaty. **NEJ Med**, v. 342, p. 1309-1315, 2000a.

_____. BK virus nephropathy in renal transplants-tubular necrosis, MHC class II expression and rejection in a puzzling game. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 15, p.324-332, 2000b.

OJO A. O. et al. Survival in recipients of marginal cadaveric donor kidneys compared with other recipients and wait-listed transplant candidates. **J Am Soc Nephrol**, v.12, p.589-597, 2001.

PATTISON, M. J.; KRENSKY, A.M. New insights into mechanism of allograft rejection. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 313, p.257-263, 1997.

PESTANA, J. O. et al. Organ donation in Brazil. **Lancet**, v. 341, p.118, 1993.

PIETROPAOLO, V.; DI TARANTO, C.; DEGENER, A.M. Transplacental transmission of human poliovirus. **J Med Virol**, v. 56(4), p. 372-6, 1998.

RAMOS, E. et al. BK vírus nephropathy diagnosis and treatment experience at the University of Maryland Renal Transplant Program. **Clinical Transpl**, p.143-153, 2002a.

_____. et al. Clinical course of polyoma vírus nephropathy in 67 renal Transplant patients. **J Am Soc Nephrol**, v.13, p. 2145-51, 2002b.

_____. et al. Retransplantation in patients with graft loss caused by polyoma virus nephropathy. **Transplantation**, v.77, p.131-3, 2004.

RANDHAWA, P.S. et al. Human polyomavirus associated interstitial nephritis in the allograft Kidney. **Transplantation**, v. 67, p. 103-109, 1999.

_____.; DEMETRIS, A.J. Nephropathy due to polyomavirus type BK. **New Engl J Medicine**, v.342, n.18, p. 1361-1363, 2000.

_____. et al. BK virus: discovery, epidemiology, and biology. **Graft**, v.5, p.519-527, 2002a.

_____. et al. DNA sequencing of viral capsid protein VP-1 region in patients with BKU interstitial nephritis. **Transplantation**, v.73, n.7, p.1090-94, 2002b.

_____.; Brennan, D. C. BK Virus Infection in Transplant Recipients: an Overview and Update. **American Journal of Transplantation**. v.6, n.9, p.2000-2005, Sep. 2006.

ROBBINS, S. L. et al. **Patologia estrutural e funcional**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

ROCHA, P.N. et al. Risk factors for BK polyomavirus nephritis in renal allograft recipients. **Clin. Transplant**, v.18, p.456-462, 2004.

SANTOS, A. L. G. de A.; SILVA, A. A. M. da; SANTOS, R. F. Estimativa do número potencial de doadores cadavéricos e da disponibilidade de órgãos e tecidos para transplantes em uma Capital do Nordeste do Brasil. **J Bras Nefrol** v. 23, n. 1, p. 25-30, mar. 2006.

SANTOS R.L.S. et al. Utilização da citologia urinária como método de “screening” para infecção ativa pelo poliovírus. **JB Transplantation**, vol.6 – ed-04, 2003.

_____. et al. Urine cytology as a screening method for polyoma virus active infection. **Transplantation Proceedings**, v. 36, n.4, p. 899 - 901, 2004.

SCANTLEBURY, V. et al. Cidofovir: a method of treatment for BK virus-associated transplant nephropathy. **Graft**, v.5, sup.1, p. 582-7, 2002.

SMITH, S.R. et al. Viral infections after renal transplantation. **Am J Kid Dis**, v.37, n.4, p.659-76, 2001.

SOLEZ, K. et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. **Am J Transplant**, v.8, n.4, p.753-60, 2008.

SPINEL, E. et al. The capacity for organ generation of hospitals in Catalonia, Spain: A multicentre study. **Transplant Proc**, v. 21, p.1419- 21, 1989.

STUART, F. P.; VEITH, F.J.; CRANFORD, R.E. Brain death laws and patterns of consent to remove organs for transplantation from cadavers in the United States and 28 other countries. **Transplantation**, v.31, p.238-44, 1981.

SUNDSJORD, A. et al. BK and JC virus type 1-infected persons: prevalence, excretion, viremia and viral regulatory regions. **J Infect Dis**, v.169, n.3, 485-90. 1994.

TAVARES, C.A. **Detecção do citomegalovirus e poliomavirus na cistite hemorrágica em transplantados alogênicos de células progenitoras hematopoética**. 2006. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2006.

TONG, C.Y.W. et al. Monitoring the progress of BK virus associated nephropathy in renal transplant recipients. **Nephrol Dial Transplant**, v.19, (10), p.2598-05, 2004.

UNIFESP. Associação de pacientes transplantados da Unifesp. **Insuficiência renal**. Disponível em: <<http://www.unifesp.br/assoc/atx/dossie.htm>>. Acesso em: 12 mai. 2008.

UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM (USRDS). 2002. **Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States**, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, p. 205-212, 2002.

WALI, K. R. et al. BK virus associated nephropathy in renal allograft recipients: rescue therapy by sirolimus-based immunosuppression. **Transplantation**, v.78, n.7, p.1069-73, 2004.

WHITE M. K.; KHALILI, K. Polyomaviruses and human cancer: molecular mechanisms underlying patterns of tumorigenesis. **Virology**, v.324, n.1, p.1-16. 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A

PACIENTES COM PRESENÇA DE CELULAS DECOY NA URINA														
Paciente	Origem	Idade	Sexo	Doador	Data Tx	Pesq. Decoy	Data cel. decoy	Ureia/creat						Imunossupressão
								1 mês	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses	6 meses	
Paciente 1	HGF	15	masc.	Tio	24/08/1989	Positivo	10/09/2006	116mg/4,6mg	33mg/1,3mg	50mg/1,3mg	47mg/1,5mg	40mg/1,6mg	68mg/1,8mg	Ciclosporina
								Azatioprina	ZenaPax					
Paciente 2	HGF	37	masc.	cadáver	24/03/2005	Positivo	25/10/2006	82mg/8,8mg	88mg/2,7mg	124mg/2,1mg	76mg/2,2mg	79mg/2,3mg	79mg/2,3mg	Azatioprina
								ZenaPax						
								Ciclosporina						
Paciente 3	HGF	28	masc.	mãe	25/10/2004	Positivo	23/07/2005	99mg/11,2mg	81mg/4,5mg	74mg/1,4mg	63mg/1,6mg	28mg/1,3mg	49mg/1,9mg	fk506
								MMF						
								ZenaPax						
Paciente 4	HGF	48	masc	esposa	29/01/2007	Positivo	30/08/2006	104mg/6,9mg	83mg/1,5mg	84mg/2,2mg	62mg/1,4mg	54mg/1,9mg	72mg/1,9mg	Ciclosporina
								Prednizona						
								Azatioprina						
Paciente 5	HGF	9	fem	mãe	31/01/2005	Positivo	05/10/2006	146mg/8,3mg	24mg/1,0mg	57mg/0,8mg	76mg/0,8mg	63mg/0,7mg	45mg/0,8mg	FK506
								MMF						
								ZenaPax						
Paciente 6	HUWC	42	masc.	esposa	29/06/2005	Positivo	17/11/2005	103mg/5,9mg	88mg/2,1mg	98mg/2,1mg	85mg/1,7mg	96mg/1,9mg	63mg/1,5mg	ciclosporina
								zanapac						
Paciente 7	HUWC	53	mas	cadaver	11/11/2004	positivo	28/09/2005	63mg/1,7mg	52mg/2mg	64mg/2,2mg	82mg/2,1mg	89mg/2,2mg	90mg/2,3mg	Azatioprina
								zanapax						
								ciclosporina						
Paciente 8	HUWC	33	mas	esposa	01/05/2005	positivo	24/11/2005	89mg/8,4mg	172mg/3,3mg	107mg/1,5mg	103mg/2,1mg	90mg/1,7mg	55mg/2,1mg	ciclosporina
								zanapax						
Paciente 9	HUWC	20	fem	mae	01/06/2005	positiva	27/01/2006	150mg/2,7mg	57mg/1,1mg	69mg/1,2mg	65mg/1,2mg	76mg/1,5mg	151mg/3,6mg	Azatioprina
								zanapax						
								ciclosporina						
Paciente 10	HUWC	40	masc	cadaver	18/11/2004	positiva	17/02/2006	49mg/1,4mg	34mg/1,4mg	46mg/1,5mg	57,6mg/2,0mg	178mg/8,3mg	110mg/8,1mg	zanapax
								azatioprina						
								ciclosporina						
Paciente 11	HUWC	27	fem	irmã	04/12/2006	positiva	14/08/2007	41mg/1,4mg	47mg/1,3mg	52mg/1,5mg	41mg/1,3mg	48,3mg/1,5mg	48mg/1,4mg	azatioprina
								zanapax						
Paciente 12	HUWC	38	masc	cadaver	05/08/2006	positiva	06/06/2007	36mg/0,7mg	41mg/0,7mg	34mg/0,7mg	43mg/0,6mg	48mg/0,7mg	38mg/0,6mg	azatioprina
								zanapax						
								ciclosporina						

APÊNDICE B

PACIENTES COM AUSÊNCIA DE CELULAS DECOY NA URINA E ALTERAÇÕES SÉRICAS DE UREIA/CREATININA														
Paciente	Origem	Idade	Sexo	Doador	Data Tx	Pesq.Decoy	Data cel.decoy	Ureia/creat						
								1mês	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses	6 meses	Imunossupressão
Paciente 1	HUWC	48	fem	irmã	21/04/2005	Negativa	10/02/2006	57mg/4,52mg	168mg/6,27mg	116mg/4,3mg	126mg/3,9mg	165mg/3,8mg	155mg/4,53mg	Ciclosporina Azatioprina ZenaPax
Paciente 2	HUWC	38	masc.	esposa	18/05/2005	Negativo	17/03/2006	95mg/6,1mg	115mg/5,2mg	110mg/5,2mg	119mg/4,2mg	72mg/3,7mg	127mg/4,3mg	Azatioprina ZenaPax
Paciente 3	HUWC	52	fem	cadaver	22/07/2005	Negativa	31/03/2006	134mg/11,5mg	149mg/10,5mg	134mg/11,5mg	142mg/10,2mg	130mg/10,8mg	141,5mg/12,9mg	Ciclosporina FK506 MMF ZenaPax
Paciente 4	HUWC	36	fem	prima	22/08/2005	Negativa	16/05/2006	100mg/6,3mg	49mg/2,3mg	80mg/3,1mg	92mg/2,7mg	84mg/2,2mg	118,4mg/2,0mg	Ciclosporina Prednizona Azatioprina
Paciente 5	HUWC	33	fem	cadaver	22/01/2005	Negativa	17/05/2006	206mg/11,9mg	115mg/8,2mg	199mg/12,2mg	170mg/13,6mg	186mg/13,3mg	127mg/10,7mg	FK506 MMF ZenaPax
Paciente 6	HUWC	39	masc.	esposa	25/06/2005	Negativo	14/106/2006	141mg/8,5mg	148mg/9,6mg	161mg/10,5mg	189mg/15,7mg	189mg/15,4mg	186mg/14,7mg	ciclosporina zanapac
Paciente 7	HUWC	53	fem	cadaver	11/11/2004	Negativa	04/10/2005	53mg/4,9mg	48mg/3,2mg	38mg/2,2mg	39mg/2,1mg	75mg/3,9mg	92mg/4,2mg	Azatioprina zanapac
Paciente 8	HUWC	29	mas	esposa	01/05/2006	Negativo	01/02/2007	44,6mg/1,5mg	39mg/1,3mg	51mg/1,5mg	35mg/1,3mg	34,9mg/1,7mg	44mg/2,1mg	ciclosporina ciclosporina zanapac
Paciente 9	HUWC	35	mas	irmão	01/06/2006	Negativo	29/03/2007	67mg/1,8mg	64mg/1,5mg	66mg/1,6mg	64mg/1,5mg	67mg/1,5mg	70mg/1,5mg	Azatioprina zanapac
Paciente 10	HUWC	29	fem	irmã	18/11/2005	Negativa	17/02/2006	60mg/1,9mg	54mg/1,7mg	59mg/1,9mg	66mg/1,9mg	53mg/1,9mg	66mg/2,0mg	ciclosporina azatioprina zanapac
Paciente 11	HUWC	27	fem	prima	04/12/2005	Negativa	28/04/2006	50mg/1,9mg	48mg/1,8mg	39mg/2,2mg	41mg/2,0mg	46mg/1,9mg	62mg/1,9mg	ciclosporina azatioprina zanapac
Paciente 12	HUWC	38	fem	irmão	05/08/2006	Negativa	23/05/2007	57mg/2,2mg	59mg/2,4mg	66mg/2,3mg	75mg/2,1mg	75mg/1,9mg	51mg/1,6mg	azatioprina zanapac
Paciente 13	HUWC	46	mas	irmão	01/10/2005	Negativa	17/11/2005	102mg/4,4mg	64mg/1,8mg	51mg/1,5mg	74mg/1,9mg	43mg/1,8mg	40mg/1,5mg	Cicloporina zanapac
Paciente 14	HUWC	52	mas	primo	10/12/2005	Negativa	03/02/2006	39mg/1,3mg	29mg/1,4mg	118mg/6,4mg	136mg/3,8mg	87mg/6,0mg	188mg/5,0mg	zanapax Azatioprina zanapax
Paciente 15	HUWC	48	fem	irmã	15/05/2005	Negativa	03/02/2006	137mg/3,0mg	117mg/2,3mg	77mg/3,3mg	122mg/3,4mg	89mg/3,5mg	57mg/5,6mg	ciclosporina FK 506 MMF zanapax
Paciente 16	HUWC	42	mas	primo	21/09/2005	Negativa	18/01/2006	86mg/1,1mg	67mg/1,4mg	64mg/1,3mg	64mg/1,9mg	63mg/1,7mg	63mg/1,8mg	Ciclosporina Prednizona azatioprina
Paciente 17	HUWC	53	mas	primo	04/10/2005	Negativa	04/08/2006	53mg/1,4mg	53mgmg/1,1mg	41mg/1,3mg	52mg/1,4mg	50mg/1,3mg	52mg/1,6mg	ciclosporina zanapax
Paciente 18	HUWC	32	mas	primo	08/07/2006	Negativa	05/06/2007	48mg/2,0mgmg	57mgmg/1,9mg	62mg/2,2mg	61mg/2,0mg	48mg/1,9mg	71mg/2,0mg	azatioprina zanapax
Paciente 19	HUWC	48	fem	prima	27/10/2005	Negativa	14/06/2006	53mg/1,2mg	39mg/1,2mg	44mg/1,3mg	54mg/1,4mg	46mg/1,3mg	50mg/1,5mg	azatioprina zanapax ciclosporina

APÊNDICE C

PACIENTES COM AUSENCIA DE CELULAS DECOY NA URINA E SEM ALTERAÇÕES SÉRICAS DE URÉIA/CREATININA														
Paciente	Origem	Idade	Sexo	Doador	Data Tx	Pesq Decoy	Data cel.decoy	Urela/creat					Imunossupressão	
								1 mês	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses		6 meses
Paciente 1	HUWC	36	fem	irmã	13/08/2004	Negativa	14/07/2005	34mg/0,9mg	34mg/1,0mg	24mg/1,0mg	47mg/1,5mg	27mg/0,9mg	30mg/1,0mg	Ciclosporina
								Zenapax						
Paciente 2	HUWC	42	fem	irmão	04/12/2005	Negativa	25/10/2006	53mg/1,0mg	56mg/1,0mg	55mg/1,2mg	34mg/0,8mg	32mg/0,9mg	32mg/1,0mg	Azatioprina
								Zenapax						
Paciente 3	HUWC	28	masc.	esposa	25/10/2005	Negativo	23/07/2006	54mg/1,1mg	45mg/0,9mg	49mg/1,0mg	71mg/1,2mg	55mg/1,2mg	39mg/1,1mg	Ciclosporina
								FK506						
Paciente 4	HUWC	48	masc	irmão	15/01/2005	Negativo	10/05/2006	41mg/0,9mg	38mg/0,9mg	43mg/0,9mg	37mg/0,9mg	41mg/1,0mg	38mg/0,8mg	Ciclosporina
								Prednizona						
Paciente 5	HUWC	52	fem	irmã	14/08/2005	Negativa	16/06/2006	20mg/1,0mg	26mg/1,0mg	23mg/1,2mg	15mg/0,9mg	34mg/1,1mg	26mg/1,0mg	FK506
								MMF						
Paciente 6	HUWC	42	fem	irmã	20/06/2005	Negativa	16/06/2006	26mg/0,5mg	27mg/0,6mg	27mg/0,5mg	29mg/0,6mg	30mg/0,7mg	38mg/0,8mg	Zenapax
								ciclosporina						
Paciente 7	HUWC	32	fem	prima	10/10/2005	Negativa	04/10/2006	26mg/1,2mg	43mg/1,2mg	25mg/0,9mg	29mg/0,9mg	19mg/0,9mg	39mg/0,9mg	Azatioprina
								zenapax						
Paciente 8	HUWC	49	fem	tia	16/09/2005	Negativa	09/11/2005	65mg/1,7mg	36mg/1,2mg	38mg/1,5mg	39mg/0,9mg	52mg/0,9mg	45mg/1,0mg	ciclosporina
								zenapax						
Paciente 9	HUWC	56	masc	irmão	28/03/2006	Negativo	29/03/2006	49mg/1,1mg	47mg/1,3mg	43mg/1,2mg	42mg/1,2mg	45mg/1,1mg	38mg/1,2mg	Azatioprina
								zenapax						
Paciente 10	HUWC	41	masc	primo	27/03/2006	Negativo	29/03/2006	44mg/1,1mg	42mg/1,3mg	53mg/1,3mg	48mg/1,2mg	51mg/1,2mg	33mg/1,2mg	ciclosporina
								zenapax						
Paciente 11	HUWC	48	fem	irmã	14/06/2005	Negativa	19/04/2006	24mg/1,2mg	25mg/1,2mg	22mg/1,4mg	19mg/1,2mg	24mg/1,2mg	11mg/0,9mg	ciclosporina
								zenapax						
Paciente 12	HUWC	50	fem	irmã	05/09/2005	Negativa	04/08/2006	33mg/1,1mg	38mg/1,1mg	35mg/1,0mg	36mg/1,1mg	30mg/1,0mg	29mg/1,0mg	azatioprina
								zenapax						
Paciente 13	HUWC	38	mas	irmão	08/07/2005	Negativa	15/05/2006	33mg/1,5mg	37mg/1,4mg	32mg/1,5mg	36mg/1,5mg	41mg/1,5mg	34mg/1,5mg	ciclosporina
								FK 506						
Paciente 14	HUWC	59	mas	irmão	06/09/2005	Negativa	06/12/2005	30mg/1,4mg	42mg/1,2mg	36mg/1,6mg	51mg/1,3mg	40mg/1,1mg	39mg/1,0mg	MMF
								zenapax						
Paciente 15	HUWC	62	mas	esposa	03/04/2005	Negativa	20/12/2005	47mg/1,4mg	53mg/1,4mg	36mg/1,1mg	36mg/1,3mg	46mg/1,4mg	32mg/1,2mg	azatioprina
								zenapax						
Paciente 16	HUWC	38	mas	irmão	24/07/2005	Negativa	13/09/2006	23mg/1,2mg	27mg/1,2mg	32mg/1,2mg	41mg/1,1mg	50mg/1,4mg	49mg/1,5mg	ciclosporina
								zenapax						
Paciente 17	HUWC	46	mas	tio	27/12/2005	Negativo	08/11/2006	29mg/1,9mg	40mg/1,1mg	40mg/1,1mg	38mg/1,0mg	36mg/1,0mg	31mg/1,1mg	ciclosporina
								zenapax						
Paciente 18	HUWC	30	fem	prima	07/10/2006	Negativa	10/07/2007	38mg/1,4mg	41mg/1,4mg	45mg/1,5mg	46mg/1,4mg	41mg/1,4mg	37mg/1,5mg	ciclosporina
								zenapax						
Paciente 19	HUWC	32	fem	irmã	08/10/2006	Negativa	10/07/2007	35mg/0,9mg	46mg/1,0mg	33mg/0,9mg	34mg/1,0mg	37mg/1,0mg	37mg/0,9mg	azatioprina
								zenapax						

APÊNDICE D

TABELA - RESULTDO DE BIOPSIA DOS PACIENTES COM CELULAS DECOY NA URINA						
Paciente	Doença de base	Fibrose	Rejeição celular	Infiltrado inflamatório	Dentro da normalidade	Biopsia positiva para BKV
1	Nefrite	X		X		+
2	Nefroesclerose hipertensiva				X	-
3	glomerulo nefrite cronica				X	-
4	nefroesclerose hipertensiva				X	-
5	Nefroesclerose hipertensiva	X	X	X		-
6	sindrome nefrotica			X		-
7	nefroesclerose diabetica	X		X		+
8	glomerulonefrite cronica				X	-
9	glomerulonefrite cronica				X	+
10	nefroesclerose diabetica	X		X		+
11	glomerulonefrite cronica				X	-
12	nefroesclerose hipertensiva				X	-

ANEXOS

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa

Universidade Federal do Ceará Comitê
de Ética em Pesquisa

Of. N° 235/06

Fortaleza, 04 de maio de 2006

Protocolo COMEPE n° 41/06

Pesquisador responsável: Tânia Maria Cavalcante Maia

Dept°./Serviço: Hospital Universitário Walter Cantídio

Título do Projeto: "Padronização de técnicas imunocitológicas para triagem de infecção por poliomavírus em pacientes submetidos a transplante renal"

Levamos ao conhecimento de V.S^a. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará - COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, Resolução n°196 de 10 de outubro de 1996 e Resolução n° 251 de 07 de agosto de 1997, publicadas no Diário Oficial, em 16 de outubro de 1996 e 23 de setembro de 1997, respectivamente, aprovou o projeto supracitado na reunião do dia 27 de abril de 2006.

Outrossim, informamos, que o pesquisador deverá se comprometer a enviar o relatório parcial e final do referido projeto.

Atenciosamente,

Dr. Fernando A. Frata Bezerra
Coordenador do Comitê
de Ética em Pesquisa
COMEPE/UFC

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar de uma pesquisa denominada PADRONIZAÇÃO DE TÉCNICAS IMUNOCITOLÓGICAS PARA TRIAGEM DE INFECÇÃO POR POLIOMAVIRUS EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRANSPLANTE RENAL, que tem como objetivo principal a detecção precoce da infecção viral evitando assim a perda da função do enxerto.

O propósito deste folheto é esclarecer aberta e claramente todos os procedimentos envolvidos no estudo clínico, antes de sua decisão quanto à participação. O estudo está sendo realizado no Hospital Universitário Walter Cantídio com os pacientes em acompanhamento ambulatorial pós transplante e pacientes internados. Esclarecemos ainda que nenhuma mudança seja feita no seu tratamento caso concorde em participar.

Paralelamente serão anotadas algumas questões referentes a você no que diz respeito à: data de nascimento, data do transplante renal e resultados dos exames de sumário de urina, dosagem de uréia e creatinina. Estas informações serão retiradas do seu prontuário ou na ausência delas, serão perguntadas pessoalmente a você.

É importante entender que você não é obrigado a participar do estudo e que todos os seus dados pessoais serão tratados de maneira estritamente confidencial, ficando sua identidade inteiramente protegida, e a qualquer época você poderá ter acesso às informações e conclusões do presente estudo bem como o resultado de seus exames individuais.

Se você tiver alguma dúvida posteriormente poderá procurar o pesquisador abaixo descrito a qualquer momento para esclarecê-las.

Deve ficar bem claro também que a qualquer tempo você poderá pedir para sair do estudo.

NOME DO PESQUISADOR: TANIA MARIA CAVALCANTE MAIA

ENDEREÇO: RUA DOM JERONIMO 1053 - BENFICA

TELEFONE: 4009 – 8179 4009- 8182 - 88892186 - 32230936

COMITE DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFC.

TELEFONE: 4009-8338

Se você decidir participar então leia e assine o formulário na presença de seu médico e mantenha uma cópia do formulário e deste folheto para sua informação.

Obrigada por ter lido este folheto e por considerar sua participação no presente estudo.

Fortaleza, _____



Assinatura do pesquisador

Assinatura do paciente

Assinatura da testemunha

DIGITAL

FORMULÁRIO

TITULO: Padronização de técnicas imunocitológicas para triagem de infecção por poliomavírus em pacientes submetidos a transplante renal.

NOME DO INVESTIGADOR: Tânia Maria Cavalcante Maia

1. Confirmando que li e entendi o folheto informativo sobre o estudo acima e que tive a oportunidade de questionar e tirar dúvidas que me surgiram.
2. Entendo que minha participação é voluntária e tenho a liberdade de desistir a qualquer tempo sem que minha assistência médica seja afetada.
3. Entendo que os itens de qualquer registro médico podem ser examinados pelo responsável pela pesquisa ou pelas pessoas autorizadas.
4. Concedo permissão para que estes indivíduos tenham acesso aos meus registros.

NOME DO PACIENTE: _____

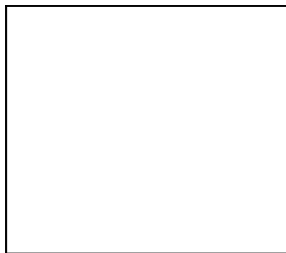
ASSINATURA: _____

NOME DA PESSOA QUE ESTA OBTENDO O TERMO _____

ASSINATURA: _____

DATA: _____ -

ASSINATURA DA TESTEMUNHA _____



DIGITAL

30 JUNHO 2006

3ª Feira

08h às 12h

137

PESQUISA DE CÉLULAS DECOY EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAI. ESTUDO PRELIMINAR

Tânia M. Cavalcante Maia¹, Sônia Leite da Silva^{2,3}, Silva Fernandes Ribeiro da Silva^{1,2,3}, Cláudia M. Costa de Oliveira^{2,3}, Ronaldo M. Emeraldo¹, Marcia V. Piombieri Ferreira¹
¹ Universidade de Fortaleza-UNIFOR, ² Hospital Geral de Fortaleza, ³ Universidade Federal do Ceará

Introdução: A nefropatia por poliovírus tipo BKV é uma complicação observada em transplantados renais (TR), podendo levar a perda do enxerto. A ocorrência desta nefropatia depende, em parte, da imunossupressão utilizada. No Brasil, a real incidência de infecção pelo BKV é desconhecida. A lesão histopatológica é o padrão ouro para o diagnóstico, mas a triagem destes pacientes pode ser feita através da pesquisa de células do trato urinário contendo o BKV (células Decoy).

Objetivo: Pesquisar células Decoy em urinas de pacientes transplantados renais.

Método: Trata-se de um estudo transversal realizado entre Agosto de 2005 e Março de 2006, para pesquisa de células Decoy na urina de 34 pacientes TR, 11 mulheres (32%), com suspensão de imunossupressão utilizada. A suspensão foi baseada na perda de função renal ou hematuria persistente. A pesquisa das células Decoy foi realizada na primeira urina da manhã colhida em frasco contendo álcool absoluto na proporção de 1:1. A última foi centrifugada em eucentrífuga e corada pelo método de Papanicolaou, observando-se, então, ao microscópio óptico a presença de células grandes, com citoplasma em forma de cometa, cromatina condensada na península do núcleo e halo perinuclear (células Decoy).

Resultado: A pesquisa da célula Decoy foi positiva em 8 pacientes (23%) e negativa em 26 (77%). Não houve diferença na imunossupressão, nos níveis de creatinina sérica entre os pacientes com células Decoy positivas e negativas.

Conclusão: A positividade para células Decoy neste estudo preliminar (23%) é coincidente com a literatura (20 a 40%) sugerindo infecção ativa pelo BKV. No entanto, é necessária a confirmação da existência da nefropatia, neste grupo de pacientes, através da biópsia do enxerto. Mas, como o valor preditivo negativo desta análise é próximo a 100%, podemos afirmar que existe pouca probabilidade dos 26 pacientes com células Decoy negativa apresentarem nefropatia pelo BKV.

138

AGENTES MICROBIOLÓGICOS EM EXAMES CITOPATOLÓGICOS: ESTUDO DE PREVALÊNCIA

Andréa Alves Ribeiro¹, Daniel Fernandes Oliveira¹, Mara Cristina Nolasco Sampaio¹, Megmar Aparecida dos Santos Carneiro¹, Suelene Brito do Nascimento Tavares¹, Neida Lindany Alves Souza¹, Gisliane Aparecida Fonseca-Carvassan¹, Joana Darc Ximenes Alcantara¹, Sílvia Helena Rabelo dos Santos¹

¹ - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Goiás
² - Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas

Introdução: As inflamações ou inflamações vaginais constituem um dos problemas mais comuns em clínicas ginecológicas e são as principais causas de queixas em mulheres. Vaginite bacteriana, tricomomias e candidíases são responsáveis por cerca de 90% dos distúrbios de origem infecciosa. O estudo proposto tem como finalidade determinar a prevalência de infecções por *Gardnerella vaginalis* em contexto de microflora vaginal, de *Trichomonas vaginalis* e de *Candida sp* e correlacionar com a faixa etária das mulheres incluídas.

Material e Métodos: Os resultados de 7004 esfregaços citopatológicos colhidos em diversas Unidades Básicas de Saúde de Goiânia e enviados ao Laboratório Rômulo Rocha da Universidade Federal de Goiás durante o ano de 2005 foram utilizados para a análise. A distribuição dos resultados em relação à presença ou ausência das referidas infecções foram analisados em um modelo estratificado por faixa etária. Os seguintes intervalos foram analisados: <20 anos, 21-30 anos, 31-40 anos, 41-50 anos, 51-60 anos, >61 anos.

Resultados: As prevalências totais considerando todas as idades foram de 20% para *Gardnerella vaginalis*, 8% para *Candida sp* e 2% para *Trichomonas vaginalis*. A faixa etária de maior prevalência de infecções vaginais foi de 21 a 40 anos, considerando os seguintes agentes microbiológicos: *Gardnerella vaginalis* (58%), *Trichomonas vaginalis* (59%) e *Candida sp* (65%).

Conclusão: *Gardnerella vaginalis* no contexto de inversão de flora bacteriana foi o agente microbiológico mais prevalente considerando todas as idades. A maior prevalência destes agentes na faixa etária dos 21-40 anos pode refletir o fato de que estes microrganismos utilizam como substrato o glicogênio, cujo acúmulo celular está relacionado à estimulação hormonal.

139

FREQUÊNCIA DE ATÍPIA COLCITÓTICA EM LESÕES INTRA-EPITELIAIS ESCAMOSAS

Fernanda Ramos de Vasconcelos¹, Leonilda Silveira Faria de Moraes¹, Marcelo Rodrigues Martins¹, Megmar Aparecida dos Santos Carneiro¹, Andréa Alves Ribeiro¹, Gisliane Aparecida Fonseca-Carvassan¹, Rosany Mucha Dufort¹, Sílvia Helena Rabelo dos Santos¹

¹ - Universidade Federal de Goiás, Universidade Estadual de Campinas,
² - Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas

³ - Universidade Federal de Santa Catarina

Introdução: Efeitos citopáticos relacionados ao Papiloma vírus humano (HPV) são mais frequentemente encontrados em lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau (LSIL). Contudo, existem indicações de que pelo menos metade dos diagnósticos histológicos de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) 2 e NIC 3 possuem áreas de atípia colcitológica, sendo esta atípia fortemente relacionada às características da lesão de alto grau, incluindo atípia nuclear em todas as camadas epiteliais. O objetivo deste estudo foi avaliar a frequência de atípia colcitológica em esfregaços interpretados como LSIL ou NIC 1 (14), HSIL incluindo os diagnósticos de NIC 2 (15) e NIC 3 (14) e Carcinomas invasores (2). Atípia colcitológica foi qualitativamente analisada presente ou ausente. O diagnóstico final foi estabelecido pelo consenso.

Resultados: Atípia colcitológica foi observada em 64% (9/14) dos esfregaços interpretados como LSIL ou NIC 1 e 26% dos esfregaços interpretados como HSIL (NIC 2 ou NIC 3). Considerando as HSIL, 38% (5/13) dos esfregaços interpretados como NIC 2 e 14% (2/14) dos esfregaços interpretados como NIC 3 mostraram atípia colcitológica. Os esfregaços interpretados como carcinomas invasivos não mostraram esta atípia.

Conclusão: Atípia colcitológica foi observada mais frequentemente em NIC 1, contudo 26% das lesões de alto grau, incluindo NIC 2 e NIC 3 mostraram esta atípia. Os casos interpretados como NIC 2 mostraram maior frequência de atípia colcitológica do que os interpretados como NIC 3, o que pode refletir um perfil biológico intermediário desta lesão.

140

COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU PARA AVALIAR A ADERÊNCIA DE LEVEDURAS ÀS CÉLULAS EPITELIAIS VAGINAIS HUMANAS

Mary Meyumi Taguti Irie¹, Maria Ediane Lopes Consolaro¹, Terezinha Aparecida Guedes¹, Luciana Donatti¹, Eliana Valéria Parusi¹, Terezinha Inez Estivaldo Svidinski¹, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil¹, Universidade Federal do Paraná, Brasil²

Introdução: Anualmente, milhares de mulheres em todo o mundo são acometidas por candidíase vulvovaginal (CVV), uma infecção causada por leveduras, que afeta principalmente a mucosa da vulva e vagina. A aderência das leveduras às mucosas é um passo essencial para a colonização e predispõe à instalação do processo infeccioso.

Objetivo: Padronizar uma técnica baseada na coloração de Papanicolaou, para avaliar a adesão de leveduras às células epiteliais vaginais (CEVH) superficiais e intermediárias e referendar esta metodologia frente a 25 isolados vaginais.

Material e Métodos: Foram avaliados 25 isolados vaginais (10 *Candida albicans*, 9 *C. glabrata*, 2 *C. parapsilosis*, 1 *C. tropicalis*, 2 *Saccharomyces cerevisiae* e 1 *Trichosporon sp*). Foi padronizada a concentração da suspensão de leveduras de 5×10^5 a 5×10^7 células/ml, que foram co-incubadas com CEVH obtidas de uma doadora no período ovulatório. Após 1 hora, os esfregaços foram confeccionados, corados por cristal violeta e Papanicolaou e avaliados o número de leveduras aderidas a 600 CEVH. A aderência foi comprovada através da microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Resultados: A concentração da suspensão de leveduras padronizada foi a de 5×10^5 células/ml. A adesão de *C. albicans* foi significativamente maior que das outras espécies e ocorreu principalmente nas CEVH intermediárias que nas superficiais. A *Candida glabrata* foi a segunda levedura mais aderente e *Saccharomyces cerevisiae* a menos aderente.

Conclusão: A técnica proposta além, de ser de fácil execução, baixo custo, mostrou-se reprodutível e possibilitou a determinação da capacidade de aderência de diferentes isolados de *Candida* ap. aos dois tipos CEVH, cuja adesão foi comprovada pela microscopia eletrônica de varredura.

Apoio financeiro: CNPq, Número: 474542/2003-3

RIBAC

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

SUMÁRIO

Teste VDRL para o diagnóstico da sífilis. Avaliação dos resultados em uma unidade de atenção primária de saúde.....	71
Liduína Ribeiro Santana, Marília Joffily Pereira da Costa Parahyba, Maria José Alencar & Dayan de Araújo Marques The VDRL Test for Syphilis Diagnosis. Evaluation Results in a Health Basic Unit	
Macroprolactina, um método de diferenciação de prolactinas de elevado peso molecular pela precipitação por Polietilenoglicol.....	75
Alberto Magno Lobo Colares & Northon Pestana da Silva Macroprolactine, a method to detect prolactines of high molecular weight with precipitation with polyethyleneglycol	
Controle externo da qualidade dos diagnósticos citológicos no rastreamento do câncer cervical: estudo piloto.....	79
Rita G. Amaral, Nadja L.A. Souza, Suelene B. N. Tavares, Edna J.C. Manrique, Delina Z. Assem, Lucília L. Azevedo, Raniara C.F. Queiroz, Raquel C. Freitas & Gisela A. Fonseca-Carvasan External quality control in the cytologic diagnosis in screening cervical cancer: pilot study	
Avaliação de Lesões Intra-Epiteliais Escamosas e Microbiologia em exames citológicos realizados em um Laboratório de Porto Alegre, RS.....	83
Andréia Buffon, Mariema Civa & Virginia Frota de Matos Avaliation of squamous intraepithelial lesions and microbiology in cytologic smears in a laboratory of Porto Alegre, RS	
O câncer do colo do útero, o Papilomavírus Humano (HPV) e seus fatores de risco e as mulheres Indígenas Guarani: estudo de revisão.....	87
Luciana Albring, Jaime Ebert Brentano & Vera Regina Andrade Vargas The cervical cancer, the Human Papillomavirus and its risk factors and the Guarani indigenous women: a review	
Deteção da proteína p53 em células leucêmicas por citometria de fluxo e imunocitoquímica.....	91
Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior (MSc, PhD), Marcos Antonio Mauricio Scheiner (MSc), Flávia da Cunha Vasconcelos, Jane de Almeida Dobbin (MD), Claudete Esteves Klumb (MD, PhD) & Raquel C. Maia (MD, PhD) Detection of p53 protein in leukemic cells by flow cytometry and immunocytochemistry	
Elaboração de meio para hemocultura com resina inativadora de antibióticos e comparação laboratorial do meio desenvolvido com o meio bac/alert aerobíc fan para a detecção de bacteremia e fungemia em pacientes em uso de terapia antimicrobiana.....	99
Carlos Henrique Passos de Meneses e Silva, Alessandro Pereira Lins & Caroline Sathler Oliveira da Cruz Elaboration of a blood culture medium with antibiotic-inactivating resin and laboratory comparison of this medium with bac/alert aerobíc fan medium for detection of bacteremia and fungemia in patients receiving antimicrobial therapy	
Estudo do perfil de hemoglobinas em 9.189 testes realizados no Alvaro Centro de Análises e Pesquisas Clínicas.....	107
Cleiton Paulo Aigner, Fabiano Sandrini, Edmir Gonçalves Duarte, Mauricio Pacheco Andrade, Marco Antonio Largura & Alvaro Largura The Characteristic of 9,189 Tests of Hemoglobinopathy Diagnostic from the Alvaro Center of Clinical Chemistry and Research in the 2004 year	
Atividade antimicrobiana "in vitro" do extrato etanólico de <i>Punica granatum</i> Linn. (romã) sobre isolados ambulatoriais de <i>Staphylococcus aureus</i>	111
Catão, R. M. R., Antunes, R. M. P., Arruda, T. A., Pereira, M. S. V., Higino, J. S., Alves, J. A., Passos, M. G. V. M. & Santos, V. L. Antimicrobial activity "in vitro" of the ethanol extract <i>Punica granatum</i> against of <i>Staphylococcus aureus</i> strains	
Prevalência de Teníase no Município de Pedra Branca Estado do Ceará, Brasil.....	115
Oliveira, M.F.Sousa, F.C.S., Pereira, A.C.G., Alencar, A. M., Bezerra, F.S.M., Martins, D.A. & Teles, R. M.A. Prevalence of taeniasis in municipal district Pedra Branca of Ceará State, Brazil	
O uso do corante urucum (<i>Bixa orellana</i> L.) na técnica de coloração histológica.....	119
Dayana Cardozo Rohde, Sergio Oliveira Silveira & Vera Regina Andrade Vargas The use of stain urucum (<i>Bixa orellana</i> L.) in the techniques histological staining	
Perfil de Resistência de <i>Acinetobacter baumannii</i> a Antimicrobianos nas Unidades de Terapia Intensiva e Semi-Intensiva do Hospital Geral de Fortaleza.....	123
Vânia Maria Oliveira de Pontes, Everardo Albuquerque Menezes, Francisco Afrânio Cunha, Maria Rozellê Ferreira Angelo, Maria Níbia Cavalcante Salviano & Inácio Régis Nascimento Oliveira Profile of resistance of <i>Acinetobacter baumannii</i> to antimicrobial in the Semi-Intensive and Intensive Care Units of the General Hospital of Fortaleza	
Prevalência da tricomonose em mulheres residentes na Vila dos Papeleiros em Porto Alegre, RS.....	127
Rafael V. Michel, Fernanda P. Borges, Renata C. M. Wiltuschni, Francine G. Neves, Juliana Ribeiro, Renata C. Vieiro, Patrícia B. Vieira, Gabriela R. Bohns, Tiana Tasca & Geraldo A. De Carli Prevalence of trichomonosis among women resident in the Papeleiros Slum in Porto Alegre, RS	

E mais...

Temas Livres do XXXIII Congresso Brasileiro de Análises Clínicas - 2006
e do VI Congresso Brasileiro de Citologia Clínica