

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Polimorfismos em genes envolvidos na farmacodinâmica de tacrolimo e everolimo e sua relação com a resposta ao tratamento imunossupressor, em receptores de transplante renal

Antony Brayan Campos Salazar

Dissertação para a obtenção do Título de
Mestre

Orientadora: Profa. Dra Rosario Dominguez
Crespo Hirata

São Paulo

2017

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Polimorfismos em genes envolvidos na farmacodinâmica de tacrolimo e everolimo e sua relação com a resposta ao tratamento imunossupressor, em receptores de transplante renal

Antony Brayan Campos Salazar

Versão corrigida da Dissertação conforme resolução CoPGr 6018

Dissertação para a obtenção do Título de
Mestre

Orientadora: Profa. Dra Rosario Dominguez
Crespo Hirata

São Paulo

2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

C198p Campos Salazar, Antony Brayan
Polimorfismos em genes envolvidos na farmacodinâmica de tacrolimo e everolimo e sua relação com a resposta ao tratamento imunossupressor, em receptores de transplante renal / Antony Brayan Campos Salazar. - São Paulo, 2017. 129 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas. Orientador: Dominguez Crespo Hirata, Rosario

1. Transplante renal. 2. Imunossupressores. 3. Farmacogenética. I. T. II. Dominguez Crespo Hirata, Rosario, orientador.

Antony Brayan Campos Salazar

Polimorfismos em genes envolvidos na farmacodinâmica de tacrolimo e everolimo e sua relação com a resposta ao tratamento imunossupressor, em receptores de transplante renal

Comissão Julgadora da Dissertação para
Obtenção do Título de Mestre

Profa. Dra. Dra Rosario Dominguez Crespo Hirata
Presidente

Prof. Dr. Helder Takeshi Imoto Nakaya
1º examinador

Dra. Claudia Rosso Felipe Bonato
2º examinador

Prof. Dr. Nelson Zocoler Galante
3º examinador

São Paulo, 01 de dezembro de 2017

AGRADECIMENTOS

A Deus e a minha família: minha amada avó Damiana que ainda pergunta quando eu vou voltar (*já estou quase aí de volta*), meus pais Julia e Sigifredo, minha irmã Conny e minha tia Virginia pelo apoio psicológico ao longo desses quatro anos que fiquei no Brasil. E a minha família na casa dos meus amados tia Aurora e tio Avelino, tia Primi, Javier, Milagros, Bonnie, queridos primos, Ana, Rodrigo, Edu, Alvarito, Nicolas (ricolas!).

A minha querida orientadora Profa. Rosario Hirata que me demonstrou que comunicação é à base de um relacionamento orientador-orientado. E por toda a paciência que me teve ao longo desses quatro anos. Agradeço-lhe os finais de semana sacrificados por minha causa.

Ao Prof. Mario Hirata pelas conversas, que na maioria das vezes começavam por eu ter feito alguma besteira, mas que no final, me deram uma lição valiosa sobre ser responsável.

Aos nossos colaboradores do Hospital do Rim, Prof. Helio, Dra. Claudia e Priscila; à equipe de pesquisa clínica, às antigas colaboradoras, Adriel, Erika, Nagilla, Karina, e à Dra. Beth do laboratório central de imunossuppressores pelo curto aprendizado.

Aos pacientes que aceitaram participar neste estudo que espero possa continuar e contribuir na individualização da terapia em imunossuppressores.

Aos meus magníficos atuais e antigos companheiros de laboratório LABMAD pelo carinho e apoio nessa caminhada: Alvaro, Gabi, Joás, Beth, Ju, Bruna, Aécio, Carol, Bárbara, Carlos, Marina, Giselle, Vivian, Luccas, Patrícia, Ana, Gabizinha, Di, Akira, Jessica. Um especial agradecimento para Cristina, a melhor técnica, estudante de mestrado e mãe; você é demais. Obrigado à equipe do LIMC no Hospital Dante Pazzanese.

Às minhas inesquecíveis amigas de casa, Marcela, Yuli e Perla, que agora não somos mais um quarteto fantástico, parecemos mais um hexágono benzoico. Bem-vindo Diego e Nayara! Obrigado Marcela e Perla pela tamanha paciência e labor de me suportar e ouvir por mais de dois anos.

Ao grupo Hamutay pelos eventos realizados juntos, e os que virão mais na frente. Espero possamos continuar trabalhando em brindar oportunidades educativas e acadêmicas para os que mais precisam.

Ao clube de biologia sintética por todos os momentos que passei no Brasil junto a eles, que me mostraram como é maravilhoso (e possível) ser indisciplinado neste mundo acadêmico, o qual também é perante de ser questionado, nada é absoluto; e por me mostrar que grupos não precisam de autoritarismo para ser organizados. E pelo objetivo de vida que você e o clube ajudaram a forjar.

Ao time AlgAranha pelo inesquecível semestre de reuniões, experimentos, brigas, choros e desesperos. E aos 10 guerreiros que fomos ao evento em Boston: *Cadê o pato?*

Ao laboratório do Professor João M. de Carvalho por ter me recebido como se fosse um de vocês apesar de que o iGEM era minha única conexão com vocês. Obrigado Prof. João, John, Livia, Vivi, Allan, César, Ana, Marcelo.

Aos meus malucos amigos e queridos de teóricos anônimos pelo incrível mini-curso que organizamos e porque formamos uma incrível equipe no Fablab, Karim, David, Hugo, Jesus, Sair, Stacy.

A você que me acompanhou desde janeiro de 2017, suportando e tendo muita paciência comigo. Nesse ano, tenho visto crescer você e você me deu força e motivou a continuar, a perseguir cada uma das nossas metas, desafiando o teu característico *“tengo miedo”*. Entre loucuras e risadas, alegrias e tristezas, *gracias por estar aqui. Siempre te admiraré por todo lo que eres y significas para mí*, Stacy.

Ao nosso incrível grupo de pesquisa no Peru, “BIOPHARM”. Obrigado Profa. Gloria por ser como uma segunda mãe, e aos meus amadíssimos meninos do grupo que me suportam pelas inúmeras loucuras. Agradeço o grupo do Prof. Oscar e os meninos do seu grupo, Angelo, Daisy, pelos momentos compartilhados.

Aos meus amigos vigias da Farmácia, Fabio, Januário, Paul, Doacil pela paciência e cumplicidade nos finais de semanas, e ao Augusto e Arualdo, que apesar das brigas, me mostraram o significado de “horários”. A Zé Carlos e Eleilson do Semi-industrial pelas muitas noites de conversas.

A minha cachorra Katrina, esteja com deus minha linda, e a Frances, zé ruela de quatro patas e 30 quilos que alegra a nossa vida em casa.

Espero não esquecer todas as maravilhosas pessoas que ajudaram nesse caminho e fizeram que fosse maravilhoso.

RESUMO

Campos Salazar, A.B. **Polimorfismos em genes envolvidos na farmacodinâmica de tacrolimo e everolimo e sua relação com a resposta ao tratamento imunossupressor, em receptores de transplante renal. 2017.** 129p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

O monitoramento de imunossupressores, como os inibidores de calcineurina ou de mTOR, é essencial para evitar desfechos clínicos desfavoráveis, em receptores de transplante renal. Polimorfismos em genes envolvidos na farmacocinética têm sido associados com variabilidade na resposta a imunossupressores, porém o papel de polimorfismos em genes envolvidos na farmacodinâmica é pouco conhecido. O objetivo deste estudo foi investigar a influência de polimorfismos de *MTOR*, *PPP3CA*, *FKBP1A*, *FKBP2* e *FOXP3*, genes envolvidos na farmacodinâmica de imunossupressores, sobre a resposta clínica a tacrolimo e everolimo, em receptores de transplante renal. Foram incluídos 269 pacientes do ensaio clínico original (NCT01354301), realizado no Hospital do Rim e Hipertensão da UNIFESP, e randomizados em três esquemas imunossupressores: tacrolimo 0,05 mg/kg/dia com everolimo 1,5 mg/dia (TAC5/EVR); tacrolimo 0,1 mg/kg/dia com everolimo 1,5 mg/dia (TAC10/EVR); e tacrolimo 0,1 mg/kg/dia com micofenolato de sódio (TAC10/MFS). Foram coletados dados clínicos e laboratoriais, tais como o monitoramento de imunossupressores e desfechos de eficácia de segurança. Os polimorfismos nos genes *MTOR* (c.4731G>A, c.1437T>C, c.2997C>T); *PPP3CA* (c.249G>A); *FKBP1A* (n.259+243936T>C); *FKBP2* (c.-2110G>T) e *FOXP3* (c.-23+2882A>C, c.-22-902A>G) foram analisados por PCR em tempo real. As frequências alélicas dos polimorfismos estudados foram similares às da população global do projeto 1000genomes. O tratamento com everolimo e tacrolimo em maior dose (TAC10/EVR) foi associado com menor taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) e maior creatinina sérica. Enquanto que o tratamento com tacrolimo e micofenolato de sódio (TAC10/MFS) foi associado com maior número de episódios de infecção por citomegalovirus, no 1º ano pós-transplante. Com relação aos desfechos de eficácia, os portadores do genótipo CC de *MTOR* c.1437T>C e *FOXP3* c.-23+2882A>C apresentaram maiores concentrações de creatinina sérica, no 12º mês (p<0,05). O polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C foi associado com maior

probabilidade de creatinina sérica aumentada (OR=1,75; IC95%=1,07-2,86; p=0,025). Os resultados da análise de regressão logística mostraram que o alelo *MTOR* c.4731G (genótipos AG+GG) foi associado com maior risco de rejeição aguda (OR=3,37; IC95%=1,10-10,30; p=0,033). Os portadores do alelo c.4731G apresentaram maior incidência cumulativa de episódios de rejeição, no 1º ano pós-transplante. Com relação aos desfechos de segurança, a variante *FKBP2* c.-2110G>T (genótipo GG) foi associada com maior risco de leucopenia (OR=7,10; IC95%=1,81-27,87; p=0,025). O polimorfismo *FKBP1A* n.259+24936T>C (alelo C) foi associado com maior risco de constipação (OR=2,52; IC95%=1,13 – 5,61; p=0,024), enquanto que os polimorfismos *FOXP3* c.-22-902A>G (alelo A) e c.-23+2882A>C (alelo A) foram associados, respectivamente, com maior risco de epigastralgia (OR=2,15; IC95%=1,01-4,56; p=0,047) e náuseas e/ou vômitos (OR=2,38; IC95%=1,05-5,38; p=0,038). O risco de apresentar dislipidemia foi maior nos portadores dos genótipos *FKBP2* c.-21110GG (OR=1,92; IC95%=1,01-3,69; p=0,049) e *FOXP3* c.-22-902GG (OR=2,06; IC95%=1,08-3,92; p=0,028). Em conclusão, os polimorfismos de genes *MTOR*, *FKBP1A*, *FKBP2* e *FOXP3* influenciam na função renal do enxerto e estão associados com risco de rejeição aguda e de eventos adversos, em receptores de transplante renal.

Palavras-chave: transplante renal, imunossupressores, farmacogenética.

ABSTRACT

Campos Salazar, A.B. **Polymorphisms in pharmacodynamics-related genes of tacrolimus and everolimus and their relationship with the response to immunosuppressant treatment, in kidney transplant recipients.** 2017. 129p. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

The monitoring of immunosuppressive drugs, such as calcineurin and mTOR inhibitors, is essential to avoid undesirable kidney transplant outcomes. Polymorphisms in pharmacokinetics-related genes have been associated with variability in the response to immunosuppressive drugs, but the role of polymorphisms in pharmacodynamics-related genes is little known. The aim of this work was to investigate the influence of polymorphisms in *MTOR*, *PPP3CA*, *FKBP1A*, *FKBP2* and *FOXP3*, genes involved in the pharmacodynamics of immunosuppressive drugs, on the clinical response to tacrolimus and everolimus in kidney transplant recipients. Two-hundred seventy-five kidney transplant recipients were included in this study, among the enrolled in the original clinical trial (NCT01354301) carried out at the Hospital do Rim e Hipertensão/UNIFESP, and randomized in three immunosuppressive treatments: tacrolimus 0.05 mg/kg/day with everolimus 1.5 mg/day (TAC5/EVR); tacrolimus 0.1 mg/kg/day with everolimus 1.5 mg/day (TAC10/EVR); and tacrolimus 0.1 mg/kg/day with sodium mycophenolate (TAC10/MFS). Clinical and laboratory data, including immunosuppressive drug monitoring, efficacy and safety outcomes, were recorded. Polymorphisms on the *MTOR* (c.4731G>A, c.1437T>C, c.2997C>T); *PPP3CA* (c.249G>A); *FKBP1A* (n.259+243936T>C); *FKBP2* (c.-2110G>T) and *FOXP3* (c.-23+2882A>C, c.-22-902A>G) genes were analyzed by real-time PCR. Allelic frequencies of the studied polymorphisms were similar to those of the global population reported by the 1000genomes project. Treatment with everolimus and high-dose tacrolimus (TAC10/EVR) was associated with lower estimated glomerular filtration rate (eGFR) and higher serum creatinine. Meanwhile treatment with tacrolimus and sodium mycophenolate (TAC10/MFS) was associated with higher number of cytomegalovirus infections, at 1-year post-transplantation. With regard to the kidney efficacy outcomes, the carriers of the CC genotype of *MTOR* c.1437T>C and *FOXP3* c.-23+2882A>C had higher serum creatinine, at month 12 ($p<0.05$). The *FOXP3* c.-23+2882A>C polymorphism was associated with high likelihood of increased serum

creatinine (OR=1.75, 95%IC=1.07-2.86, p=0.025). The results of the logistic regression analysis showed that the allele *MTOR* c.4731G (AG+GG genotypes) was associated with higher risk of acute rejection (OR=3.37, 95%IC=1.10-10.30, p=0.033). The carriers of the c.4731G allele showed higher cumulative incidence of acute rejection episodes at 1-year post-transplantation. With regard to kidney safety outcomes, the *FKBP2* c.-2110G>T variant (GG genotype) was associated with higher risk of leucopenia (OR=7.10, 95%IC=1.81-27.87, p=0.025). The *FKBP1A* n.259+24936T>C (C allele) polymorphism was associated with higher risk of constipation (OR=2.52, 95%IC=1.13-5.61, p=0.024), whilst *FOXP3* c.-22 902A>G (A allele) and c.-23+2882A>C (A allele) were associated, respectively, with higher risk of epigastric pain (OR=2.15, 95%IC=1.01-4.56, p=0.047) and nausea and/or vomiting (OR=2.38, 95%IC=1.05-5.38, p=0.038). The risk of developing dyslipidemia was higher in carriers of the genotypes *FKBP2* c.-21110GG (OR=1.92, 95%CI=1.01-3.69, p=0.049) and *FOXP3* c.-22-902GG (OR=2.06, 95%CI=1.08-3.92, p=0.028). In conclusion, the polymorphisms in the *MTOR*, *FKBP1A*, *FKBP2* and *FOXP3* genes influence renal graft function and are associated with risk of acute rejection and adverse events in renal transplant recipients.

Key words: kidney transplant, immunosuppressive drugs, pharmacogenetics.

RESUMEN

Campos Salazar, A.B. **Polimorfismos en genes relacionados a la farmacodinámica de tacrolimo y everolimo y su relación con la respuesta clínica al tratamiento inmunosupresor.** 2017. 129p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

El monitoreo de agentes inmunosupresores, como inhibidores de calcineurina o mTOR, es esencial para evitar resultados clínicos desfavorables, en pacientes con trasplante de riñón. Polimorfismos en genes relacionados a la farmacocinética han sido asociados con variabilidad de las concentraciones sanguíneas de agentes inmunosupresores y con reacciones adversas, sin embargo, el papel de polimorfismos en genes relacionados a la farmacodinámica de inmunosupresores permanece poco conocida. El objetivo de este estudio fue investigar la influencia de polimorfismos de *MTOR*, *PPP3CA*, *FKBP1A*, *FKBP2* y *FOXP3* relacionados en la farmacodinámica de inmunosupresores, sobre la respuesta clínica a tacrolimus y everolimus, en receptores de trasplante de riñón. Se incluyeron 269 pacientes del ensayo clínico original (NCT01354301), realizado en el Hospital do Rim e Hipertensão da UNIFESP, y divididos de forma aleatoria en tres esquemas inmunosupresores: tacrolimus 0,05 mg/kg/día con everolimus 1,5 mg/día (TAC5/EVR); tacrolimus 0,1 mg/kg/día con everolimus 1,5 mg/día (TAC10/EVR); y tacrolimus 0,1 mg/kg/día con micofenolato de sodio (TAC10/MFS). Se colectaron los datos clínicos y de laboratorio, que incluyeron el monitoreo de inmunosupresores y resultados de eficacia y seguridad. Los polimorfismos en los genes *MTOR* (c.4731G>A, c.1437T>C, c.2997C>T); *PPP3CA* (c.249G>A); *FKBP1A* (n.259+243936T>C); *FKBP2* (c.-2110G>T) y *FOXP3* (c.-23+2882A>C, c.-22-902A>G) fueron analizados por PCR en tiempo real. Las frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados fueron similares a las reportadas en la población mundial del proyecto 1000genomes. El tratamiento con everolimus y tacrolimus en mayor dosis (TAC10/EVR) fue asociado con menor tasa de filtración glomerular estimada (TFGe) y mayor creatinina sérica. Mientras que el tratamiento con tacrolimus y micofenolato de sodio (TAC10/MFS) fue asociado con mayor número de episodios de infección por citomegalovirus, en el 1° año pos trasplante. En relación de los resultados de eficacia, los individuos portadores de los genotipos CC de *MTOR*

c.1437T>C y *FOXP3* c.-23+2882A>C presentaron las mayores concentraciones de creatinina sérica, en el 12° mes ($p < 0,05$). El polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C fue asociado con mayor probabilidad de creatinina sérica aumentada (OR=1,75; IC95%=1,07 – 2,86; $p=0,025$). Los resultados del análisis de regresión logística mostraron que el alelo *MTOR* c.4731G (genotipo AG+GG) fue asociado con mayor riesgo de rechazo al órgano (OR=3,37; IC95%=1,10-10,30; $p=0,033$). Los portadores del alelo c.4731G presentaron mayor incidencia acumulada de episodios de rechazo al órgano, en el 1° año pos trasplante. Con relación a los resultados de seguridad, la variante *FKBP2* c.-2110G>T (genotipo GG) fue asociado con mayor riesgo de leucopenia (OR=7,10; IC95%=1,81-27,87; $p=0,025$). El polimorfismo *FKBP1A* n.259+24936T>C (alelo C) fue asociado con mayor riesgo de constipación (OR=2,52; IC95%=1,13-5,61; $p=0,024$), mientras que los polimorfismos *FOXP3* c.-22-902A>G (alelo A) y c.-23+2882A>C (alelo A) fueron asociados, respectivamente, con mayor riesgo de dolor epigástrico (OR=2,15; IC95%=1,01-4,56; $p=0,047$) y náuseas y/o vómitos (OR=2,38; IC95%=1,05-5,38; $p=0,038$). El riesgo de presentar dislipidemia fue mayor en los portadores de los genotipos *FKBP2* c.-2110GG (OR=1,92; IC95%=1,01-3,69; $p=0,049$) y *FOXP3* c.-22-902GG (OR=2,06; IC95%=1,08-3,92; $p=0,028$). En conclusión, los polimorfismos de los genes *MTOR*, *FKBP1A*, *FKBP2* y *FOXP3* influyen en la función renal del trasplante y están asociados con riesgo de rechazo agudo y de eventos adversos, en receptores de trasplante renal.

Palabras clave: trasplante renal, agentes inmunosupresores, farmacogenética.

LISTA DE TABELAS

		Pág.
Tabela 1	Características biodemográficas e clínicas dos receptores de transplante renal.....	42
Tabela 2	Características biodemográficas dos doadores.....	43
Tabela 3	Parâmetros laboratoriais pré-transplante dos receptores de transplante renal.....	44
Tabela 4	Desfechos de eficácia de receptores de transplante renal, no 1º ano pós-transplante.....	53
Tabela 5	Eventos causados por CMV, em receptores de transplante renal, no 1º ano pós-transplante.....	54
Tabela 6	Eventos adversos ocorridos, em receptores de transplante renal, no 1º ano pós-transplante.....	55
Tabela 7	Frequências de polimorfismos <i>MTOR</i> e <i>PPP3CA</i>	57
Tabela 8	Frequências de polimorfismos <i>FKBP1A</i> , <i>FKBP2</i> e <i>FOXP3</i>	58
Tabela 9	Frequências alélicas dos polimorfismos genéticos.....	59
Tabela 10	Associação de variáveis genéticas e clínicas com creatinina sérica, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	62
Tabela 11	Fatores associados com creatinina sérica elevada, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável.....	63
Tabela 12	Associação de polimorfismos genéticos com rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	64
Tabela 13	Associação de variáveis clínicas com rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	66
Tabela 14	Fatores associados com rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável.....	66
Tabela 15	Associação de polimorfismos genéticos com leucopenia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	68
Tabela 16	Associação de variáveis clínicas com leucopenia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	68
Tabela 17	Fatores associados com leucopenia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável.....	69
Tabela 18	Associação de polimorfismos genéticos com constipação, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	70
Tabela 19	Associação de variáveis clínicas com constipação, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	70

Tabela 20	Fatores associados com constipação, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável.....	71
Tabela 21	Associação de polimorfismos genéticos com epigastralgia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	71
Tabela 22	Associação de variáveis clínicas com epigastralgia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	72
Tabela 23	Fatores associados com epigastralgia, no 1º ano pós-transplante: Regressão logística multivariável.....	72
Tabela 24	Associação de polimorfismos genéticos com náuseas e/ou vômitos, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	73
Tabela 25	Associação de variáveis clínicas com náusea e/ou vômitos, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	73
Tabela 26	Fatores associados com náuseas e/ou vômitos, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável.....	74
Tabela 27	Associação de polimorfismos genéticos com dislipidemia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	75
Tabela 28	Associação de variáveis clínicas com dislipidemia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável.....	75
Tabela 29	Fatores associados com dislipidemia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável.....	76

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1	Mecanismos de ação de imunossupressores..... 25
Figura 2	Fluxograma do protocolo de estudo..... 33
Figura 3	Gráfico de discriminação alélica do polimorfismo <i>FKBP1A</i> rs6033557.... 37
Figura 4	Fluxograma das análises estatísticas utilizadas no estudo..... 40
Figura 5	Monitoramento terapêutico de tacrolimo em receptores de transplante renal..... 46
Figura 6	Monitoramento terapêutico de everolimo, em receptores de transplante renal..... 47
Figura 7	TFGe de receptores de transplante renal, no 1° ano de acompanhamento..... 49
Figura 8	Creatinina sérica de receptores de transplante renal, no 1° ano de acompanhamento..... 50
Figura 9	Influência de polimorfismos de <i>MTOR</i> e <i>FOXP3</i> sobre a creatinina sérica de receptores de transplante renal..... 61
Figura 10	Associação do polimorfismo <i>MTOR</i> c.4731G>A com incidência cumulativa rejeição aguda, no 1° ano pós-transplante renal..... 65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Akt	Proteína quinase B
ABCB1	<i>ATP-Binding Cassete Subfamily B Member 1</i>
Co/Do	Concentração corrigida pela dose
CAN	Calcineurina
CEP	Comitê de ética em pesquisa
CMV	Citomegalovírus
CsA	Ciclosporina
CYP450	Citocromo P450
DRC	Doença renal crônica
DRET	Doença renal crônica em estágio terminal
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
EVR	Everolimo
FKBP12	<i>FK506 binding protein 12kDa</i>
FOXP3	<i>Forkhead Box P3</i>
FRT	Função renal tardia
HRH/UNIFESP	Hospital do Rim e Hipertensão da Universidade Federal de São Paulo
iCAN	Inibidores de calcineurina
IL-2	Interleucina 2
iMTOR	Inibidores de MTOR
IQT	Intervalo interquartilico
ISS	Imunossupressores
lncRNA	RNAs longos não codificadores
MAF	<i>Minor allele frequency</i>
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>
MFS	Micofenolato de sódio
mTOR	<i>Mammalian Target of Rapamycin</i>
NFAT	Fator nuclear de células T ativadas
OR	<i>Odds ratio</i>
r-ATG	Globulina antitimocítica de coelho
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
SLC	<i>Solute carriers</i>
SRL	Sirolimo
TAC	Tacrolimo
TCR	<i>T-cell receptor</i>
TGF- β	<i>Transforming growth factor beta</i>
TFGe	Taxa de filtração glomerular estimada
Treg	Célula T reguladora

SUMÁRIO

	Pag.
1. INTRODUÇÃO	- 18 -
1.1. Doença renal crônica	- 18 -
1.2. Transplante renal.....	- 18 -
1.3. Rejeição de enxerto renal	- 18 -
1.5. Terapia imunossupressora	- 21 -
1.6. Farmacogenética dos imunossupressores.....	- 23 -
2. OBJETIVOS.....	- 28 -
2.1. Objetivo geral	- 28 -
2.2. Objetivos específicos.....	- 28 -
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	- 29 -
3.1. Casuística.....	- 29 -
3.2. Protocolo de tratamento	- 29 -
3.3. Material biológico.....	- 31 -
3.4. Parâmetros laboratoriais.....	- 32 -
3.5. Determinação de imunossupressores no sangue	- 32 -
3.6. Extração de DNA genômico.....	- 33 -
3.7. Seleção de polimorfismos genéticos.....	- 33 -
3.8. Análise de polimorfismos genéticos por PCR em tempo real.....	- 34 -
3.9. Resposta clínica aos imunossupressores	- 35 -
3.11. Análises estatísticas	- 36 -
3.12. Aspectos éticos	- 38 -
4. RESULTADOS.....	- 39 -
4.1. Características dos receptores de transplante renal	- 39 -
4.2. Monitoramento terapêutico dos imunossupressores	- 43 -
4.3. Resultados de desfechos clínicos de eficácia e segurança.....	- 46 -
4.4. Frequências dos polimorfismos genéticos	- 54 -
4.5. Polimorfismos genéticos e desfechos de eficácia.....	- 58 -
4.6. Polimorfismos genéticos e desfechos de segurança.....	- 65 -
5. DISCUSSÃO	- 75 -
6. CONCLUSÕES	- 89 -
7. BIBLIOGRAFIA	- 90 -
8. ANEXOS	- 103 -

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença renal crônica

A doença renal crônica (DRC) é a queda progressiva e irreversível da função renal que pode levar à falência do órgão. Segundo o consenso da *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*, o diagnóstico da DRC é definido pela presença de três componentes: (i) lesão renal (componente estrutural), (ii) taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) inferior a 60 mL/min/1,73m² ou razão de albumina/creatinina urinária superior a 30 mg/g (componente funcional); e (iii) período de doença superior a três meses (componente temporal). A DRC apresenta cinco estágios, sendo o 5º estágio, a falência renal denominada DRC em estágio terminal (DRET) (STEVENSON *et al.*, 2013).

A terapia de substituição renal é recomendada para pacientes com DRET e inclui métodos para o suporte artificial da função renal tais como a hemodiálise, a diálise peritoneal e/ou o transplante renal (FLEMING, 2011).

1.2. Transplante renal

Dentre as terapias de substituição renal, o transplante renal é a abordagem terapêutica recomendada para restabelecer a função renal do paciente.

A rejeição aguda do transplante é ainda considerada um fator de risco na sobrevivência do aloenxerto a curto e longo prazo (PALLARDO MATEU *et al.*, 2004), apesar dos progressos no monitoramento terapêutico e no desenvolvimento da terapia imunossupressora terem diminuído a incidência das taxas de rejeição aguda até em torno de 5 a 10% (MARCEN *et al.*, 2009). Estima-se que em um período de 17 a 18 anos, 50% de enxertos a partir de doadores vivos sofrem perda do enxerto (LAMB *et al.*, 2011). Sendo assim, o entendimento dos mecanismos fisiológicos que governam a rejeição do transplante renal é prioridade na prática médica.

1.3. Rejeição de enxerto renal

Na mais recente reunião do grupo de trabalho Banff, a rejeição ao enxerto foi classificada em rejeição mediada por anticorpos, mediada por células e mista (LOUPY *et al.*, 2017).

Na rejeição mediada por anticorpos, ocorre a formação de anticorpos aloreativos contra antígenos do doador, tais como os complexos de histocompatibilidade principal (MHC, do termo em inglês do *Major histocompatibility complex*). Esse tipo de rejeição é assintomático (rejeição subclínica). A formação de aloanticorpos pode

ocorrer previamente ao transplante, devido a transfusões de sangue ou transplantes anteriores, mas, também ocorre após o transplante, basicamente por imunossupressão inadequada (HEEGER e DINAHAHI, 2012).

Na rejeição mediada por células, o MHC e outras proteínas derivadas do doador atuam como aloantígenos (primeiros mensageiros) que, ao interagir com as células T do receptor, induzem uma resposta por vias de reconhecimento direta e indireta. Na via direta, o MHC é apresentado diretamente por uma célula epitelial do doador para um linfócito T CD8⁺ do receptor. Na via indireta, o MHC sofre clivagem enzimática, nas células apresentadoras de antígenos (APC), e é apresentado para linfócitos T CD4⁺. A interação do MHC com os receptores de célula T (TCR, do termo em inglês *T-cell receptor*) induz uma sinalização celular que resulta em episódios de rejeição agudos e crônicos (ALI *et al.*, 2013).

Dentre as vias de sinalização mais importantes, destaca-se a via da calcineurina. O TCR uma vez reconhecido o primeiro mensageiro propaga o sinal para segundos mensageiros, como fosfatidilinositol (4,5)-bifosfato, e assim, o retículo endoplasmático libera um fluxo de cálcio intracelular. O cálcio liga-se à calmodulina, e esta, por sua vez, interage com um domínio regulatório da calcineurina (CAN), em consequência, ativando sua atividade fosfatase. No citosol da célula T, a CAN remove um grupo fosfato do fator nuclear de célula T ativada (NFAT), o qual é translocado ao núcleo e induz a transcrição de diversos genes, tais como o da interleucina 2 (IL-2). Assim, a célula T expressa e secreta IL-2 e, por meio de comunicação autócrina, induz a expressão do receptor de IL-2 no linfócito secretor, e por fim, a célula T é ativada contra o aloantígeno do doador (POUCHE; STOJANOVA; *et al.*, 2016).

De forma complementar, a secreção de IL-2 ou a prévia interação dos aloantígenos com o TCR promove também a ativação dos linfócitos T pela via do alvo da rapamicina de mamíferos (mTOR, do termo em inglês *Mammalian Target of Rapamycin*). Além de IL-2, a via de mTOR pode ser também ativada por outros sinais extracelulares como nutrientes e energia disponível na forma de ATP, e é responsável por regular processos de síntese celular e de manutenção da actina do citoesqueleto (ZENG e CHI, 2017). Após o sinal extracelular, a sinalização da via é orquestrada por segundos mensageiros que ativam a proteína quinase B (Akt). A proteína Akt, uma quinase de serina-treonina, é ativada por fosforilação, e sua atividade catalítica inibe a proteína tuberina. Com a inibição da tuberina, é ativada a proteína mTOR, uma quinase que fosforila vários substratos. A proteína de ligação

ao fator de iniciação 4E é um substrato de mTOR que sofre fosforilação, sendo assim inibida sua atividade repressora sobre o fator iniciador de tradução 4E. Este fator de tradução favorece a biossíntese ribossomal e de proteínas. A quinase ribossomal S6, outro substrato de mTOR, uma vez fosforilado, é responsável pela iniciação da tradução de RNA mensageiros, e em consequência, a biossíntese de proteínas (WEICHHART, 2017). Nesse sentido, a mTOR contribui nos processos de proliferação celular nas populações de linfócitos T ativados contra os aloantígenos.

Em longo prazo, a perda do enxerto renal pode ser causada pela recorrência dos episódios de rejeição. Por conta disso, além do conhecimento dos processos imunológicos de rejeição, um fenômeno biológico decorrente denominado tolerância imunológica é também um desafio no contexto do transplante de órgãos (MONGUIO-TORTAJADA *et al.*, 2014).

1.4. Tolerância ao aloenxerto

A tolerância operacional é definida como a ausência da resposta imune frente a um aloantígeno, sem a necessidade de terapia imunossupressora (HEIDT e WOOD, 2012). As células T reguladoras (Treg) CD4⁺ CD25⁺ agem na manutenção da tolerância, observada na regulação de doenças autoimunes e rejeições de enxertos. A modulação da resposta imune das Treg frente a antígenos prolonga o tempo de sobrevivência do enxerto em longo prazo (DUMMER *et al.*, 2012).

Os efeitos imunomodulatórios de Treg são relacionados com a diferenciação de subtipos de linfócitos derivados do timo ou do sangue periférico. Durante o desenvolvimento do sistema imune, a diferenciação de Treg derivadas do timo depende de várias moléculas sinalizadoras e coestimuladoras: (i) expressão de um auto-antígeno, no timo, por meio da proteína autoimune reguladora; (ii) ativação do TCR da célula T CD4⁺ não madura pelo auto-antígeno; (iii) indução da expressão do receptor de IL-2; (iv) e este, por sua vez, induz a produção de IL-2 e IL-15; (v) estas interleucinas induzem a expressão de fatores de transcrição FOX (do termo em inglês *Forkhead Box*), como FOXO, que tem importante papel na regulação da transcrição de genes envolvidos no crescimento, proliferação e diferenciação celular (ENGEL *et al.*, 2013).

Já as células Treg periféricas surgem a partir da diferenciação de células T CD4⁺ quando são expostas a condições de tolerância, IL-2 e TGF- β (do termo em inglês *Transforming growth factor beta*), para assim, induzir a expressão de FOXP3 (HU *et al.*, 2016).

Para exercer os efeitos imunomodulatórios, em modelos murinos, foi observado que as Treg derivadas do timo percorrem a corrente sanguínea até o enxerto, no qual podem atuar por dois mecanismos: (i) reação cruzada com os aloantígenos MHC do enxerto do doador; ou (ii) secreção de TGF- β para as subpopulações de células T CD4⁺ se diferenciarem em Treg periféricas. Dessa forma, em ambos os casos, a subpopulação resultante de linfócitos é uma Treg de aloenxerto que alcança os nódulos linfáticos. As Treg de aloenxerto, nos nódulos linfáticos, regulam a resposta imune mediante a secreção de IL-10, e a posterior lise de APC, responsáveis pela interação com células T. Além disso, as Treg suprimem a proliferação de células T CD4⁺ ativadas frente ao antígeno do doador por contato direto, e em consequência, diminuem a resposta imune (HU *et al.*, 2016).

Um estudo relatou que a presença de Treg que expressam FOXP3 (do termo em inglês *Forkhead Box P3*), em biópsias renais, foi associada com melhor função renal do enxerto (TFGe maior e creatinina plasmática menor) (BESTARD *et al.*, 2008). No entanto, outros estudos relataram que a presença de transcritos de mRNA ou proteína FOXP3, em amostras de urina e biópsia renal, foi associada com episódios de rejeição (MUTHUKUMAR *et al.*, 2005; DUMMER *et al.*, 2013). A associação entre a expressão de FOXP3 em células Treg de biópsias e episódios de rejeição pode ser consequência de uma resposta compensatória frente à resposta imune de linfócitos T CD4⁺ ativados.

1.5. Terapia imunossupressora

Para evitar episódios de rejeição, uma das estratégias vigentes que permite aprimorar os resultados clínicos do transplante renal é a otimização da terapia com imunossupressores (ISS), considerando necessidades individuais do paciente em termos da escolha de imunossupressor e as doses prescritas (BACZKOWSKA e DURLIK, 2009).

Os ISS atuais são classificados conforme o mecanismo de ação, e incluem corticoides, agentes de ligação a imunofilinas, inibidores da síntese *de novo* de purinas ou de pirimidinas e fármacos biológicos como anticorpos poli e monoclonais (EUROPEAN MEDICINE AGENCY, 2008). Dentre dos agentes de ligação a imunofilinas acham-se os inibidores de calcineurina como ciclosporina (CsA) e tacrolimo (TAC), e os inibidores de mTOR como sirolimo (SRL) e everolimo (EVR).

Imunofilinas

As imunofilinas possuem atividade isomerase *cis-trans* que é responsável pela isomerização de ligações peptídicas que precedem resíduos de prolina, e facilitam o processo de enovelamento de proteínas (KANG *et al.*, 2008). As imunofilinas são classificadas em citoplasmáticas, nucleares e de retículo endoplasmático. Dentro das citoplasmáticas, as ciclofilinas e as proteínas de ligação FK506 representam o grupo mais abrangente que interage com os ISS (HARIKISHORE e YOON, 2015). No que concerne ao uso de ISS, a atividade enzimática das imunofilinas permite o acoplamento dos inibidores de calcineurina ou mTOR, no sítio de ligação da proteína alvo (TSANG *et al.*, 2007).

Inibidores de calcineurina

Os inibidores de calcineurina (iCAN) tem por mecanismo de ação a inibição da via da calcineurina, e a consequente ativação da IL-2. Os iCAN se ligam às imunofilinas, tais como ciclofilina A e FKBP12, no citosol dos linfócitos T, com a finalidade de bloquear o acoplamento das subunidades A (catalítica) e B (regulatória) da calcineurina com a calmodulina. Dessa forma, ocorre inibição da defosforilação necessária para que o NFAT seja translocado ao núcleo, e processos moleculares subsequentes que governam a ativação do linfócito T são abolidos (BARBARINO *et al.*, 2013).

Inibidores de mTOR

Os inibidores de mTOR (iMTOR), como SRL e EVR, tem por mecanismo de ação a inibição da via de mTOR, a qual está envolvida com processos de biogênese celular. No citosol do linfócito T, os iMTOR se ligam à família de imunofilinas FKBP12. A proteína mTOR reconhece e se liga ao complexo iMTOR-FKBP12 e, desta forma, a atividade quinase de mTOR é inibida e a fosforilação dos efetores da via de sinalização mTOR é abolida. Na ausência de efetores que induzem os processos de tradução e biossíntese de proteínas, o crescimento celular não é promovido, prevenindo assim também a proliferação de linfócitos T em processo de diferenciação (STRIMPAKOS *et al.*, 2009; GOMEZ-PINILLOS e FERRARI, 2012). Na **Figura 1**, são apresentados os mecanismos de ação de inibidores de calcineurina e de mTOR, durante o processo de ativação de um linfócito T.

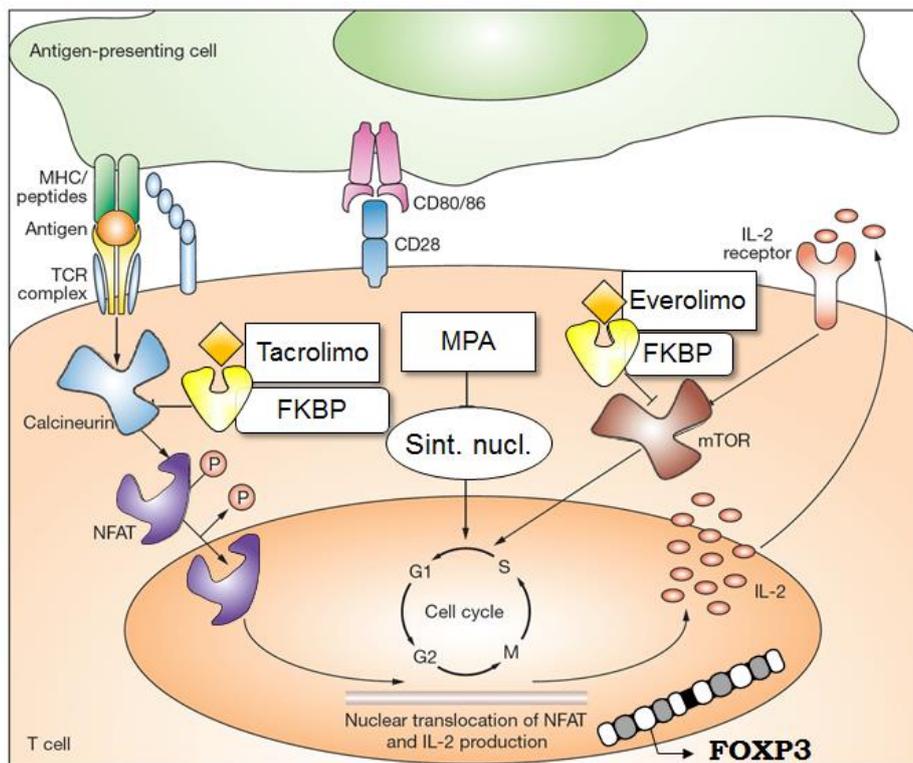


Figura 1. Mecanismos de ação de imunossupressores. Os inibidores de calcineurina (ciclosporina e tacrolimo) por interação com imunofilinas (FKPB-12 e ciclofilina A, respectivamente) inibem a atividade fosfatase da calcineurina (lado esquerdo) sobre o fator de transcrição NFAT que não é translocado ao núcleo e, dessa forma, a transcrição do gene da IL-2 é inibida. Os inibidores de mTOR (sirolimo e everolimo) também interagem por ligação com a FKBP-12 e bloqueiam a ação da proteína mTOR (lado direito), inibindo a síntese de proteínas e a proliferação celular. As duas classes de imunossupressores tem vias convergentes e, portanto, efeitos sinérgicos. Já o ácido micofenólico (MPA) inibe a síntese *de novo* de purinas. Adaptado de (SAMANIEGO *et al.*, 2006).

1.6. Farmacogenética dos imunossupressores

A resposta terapêutica de ISS é influenciada por fatores genéticos e não genéticos, como fatores ambientais, comorbidades e terapias concomitantes. Devido a sua estreita faixa terapêutica, os imunossupressores precisam ter monitoramento constante principalmente nos receptores de transplante.

Por mais de cinco décadas, os estudos farmacogenéticos contribuíram para identificação de polimorfismos genéticos que expliquem a variabilidade da resposta terapêutica, incluindo a falha ao tratamento ou o surgimento de reações adversas graves.

Em uma revisão publicada por nosso grupo de pesquisa, foram relatados os principais genes envolvidos com a farmacocinética e a farmacodinâmica com

impacto na eficácia de ISS, em receptores de transplante renal (ROSSO FELIPE *et al.*, 2009).

Os primeiros estudos de farmacogenética abordaram genes que codificam enzimas de biotransformação, como as enzimas da família do citocromo P450 (CYP) e transportadores de membrana, como a glicoproteína P também denominada ABCB1 (do termo em inglês ATP-binding cassette subfamily B Member 1) (EVANS e MCLEOD, 2003). Estima-se que de 20 a 95% da variabilidade na biodisponibilidade e nos efeitos de fármacos é explicada pela presença de polimorfismos genéticos (STAATZ *et al.*, 2010).

A família de isoenzimas CYP3A é uma das mais estudadas por ser responsável pelo metabolismo de mais de 50% dos medicamentos utilizados na prática clínica. O tacrolimo é metabolizado principalmente pela CYP3A5 e, em menor grau, pela CYP3A4. Polimorfismos nos genes que codificam essas enzimas foram associados com variabilidade na resposta a tacrolimo e outros ISS.

O polimorfismo *CYP3A5* c.6986A>G (rs776746), também denominado *CYP3A5*3*, está associado com baixa expressão da enzima. O polimorfismo *CYP3A5* c.6986A>G tem sido amplamente associado com variabilidade de resposta ao tacrolimo (PICARD *et al.*, 2016).

Os indivíduos portadores do alelo *CYP3A5*3*, denominados metabolizadores lentos, apresentam concentrações ajustadas pela dose (Co/Do) de tacrolimo menores que os portadores do alelo funcional *CYP3A5*1*, e por tanto, administração de doses de tacrolimo maiores nos portadores do alelo *CYP3A5*3* é necessária (BIRDWELL *et al.*, 2015). Apesar disso, um estudo clínico recente não detectou diferenças no tempo em que receptores de transplante renal demorou a atingir a faixa terapêutica de 10 a 15 ng/mL, ao comparar um esquema de ISS com doses de tacrolimo baseadas no polimorfismo *CYP3A5* c.6986A>G com um regime padrão baseado no peso do paciente (SHUKER *et al.*, 2016).

Nosso grupo investigou a influência de polimorfismos em genes de farmacocinética de ISS sobre a resposta ao tacrolimo, no esquema imunossupressor, em 156 receptores de transplante renal. Foi observado que a presença de dois ou mais alelos raros dos polimorfismos *CYP3A4* g.20230A>G e *CYP3A5* g.31611C>T e g.6986A>G foi associada com menores Co/Do de tacrolimo e menor TFG_e, no 3º mês pós-transplante (GENVIGIR *et al.*, 2016). A partir do 4º mês o tacrolimo foi substituído por everolimo e foi observada a influência do

polimorfismo *CYP3A5* g.31611C>T na Co/Do de tacrolimo e sirolimo, no 6° e 9° mês pós-transplante (TAMASHIRO *et al.*, 2017).

Polimorfismos nos genes que codificam outras isoformas da família de proteínas de metabolização *CYP450*, como a *CYP2C8* e *CYP2J2* e proteínas transportadoras como a *ABCC2* foram investigados pelo nosso grupo recentemente (GENVIGIR *et al.*, 2017). No estudo, foi observado que a variante *ABCC2* c.3972C>T está associada com maiores Co/Do de tacrolimo durante os 3° meses pós-transplante.

Polimorfismos funcionais no *ABCB1*, tais como 3435C>T, 1236C>T e 2677G>T/A, também foram associados com variabilidade na farmacocinética de ciclosporina e tacrolimo; entretanto os resultados não mostraram ser consistentes entre os estudos (STAATZ *et al.*, 2010).

Uma família de proteínas transportadoras de soluto (SLC, do termo em inglês *Solute Carriers*), codificadas por genes *SLCO*, é responsável pela captação hepática de fármacos atuando como transportadores chaves, na farmacocinética de ISS. Um estudo do nosso grupo de pesquisa demonstrou que o haplótipo *SLCO1B1* c.388A>G e c.521T>C influencia na Co/Do de tacrolimo nos três primeiros mês pós-transplante, e está associado menor incidência de episódios de rejeição confirmados por biopsia do 3° mês pós-transplante (ALVES *et al.*, 2013).

Estudos mais recentes também avaliaram a influência de polimorfismos nos genes envolvidos na farmacodinâmica dos ISS sobre a variabilidade na resposta clínica.

Em relação a variantes nos genes de imunofilinas, um estudo avaliou a influência de polimorfismos em genes da via da calcineurina, tais como *KBP1A* e *PPIA*, sobre a expressão de *IL2* e a translocação do NFAT, em células mononucleares de indivíduos saudáveis. O polimorfismo rs8177826 do *PPIA*, que codifica a ciclofilina A, foi associado com menor taxa de translocação de NFAT, enquanto que o microssatélite GGC rs45441997 foi associado com maior expressão de *IL2*. Por outro lado, o polimorfismo *FKBP1A* rs141252617 não influenciou na variabilidade da expressão de *IL2* e translocação de NFAT (NOCETI *et al.*, 2014).

Nosso grupo investigou a influência de polimorfismos nos genes *PPP3CA* e *MTOR* na resposta clínica um esquema supressor à base de tacrolimo, micofenolato de mofetila e prednisona, com tacrolimo substituído por sirolimo a partir do 3° mês de tratamento, em 120 receptores de transplante renal. O polimorfismo *PPP3CA* c.249G>A (alelo A) foi associado com menor variação de LDL colesterol até o 6° mês, o que é sugestivo de que a presença do alelo A é protetor frente a quadros de

dislipidemia em pacientes que recebem sirolimo (SALGADO, 2012). Entretanto, não foi observada associação dessa variante com nenhum desfecho clínico até o 3º mês (SALGADO *et al.*, 2017).

Em outro estudo recente, foram avaliados 23 polimorfismos na via da CAN, em 381 receptores de transplante renal tratados com ciclosporina ou tacrolimo e micofenolato de mofetila, mas nenhum dos polimorfismos foi associado com rejeição aguda ou eventos adversos. Os autores concluíram que esse grupo de polimorfismos envolvidos na farmacodinâmica de iCAN parece não ter efeito sobre os desfechos clínicos no transplante renal (POUCHE; KOITKA; *et al.*, 2016).

Em relação à via do mTOR, não há relatos de estudos de associação de polimorfismos *MTOR* ou em genes envolvidos na sinalização de ISS com desfechos de eficácia. Um estudo prévio investigou a influência de polimorfismos nos genes *MTOR*, *RPS6KB1* e *RPTOR* sobre o risco de eventos adversos associados ao tratamento com sirolimo combinado ou não com ciclosporina. O haplótipo *MTOR* rs1770345-rs2300095-rs2076655-rs1883965-rs12732063 foi associado com diminuição das concentrações de hemoglobina ao longo do período de 6 meses de acompanhamento (WOILLARD *et al.*, 2012).

Vários estudos avaliaram a associação de polimorfismos no gene *FOXP3* com doenças autoimunes, susceptibilidade a infecções e com transplante renal (FODOR *et al.*, 2011; ODA *et al.*, 2013; KWON *et al.*, 2017).

Um artigo de revisão recente descreveu estudos de associação e estudos funcionais de genes envolvidos na farmacodinâmica de ISS (POUCHE; STOJANOVA; *et al.*, 2016). A maioria dos estudos de associação não apresenta uma abordagem farmacogenética, mas os autores sugeriram o estudo de polimorfismos nos genes *MTOR*, *PPP3CA*, *IL2* e *CALM1*, a qual codifica a calmodulina, uma proteína de ligação a CAN.

Em relação a *FOXP3*, um estudo retrospectivo avaliou 166 receptores de transplante renal tratados com ciclosporina ou tacrolimo combinado com micofenolato de mofetila. Foi observada a associação do polimorfismo *FOXP3* rs3761548 com risco maior de rejeição e com episódio de rejeição mais precoce em receptores de transplante renal (QIU *et al.*, 2012). Em outro estudo, foi observada relação de um polimorfismo de repetição de nucleotídeos GT, no promotor *FOXP3*, com menor risco de rejeição aguda na análise de sobrevida do enxerto renal (ENGELA *et al.*, 2013).

Devido à diversidade de fatores clínicos que afetam o receptor de transplante renal, fatores genéticos e não genéticos interagem e contribuem na variabilidade da resposta aos imunossupressores. Nos últimos anos, a abordagem farmacogenética de imunossupressores tem sido focada em genes de proteínas envolvidas na biodisponibilidade, como *CYP3A5* e *ABCB1*. Entretanto, poucos estudos exploraram a influência de variantes em genes de envolvidos na farmacodinâmica de inibidores de calcineurina e mTOR, nos desfechos clínicos de pacientes com aloenxerto renal.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi investigar a influência de polimorfismos dos genes *MTOR*, *PPP3CA*, *FKBP1A*, *FKBP2* e *FOXP3*, envolvidos na farmacodinâmica de imunossuppressores, sobre a resposta clínica a tacrolimo e everolimo, em receptores de aloenxerto renal.

2.2. Objetivos específicos

- Estimar as frequências dos polimorfismos *MTOR* rs1057079, rs1135172, rs1064261, *PPP3CA* rs3730251, *FKBP1A* rs6033557, *FKBP2* rs2159370, *FOXP3* rs3761548 e rs2232365, no grupo de estudo.
- Avaliar a associação dos polimorfismos com variáveis clínicas de eficácia da terapia imunossupressora (creatinina sérica, TFG_e, episódios de rejeição aguda).
- Avaliar a associação dos polimorfismos com variáveis clínicas de segurança da terapia imunossupressora (manifestação de reações adversas).

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Casuística

O presente estudo é um subprojeto do ensaio clínico NCT01354301, denominado “Eficácia e segurança de estratégias de indução combinadas com exposição reduzida a tacrolimo em receptores de transplante renal em uso de everolimo ou micofenolato de sódio” coordenado e realizado no Hospital do Rim e Hipertensão da UNIFESP (HRH/UNIFESP).

No ensaio clínico, foram incluídos 288 indivíduos adultos com risco imunológico baixo/moderado, que receberam transplante renal *de novo* procedente de doador falecido ou vivo de tipo ABO compatível e terapia com imunossuppressores, entre os pacientes atendidos no HRH/UNIFESP. Pacientes com aloenxerto renal procedente de doador HLA idêntico ou doador falecido de critério expandido, ou painel reativo de anticorpos de tipo I ou II $\geq 50\%$ foram os critérios de exclusão mais importantes (Tedesco-Silva *et al.*, 2015). Além disso, uso de métodos anticoncepcionais durante o ensaio clínico foi solicitado para as mulheres em período fértil.

Neste estudo, foram analisados os dados de 269 pacientes. Pacientes sem amostra de DNA disponível ou adequada para análise (n=16), ou com informação genética inconsistente (n=3, homens com polimorfismo em heterozigose no *FOXP3* localizado no cromossomo X) foram excluídos.

Os dados biodemográficos (idade, gênero, cor da pele) e clínicos pré-transplante (peso, circunferência abdominal, índice de massa corporal (IMC), causas da DRC, tipo e duração de diálise, tempo de isquemia fria, tipo de doador) do receptor e doador foram obtidos dos prontuários dos pacientes, fornecidos pelo Hospital. A cor da pele foi registrada por autodeclaração. Os pacientes foram acompanhados por 12 meses após o transplante.

3.2. Protocolo de tratamento

Logo após a cirurgia de transplante renal, os pacientes foram divididos randomicamente em três grupos de tratamento imunossupressor (**Figura 2**). O primeiro grupo recebeu 3 mg/kg de globulina antitimocítica (r-ATG) junto com doses necessárias de hidrocortisona e dipirona como fármacos da segunda fase da terapia de indução. A terapia de manutenção foi composta por 0,05 mg/kg/12h de tacrolimo e 1,5 mg/12h de everolimo, e em consequência, o grupo foi denominado TAC5/EVR. O segundo grupo recebeu 20 mg de basiliximabe (inibidor do receptor de

interleucina-2) antes da cirurgia e 4 dias após o transplante como terapia de indução; a terapia de manutenção foi composta por 0,1 mg/kg/12h de tacrolimo e 1,5 mg/12h de everolimo, e foi denominado grupo TAC10/EVR. O último grupo recebeu o mesmo esquema terapêutico de indução de basiliximabe, e na terapia de manutenção recebeu 0,1 mg/kg/12h de tacrolimo e 720 mg/12h de micofenolato de sódio (MFS), e foi denominado TAC10/MFS.

A concentração sanguínea de tacrolimo para o grupo TAC5/EVR foi ajustada para manter 3 a 5 ng/mL com base nos resultados do ensaio clínico Asset, no qual foi observado que a função renal era superior quando everolimo era introduzido precocemente enquanto as concentrações de tacrolimo eram diminuídas para faixas de 1,5 a 3,0 ng/ml (regime muito baixo) (LANGER *et al.*, 2012). No grupo TAC10/EVR, a faixa estabelecida de concentração de tacrolimo foi de 3 a 8 ng/mL durante os três primeiros meses, e depois também ajustado para 3 a 5 ng/mL segundo os achados do ensaio clínico Asset. As concentrações de tacrolimo no grupo TAC10/MFS foram ajustadas para 6 a 8 ng/ml, com base nos achados do ensaio clínico Symphony que demonstrou a utilidade deste regime baixo de tacrolimo (EKBERG *et al.*, 2007). Para ambos os grupos que receberam everolimo, a faixa terapêutica recomendada foi de 4 a 8 ng/mL (KOVARIK *et al.*, 2004; MABASA e ENSOM, 2005). Como parte da primeira fase da terapia de indução, todos os pacientes receberam 1 g de metilprednisolona antes do processo cirúrgico de transplante renal.

A terapia corticosteroide teve a dose máxima de 0,5 mg/kg/dia no dia 1, 20 mg/dia no dia 7, 15 mg/dia no dia 14, 10 mg/dia no dia 21 e 5 mg/dia no dia 30 até o final do estudo. As doses de corticosteroides foram aumentadas em caso de tratamento de episódios de rejeição aguda confirmados por biópsia.

Caso não fosse observada eficácia da terapia de manutenção ou incidência de reações adversa ao medicamento, mudança para outra terapia era autorizada. Todos os pacientes receberam sulfametoxazol-trimetropina oral durante o período do estudo como profilaxia de *Pneumocystis jirovecii* ou de infecção do trato urinário. Nenhuma profilaxia contra citomegalovírus (CMV) foi utilizada. Abordagem e tratamento preventivo foram utilizados para CMV com base na avaliação semanal de antigenemia pp65 durante os três primeiros meses de transplante.

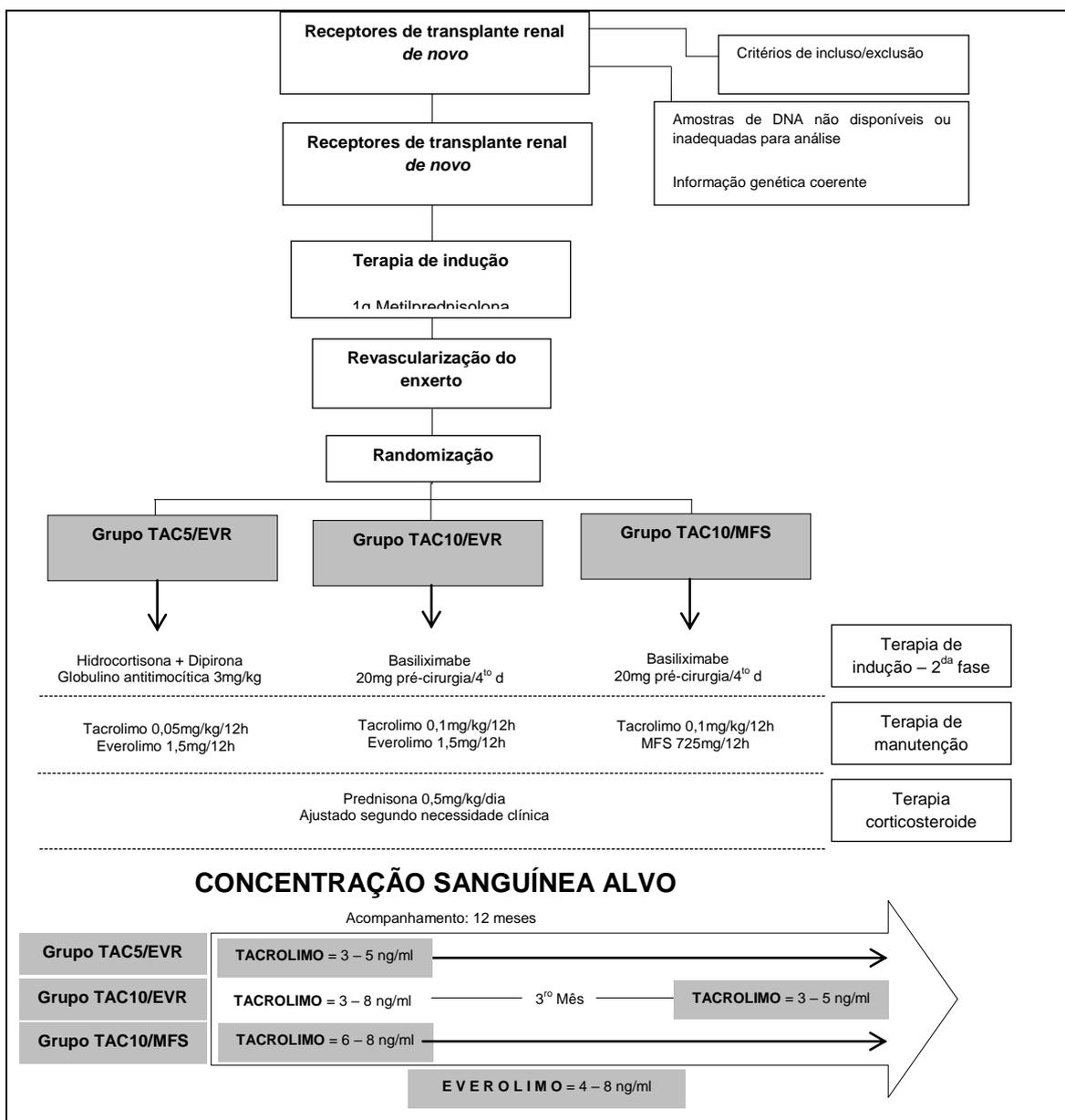


Figura 2. Fluxograma do protocolo de estudo. TAC: Tacrolimo; EVR: Everolimo; MFS: Micofenolato sódico.

3.3. Material biológico

Foram colhidas amostras de sangue periférico e urina, antes do transplante, nos dias 3, 7, 14, 21, 28 e depois mensalmente até 12 meses de acompanhamento do estudo, ou em qualquer momento em que houve suspeita de rejeição.

Amostras de sangue foram obtidas em tubos sem anticoagulante para determinar os parâmetros laboratoriais: glicose, colesterol total, HDL, LDL e VLDL colesterol, triglicérides, sódio, potássio e aminotransferases hepáticas (ALT e AST). Amostras de sangue foram obtidas em tubos com EDTA para determinação do hemograma

completo, de presença de CMV, concentração sanguínea de tacrolimo e everolimo e para extração de DNA genômico.

Amostras de urina foram colhidas para determinação de creatinina urinária, proteinúria com a finalidade de monitorar a função renal.

Amostras de biópsia do enxerto foram obtidas (i) sob consentimento do receptor, prévio ao processo cirúrgico, (ii) de forma protocolar no décimo segundo mês pós-transplante (incluindo a imuno-histoquímica para avaliar rejeição mediada por anticorpos), e (iii) quando considerado clinicamente necessário durante o período de acompanhamento. As amostras foram avaliadas por patologistas do HRH/UNIFESP de acordo com o critério de Banff atualizado em 1997 e estratificado por severidade (RACUSEN *et al.*, 1999).

3.4. Parâmetros laboratoriais

Para a determinação da creatinina sérica, glicose, colesterol total, HDL colesterol, triglicérides, sódio e potássio, hemograma e proteinúria foram utilizados métodos automatizados no Laboratório Central HRH/UNIFESP. LDL e VLDL colesterol foram calculados utilizando a fórmula de Friedewald. A TFGe foi estimada a partir dos valores de creatinina sérica utilizando a fórmula de *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) (VERVOORT *et al.*, 2002). A determinação de CMV utiliza um método semiquantitativo para detecção da fosfoproteína 65 (KOTTON, 2010) baseado em imunofluorescência indireta, e foi realizada pelo serviço do Centro de Genomas por indicação do HRH/UNIFESP.

3.5. Determinação de imunossupressores no sangue

A concentração sanguínea de tacrolimo foi determinada, no Laboratório de Imunossupressores do HRH/UNIFESP, utilizando imunoensaio quimioluminiscente, *Chemoluminescent Microparticle Immunoassay* (CMIA) e o equipamento Architect plus I4000SR (Abbott Laboratories, EUA). A concentração de everolimo foi quantificada por cromatografia líquida de alta resolução acoplada à espectrometria de massas. O monitoramento terapêutico dos ISS também considerou as doses e Co/Do de tacrolimo e everolimo.

3.6. Extração de DNA genômico

O DNA genômico foi extraído a partir das amostras de sangue periférico coletado em tubos com EDTA utilizando-se o QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen Inc., Valencia, EUA), conforme o protocolo fornecido pelo fabricante. Esse kit de extração está baseado no princípio de fixação do DNA, em altas concentrações de sais, a uma membrana de sílica e, posteriormente, as proteínas e contaminantes são removidos e, o DNA é eluído em concentrações baixas de sais. O procedimento foi realizado utilizando-se a plataforma automatizada QIAcube® (Qiagen Inc., Valencia, EUA).

Para quantificação e avaliação da pureza do DNA genômico foi utilizado o espectrofotômetro Nanodrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, EUA). Foram utilizadas amostras de DNA com uma razão A260/A280 entre 1,8 e 2,0 e concentração superior a 20 ng/μL.

3.7. Seleção de polimorfismos genéticos

Para a seleção dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP, do termo em inglês *Single Nucleotide Polymorphism*) dos genes candidatos foi utilizado um método previamente descrito (KOOLLOOS *et al.*, 2009) com modificações que considera as vias de sinalização subjacentes nos processos farmacodinâmicos de tacrolimo e everolimo.

Inicialmente foram selecionados genes envolvidos nas vias de sinalização da calcineurina e do mTOR a partir de informações disponíveis nas bases de dados públicas: *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG, <http://www.genome.jp/kegg/>)*, *National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)* e *OMIM (<https://www.omim.org/>)*. Genes que foram estudados no contexto imunológico do linfócito T ou no contexto do transplante renal receberam prioridade na seleção.

Posteriormente foram escolhidos os polimorfismos utilizando os critérios: (i) SNPs localizados em éxons com frequência do alelo raro (MAF, do inglês *minor allele frequency*) superior a 9,5%, e de 40 a 48% para SNPs localizados em regiões regulatórias, promotoras, 5'UTR, 3'UTR ou intrônicas; (ii) identificação do SNP no maior número possível dos grandes projetos de sequenciamento, e.g. HapMap, 1000genomes; (iii) a funcionalidade do SNP quando disponível. A funcionalidade se refere à consequência funcional que ocasiona um determinado SNP na produção

dos aminoácidos, e por tanto, o efeito na capacidade funcional da proteína. Estes dados são fornecidos pelo SIFT (<http://sift.jcvi.org/>) e o *Polymorphism Phenotyping* Versão 2.0, Polyphen (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) (NO CETI *et al.*, 2014).

As informações genômicas foram obtidas nos bancos de dados públicos: SNP database (dbSNP) (NCBI, EUA) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>), *Ensembl Genome Browser*, na interface gráfica de variantes genéticas (<http://www.ensembl.org/index.html>) (EMBL-EBI & WTSI, UK) e *1000genomes browser* (<http://browser.1000genomes.org/index.html>).

Os SNPs selecionados foram: *MTOR* rs1057079 (c.4731G>A), rs1135172 (c.1437T>C) e rs1064261 (c.2997C>T) e *PPP3CA* rs3730251 (c.249G>A), *FKBP1A* rs6033557 (n.259+243936T>C), *FBKP2* rs2159370 (c.-2110G>T), *FOXP3* rs3761548 (c.-23+2882A>C) e rs2232365 (c.-22-902A>G). As informações mais relevantes dos SNPs selecionados estão sumarizadas no **Anexo 1**.

3.8. Análise de polimorfismos genéticos por PCR em tempo real

A discriminação alélica dos polimorfismos genéticos foi realizada por PCR em tempo real com o sistema de sondas *TaqMan*®. Na PCR, foram utilizados reagentes *TaqMan*® *SNP Genotyping Assay* e *TaqMan*® *Universal PCR Master Mix* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), e 20-30 ng de DNA genômico.

A PCR foi realizada utilizando-se a plataforma ABI 7500 FAST (Applied Biosystems, Forest City, EUA), com a seguinte programação: 1 ciclo de 2 min a 60°C; 1 ciclo de 15 min a 95°C; 50 ciclos de 1 min e 30 s a 95°C e 1 min a 60°C; ciclo final de 1 min a 60°C.

O programa *SDS 7500 software* v.2.0.4 (Applied Biosystems, Forest City, EUA) registrou os sinais de fluorescência emitidos pelos fluoróforos VIC e FAM. Com isso, foram gerados os gráficos de amplificação da PCR em tempo real e de discriminação alélica (**Figura 3**).

O equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi calculado para avaliar se a distribuição dos genótipos estava de acordo com uma população em equilíbrio e identificar erros na seleção dos participantes do estudo ou nas análises de genotipagem (SLATKIN, 2008). O cálculo do EHW foi realizado por meio do teste qui-quadrado utilizando uma planilha excel programada e de livre acesso (COURT, 2008). Para polimorfismos em genes localizados no cromossomo X, como *FOXP3*, o EHW foi calculado no grupo de mulheres porque os homens tem apenas um cromossomo X (hemizigose) (GRAFFELMAN e WEIR, 2016).

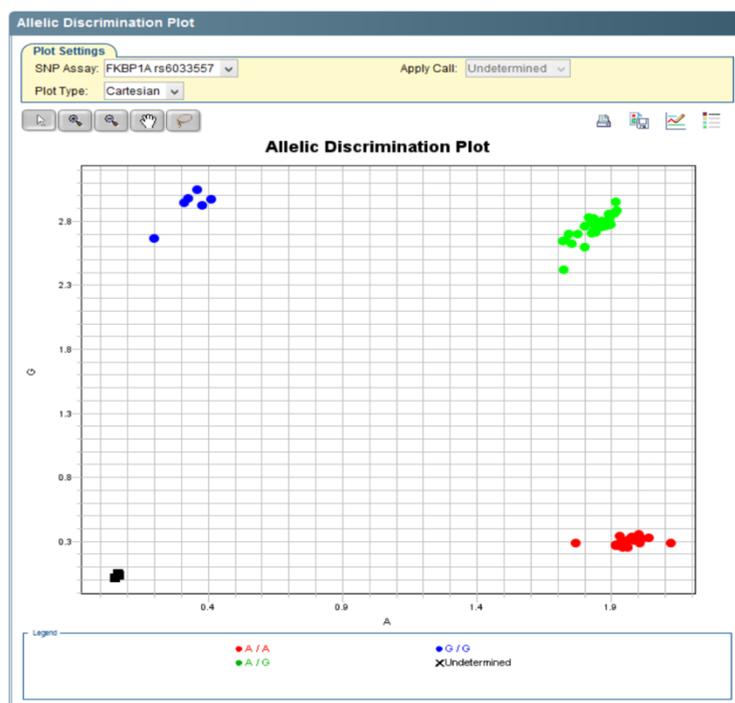


Figura 3. Gráfico de discriminação alélica do polimorfismo *FKBP1A* rs6033557.

O gráfico foi gerado pelo *SDS 7500 software* v.2.0.4 (Applied Biosystems, Forest City, EUA). Os grupos azul (superior), verde (meio) e vermelho (inferior) indicam os genótipos GG, AG e AA, respectivamente.

Com o propósito de avaliar a qualidade dos resultados de genotipagem, foram incluídos controles negativo (amostra sem DNA) e positivo dos genótipos (amostra com genótipo identificado). O controle negativo fornece o sinal base de fluorescência na PCR e verifica a presença de amplificação inespecífica. O controle positivo facilita a formação dos grupos dos genótipos no gráfico de discriminação alélica (**Figura 3**).

Para avaliar a reprodutibilidade dos resultados de genotipagem, 30% das amostras de DNA foram reanalisadas de forma aleatória. A interpretação dos genótipos e a transferência dos dados para planilhas de Excel foram feitas por 2 analistas independentes.

3.9. Resposta clínica aos imunossupressores

Com o propósito de avaliar a associação entre fatores genéticos e a resposta clínica da terapia imunossupressora pós-transplante, selecionou-se desfechos de eficácia e segurança. Os desfechos refletem direta ou indiretamente os fenótipos ou estado clínicos que podem ser influenciados por polimorfismos genéticos.

Como desfechos de eficácia foram considerados: (i) TGFe, (ii) creatinina sérica e (iii) episódios de rejeição aguda. Em relação aos episódios de rejeição, foram considerados apenas aqueles casos detectados por biopsia, e que receberam tratamento, não contabilizando o número de episódios reincidentes.

Como desfechos de segurança foram considerados os eventos adversos, organizados segundo a classificação MedDRA, tais como: (i) infecções e infestações, como incidência de infecção/doença por CMV; (ii) distúrbios sanguíneos, como anemia e leucopenia; (iii) distúrbios gastrointestinais, como constipação, diarreia, epigastralgia, dispepsia, náuseas e/ou vômitos; (iv) distúrbios gerais e condições do local de administração, como edema; (v) distúrbios metabólicos, como dislipidemia, hiperglicemia e diabetes pós-transplante; (vi) distúrbios renais, como proteinúria; No ensaio clínico, a incidência de CMV é definida como infecção (viremia assintomática) ou doença (viremia com sintomas clínicas) (KOTTON, 2013).

As variáveis pós-transplante como perda de aloenxerto e óbito não foram consideradas como desfechos de eficácia devido ao escasso número de casos reportados no estudo. Do ponto de vista clínico, a função renal tardia (FRT) não é considerada um desfecho de eficácia, porém, trata-se de uma variável pós-transplante. A FRT definida como a necessidade de diálise durante os sete primeiros dias pós-transplante ou concentrações superiores a 5,0 mg/dL de creatinina sérica (KONING *et al.*, 1997; OJO *et al.*, 1997).

Os desfechos de eficácia, TFGe e creatinina sérica, foram avaliados no décimo quarto dia e no terceiro mês, período caracterizado por existir maior risco de complicações imunológicas (KIDNEY DISEASE: IMPROVING GLOBAL OUTCOMES TRANSPLANT WORK, 2009), e no décimo segundo mês por se tratar de uma transição entre o período precoce e o tardio. Para os demais desfechos foi considerado o número de primeiros eventos relatados até o final do estudo.

3.10. Análises estatísticas

O conjunto de dados clínicos e experimentais dos pacientes foi analisado utilizando-se os programas *Statistical Package for the Social Sciences* v. 22.0 (SPSS Inc., Chicago, EUA), *GraphPad Prism* v. 6.0 (GraphPad Software, Inc., California, EUA), e *Sigma Stat* v. 3.5 (Sigma Chemical, Co., St Louis, MO, EUA). Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Variáveis categóricas são apresentadas como porcentagem e número de indivíduos entre parênteses. Para comparação de proporções das variáveis categóricas foram utilizados os testes de qui-quadrado, teste exato de Fischer ou proporção de verossimilhança (*Likelihood ratio*), quando necessário.

A distribuição das variáveis numéricas foi analisada pelo teste Kolmogorov-Smirnov (K-S) ou pelo teste Shapiro-Wilk (S-W) para grupos com menos que 50 amostras. As variáveis numéricas com distribuição normal são apresentadas como média e desvio-padrão e foram comparadas pelo teste *t* para dois grupos, e pelo teste ANOVA para três ou mais grupos, seguido pelo teste pós-hoc de Tukey para comparações múltiplas. As variáveis numéricas sem distribuição normal são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico (IQT) e foram comparadas pelo teste Mann-Whitney para dois grupos, e pelo teste Kruskal-Wallis para três grupos ou mais, seguido pelo teste pós-hoc de Bonferroni para comparações múltiplas.

Para análise da influência dos polimorfismos genéticos sobre a resposta clínica aos ISS foi utilizado o modelo de herança dominante, no qual os portadores de genótipo homocigoto raro são agrupados com os heterocigotos e comparados com os portadores de genótipo homocigoto comum.

Para análise da influência de polimorfismos genéticos sobre a incidência acumulativa de rejeição aguda foi utilizado teste de sobrevivência Kaplan-Meier e o valor de *p* foi estimado usando o teste log-rank.

A análise de regressão logística univariável foi utilizada para identificar os fatores genéticos e não genéticos associados com os desfechos de eficácia e segurança. Algumas variáveis numéricas foram transformadas em variáveis categóricas para utilizar na análise de regressão logística. Foram consideradas as seguintes variáveis: polimorfismos genéticos, peso, gênero e idade do receptor, comorbidades prévias, histórico de dislipidemia, tipo de doador, tempo de exposição à FRT, tempo de isquemia fria, variabilidade Co/Do e concentrações de tacrolimo no 12º mês, terapia de manutenção, terapia de indução, tempo de diálise. Um conjunto determinado desses fatores foi usado dependendo do desfecho clínico analisado. Após análise de regressão univariável, as variáveis que apresentaram um valor de $p < 0,2$ foram analisadas por regressão logística multivariável.

Para avaliar correlação entre variáveis numéricas foi usado o diagnóstico de colinearidade através do fator de inflação da variância (do termo em inglês, *Variance inflation factor*), no qual valores menores do que 5 indicam baixa correlação, e

adequação dos fatores para serem analisados por regressão multivariável. Para diminuir o erro tipo I gerado pelas comparações múltiplas na análise multivariável, os valores de p para os fatores foram ajustados pela correção sequencial de Holm-Bonferroni (HOLM, 1979; AICKIN e GENSLER, 1996).

Na **figura 4**, está representado o fluxograma das análises estatísticas realizadas para avaliar a associação das variáveis genéticas e não genéticas com os desfechos clínicos, no presente trabalho.

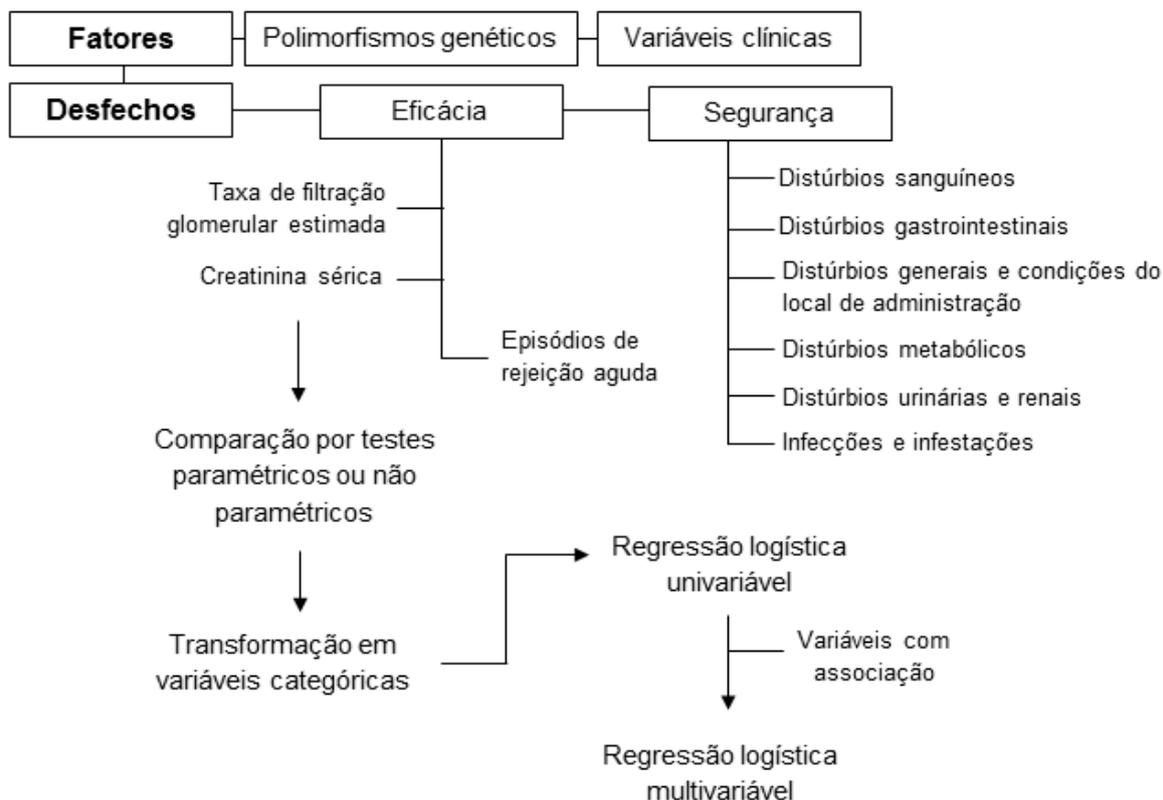


Figura 4. Fluxograma das análises estatísticas utilizadas no estudo.

3.11. Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIFESP (**Anexo 2**) e pelo CEP da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP (**Anexo 3**), e desenvolvido de acordo as regulações internacionais das boas práticas clínicas e dos princípios éticos da Declaração de Helsinski. Todos os pacientes que cumpriam os critérios de inclusão foram convidados e unicamente aqueles que aceitaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foram considerados dentro do projeto.

4. RESULTADOS

4.1. Características dos receptores de transplante renal

Na **Tabela 1**, são apresentadas as características biodemográficas e clínicas dos receptores de transplante renal. A mediana da idade dos receptores foi de 44 anos (IQT = 34,0 – 56,0), principalmente constituído pelo gênero masculino (66,2%) e de cor branca (51,7%). Entre as causas de DRC conhecidas, a mais frequente foi a glomerulonefrite (12,3%), seguida de hipertensão (10,0%) e diabetes (10,0%). Por outro lado, a causa “não determinada” foi a mais frequente (41,6%). Neste estudo, 251 indivíduos (93,3%) realizaram hemodiálise durante o período pré-transplante, com uma duração mediana de 33,0 meses. Ademais, a mediana de exposição à isquemia fria do enxerto foi de 20,3 horas (IQT = 17,6 – 23,0). Esses parâmetros não diferiram entre os grupos terapêuticos ($p > 0,05$), o que é indicativo da adequada randomização dos pacientes nos grupos de estudo.

Na **Tabela 2**, são apresentadas as características biodemográficas dos doadores de rim que não diferiram entre os grupos de tratamento dos receptores ($p > 0,05$). A mediana de idade dos doadores foi de 42,0 anos (IQT = 32,0 – 50,0). O grupo foi formado majoritariamente por homens (58,4%), e de cor branca (57,2%). É importante ressaltar que a proporção de doadores falecidos representou 69,1% (186 indivíduos) do total de doadores.

Os resultados dos parâmetros laboratoriais dos receptores de transplante renal são apresentados na **Tabela 3**. Os valores de perfil metabólico, eletrólitos, enzimas hepáticas ALT e AST e perfil hematológico não diferiram entre os grupos de tratamento ($p > 0,05$). Ao analisar o perfil metabólico, alguns pacientes tiveram resultados de glicemia (Med = 93,0; IQT = 86,5 – 105,5 mg/dL) e de triglicérides (Med = 151; IQT = 106 – 229 mg/dL) acima dos valores referência. Os resultados de enzimas hepáticas e do perfil hematológico estavam dentro dos valores de referência.

Tabela 1. Características biodemográficas e clínicas dos receptores de transplante renal

Variáveis	Total (269)	TAC5/EVR (80)	TAC10/EVR (96)	TAC10/MFS (93)	p
Idade, anos	44,0 (34,0 – 56,0)	43,5 (32,3 – 55,8)	46,0 (33,5 – 57,0)	43,0 (35,0 – 55,5)	0,725 [†]
Gênero, % (n)					0,774
Homens	66,2% (178)	63,8% (51)	65,6% (63)	68,8% (64)	
Mulheres	33,8% (91)	36,3% (29)	34,4% (33)	31,2% (29)	
Cor de pele, % (n)					0,386
Branca	51,7% (139)	47,5% (38)	51,0% (49)	55,9% (52)	
Negra	14,9% (40)	21,3% (17)	12,5% (12)	11,8% (11)	
Parda	33,5% (90)	31,3% (25)	36,5% (35)	32,3% (30)	
Causas de DRC, % (n)					0,260
Glomerulonefrite	12,3% (33)	13,8% (11)	14,6% (14)	8,6% (8)	
Hipertensão	10,0% (27)	10,0% (8)	7,3% (7)	12,9% (12)	
Diabetes	10,0% (27)	8,8% (7)	5,2% (5)	16,1% (15)	
Não determinado	41,6% (112)	41,3% (33)	46,9% (45)	36,6% (34)	
Outros	26,0% (70)	26,3% (21)	26,0% (25)	25,8% (24)	
Peso, kg	68,3 (59,0 – 77,9)	68,8 (62,4 – 77,5)	67,5 (58,1 – 76,9)	68,5 (57,3 – 79,8)	0,652
CA, (cm)					
Homens	91,0 (81,0 – 101,3)	90,0 (81,0 – 101,0)	91,0 (80,0 – 101,0)	92,5 (83,3 – 103,8)	0,761
Mulheres	84,0 (75,0 – 97,0)	88,0 (74,0 – 97,0)	84,0 (78,0 – 96,5)	81,0 (75,0 – 97,0)	0,901
IMC, kg/m ²	24,0 (21,0 – 27,0)	24,0 (22,0 – 27,0)	25,0 (21,0 – 27,0)	24,0 (21,0 – 27,0)	0,981
Diálise, % (n)					0,586
Diálise peritoneal	3,7% (10)	3,8% (3)	3,1% (3)	4,3% (4)	
Hemodiálise	93,3% (251)	91,3% (73)	95,8% (92)	92,5% (86)	
Sem diálise	3,0% (8)	5,0% (4)	1,0% (1)	3,2% (3)	
Duração de hemodiálise, meses	33,0 (16,0 – 54,0)	36,0 (16,0 – 48,0)	27,5 (16,3 – 49,8)	29,5 (16,0 – 61,5)	0,894
Isquemia fria, h	20,3 (17,6 – 23,0)	20,3 (17,6 – 23,7)	20,5 (17,8 – 23,0)	20,1 (17,2 – 23,0)	0,839

Nota: Variáveis numéricas são apresentadas como mediana e intervalo interquartil, em parênteses, e foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis ou ANOVA de um fator (†), quando necessário. Variáveis categóricas são apresentadas como porcentagem e número de indivíduos, em parênteses, e foram comparadas pelo teste qui-quadrado. CA: Circunferência abdominal, DRC: Doença renal crônica, IMC: índice de massa corporal.

Tabela 2. Características biodemográficas dos doadores

Variáveis	Total (269)	TAC5/EVR (80)	TAC10/EVR (96)	TAC10/MFS (93)	p
Idade, anos	42,0 (32,0 – 50,0)	42,0 (29,3 – 47,0)	43,0 (35,3 – 52,0)	42,0 (31,5 – 50,0)	0,314
Gênero, % (n)					0,708
Homens	58,4% (157)	61,3% (49)	55,2% (53)	59,1% (55)	
Mulheres	41,6% (112)	38,8% (31)	44,8% (43)	40,9% (38)	
Cor de pele, % (n)					0,875
Cor branca	57,2% (154)	61,3% (49)	54,2% (52)	57,0% (53)	
Cor negra	8,9% (24)	8,8% (7)	8,3% (8)	9,7% (9)	
Cor parda	33,8% (91)	30,0% (24)	37,5% (36)	33,3% (31)	
Tipo de doador, % (n)					0,148
Doador vivo	30,9% (83)	22,5% (18)	35,4% (34)	33,3% (31)	
Doador falecido	69,1% (186)	77,5% (62)	64,6% (62)	66,7% (62)	

Nota: Variáveis numéricas são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico, em parênteses, e foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Variáveis categóricas são apresentadas como porcentagem e número de indivíduos, em parênteses, e foram comparadas pelo teste qui-quadrado.

Tabela 3. Parâmetros laboratoriais dos receptores de transplante renal

Variáveis	Total (269)	TAC5/EVR (80)	TAC10/EVR (96)	TAC10/MFS (93)	p
Glicose, mg/dL	93,0 (86,5 – 105,5)	93,0 (87,0 – 100,8)	93,0 (85,0 – 102,8)	94,0 (87,5 – 115,0)	0,327
Colesterol total, mg/dL	161,0 (136,0 – 185,0)	170,0 (130,5 – 190,0)	155,5 (137,8 – 183,0)	165,5 (137,5 – 190,5)	0,785
HDL colesterol, mg/dL	38,0 (32,0 – 45,0)	37,0 (32,0 – 45,5)	39,0 (32,0 – 48,0)	38,0 (31,0 – 45,0)	0,721
LDL colesterol, mg/dL	82,0 (65,3 – 108,50)	83,0 (63,3 – 117,0)	82,0 (67,5 – 101,5)	82,5 (64,8 – 107,5)	0,840
VLDL colesterol, mg/dL	26,0 (17,0 – 37,0)	29,0 (16,0 – 40,0)	24,5 (17,0 – 33,8)	27,0 (17,5 – 37,5)	0,527
Triglicérides, mg/dL	151,0 (106,0 – 229,0)	156,0 (93,0 – 227,5)	141,0 (103,8 – 210,0)	158,0 (110,5 – 249,8)	0,283
Sódio sérico, mmol/L	137,0 (135,0 – 139,0)	137,0 (135,0 – 139,8)	137,0 (135 – 139,0)	137,0 (135,0 – 139,0)	0,964
Potássio sérico, mmol/L	4,9 (4,4 – 5,4)	4,9 (4,3 – 5,2)	4,9 (4,2 – 5,4)	4,9 (4,5 – 5,6)	0,342
ALT, U/L	12,0 (9,0 – 17,0)	13,0 (9,3 – 16,8)	12,0 (9,0 – 17,8)	12,0 (10,0 – 18,0)	0,814
AST, U/L	12,0 (10,0 – 17,0)	13,0 (10,0 – 17,8)	12,0 (9,0 – 16,0)	12,0 (10,0 – 17,0)	0,464
Hemoglobina, g/dL	12,5 (11,3 – 13,6)	12,7 (11,9 – 13,6)	12,4 (10,9 – 13,9)	12,5 (11,3 – 13,5)	0,494
Eritrócitos, mil. cel./cm ³	4,1 (3,7 – 4,6)	4,1 (3,8 – 4,7)	4,1 (3,6 – 4,7)	4,1 (3,7 – 4,4)	0,472
Leucócitos, cel./cm ³	7300 (5950 – 9000)	7250 (6100 – 8875)	7195 (5900 – 8975)	7400 (5800 – 9100)	0,727
Linfócitos, cel./cm ³	1565 (1173 – 1968)	1593 (1274 – 1951)	1473 (1100 – 1909)	1568 (1165 – 2037)	0,570
Plaquetas, plaq./μL	202 (166 – 235)	212 (168 – 239)	198 (156 – 228)	200 (170 – 243)	0,212

Nota: Variáveis numéricas são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico, em parênteses, e foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. ALT: Alanina aminotransferase; AST: Aspartato aminotransferase; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade.

4.2. Monitoramento terapêutico dos imunossupressores

Os dados de concentração sanguínea, dose e Co/Do de tacrolimo e everolimo, nos três grupos de terapia imunossupressora, são apresentados nas **Figuras 5 e 6**, respectivamente. Os valores numéricos dos parâmetros de monitoramento de tacrolimo e everolimo estão descritos, nos **Anexos 5 a 10**.

Nos primeiros 30 dias pós-transplante, as concentrações sanguíneas de tacrolimo dos grupos TAC10/EVR e TAC10/MFS foram maiores do que as do grupo TAC5/EVR ($p < 0,0001$). Já do 3º ao 12º mês de tratamento, as concentrações de tacrolimo do grupo TAC10/MFS foram maiores do que as dos grupos TAC5/EVR e TAC10/EVR ($p < 0,001$). A partir do 6º mês de acompanhamento, mais de 50% dos pacientes apresentou concentrações dentro da faixa terapêutica estabelecida pelo protocolo de tratamento para os grupos TAC5/EVR e TAC10/EVR (3 a 8 ng/ml) e TAC10/MFS (6 a 8 ng/ml) (**Figura 5A**).

As doses de tacrolimo de pacientes dos grupos TAC10/EVR e TAC10/MFS mostraram-se mais elevadas desde o início até o 4º mês quando comparadas com TAC5/EVR ($p < 0,0001$). Uma vez ajustado o esquema terapêutico de tacrolimo a partir do 3º mês no grupo TAC10/EVR segundo o protocolo de tratamento, os grupos TAC5/EVR e TAC10/EVR mostraram doses de tacrolimo similares até o término do estudo ($p > 0,05$), enquanto que as doses de TAC10/MFS foram maiores quando comparado com ambos os grupos ($p < 0,05$) (**Figura 5B**).

Os valores de Co/Do de tacrolimo foram similares entre os três grupos durante os 12 meses de tratamento ($p > 0,05$) (**Figura 5C**).

Em relação às concentrações de everolimo nos períodos de tempo estudados, como esperado, não houve diferença entre os grupos TAC5/EVR e TAC10/EVR ($p < 0,05$). A partir do 3º mês, mais de 50% dos pacientes, representado pelo quartil inferior até o quartil superior, apresentou concentrações de everolimo dentro da faixa terapêutica estabelecida pelo protocolo de tratamento (4 a 8 ng/ml) (**Figura 6A**).

As doses e as Co/Do de everolimo não diferiram quando comparadas entre os grupos, nos diferentes períodos de tempo ($p > 0,05$) (**Figura 6B e 6C**).

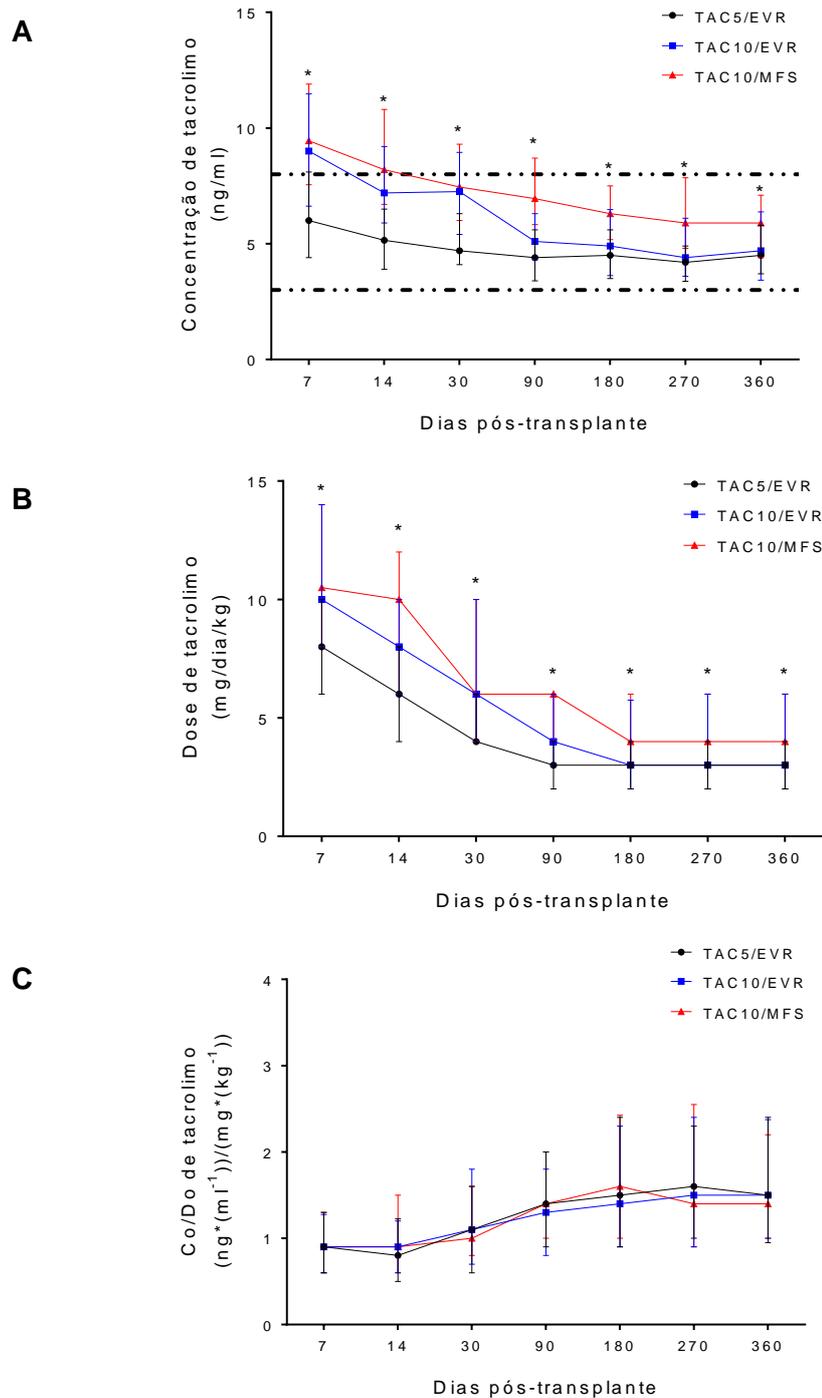


Figura 5. Monitoramento terapêutico de tacrolimo em receptores de transplante renal. (A) Concentração (ng/mL); (B) dose (mg/dia/kg); (C) concentração corrigida pela dose (Co/Do) [(ng/mL)(mg/kg)], nos grupos de terapia imunossupressora. Valores apresentados como mediana e intervalo interquartil. *Teste Kruskal-Wallis para comparação de concentração e doses de tacrolimo em cada tempo ($p < 0,05$).

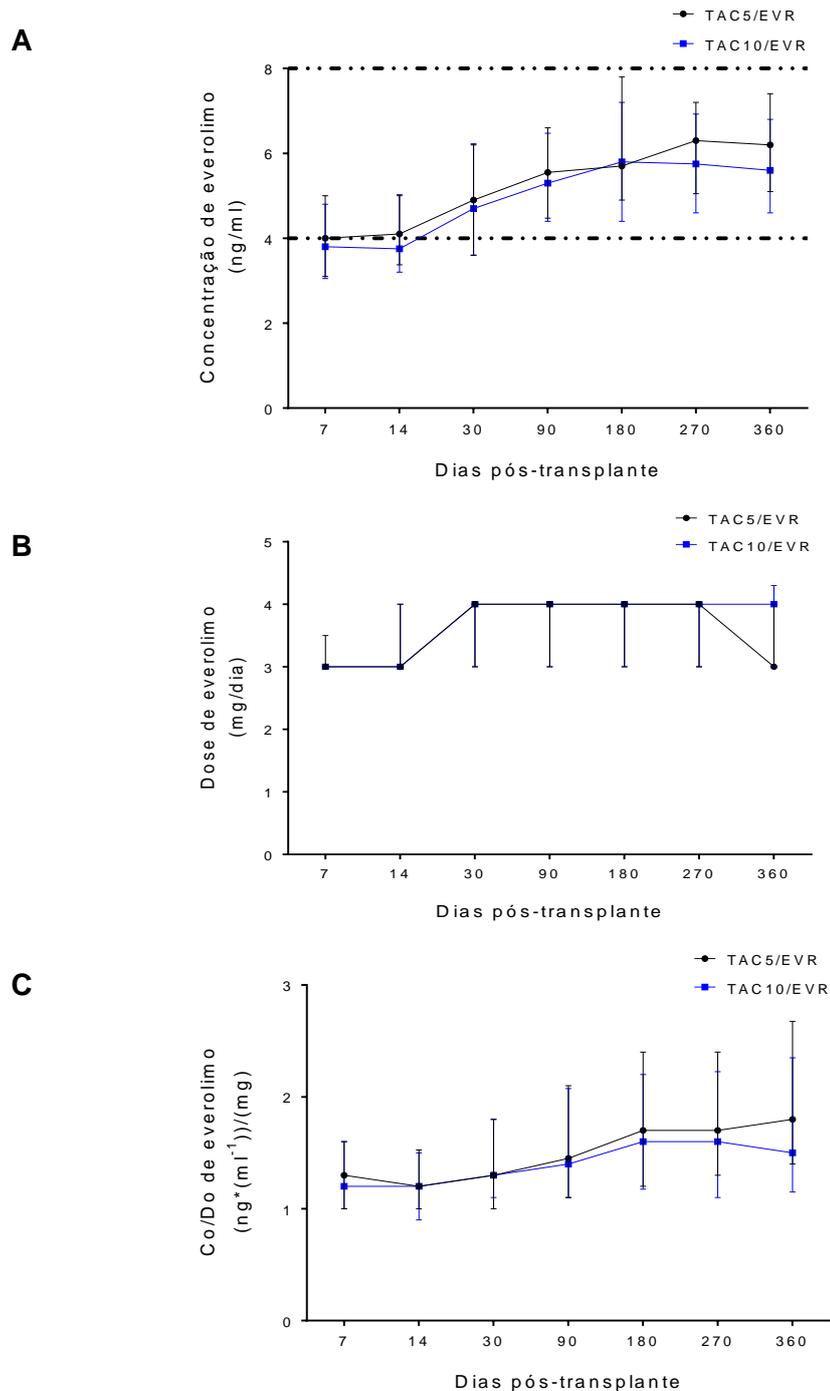


Figura 6. Monitoramento terapêutico de everolimo, em receptores de transplante renal. (A) Concentração (ng/mL); (B) dose (mg/dia) (C) concentração corrigida pela dose (Co/Do) [(ng/mL)(mg)], nos grupos de terapia imunossupressora. Valores apresentados como mediana e intervalo interquartil. *Teste Mann-Whitney para comparação de concentração de everolimo em cada tempo, entre os dois grupos de tratamento com everolimo ($p > 0,05$).

4.3. Resultados de desfechos clínicos de eficácia e segurança

Neste estudo, as variáveis TFGe, creatinina sérica e rejeição aguda foram consideradas como desfechos de eficácia do tratamento imunossupressor.

Nas **Figuras 7 e 8**, são representados os dados dos valores de TFGe e creatinina sérica, respectivamente, no 1º ano de acompanhamento. Os valores numéricos desses parâmetros são mostrados nos **Anexos 11 e 12**.

No grupo total, houve um aumento esperado e gradativo da TFGe desde o período pré-transplante (Med = 7,0 ml/min; IQT = 5,0 – 8,0) até o 12º mês (Med = 63,5 ml/min; IQT = 49,7 – 78,2) (**Figura 7A**). A partir do 1º mês, a mediana dos valores de TFGe se manteve acima do valor de 50 mL/min até o fim do acompanhamento. Os valores de TFGe foram similares entre os grupos de tratamento até o 1º mês. A partir do 3º mês, o grupo TAC10/MFS apresentou valores discretamente superiores do que TAC10/EVR ($p < 0,05$), porém similares aos do grupo TAC5/EVR, com exceção do 6º mês, onde não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) (**Figura 7B**).

As concentrações de creatinina sérica, no grupo total, diminuíram de forma esperada a partir do pré-transplante (Med = 9,32 mg/dL; IQT = 7,47 – 11,27) até o final do período de acompanhamento (12º mês, Med = 1,33 mg/dL; IQT = 1,07 – 1,62) (**Figura 8A**). Dentro os grupos terapêuticos, as concentrações de creatinina sérica foram similares durante os primeiros 9 meses ($p > 0,05$); porém, no 12º mês, as concentrações do grupo TAC10/MFS foram ligeiramente menores (Med = 1,24 mg/dL; IQT = 0,99 – 1,53) em relação ao grupo TAC10/EVR (Med = 1,44 mg/dL; IQT = 1,10 – 1,81) ($p < 0,05$), mas não com o TAC5/EVR (Med = 1,31 mg/dL; IQT = 1,11 – 1,67) ($p > 0,05$) (**Figura 8B**).

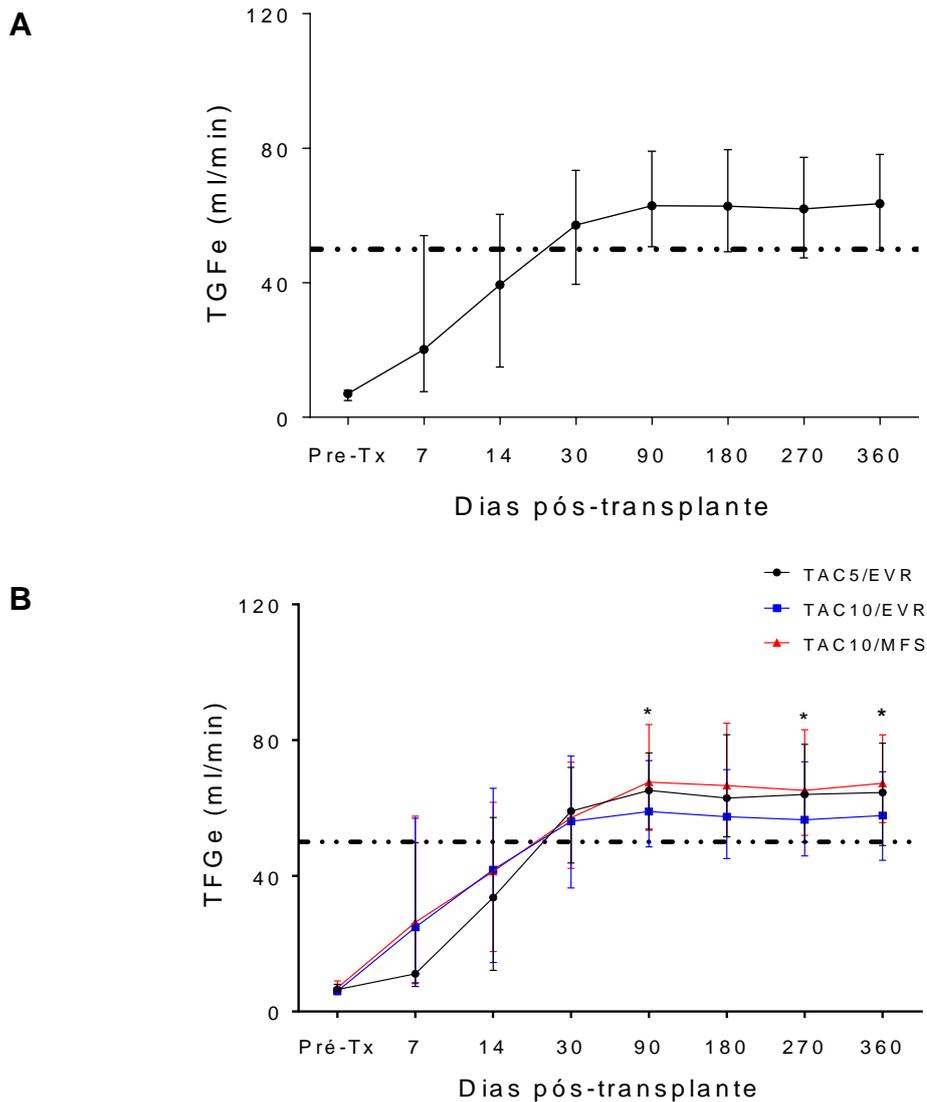


Figura 7. TFGe de receptores de transplante renal, no 1º ano de acompanhamento. (A) Grupo total, e nos (B) três grupos de terapia imunossupressora. Valores apresentados como mediana e intervalo interquartil. *Teste de Kruskal-Wallis para comparação da TFGe em cada tempo ($p < 0,05$). Pré-Tx = Pré-transplante.

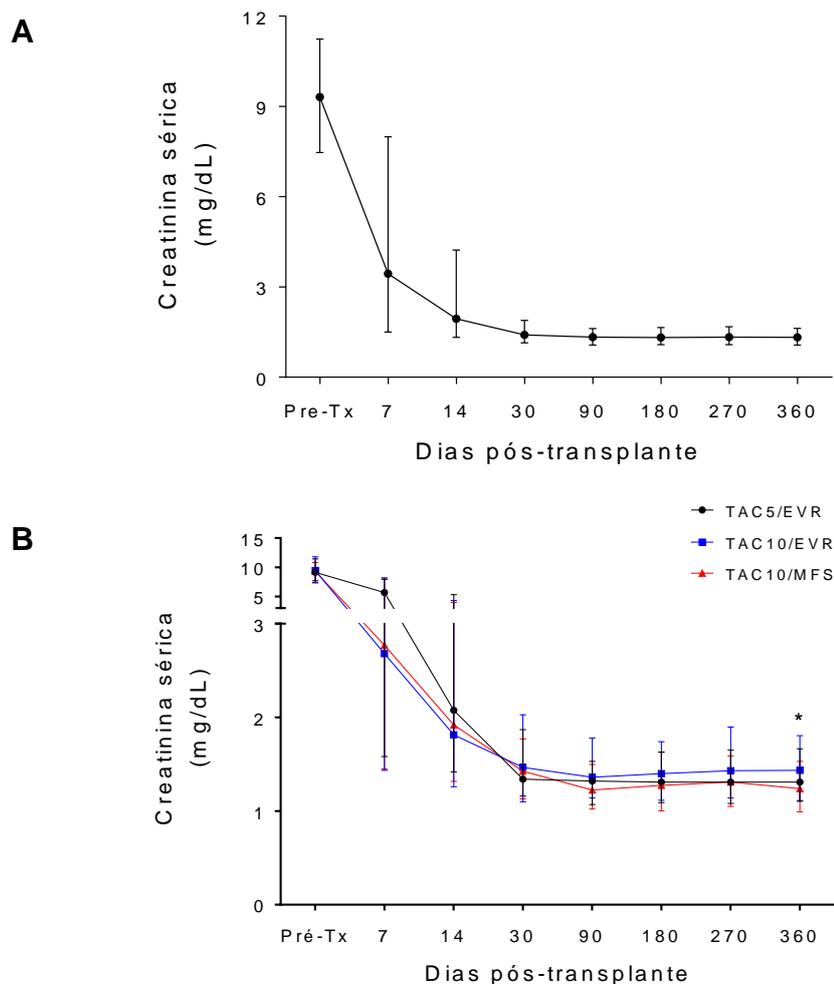


Figura 8. Creatinina sérica de receptores de transplante renal, no 1º ano de acompanhamento. (A) Grupo total e nos (B) três grupos de terapia imunossupressora. Valores apresentados como mediana e intervalo interquartil. *Teste de Kruskal-Wallis para comparação da creatinina sérica em cada tempo ($p < 0,05$). Pré-Tx = Pré-transplante

Na **Tabela 4**, são mostrados resultados de desfechos clínicos de eficácia. Foram relatados 40 (14,9%) casos de rejeição aguda, no primeiro ano de acompanhamento, dentre os quais 36 (13,4%) foram mediados por células T (celular) e 4 (1,5%) foram mediados por anticorpos (humoral). Utilizando a classificação Banff dos casos de rejeição celular, observou-se predominância das classes 2A (38,9%) e 1B (33,3%). Não foram encontradas diferenças nas proporções de rejeição aguda entre os grupos de tratamento, independentemente do tipo de rejeição ou da classe Banff de rejeição celular, entre os três grupos de tratamento imunossupressor ($p > 0,05$).

A perda de aloenxerto no primeiro ano de acompanhamento ocorreu em 3,3% dos casos. Observou-se maior percentual de perda no grupo TAC10/MFS (7,5%) quando comparado aos grupos TAC5/EVR (1,3%) e TAC10/EVR (1,0%) ($p=0,026$), no primeiro ano de acompanhamento. A taxa de óbitos foi de 3,3%, mas não diferiu entre os grupos de tratamento ($p=0,825$).

A FRT ocorreu em 33,8% dos casos e a duração de FRT foi de 10,0 (6,0-15,0) dias. Esses parâmetros não diferiram entre os grupos de tratamento ($p>0,05$).

Neste estudo, foram considerados desfechos de segurança os eventos adversos identificados pela classificação MedDRA. Devido ao interesse principal do trabalho original em esquemas terapêuticos para reduzir a incidência de CMV, dentro da categoria MedDRA de infecções e infestações, foram considerados todos os casos de infecção e doença, tempo de terapia e recorrência de eventos por CMV.

Na **Tabela 5**, são apresentados os resultados de eventos ocasionados por CMV. No grupo total foram reportados 49 (18,2%) casos de primeiros eventos por CMV, que consistiu em 29 (10,8%) casos de infecção e 20 (7,4%) de doença. Ocorreram mais casos de eventos por CMV no grupo TAC10/MFS (37,6%) em relação aos grupos TAC5/EVR (5,0%) e TAC10/EVR (10,4%) ($p<0,0001$). O tempo para surgimento do primeiro evento por CMV foi de 57 dias (IQT = 38,5 – 78,5), e a duração do tratamento antiviral foi de 23 dias (IQT = 18,0 – 27,5). Esses parâmetros não diferiram entre os grupos de tratamento ($p>0,05$).

A primeira recorrência por CMV foi relatada em 7,1% (19) receptores, com maior proporção no grupo TAC10/MFS (15,1%) em relação aos outros dois grupos ($p<0,0001$). Enquanto que a segunda recorrência ocorreu em 1,9% (5) casos, sem diferença entre os grupos de tratamento ($p=0,088$) (**Tabela 5**).

Na **tabela 6**, são apresentados os resultados de eventos adversos dos receptores de transplante renal, no 1º ano pós-transplante. No grupo total, foram relatados 12,3% (33) distúrbios sanguíneos e linfáticos, sendo que 8,2% e 5,2% corresponderam à anemia e leucopenia, respectivamente. A leucopenia foi mais frequente no grupo TAC10/MFS (9,7%) que nos grupos TAC5/EVR (5,0%) e TAC10/EVR (1,0%) ($p=0,018$). Enquanto que o percentual de anemia foi similar entre os grupos de tratamento ($p=0,470$).

Em relação aos distúrbios gastrointestinais, foram reportados 141 casos (52,4%), no grupo total, sendo os casos de diarreia os mais frequentes (25,7%), seguido de constipação (13,0%), epigastralgia (12,3%), náuseas e/ou vômitos

(9,7%) e dispepsia (8,6%). As frequências desses eventos não diferiram entre os grupos de tratamento ($p>0,05$) (**Tabela 6**).

Dentre os distúrbios gerais e condições do local de administração, o edema localizado foi o mais reportado (41,3%), sendo observado maior percentual nos grupos TAC5/EVR (45,0%) e TAC10/EVR (47,9%) que no grupo TAC10/MFS (31,2%, $p=0,047$).

Distúrbios de metabolismo e de nutrição foram relatados em 41,3% (111) casos, no grupo total. O mais comum foi dislipidemia (27,5%), seguido de hiperglicemia (17,8%) e diabetes pós-transplante (10,4%). O percentual de dislipidemia foi maior nos grupos tratados com everolimo, TAC5/EVR (30,0%) e TAC10/EVR (37,5%), quando comparado com o grupo TAC10/MFS (15,1%) ($p=0,002$). Os percentuais de hiperglicemia e diabetes foram similares entre os grupos de tratamento ($p>0,05$).

Dentre os distúrbios renais e urinários, a proteinúria foi reportada em 8,9% (24) no grupo total, sem diferenças entre os grupos terapêuticos ($p=0,835$).

Tabela 4. Desfechos de eficácia de receptores de transplante renal, no 1º ano pós-transplante

Variáveis	Total (269)	TAC5/EVR (80)	TAC10/EVR (96)	TAC10/MFS (93)	p
Rejeição aguda, % (n)	14,9% (40)	10,0% (8)	17,7% (17)	16,2% (15)	0,329
Celular	13,4% (36)	7,5% (6)	17,7% (17)	14,0% (13)	
Humoral	1,5% (4)	2,5% (2)	0,0% (0)	2,2% (2)	
Classificação Banff de rejeição celular, % (n)					0,069*
1A	25,0% (9)	16,7% (1)	23,5% (4)	30,8% (4)	
2A	38,9% (14)	83,3% (5)	41,2% (7)	15,4% (2)	
1B	33,3% (12)	0% (0)	35,3% (6)	46,2% (6)	
2B	2,8% (1)	0% (0)	0% (0)	7,7% (1)	
Perda de aloenxerto, % (n)	3,3% (9)	1,3% (1)	1,0% (1)	7,5% (7)	0,026*
Óbito, % (n)	3,3% (9)	2,0% (2)	4,2% (4)	3,2% (3)	0,825*
FRT, % (n)	33,8% (91)	37,5% (30)	34,4% (33)	30,1% (28)	0,586
Duração de FRT, dias	10,0 (6,0 – 15,0)	12,0 (6,8 – 16,0)	11,0 (6,0 – 14,0)	9,0 (5,3 – 13,5)	0,396

Nota: Variáveis numéricas são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico, em parênteses, e foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Variáveis categóricas são apresentadas como porcentagem e número de indivíduos, em parênteses, e foram comparadas pelo teste qui-quadrado e teste de proporção de verossimilhança (*). FRT: Função renal tardia

Tabela 5. Eventos causados por CMV, em receptores de transplante renal, no 1º ano pós-transplante

Variáveis	Total (269)	TAC5/EVR (80)	TAC10/EVR (96)	TAC10/MFS (93)	p
1º evento de CMV	18,2% (49)	5,0% (4)	10,4% (10)	37,6% (35)	<0,0001
Infecção	10,8% (29)	25,0% (1)	40,0% (4)	68,6 (24)	0,094*
Doença	7,4% (20)	75,0% (3)	60,0% (6)	31,4% (11)	
Tempo até 1º evento de CMV, dias	57,0 (38,5 – 78,5)	71,0 (43,8 – 81,8)	47,5 (39,0 – 119,0)	59,0 (38,0 – 72,0)	0,762
Duração de tratamento antiviral, dias	23,0 (18,0 – 27,5)	20,5 (15,5 – 24,8)	20,5 (17,3 – 24,3)	25,0 (20,0 – 29,0)	0,142
1º recorrência de evento de CMV	7,1% (19)	0,0%(0)	5,2% (5)	15,1% (14)	<0,0001
Infecção	3,3% (9)	0,0% (0)	40,0% (2)	50,0% (7)	1,000 [†]
Doença	3,7% (10)	0,0% (0)	60,0% (3)	50,0% (7)	
2º recorrência de evento de CMV	1,9% (5)	0,0%(0)	2,1% (2)	3,2% (3)	0,149*
Infecção	1,1% (3)	0,0% (0)	100% (2)	33,3% (1)	0,088 [†]
Doença	0,7% (2)	0,0% (0)	0,0% (0)	66,7% (2)	

Nota: Variáveis numéricas são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico, em parênteses, e foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Variáveis categóricas são apresentadas como porcentagem e número de indivíduos, em parênteses, e foram comparadas pelo teste qui-quadrado, teste de proporção de verossimilhança (*) e teste exato de Fisher ([†]). CMV: citomegalovírus.

Tabela 6. Eventos adversos ocorridos, em receptores de transplante renal, no 1º ano pós-transplante

Variáveis	Total (269)	TAC5/EVR (80)	TAC10/EVR (96)	TAC10/MFS (93)	p
Distúrbios sanguíneos e					
linfáticos	12,3% (33)	12,5% (10)	10,4% (10)	14,0% (13)	
Anemia	8,2% (22)	10,0% (8)	9,4% (9)	5,4% (5)	0,470
Leucopenia	5,2% (14)	5,0% (4)	1,0% (1)	9,7% (9)	0,018*
Distúrbios					
gastrointestinais	52,4% (141)	46,3% (37)	47,9% (46)	62,4% (58)	
Dispepsia	8,6% (23)	3,8% (3)	9,4% (9)	11,8% (11)	0,156
Epigastralgia	12,3% (33)	11,3% (9)	9,4% (9)	16,1% (15)	0,348
Náuseas e/ou vômitos	9,7% (26)	8,8% (7)	10,4% (10)	9,7% (9)	0,933
Diarreia	25,7% (69)	25,0% (20)	22,9% (22)	29,0% (27)	0,621
Constipação	13,0% (35)	11,3% (9)	11,5% (11)	16,1% (15)	0,543
Distúrbios gerais e					
condições do local de					
administração					
Edema localizado	41,3% (111)	45,0% (36)	47,9% (46)	31,2% (29)	0,047
Distúrbios de					
metabolismo e de					
nutrição					
Hiperglicemia	17,8% (48)	25,0% (20)	15,6% (15)	14,0% (13)	0,131
Diabetes pós- transplante	10,4% (28)	13,8% (11)	11,5% (11)	6,5% (6)	0,268
Dislipidemia	27,5% (74)	30,0% (24)	37,5% (36)	15,1% (14)	0,002
Distúrbios renais e					
urinários					
Proteinúria	8,9% (24)	10,0% (8)	9,4% (9)	7,5% (7)	0,835

Nota: Variáveis categóricas são apresentadas como porcentagem e número de indivíduos, em parênteses, e foram comparadas pelo teste qui-quadrado e teste de proporção de verossimilhança (*).

4.4. Frequências dos polimorfismos genéticos

Nas **Tabelas 7 e 8**, são apresentadas as frequências dos genótipos e alelos raros dos polimorfismos genéticos estudados. As frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos estudados foram similares entre os três grupos de tratamento, o que é sugestivo de adequada randomização dos pacientes, nos três grupos.

A distribuição de genótipos dos polimorfismos analisados mostrou-se consistente com o EHW, no grupo total ($p > 0,05$) e nos grupos terapêuticos ($p > 0,05$) (dados não apresentados). Isto assegura que a seleção dos indivíduos para o estudo foi aleatória e adequada. No caso dos polimorfismos do *FOXP3*, localizado no cromossomo X, a estimativa do EHW foi realizada somente no grupo de mulheres, porque os homens apresentam um único cromossomo X (hemizigotos). Para as demais análises de polimorfismos neste gene foram incluídos os indivíduos do sexo masculino.

Na **Tabela 9**, são apresentadas as comparações das frequências alélicas dos participantes de nosso estudo com as reportadas pelo projeto 1000genomes, e com as reportadas por um estudo prévio do nosso laboratório (SALGADO, 2012). Para todos os polimorfismos, não houve diferença entre as frequências alélicas do nosso estudo e do projeto 1000genomes ($p > 0,05$). As frequências alélicas nos polimorfismos *MTOR* e *PPP3CA* estimadas em um estudo prévio do nosso laboratório não diferiram com as frequências descritas neste estudo ($p > 0,05$).

Tabela 7. Frequências de polimorfismos *MTOR* e *PPP3CA*

Polimorfismos	Total (269)	TAC5/EVR (80)	TAC10/EVR (96)	TAC10/MFS (93)	p
<i>MTOR</i> rs1057079					
c.4731G>A					
AA	33,1% (89)	30,0% (24)	40,6% (39)	28,0% (26)	0,138
AG	43,9% (118)	40,0% (32)	39,6% (38)	51,6% (48)	
GG	23,0% (62)	30,0% (24)	19,8% (19)	20,4% (19)	
MAF [G]	45,0%	50,0%	39,6%	46,2%	0,135
<i>MTOR</i> rs1135172					
c.1437T>C					
CC	33,5% (90)	32,5% (26)	39,6% (38)	28,0% (26)	0,534
CT	47,2% (127)	46,3% (37)	43,8% (42)	51,6% (48)	
TT	19,3% (52)	21,3% (17)	16,7% (16)	20,4% (19)	
MAF [T]	42,9%	44,4%	38,5%	46,2%	0,290
<i>MTOR</i> rs1064261					
c.2997C>T					
TT	42,4% (114)	35,0% (28)	46,9% (45)	44,1% (41)	0,530
TC	45,7% (123)	50,0% (40)	43,8% (42)	44,1% (41)	
CC	11,9% (32)	15,0% (12)	9,4% (9)	11,8% (11)	
MAF [C]	34,8%	40,0%	31,3%	33,9%	0,218
<i>PPP3CA</i> rs3730251					
c.249G>A					
GG	85,5% (230)	86,3% (69)	87,5% (84)	82,8% (77)	0,481*
GA	14,1% (38)	12,5% (10)	12,5% (12)	17,2% (16)	
AA	0,4% (1)	1,3% (1)	0,0% (0)	0,0% (0)	
MAF [A]	7,4%	7,5%	6,3%	8,6%	0,684

Nota: As frequências dos genótipos e alelos são apresentadas como porcentagem, e o número de indivíduos em parênteses, e foram compara dos por teste qui-quadrado e teste de proporção de verossimilhança (*). MAF: frequência de alelo raro, do inglês *Minor allele frequency*.

Tabela 8. Frequências de polimorfismos *FKBP1A*, *FKBP2* e *FOXP3*

Polimorfismos	Total (269)	TAC5/EVR (80)	TAC10/EVR (96)	TAC10/MFS (93)	p
<i>FKBP1A</i> rs6033557					
n.259+243936T>C					
TT	43,9% (118)	37,5% (30)	46,9% (45)	46,2% (43)	0,209
TC	44,6% (120)	48,8% (39)	46,9% (45)	38,7% (36)	
CC	11,5% (31)	13,8% (11)	6,3% (6)	15,1% (14)	
MAF [C]	33,8%	38,1%	29,7%	34,4%	0,244
<i>FKBP2</i> rs2159370 c.-					
2110G>T					
GG	33,5% (90)	32,5% (26)	34,4% (33)	33,3% (31)	0,997
GT	52,0% (140)	53,8% (43)	51,0% (49)	51,6% (48)	
TT	14,5% (39)	13,8% (11)	14,6% (14)	15,1% (14)	
MAF [T]	40,5%	40,6%	40,1%	40,9%	0,988
<i>FOXP3</i> rs2232365 c.-					
22-902 ^a >G					
GG	52,8% (142)	51,3% (41)	55,2% (53)	51,6% (48)	0,721
GA	18,2% (49)	16,3% (13)	20,8% (20)	17,2% (16)	
AA	29,0% (78)	32,5% (26)	24,0% (23)	31,2% (29)	
MAF [A]	38,1%	40,6%	34,4%	39,8%	0,426
<i>FOXP3</i> rs3761548 c.-					
23+2882 ^a >C					
CC	65,1% (175)	67,5% (54)	63,5% (61)	64,5% (60)	0,666
CA	13,0% (35)	15,0% (12)	10,4% (10)	14,0% (13)	
AA	21,9% (59)	17,5% (14)	26,0% (25)	21,5% (20)	
MAF [A]	28,4%	25,0%	26,0%	28,5%	0,433

Nota: As frequências dos genótipos e alelos são apresentadas como porcentagem, e o número de indivíduos em parênteses, e foram comparados por teste qui-quadrado e teste de proporção de verossimilhança (*). MAF: frequência de alelo raro, do inglês *Minor allele frequency*.

Tabela 9. Frequências alélicas dos polimorfismos genéticos, neste e em outros estudos

População	<i>MTOR</i>		<i>PPP3CA</i>		<i>FKBP1A</i>		<i>FKBP2</i>		<i>FOXP3</i>							
	rs1057079		rs1135172		rs1064261		rs3730251		rs6033557		rs2159370		rs2232365		rs3761548	
	G	A	C	T	T	C	A	G	C	T	T	G	A	G	A	C
Este estudo	45%	55%	57%	43%	66%	35%	7%	93%	34%	66%	41%	59%	38%	62%	28%	72%
1000genomes	45%	55%	64%	36%	70%	30%	7%	93%	43%	57%	45%	55%	41%	59%	24%	76%
	$\chi^2=0,02$ (1gl, p=0,887)		$\chi^2=0,75$ (1gl, p=0,385)		$\chi^2=0,31$ (1gl, p=0,579)		$\chi^2=0,08$ (1gl, p=0,782)		$\chi^2=1,35$ (1gl, p=0,245)		$\chi^2=0,18$ (1gl, p=0,668)		$\chi^2=0,08$ (1gl, p=0,772)		$\chi^2=0,23$ (1gl, p=0,629)	
Salgado, 2012	41%	59%	62%	38%	69%	31%	6%	94%								
	$\chi^2=0,18$ (1gl, p=0,668)		$\chi^2=0,33$ (1gl, p=0,564)		$\chi^2=0,16$ (1gl, p=0,688)		$\chi^2<0,01$ (1gl, p=1,000)									

Nota: As frequências alélicas são apresentadas como porcentagem e foram comparadas por teste qui-quadrado. gl, grau de liberdade.

As análises conduzidas para avaliar a associação de polimorfismos localizados no *MTOR* com desfechos de eficácia e segurança consideraram unicamente os dois grupos tratados com everolimo (TAC5/EVR e TAC10/EVR), para avaliar o efeito de polimorfismos no gene proteína alvo deste inibidor de mTOR.

4.5. Polimorfismos genéticos e desfechos de eficácia

Polimorfismos e função renal do enxerto

A influência dos polimorfismos genéticos sobre a função renal do enxerto (TFGe e creatinina sérica) foi avaliada aos 14 dias, 3 meses e 12 meses pós-transplante renal. Os polimorfismos *MTOR* c.1437T>C e *FOXP3* c.-23+2882A>C influenciaram nas concentrações de creatinina sérica (**Figura 9**), mas não foram associados com TFGe (dados não mostrados).

Os portadores do genótipo CC do *MTOR* c.1437T>C apresentaram creatinina sérica maior no 12º mês (Med = 1,44; IQT = 1,19 – 1,76) que os portadores do alelo T (genótipos CT+TT) ($p=0,047$) (**Figura 9C**). Para o polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C, os portadores do genótipo CC também tiveram creatinina sérica maior no 3º (Med = 1,36; IQT = 1,13 - 1,70; $p = 0,005$) e no 12º mês (Med=1,36, IQT = 1,14-1,65; $p=0,017$) que os portadores do alelo A (genótipos CA+AA) (**Figuras 9E e 9F**, respectivamente).

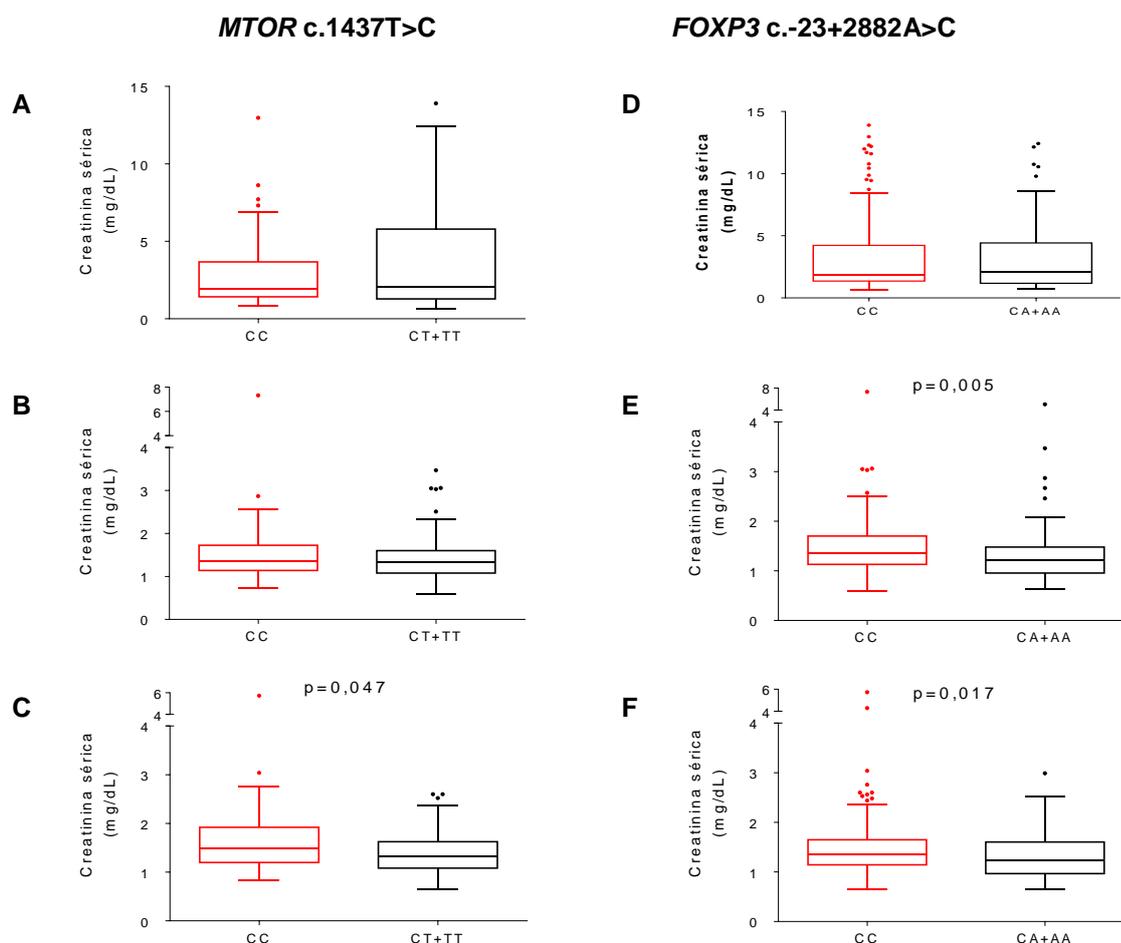


Figura 9. Influência de polimorfismos de *MTOR* e *FOXP3* sobre a creatinina sérica de receptores de transplante renal. 14º dia (A e D); 3º mês (B e E); 12º mês (C e F). Para o estudo do *MTOR* foram incluídos apenas os pacientes tratados com everolimo (n=176). Os dados são mostrados em *Box plot*, no qual mediana é representada pela linha na caixa retangular, e os quartis 25º e 75º são representados pelas bases inferior e superior da caixa, respectivamente. Os dados foram comparados por teste Mann-Whitney.

A associação dos polimorfismos genéticos com creatinina sérica foi também avaliada por análise de regressão logística. Para esta finalidade, as concentrações de creatinina sérica do 12º mês foram divididas em tercis baixo, médio e alto. Os resultados completos destas análises são apresentados, no **Anexo 13**.

Na **Tabela 10**, são apresentados os resultados da associação dos polimorfismos *MTOR* c.1437T>C e *FOXP3* c.-23+2882A>C e variáveis clínicas com creatinina sérica elevada utilizando a análise de regressão logística univariável. Quanto ao polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C, os portadores do genótipo CC tiveram 1,8 vezes maior probabilidade de creatinina sérica elevada do que os portadores de alelo A (OR=1,75; IC95%=1,07-2,86; p=0,025). O polimorfismo *MTOR* c.1437T>C mostrou uma tendência de associação com creatinina sérica alta (p=0,067).

Foi também avaliada a associação de outras variáveis clínicas com a creatinina sérica elevada por análise regressão logística univariável. O risco do receptor de transplante renal ter creatinina sérica elevada aumentou em 3% a cada quilo de peso corporal (OR=1,03; IC95%=1,01-1,05; p=0,002) (**Tabela 10**). Enquanto que o tratamento TAC10/EVR (TAC:0,1mg/kg/12h e EVR:1,5mg/dia) aumentou o risco de creatinina sérica elevada em até 2 vezes (OR=1,99; IC95%=1,1-3,47; p=0,015).

Na **tabela 11**, são apresentados os resultados da análise de regressão logística multivariável para avaliar fatores associados com creatinina sérica elevada, como o peso, idade e etnia do receptor, o grupo de tratamento e a presença de proteinúria. Foram utilizados dois modelos, um para o polimorfismo *FOXP3* e outro para o polimorfismo *MTOR*. Em ambos os modelos, apenas o ganho de peso do receptor se manteve associado com creatinina elevada, mesmo após o ajuste do valor de p.

Tabela 10. Associação de variáveis genéticas e clínicas com creatinina sérica, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Variável independente	Fator de risco	OR (IC95%)	p
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	1,74 (0,96 – 3,15)	0,067
	CT+TT	Referencia	
<i>FOXP3</i> c.-23+2882A>C	CC	1,75 (1,07 – 2,86)	0,025
	CA+AA	Referência	
Idade do receptor	Por cada 1 ano	0,99 (0,97 – 1,00)	0,121
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,03 (1,01 – 1,05)	0,002
Etnia do receptor	Branco	Referência	
	Negro	1,01 (0,51 – 1,99)	0,974
	Pardo	1,47 (0,88 – 2,44)	0,138
Tipo de doador	Falecido	0,81 (0,50 - 1,31)	0,381
Tempo de diálise	Por cada 1 mês	1,00 (0,99 – 1,01)	0,843
Tempo de FRT	Por cada 1 dia	1,02 (0,99 – 1,06)	0,206
Tempo de IF	Por cada 1 hora	0,99 (0,97 – 1,02)	0,612
Grupo terapêutico	TAC10+MFS	Referência	
	TAC10/EVR	1,99 (1,14 – 3,47)	0,015
	TAC5/EVR	1,28 (0,72 – 2,25)	0,402
Co/Do de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1	0,96 (0,81 – 1,14)	0,657
	ng*kg*h/mL*mg		
Proteinúria	Presença de EA	1,88 (0,86 – 4,12)	0,112

Nota: OR: *Odds ratio*; IC: intervalo de confiança. Co/Do: concentração corrigida pela dose; FRT: função renal tardia; IF: isquemia fria; EA: evento adverso.

Tabela 11. Fatores associados com creatinina sérica elevada, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável

Variável independente	Fator de risco	OR (IC95%)	p	p ajustado*
Modelo 1				
<i>FOXP3</i> c.-23+2882A>C	Alelo CC	1,62 (0,97 – 2,69)	0,065	0,390
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,03 (1,02 – 1,05)	<0,0001	0,008
Idade do receptor	Por cada 1 ano	0,99 (0,97 – 1,01)	0,157	0,512
Etnia	Branca	Referência		
	Negro	0,87 (0,43 – 1,78)	0,707	1,000
	Pardo	1,64 (0,97 – 2,80)	0,067	0,390
Grupo terapêutico	TAC10/MFS	Referência		
	TAC10/EVR	2,15 (1,22 – 3,81)	0,008	0,056
	TAC5/EVR	1,22 (0,68 – 2,19)	0,503	1,000
Proteinúria	Presença de EA	1,89 (0,83 – 4,30)	0,128	0,512
Modelo 2				
<i>MTOR</i> c.1437T>C	Alelo CC	1,67 (0,91 – 3,08)	0,101	0,500
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,04 (1,01 – 1,06)	0,002	0,014
Idade do receptor	Por cada 1 ano	1,00 (0,97 – 1,02)	0,635	1,000
Etnia	Branca	Referência		
	Negro	1,13 (0,50 – 2,57)	0,776	1,000
	Pardo	2,17 (1,11 – 4,23)	0,023	0,138
Grupo terapêutico	TAC5/EVR	Referência		
	TAC10/EVR	1,63 (0,91 – 2,93)	0,100	0,500
Proteinúria	Presença de EA	1,82 (0,70 – 4,68)	0,217	0,651

Nota: *Valor p ajustado pelo teste de Holm-Bonferroni. OR: *Odds ratio*; IC: intervalo de confiança; EA: evento adverso.

Polimorfismos e rejeição aguda

Na **Tabela 12**, são apresentados os resultados de associação entre os polimorfismos genéticos e os episódios de rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante renal, utilizando a análise de regressão logística univariável. Observa-se que os pacientes portadores do alelo G do *MTOR* c.4731A>G (genótipos AG+GG) têm risco de rejeição três vezes maior (OR=3,37, IC95%=1,0-10,30, p=0,033) que os portadores do genótipo AA. Os demais polimorfismos não foram associados com rejeição aguda (p>0,05).

Tabela 12. Associação de polimorfismos genéticos com rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Rejeição aguda		OR (IC95%)	p
		Ausência	Presença		
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	93,7% (59)	6,3% (4)	Referência	0,033
	AG+GG	81,4% (92)	18,6% (21)	3,37 (1,10 – 10,30)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	87,5% (56)	12,5% (8)	Referência	0,625
	CT+TT	84,8% (95)	15,2% (17)	1,25 (0,51 – 3,09)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	86,3% (63)	13,7% (10)	Referência	0,871
	TC+CC	85,4% (88)	14,6% (15)	1,07 (0,45 – 2,55)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	84,8% (195)	15,2% (35)	Referência	0,698
	GA+AA	87,2% (34)	12,8% (5)	0,82 (0,30 – 2,24)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	84,7% (100)	15,3% (18)	Referência	0,876
	TC+CC	85,4% (129)	14,6% (22)	0,95 (0,48 – 1,86)	
<i>FKBP2</i> n.259+24936T>C	GG	87,8% (79)	12,2% (11)	Referência	0,388
	GT+TT	83,8% (150)	16,2% (29)	1,39 (0,66 – 2,93)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	85,9% (122)	14,1% (20)	Referência	0,702
	GA+AA	84,3% (107)	15,7% (20)	1,14 (0,58 – 2,23)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	CC	84,6% (148)	15,4% (27)	Referência	0,725
	CA+AA	86,2% (81)	13,8% (13)	0,88 (0,43 – 1,80)	

Nota: As frequências são apresentadas em porcentagem e o número de indivíduos em parênteses. OR: *Odds ratio*; IC95: intervalo de confiança.

Na **figura 10**, são apresentados resultados de influência do polimorfismo *MTOR* c.4731G>A sobre a incidência cumulativa de rejeição aguda, utilizando a análise de sobrevivência Kaplan-Meier. No 1º ano pós-transplante, os indivíduos portadores do alelo G (AG+GG) tiveram mais episódios de rejeição aguda (18,6%, n=21) que os portadores do genótipo AA (6,3%, n=4) (log-rank p=0,027).

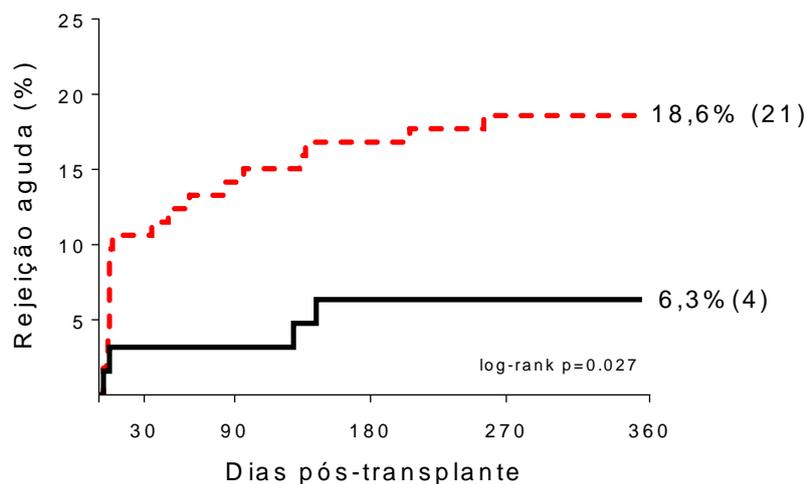


Figura 10. Associação do polimorfismo *MTOR* c.4731G>A com incidência cumulativa rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante renal. Linha sólida representa o genótipo AA. Linha tracejada representa o alelo G (genótipo AG+GG). O valor de Log-rank p foi estimado utilizando análise de sobrevivência Kaplan-Meier.

Para avaliar a associação entre o polimorfismo *MTOR* c.4731G>A e a rejeição aguda no contexto clínico, foram consideradas covariáveis clínicas relevantes. Foi observado que o tempo de FRT e a Co/Do de tacrolimo foram associados com a rejeição aguda (**Tabela 13**). Por cada dia adicional que o paciente foi exposto à FRT, as chances de desenvolver um episódio de rejeição aguda, no primeiro ano pós-transplante aumentam em 8% (OR=1,08; IC95% = 1,03-1,14; p=0,002). Enquanto que o aumento em uma unidade de Co/Do de tacrolimo diminui em 50% o risco de apresentar rejeição aguda (OR=0,43; IC95%=0,23- 0,81; p=0,009).

Os fatores associados com rejeição aguda foram avaliados por análise de regressão logística multivariável e são apresentados na **Tabela 14**. O tempo de exposição à FRT se manteve como único fator de risco para episódios de rejeição, em ambos os modelos de análise (p ajustado < 0,05). O aumento da Co/Do de tacrolimo diminuiu em 50% a probabilidade de rejeição aguda, mas somente no modelo 2.

Tabela 13. Associação de variáveis clínicas com rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Variável independente	Fator de risco	OR (IC95%)	p
Idade do receptor	Por cada 1 ano	0,98 (0,95 – 1,01)	0,146
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,03 (0,99 – 1,06)	0,097
Etnia do receptor	Branca	Referência	
	Pardo	1,95 (0,75 – 5,03)	0,170
	Negro	1,81 (0,55 – 5,91)	0,328
Tipo de doador	Falecido	0,71 (0,29 – 1,72)	0,447
Tempo de diálise	Por cada 1 mês	1,00 (0,99 – 1,02)	0,509
Tempo de função renal tardia	Por cada 1 dia	1,08 (1,03 – 1,14)	0,002
Tempo de isquemia fria	Por cada 1 hora	1,00 (0,96 – 1,04)	0,880
Co/Do de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng*kg*h/mL*mg	0,43 (0,23 – 0,81)	0,009

Nota: OR: Odds ratio; IC: intervalo de confiança.

Tabela 14. Fatores associados com rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável

Variável independente	Fator de risco	OR (IC95%)	p	p ajustado*
Modelo 1				
<i>MTOR</i> c.4731G>A	Alelo G	3,73 (0,93 – 14,89)	0,063	0,252
Idade	Por cada 1 ano	1,01 (0,97 – 1,05)	0,722	1,000
Peso	Por cada 1 quilo	1,04 (1,00 – 1,08)	0,037	0,185
Etnia	Branca	Referência		
	Pardo	1,21 (0,37 – 3,88)	0,754	1,000
	Negro	0,66 (0,15 – 2,85)	0,579	1,000
Tempo de função renal tardia	Por cada 1 dia	1,09 (1,03 – 1,16)	0,005	0,035
Co/Do de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng*kg*h/mL*mg	0,42 (0,21 – 0,83)	0,013	0,078
Modelo 2				
<i>MTOR</i> c.4731G>A	Alelo G	3,56 (0,90 – 14,02)	0,069	0,104
Peso	Por cada 1 quilo	1,04 (1,00 – 1,07)	0,052	0,104
Tempo de função renal tardia	Por cada 1 dia	1,09 (1,03 – 1,16)	0,005	0,020
Co/Do de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng*kg*h/mL*mg	0,43 (0,22 – 0,82)	0,010	0,030

Nota: O modelo 1 foi gerado com todos os preditores que apresentaram valor $p < 0,2$ no modelo univariável. O modelo multivariável 2 foi gerado a partir da seleção dos preditores do modelo multivariável 1, excluindo-se variáveis com valor $p > 0,1$. *Valor de p foi ajustado pelo teste de Holm-Bonferroni. OR: *Odds ratio*; IC: intervalo de confiança; Co/Do: concentração corrigida pela dose.

4.6. Polimorfismos genéticos e desfechos de segurança

Infeções e infestações – citomegalovirus

No **Anexo 14**, são apresentados os resultados de associação dos polimorfismos genéticos com os eventos por CMV. Nenhum dos polimorfismos genéticos foi relacionado com esta variável, no 1º ano pós-transplante ($p>0,05$).

Distúrbios sanguíneos e linfáticos – anemia e leucopenia

Os resultados da associação entre polimorfismos genéticos e leucopenia, no 1º ano pós-transplante, estão descritos na **Tabela 15**. Os portadores do alelo G do *FKBP2* c.-2110G>T (genótipo GG) tiveram maior probabilidade de apresentar leucopenia quando comparado com os portadores do genótipo GT+TT (OR=3,87; IC95%=1,26-11,91; $p=0,018$). Os demais polimorfismos não foram associados com leucopenia ($p>0,05$). Nenhum polimorfismo foi associado com eventos de anemia ($p>0,05$) (**Anexo 15**).

Ao analisar as variáveis clínicas observou-se que o tratamento TAC/MFS aumentou em 3 vezes o risco de leucopenia (OR=3,66; IC95%=1,19-11,28; $p=0,024$). Além disso, a cada 1 ng/mL adicional de tacrolimo, o risco de apresentar leucopenia aumentou em 23% (OR=1,23; IC95%=1,03-1,46; $p=0,022$) (**Tabela 16**).

Pela análise de regressão logística multivariável, o genótipo GG do *FKBP2* c.-2110G>T permaneceu como único fator associado com risco de leucopenia (OR=7,10; IC95%=1,81-27,87; p ajustado=0,025) (**Tabela 17**). O peso do receptor e o tratamento TAC/MFS também foram associados com leucopenia, mas esta relação não foi mantida após o ajuste do valor de p para comparações múltiplas.

Tabela 15. Associação de polimorfismos genéticos com leucopenia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Leucopenia (Não)	Leucopenia (Sim)	OR (IC95%)	p
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	94,4% (84)	5,6% (5)	1,13 (0,37 – 3,48)	0,830
	AG+GG	95,0% (171)	5,0% (9)	Referência	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	94,4% (85)	5,6% (5)	1,11 (0,36 – 3,42)	0,854
	CT+TT	95,0% (170)	5,0% (9)	Referência	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	TT	94,7% (108)	5,3% (6)	1,02 (0,34 – 3,03)	0,970
	TC+CC	94,8% (147)	5,2% (8)	Referência	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	94,8% (218)	5,2% (12)	1,02 (0,22 – 4,74)	0,982
	GA+AA	94,9% (37)	5,1% (2)	Referência	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	93,2% (110)	6,8% (8)	1,76 (0,59 – 5,21)	0,309
	TC+CC	96,0% (145)	4,0% (6)	Referência	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	90,0% (81)	10,0% (9)	3,87 (1,26 – 11,91)	0,018
	GT+TT	97,2% (174)	2,8% (5)	Referência	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	95,1% (135)	4,9% (7)	0,89 (0,30 – 2,61)	0,830
	GA+AA	94,5% (120)	5,5% (7)	Referência	
<i>FOXP3</i> c.-23+2882A>C	CC	95,4% (167)	4,6% (8)	0,70 (0,24 – 2,09)	0,525
	CA+AA	93,6% (88)	6,4% (6)	Referência	

Nota: As frequências são apresentadas como porcentagem e o número de indivíduos, em parênteses. OR: *Odds ratio*; IC: intervalo de confiança.

Tabela 16. Associação de variáveis clínicas com leucopenia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Variável	Fator de risco	OR (IC95%)	p
Idade do receptor	Por cada 1 ano	0,97 (0,93 – 1,01)	0,113
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,03 (0,99 – 1,07)	0,122
Grupo terapêutico	Uso de TAC+EVR	Referência	
	Uso de TAC+MFS	3,66 (1,19 – 11,28)	0,024
Concentração de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng/mL	1,23 (1,03 – 1,46)	0,022

Nota: OR: *Odds ratio*; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 17. Fatores associados com leucopenia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável

Variável independente	Fator de risco	OR (IC95%)	p	p ajustado*
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	Genótipo GG	7,10 (1,81 – 27,87)	0,005	0,025
Idade do receptor	Por cada 1 ano	0,97 (0,92 – 1,02)	0,190	0,260
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,06 (1,01 – 1,12)	0,014	0,056
Grupo terapêutico	Uso de TAC+EVR	Referência		
	Uso de TAC+MFS	5,48 (1,39 – 21,64)	0,015	0,056
Concentração de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng/mL	1,21 (0,95 – 1,54)	0,130	0,260

Nota: *Valor p ajustado pelo teste de Holm-Bonferroni. OR: Odds ratio; IC95: intervalo de confiança.

Distúrbios gastrointestinais – constipação, epigastralgia, náuseas e/ou vômitos

Em relação aos distúrbios gastrointestinais, os resultados completos da associação entre polimorfismos genéticos e os eventos de diarreia e dispepsia são apresentados nos **Anexos 16 e 17**, respectivamente.

Na **Tabela 18**, são apresentados os resultados da análise de associação entre os polimorfismos genéticos e os eventos de constipação. Indivíduos portadores do alelo C de *FKBP1A* n.259+24936C (genótipo TC+CC) tiveram duas vezes maior probabilidade de apresentar constipação (OR=2,52; IC95%=1,13-5,61; p=0,024) que os portadores do genótipo TT. A constipação não foi associada com variáveis clínicas no modelo de análise de regressão logística univariável (**Tabela 19**).

Pela análise de regressão multivariável, o polimorfismo *FKBP1A* n.259+24936T>C foi associado com constipação, mas esta relação não foi mantida após ajuste do valor de p para comparações múltiplas (**Tabela 20**).

O polimorfismo *FOXP3* c.-22-902A>G foi associado com eventos de epigastralgia, tendo o portador de alelo A de (genótipo GA+AA) o dobro de risco em comparação com o portador do genótipo GG (OR=2,15; IC95%=1,01-4,56; p=0,047) (**Tabela 21**). Os demais polimorfismos (**Tabela 21**) e as variáveis clínicas (**Tabela 22**) não foram relacionados com epigastralgia. Pela análise de regressão logística multivariável o polimorfismo *FOXP3* c.-22-902A>G se manteve associado com este evento adverso gastrointestinal mesmo após o ajuste do valor de p (**Tabela 23**).

Tabela 18. Associação de polimorfismos genéticos com constipação, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Constipação (Não)	Constipação (Sim)	OR (IC95%)	p
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	87,3% (55)	12,7% (8)	Referência	0,677
	AG+GG	89,4% (101)	10,6% (12)	0,82 (0,32 – 2,12)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	87,5% (56)	12,5% (8)	Referência	0,720
	CT+TT	89,3% (100)	10,7% (12)	0,84 (0,32 – 2,18)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	86,3% (63)	13,7% (10)	Referência	0,413
	TC+CC	90,3% (93)	9,7% (10)	0,68 (0,27 – 1,72)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	87,4% (201)	12,6% (29)	Referência	0,634
	GA+AA	84,6% (33)	15,4% (6)	1,26 (0,49 – 3,27)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	92,4% (109)	7,6% (9)	Referência	0,024
	TC+CC	82,8% (125)	17,2% (26)	2,52 (1,13 – 5,61)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	87,8% (79)	12,2% (11)	Referência	0,785
	GT+TT	86,6% (155)	13,4% (24)	1,11 (0,52 – 2,39)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	85,2% (121)	14,8% (21)	Referência	0,361
	GA+AA	89,0% (113)	11,0% (14)	0,71 (0,35 – 1,47)	
<i>FOXP3</i> c.-23+2882A>C	CC	85,7% (150)	14,3% (25)	Referência	0,398
	CA+AA	89,4% (84)	10,6% (10)	0,71 (0,33 – 1,56)	

Nota: As frequências são apresentadas como porcentagem e o número de indivíduos em parênteses. OR: *Odds ratio*; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 19. Associação de variáveis clínicas com constipação, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Variável	Fator de risco	OR (IC95%)	p
Idade do receptor	Por cada 1 ano	1,00 (0,98 – 1,03)	0,768
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,01 (0,99 – 1,04)	0,290
Grupo terapêutico	Uso de TAC+EVR	Referência	
	Uso de TAC+MFS	1,50 (0,73 – 3,09)	0,271
Concentração de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng/mL	0,90 (0,73 – 1,10)	0,293

Nota: OR: *Odds ratio*; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 20. Fatores associados com constipação, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável

Variável independente	Fator de risco	OR (IC95%)	p	p ajustado*
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	Genótipo TC+CC	2,74 (1,16 – 6,45)	0,021	0,105
Idade do receptor	Por cada 1 ano	0,99 (0,97 – 1,03)	0,951	1,000
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,00 (0,98 – 1,04)	0,566	1,000
Grupo terapêutico	Uso de TAC+EVR	Referência		
	Uso de TAC+MFS	1,93 (0,86 – 4,33)	0,112	0,448
Concentração de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng/mL	0,86 (0,69 – 1,08)	0,189	0,567

Nota: *Valor p ajustado pelo teste de Holm-Bonferroni. OR: Odds ratio; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 21. Associação de polimorfismos genéticos com epigastralgia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Epigastralgia		OR (IC95%)	p
		Ausente	Presente		
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	87,3% (55)	12,7% (8)	Referência	0,421
	AG+GG	91,2% (103)	8,8% (10)	0,67 (0,25 – 1,79)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	87,5% (56)	12,5% (8)	Referência	0,454
	CT+TT	91,1% (102)	8,9% (10)	0,69 (0,26 – 1,84)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	87,7% (64)	12,3% (9)	Referência	0,441
	TC+CC	91,3% (94)	8,7% (9)	0,68 (0,26 – 1,81)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	87,8% (202)	12,2% (28)	Referência	0,909
	GA+AA	87,2% (34)	12,8% (5)	1,06 (0,38 – 2,94)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	87,3% (103)	12,7% (15)	Referência	0,929
	TC+CC	88,1% (133)	11,9% (18)	0,93 (0,45 – 1,93)	
<i>FKBP2</i> c.249G>A	GG	87,8% (79)	12,2% (11)	Referência	0,987
	GT+TT	87,7% (157)	12,3% (22)	1,00 (0,47 – 2,18)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	91,5% (130)	8,5% (12)	Referência	0,047
	GA+AA	83,5% (106)	16,5% (21)	2,15 (1,01 – 4,56)	
<i>FOXP3</i> c.-23+2882A>C	CC	85,1% (149)	14,9% (26)	Referência	0,083
	CA+AA	92,6% (87)	7,4% (7)	0,46 (0,19 – 1,11)	

Nota: As frequências são apresentadas como porcentagem e o número de indivíduos em parênteses. OR: Odds ratio; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 22. Associação de variáveis clínicas com epigastralgia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Variável	Fator de risco	OR (IC95%)	P
Idade do receptor	Por cada 1 ano	1,01 (0,98 – 1,04)	0,468
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,01 (0,98 – 1,04)	0,428
Grupo terapêutico	Uso de TAC+EVR	Referência	
	Uso de TAC+MFS	1,69 (0,81 – 3,53)	0,164
Concentração de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng/mL	0,93 (0,77 – 1,13)	0,463

Nota: OR: Odds ratio; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 23. Fatores associados com epigastralgia, no 1º ano pós-transplante: Regressão logística multivariável

Variável independente	Fator de risco	OR (IC95%)	P	P ajustado*
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	Genótipo GA+AA	3,39 (1,43 – 8,05)	0,006	0,030
Idade do receptor	Por cada 1 ano	1,01 (0,98 – 1,04)	0,693	1,000
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,01 (0,98 – 1,04)	0,538	1,000
Grupo terapêutico	Uso de TAC+EVR	Referência		
	Uso de TAC+MFS	1,87 (0,82 – 4,24)	0,136	0,544
Concentração de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng/mL	0,83 (0,65 – 1,07)	0,149	0,544

Nota: *Valor p ajustado pelo teste de Holm-Bonferroni. OR: Odds ratio; IC:, intervalo de confiança.

Na análise de regressão univariável, a variante *FOXP3* c.-23+2882A>C foi associada com náuseas e vômitos, no primeiro ano pós-transplante renal, sendo que os portadores do alelo A (genótipos CA+AA) tiveram o dobro de probabilidade de apresentar náuseas e/ou vômitos (OR=2,38; IC95%=1,05-5,38; p=0,038) (**Tabela 24**). A análise das variáveis clínicas mostrou que o ganho de peso do receptor de transplante renal aumenta o risco deste evento adverso (**Tabela 25**).

Pela análise de regressão logística multivariável, os polimorfismos genéticos e as variáveis clínicas não foram associados com a manifestação de náusea/vômito (**Tabela 26**).

Tabela 24. Associação de polimorfismos genéticos com náuseas e/ou vômitos, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Náuseas e/ou vômitos		OR (IC95%)	P
		Ausente	Presente		
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	92,1% (58)	7,9% (5)	Referência	0,565
	AG+GG	89,4% (101)	10,6% (12)	1,38 (0,46 – 4,11)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	90,6% (58)	9,4% (6)	Referência	0,923
	CT+TT	90,2% (101)	9,8% (11)	1,05 (0,37 – 3,00)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	90,4% (66)	9,6% (7)	Referência	0,979
	TC+CC	90,3% (93)	9,7% (10)	1,01 (0,37 – 2,80)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	90,9% (209)	9,1% (21)	Referência	0,473
	GA+AA	87,2% (34)	12,8% (5)	1,46 (0,52 – 4,14)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	89,8% (106)	10,2% (12)	Referência	0,805
	TC+CC	90,7% (137)	9,3% (14)	0,90 (0,40 – 2,03)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	90,0% (81)	10,0% (9)	Referência	0,895
	GT+TT	90,5% (162)	9,5% (17)	0,94 (0,40 – 2,21)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	88,0% (125)	12,0% (17)	Referência	0,180
	GA+AA	92,9% (118)	7,1% (9)	0,56 (0,24 – 1,31)	
<i>FOXP3</i> c.-23+2882A>C	CC	93,1% (163)	6,9% (12)	Referência	0,038
	CA+AA	85,1% (80)	14,9% (14)	2,38 (1,05 – 5,38)	

Nota: As frequências são apresentadas como porcentagem e o número de indivíduos em parênteses. OR: *Odds ratio*; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 25. Associação de variáveis clínicas com náusea e/ou vômitos, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Variável	Fator de risco	OR (IC95%)	P
Idade do receptor	Por cada 1 ano	1,01 (0,98 – 1,04)	0,587
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,03 (1,00 – 1,06)	0,038
Grupo terapêutico	Uso de TAC+EVR	Referência	
	Uso de TAC+MFS	1,00 (0,43 – 2,35)	0,996
Concentração de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng/mL	0,98 (0,80 – 1,19)	0,811

Nota: OR: *Odds ratio*; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 26. Fatores associados com náuseas e/ou vômitos, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística multivariável

Variável independente	Fator de risco	OR (IC95%)	P
<i>FOXP3</i> c.-23+2882A>C	Genótipo CA+AA	2,03 (0,79 – 5,18)	0,139
Idade do receptor	Por cada 1 ano	1,01 (0,98 – 1,04)	0,598
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	1,03 (0,99 – 1,07)	0,089
Grupo terapêutico	Uso de TAC+EVR	Referência	
	Uso de TAC+MFS	0,76 (0,27 – 2,13)	0,605
Concentração de tacrolimo no 12º mês	Por cada 1 ng/mL	0,99 (0,81 – 1,22)	0,939

Nota: OR: Odds ratio; IC95: intervalo de confiança.

Distúrbios gerais e condições do local de administração - edema

Em relação aos distúrbios gerais e condições do local de administração, os resultados da associação entre os polimorfismos genéticos e edema localizado são apresentados no **Anexo 18**. Não se evidenciou relação entre os polimorfismos e este desfecho ($p>0.05$).

Distúrbios metabólicos - hiperglicemia, diabetes, dislipidemia

Em relação aos distúrbios metabólicos, no **Anexo 19** e **20**, são apresentados os resultados da associação entre os polimorfismos genéticos e os episódios de hiperglicemia e diabetes pós-transplante. Nenhum dos polimorfismos foi associado com estes distúrbios metabólicos.

A dislipidemia foi identificada utilizando os critérios da V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose (XAVIER *et al.*, 2013), que classifica a dislipidemia em 4 tipos. Neste estudo, foi considerado qualquer tipo de dislipidemia.

Na **Tabela 27**, encontram-se os resultados da associação de polimorfismos genéticos com dislipidemia, no primeiro ano pós-transplante renal. Observa-se que os pacientes portadores do alelo G de *FKBP2* c.-2110G>T (genótipo GG) tiveram mais de 1,9 vezes maiores chances de apresentar dislipidemia (OR=1,92; IC95%=1,01-3,69; $p=0,049$). De forma similar, os portadores do alelo G do *FOXP3* c.-22-902 (genótipo GG) tiveram mais do dobro de probabilidades de apresentar este evento adverso. Os demais polimorfismos (**Tabela 27**) e as variáveis clínicas (**Tabela 28**) não foram associados com dislipidemia pós-transplante.

Na análise de regressão multivariável, os genótipos *FKBP2c*-2110GG e *FOXP3 c*.-22-902GG foram associados com dislipidemia ($p < 0,05$), mas as relações não permaneceram após o ajuste do valor de p para comparações múltiplas (**Tabela 29**).

Tabela 27. Associação de polimorfismos genéticos com dislipidemia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Dislipidemia		OR (IC95%)	p
		Ausente	Presente		
<i>MTOR c</i> .4731G>A	AA	71,4% (45)	28,6% (18)	0,68 (0,35 – 1,32)	0,250
	AG+GG	62,8% (71)	37,2% (42)	Referência	
<i>MTOR c</i> .1437T>C	CC	70,3% (45)	29,7% (19)	0,73 (0,38 – 1,41)	0,352
	CT+TT	63,4% (71)	36,6% (41)	Referência	
<i>MTOR c</i> .2997C>T	TT	68,5% (50)	31,5% (23)	0,82 (0,43 – 1,55)	0,543
	TC+CC	64,1% (66)	35,9% (37)	Referência	
<i>PPP3CA c</i> .249G>A	GG	67,3% (103)	32,7% (50)	0,63 (0,26 – 1,54)	0,311
	GA+AA	56,5% (13)	43,5% (10)	Referência	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	64,0% (48)	36,0% (27)	1,16 (0,62 – 2,17)	0,645
	TC+CC	67,3% (68)	32,7% (33)	Referência	
<i>FKBP2 c</i> .-2110G>T	GG	55,9% (33)	44,1% (26)	1,92 (1,01 – 3,69)	0,049
	GT+TT	70,9% (83)	29,1% (34)	Referência	
<i>FOXP3 c</i> .-22-902A>G	GG	58,5% (55)	41,5% (39)	2,06 (1,08 – 3,92)	0,028
	GA+AA	74,4% (61)	25,6% (21)	Referência	
<i>FOXP3 c</i> .-23+2882A>C	CC	67,8% (78)	32,2% (37)	0,78 (0,41 – 1,50)	0,462
	CA+AA	62,3% (38)	37,7% (23)	Referência	

Nota: As frequências são apresentadas como porcentagem e o número de indivíduos em parênteses. OR: *Odds ratio*; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 28. Associação de variáveis clínicas com dislipidemia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Variável	Fator de risco	OR (IC95%)	p
Idade do receptor	Por cada 1 ano	1,00 (0,98 – 1,02)	0,876
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	0,99 (0,96 – 1,01)	0,238
Histórico de dislipidemia	Algum tipo de dislipidemia	0,67 (0,26 – 1,69)	0,392

Nota: OR: *Odds ratio*; IC95: intervalo de confiança.

Tabela 29. Fatores associados com dislipidemia, no 1º ano pós-transplante renal:
Regressão logística multivariável

Variável independente	Fator de risco	OR (IC95%)	p	p ajustado*
<i>Modelo 1</i>				
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	Genótipo GG	1,97 (1,01 – 3,84)	0,048	0,192
Idade do receptor	Por cada 1 ano	1,00 (0,98 – 1,03)	0,863	1,000
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	0,99 (0,96 – 1,01)	0,305	0,915
Histórico de dislipidemia	Algum tipo de dislipidemia	0,74 (0,28 – 2,01)	0,559	1,000
<i>Modelo 2</i>				
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	Genótipo GG	2,16 (1,10 – 4,23)	0,025	0,100
Idade do receptor	Por cada 1 ano	1,00 (0,98 – 1,03)	0,948	0,546
Peso do receptor	Por cada 1 quilo	0,98 (0,96 – 1,01)	0,182	1,000
Histórico de dislipidemia	Algum tipo de dislipidemia	0,87 (0,32 – 2,35)	0,776	1,000

Nota: *Valor p ajustado pelo teste de Holm-Bonferroni. OR: Odds ratio; IC95: intervalo de confiança.

Distúrbios urinários e renais - proteinúria

Dentre os distúrbios renais, no **Anexo 21** são apresentados os resultados da associação entre os polimorfismos genéticos e proteinúria. Nenhum dos polimorfismos foi associado com este desfecho no primeiro ano pós-transplante ($p > 0,05$).

5. DISCUSSÃO

Neste estudo, foi observada maior proporção de receptores do gênero masculino. A prevalência do gênero masculino em receptores de transplante renal foi observada em um estudo na cidade de São Paulo (CORDEIRO *et al.*, 2013) e em regiões como do Centro-Oeste e Sudeste do Brasil (BRAGA *et al.*, 2016; KROTH *et al.*, 2016). Também foi descrito em outras populações mundiais, em um estudo de meta-análise (SANTIAGO *et al.*, 2015).

Dentre as etiologias de DRC identificadas, neste estudo, a glomerulonefrite foi a mais frequente, seguido de hipertensão e diabetes. No estudo de Cordeiro e colaboradores, diabetes representou a primeira causa de DRC no grupo de pacientes atendidos na cidade de São Paulo (CORDEIRO *et al.*, 2013).

Dentre as terapias de substituição renal, a hemodiálise foi a mais utilizada. O último inquérito brasileiro de diálise crônica relatou que 90,3% dos quase 112 000 pacientes com DRC utiliza hemodiálise (SESSO *et al.*, 2016). Um estudo realizado por Ivani e colaboradores compilou 10 estudos conduzidos no HRH/UNIFESP e relatou que 92,7% dos receptores de transplante renal fizeram uso de hemodiálise (IVANI DE PAULA *et al.*, 2015).

Em relação aos doadores, o nosso estudo registra uma maior frequência de doadores falecidos, o que é condizente com o reportado nos diferentes sistemas de saúde da América Latina (CUSUMANO *et al.*, 2016), e dos Estados Unidos, onde menos de um terço corresponde à proporção dos doadores vivos (UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, 2017). No estudo de Ivani e colaboradores foi observada menor proporção de doadores falecidos (6,7%), mas, como indicado pelos autores, foi devido aos critérios de inclusão pré-definidos dos ensaios clínicos realizados frequentemente no centro hospitalar e que ocasiona este viés na seleção (IVANI DE PAULA *et al.*, 2015).

Em relação ao monitoramento terapêutico, as concentrações de tacrolimo do grupo TAC10/MFS foram maiores em relação ao grupo TAC10/EVR a partir do 2º até o 12º mês. Já o grupo TAC5/EVR teve concentrações de tacrolimo similares ao grupo TAC10/EVR a partir do 5º mês em diante.

Segundo um achado de Pascual e colaboradores, após administração de everolimo, a redução das concentrações de tacrolimo pode ser devido ao metabolismo de CYP3A4/CYP3A5 induzido dependente das doses deste iMTOR (PASCUAL *et al.*, 2010). Assim, a pesar dos grupos TAC10/EVR e TAC10/MFS receberem doses de 0,1 mg/kg/12h, isto explicaria porque as concentrações no

grupo TAC10/EVR foram menores no 3º mês pós-transplante, inclusive antes de serem ajustadas para 3 a 5 ng/ml.

Neste estudo, o grupo TAC10/MFS teve TFGe maior e creatinina sérica menor, no 3º, 9º e 12º mês comparado ao grupo TAC10/EVR, entretanto, não foram observadas diferenças em relação ao grupo TAC5/EVR.

Um estudo prospectivo comparou um esquema imunossupressor com ciclosporina com a conversão para everolimo (concentrações de 6 a 10 ng/mL), a partir do 4º mês pós-transplante, sendo que o grupo everolimo teve valores TFGe maiores que o grupo ciclosporina, até o 5º ano pós-transplante. Os autores concluíram que a conversão para everolimo contribui para a melhora da função renal do enxerto que é sustentada até o 5º ano pós-transplante (BUDDE *et al.*, 2015).

Na revisão de Zsom e colaboradores, pesquisas reportaram que a introdução precoce de everolimo em regimes terapêuticos baseados em iCAN, favorece a preservação da TFGe e diminui a incidência de infecções e malignidades, e a nefrotoxicidade associada à iCAN (ZSOM *et al.*, 2015). Entretanto, a introdução de everolimo pode estar associada com aumento de proteinúria e aparecimento de anticorpos específicos contra o aloenxerto renal (LIEFELDT *et al.*, 2012) que, em longo prazo, aumentam o risco de perda de enxerto (BUDDE *et al.*, 2011).

Uma meta-análise avaliou desfechos de eficácia e segurança em transplante renal, em 11 ensaios clínicos, que analisaram esquemas com iCAN combinados com iMTOR (everolimo ou sirolimo) ou MPA. Em relação à função renal, para doses iguais de iCAN, o grupo MPA apresentou valores superiores de TFGe e concentrações menores de creatinina sérica, o que não foi observado no grupo tratado com iMTOR com doses reduzidas de iCAN (XIE *et al.*, 2015).

No estudo de Ivani de Paula e colaboradores, foi comparada a eficácia e segurança em longo prazo do uso *de novo* de iMTOR e antimetabólitos, em combinação com iCAN, em receptores de transplante renal *de novo*. Os valores de mediana de TFGe foram similares entre os grupos, porém, os autores propuseram que este resultado pode ter sido influenciado pela maior proporção de doadores vivos que tinham uma função renal residual maior pré-transplante (IVANI DE PAULA *et al.*, 2015).

Além da terapia imunossupressora de manutenção, é necessário também ressaltar o papel da terapia de indução na função renal. Timoglobulina é um anticorpo policlonal de atividade biológica prolongada que induz citotoxicidade nas subpopulações celulares de linfócitos T por meio da união com múltiplos receptores

de superfície, diminuindo indiretamente a liberação de citocinas e a atividade pró-inflamatória no enxerto (ARIAS *et al.*, 2009).

Neste estudo, os valores de TFGe e concentrações de creatinina sérica foram similares ao longo do período de acompanhamento entre os grupos TAC5/EVR e TAC10/MFS. É importante ressaltar que os receptores dos grupos TAC10/EVR e TAC10/MFS receberam indução por basiliximabe, inibidor do receptor de IL-2, enquanto o grupo TAC5/EVR foi tratado com timoglobulina.

Um estudo comparou a eficácia em longo prazo de terapia de indução com inibidores do receptor de IL-2 (basiliximabe ou daclizumabe) ou timoglobulina versus sem terapia de indução, sem diferença na creatinina sérica, no 3º ano pós-transplante. Os autores concluíram que o uso de timoglobulina favorece a sobrevida do enxerto, comparável ao grupo com inibidores do receptor de IL-2 (TABER *et al.*, 2008).

Uma meta-análise avaliou o benefício da indução com inibidores do receptor de IL-2 (basiliximabe ou daclizumabe), em esquemas imunossupressores vigentes, frente a terapias sem indução ou induzidas com timoglobulina. Os grupos tratados com inibidores do receptor de IL-2 tiveram creatinina sérica mais baixa e menor taxa de eventos de malignidades e CMV que os grupos tratados com timoglobulina, no 6º mês pós-transplante (WEBSTER *et al.*, 2010).

Em um estudo realizado no HRH/UNIFESP, foi comparado o uso de timoglobulina em receptores de transplante renal de alto risco imunológico frente a três grupos de baixo risco imunológico tratados independentemente com timoglobulina, basiliximabe ou sem terapia de indução. Em relação à função renal, a TFGe média dos grupos foi de 55,4 ml/min, no 1º ano pós-transplante, e sem diferenças entre os grupos (RIBEIRO *et al.*, 2016).

Não há consenso no efeito da terapia de indução sobre a função renal, entretanto, o uso precoce de everolimo no começo da terapia imunossupressora pode ser favorável na preservação da função renal, desde que as doses de tacrolimo sejam as adequadas para evitar nefrotoxicidade. A preservação da função renal nos pacientes do grupo TAC5/EVR (recebendo everolimo e concentrações reduzidas de tacrolimo) em relação ao grupo TAC10/MFS (concentração padrão de tacrolimo), neste estudo, é condizente com os relatos na literatura; enquanto que o grupo TAC10/EVR, apesar do ajuste no 3º mês para um regime de minimização de tacrolimo, mostrou uma função renal menor, onde outros fatores, como episódios de rejeição aguda, subjazem.

Neste estudo, os episódios de rejeição aguda, perda de aloenxerto e de óbito foram similares entre os grupos de tratamento imunossupressor. Resultado similar foi observado em outro estudo, cujo número de casos de perda de aloenxerto e óbito não diferiu entre o tratamento precoce com everolimo, a partir do 4º mês, e o tratamento com ciclosporina. No entanto, o número de episódios de rejeição aguda e os casos de rejeição identificados por biópsia foram maiores no 1º ano pós-transplante no grupo com tratamento precoce com everolimo (BUDDE *et al.*, 2015).

Uma pesquisa realizada, no HRH/UNIFESP, comparou os desfechos clínicos em longo prazo do tratamento com iMTOR (sirolimo ou everolimo) e antimetabólitos (azatioprina ou ácido micofenólico) com um esquema padrão com iCAN (ciclosporina ou tacrolimo). Os percentuais foram similares entre os dois grupos de tratamento para perda de enxerto (18% e 23%) e episódios de rejeição aguda confirmada por biópsia (64,4% e 73,7%) (IVANI DE PAULA *et al.*, 2015).

Na meta-análise de Xie e colaboradores, a frequência dos episódios de rejeição aguda confirmada por biópsia não diferiu entre os grupos estudados (iCAN e iMTOR VS iCAN e MPA). Por outro lado, foi relatado maior risco de perda de aloenxerto, incluindo óbito com enxerto funcional, no grupo iMTOR comparado ao grupo MPA (XIE *et al.*, 2015).

Com relação à terapia de indução, um estudo brasileiro mostrou que o grupo que recebeu timoglobulina apresentou uma frequência menor de episódios de rejeição aguda celular (22%) quando comparada com o grupo que não recebeu indução (48%) (CASTRO *et al.*, 2004). Em um estudo de meta-análise realizado pelo mesmo grupo brasileiro, foi relatada a associação do uso de timoglobulina com menos episódios de rejeição, no entanto, o benefício deste anticorpo pode depender do risco imunológico do receptor (DE CASTRO *et al.*, 2015).

A revisão de Lim e colaboradores relatou um risco maior de episódios de rejeição aguda associado ao uso de inibidores do receptor IL-2 quando comparado a timoglobulina. Os autores também ressaltaram o maior benefício dos anticorpos de depleção de linfócitos como timoglobulina nos pacientes de elevado risco imunológico, como a KDIGO recomenda (LIM *et al.*, 2017).

No nosso estudo, não foram observadas diferenças nos percentuais dos episódios de rejeição aguda entre os grupos terapêuticos que tiveram diferentes terapias de indução, incluindo timoglobulina. Esse resultado está em concordância com o citado previamente em outros estudos clínicos sobre o uso de timoglobulina. É importante ressaltar que, em relação aos desfechos discutidos, o ensaio clínico

que deu origem a este estudo, não foi desenhado para detectar diferenças na função renal ou falha do tratamento (TEDESCO-SILVA *et al.*, 2015).

Neste trabalho, a taxa e a duração de FRT (mediana 10 dias) foi similar entre os grupos de tratamento, o que sugere de que a classe de ISS não influenciou neste parâmetro.

A FRT tem sido associada com fatores de risco como doador falecido, maior tempo de isquemia fria e baixa creatinina sérica do enxerto doador (OJO *et al.*, 1997; PRETAGOSTINI *et al.*, 2009). Um estudo brasileiro relatou que a idade e creatinina sérica final de doador falecido são fatores de risco para desenvolver FRT, em receptores de transplante renal (HELPER *et al.*, 2014). Embora, o número de doadores falecidos foi alto (68,2%), neste estudo, a incidência de FRT foi menor (33,8%) que a observada em estudos brasileiros prévios (42,4%-81,5%) (AZEVEDO *et al.*, 2005; BRONZATTO *et al.*, 2009).

A FRT é um fator de risco no desenvolvimento de uma resposta clínica desfavorável. Pacientes expostos aos tempos prolongados de FRT (superior a 15 dias) apresentaram valores de TFGe no 1º mês menores quando comparado com o grupo sem FRT (DE SANDES-FREITAS *et al.*, 2015). A FRT também aumenta o risco de surgimento de episódios rejeição aguda, e consequente diminuição da sobrevida do enxerto renal em longo prazo (DE CASTRO, 2013). Componentes do sistema imune inato e adaptativo do receptor, assim como processos inflamatórios e produção de citocinas e moléculas de adesão, estão também associados com a FRT (ARIAS *et al.*, 2009); (DABROWSKA-ZAMOJCIN *et al.*, 2015). Neste trabalho, a FRT também foi investigada como um fator de risco para os desfechos clínicos de eficácia.

Neste estudo, as frequências genótípicas foram consistentes com o EHW. O EHW é um princípio de genética de populações que determina a constância da frequência das variações genética ao longo de gerações em uma população, quando não há outros fatores de interferência. Erros na estratégia de seleção de voluntários e erros nos ensaios de genotipagem têm sido associados com desvio de EHW (HOSKING *et al.*, 2004).

As frequências alélicas dos polimorfismos *MTOR*, *PPP3CA*, *FKBP1A*, *FKBP2* e *FOXP3* do grupo estudado foram similares às descritas pelo projeto de *1000genomes* ($p > 0,05$). As frequências de *MTOR* e *PPP3CA* foram também similares as de um estudo prévio que investigou a influência de polimorfismos sobre o monitoramento terapêutico de receptores de transplante renal brasileiros, tratados

com tacrolimo ou convertidos para sirolimo (SALGADO, 2012). Interessantemente, este é o primeiro estudo a relatar frequências de polimorfismos *MTOR* c.4731G>A, c.1437T>C e c.2997C>T e *PPP3CA* c.249G>A em receptores de transplante renal.

Neste estudo, os portadores do genótipo CC do *MTOR* c.1437T>C apresentaram maior concentração de creatinina sérica, no primeiro ano pós-transplante. Além disso, na análise de regressão logística esse genótipo mostrou uma tendência a ser associado com risco de creatinina sérica aumentada. Esses resultados são sugestivos da influência do polimorfismo do *MTOR* sobre a função renal do aloenxerto.

O único estudo que avaliou a associação do polimorfismo *MTOR* c.1437T>C com uma doença foi publicado na área de oncohematologia (WESOLOWSKA-ANDERSEN *et al.*, 2015). Foi investigada a associação de milhares de polimorfismos genéticos com o risco de desenvolvimento de episódios de relapso de leucemia aguda linfoblástica, sendo que o polimorfismo *MTOR* c.1437T>C mostrou associação com maior risco de relapso de leucemia em apenas uma das coortes. Dessa forma, mais pesquisas serão necessárias para entender o efeito desta variante no contexto da função do aloenxerto renal.

Neste trabalho, o genótipo CC do polimorfismo *FOXP3* c.23+2882A>C foi associado com creatinina sérica maior, no 1º ano pós-transplante renal. Esse resultado foi confirmado pela análise de regressão logística univariável. Esse resultado é sugestivo de que o polimorfismo *FOXP3* c.23+2882A>C está associado com pior função renal do enxerto. Ao utilizar o modelo de regressão multivariável, a associação do polimorfismo *FOXP3* com creatinina sérica não foi mantida, o que indica que o efeito desse polimorfismo na função renal do enxerto é dependente de outras variáveis, como o peso do receptor, o qual está intimamente relacionado com a creatinina sérica.

Um único estudo avaliou a relação entre polimorfismos *FOXP3*, farmacocinética de tacrolimo e função renal, em receptores de transplante renal. No 7º dia pós-transplante, os portadores do genótipo CC de *FOXP3* c.-23+2882A>C apresentaram maiores valores de TFGe e menores de ureia sérica quando comparados aos portadores de genótipo AA e AC. Também foi observada uma correlação positiva entre as concentrações sanguíneas de tacrolimo e valores TFGe unicamente nos portadores do genótipo CC (GE *et al.*, 2016).

Atualmente existe uma iniciativa para ampliar os tipos de desfechos clínicos a serem abordados nos estudos clínicos de transplante renal, tais como função renal

do enxerto (creatinina sérica e TFG_e) e eventos adversos (MALONE e BRENNAN, 2017). Dessa forma, estudos futuros que considerem parâmetros como TFG_e e creatinina sérica poderão confirmar a relação de polimorfismos do *FOXP3* com variabilidade na função do aloenxerto renal.

Recentemente, um grupo francês realizou uma extensa revisão dos desafios e oportunidades do estudo de variantes envolvidas na farmacodinâmica dos ISS, na área de transplante de órgãos sólidos. Os autores indicaram que não foi publicado nenhum estudo de associação entre polimorfismos *MTOR* e desfechos clínicos de eficácia, em transplante renal. Também ressaltaram o histórico de associação de polimorfismos deste gene com doenças como câncer, e sugeriram que as variantes de *MTOR* poderiam estar relacionadas com resposta a imunossupressores. No estudo, os autores utilizaram um sistema de classificação com base na qualidade e quantidade das pesquisas prévias para recomendar o estudo de polimorfismos, onde o nível 1 representava aqueles altamente recomendados a serem inclusos em futuros estudos, e o nível 4 representa a exclusão da variante genética. O polimorfismo *MTOR* c.4731G>A, pela escassez de estudos clínicos e *in vitro* na área de transplante renal, foi considerado apenas um “candidato” para ser incluso nos estudos farmacogenéticos com um nível de recomendação de 3 (POUCHE; STOJANOVA; *et al.*, 2016).

Neste trabalho, o polimorfismo *MTOR* c.4731G>A (alelo G) foi associado com risco maior de desenvolver rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante renal. A análise de incidência cumulativa afirma a maior predisposição dos portadores do alelo G (genótipo GG+GA) de apresentar episódios de rejeição. Na análise multivariável, apenas o tempo de função renal tardia e a variabilidade de Co/Do de tacrolimo se mantiveram associadas. Apesar disso, este resultado é sugestivo de que este grupo de indivíduos pode ser mais susceptível e requer de um acompanhamento cauteloso durante o 1º ano pós-transplante.

Estudos prévios do gene *MTOR* relataram que o alelo G do *MTOR* c.4731G>A está associado com maior risco de desenvolver câncer de cólon (SLATTERY *et al.*, 2010) ou renal (ZHU *et al.*, 2015). No estudo de Slattery e colaboradores, foi observado que o alelo G da variante *MTOR* c.4731G>A está em desequilíbrio de ligação com o alelo A da variante intrônica *MTOR* c.1767-116A>G (SLATTERY *et al.*, 2010), a qual foi associada com menor nível de expressão gênica em tecidos de cólon sadios (SLATTERY *et al.*, 2014). No estudo, não foram relatados os prováveis

mecanismos moleculares que influenciariam a maior susceptibilidade de câncer gástrico, devido à presença do polimorfismo *MTOR* c.4731G>A.

O projeto GTEEx (<http://www.gtexportal.org/home/documentationPage>) disponibiliza uma base de dados *online* que fornece informações de associação entre variantes genéticas e a expressão gênica, a partir de dados de sequenciamento, em diversos tecidos de indivíduos saudáveis (CARITHERS e MOORE, 2015). Nesta base de dados, consta que o genótipo GG do polimorfismo *MTOR* c.4731G>A está associado com expressão gênica mais baixa, em sangue periférico.

Em relação ao polimorfismo *MTOR* c.2997C>T, não observamos associação desta variante com rejeição aguda. Entretanto, existem relatos na literatura da relevância do seu estudo. A transição *MTOR* c.2997C>T é um polimorfismo sinônimo localizado no sítio de *splicing* (processamento de RNA) entre o éxon 18 e o intron 19, e tem um efeito, predito computacionalmente, no processamento. Está em desequilíbrio de ligação com a variante T de c.-15+346T>C (ZHU *et al.*, 2013), o qual foi associado com câncer gástrico mas não com alteração da expressão da proteína mTOR, em amostras de tecido de câncer gástrico (PIAO *et al.*, 2015).

Na base de dados GTEEx, consta que o genótipo CC do polimorfismo *MTOR* c.2997C>T está associado com expressão mais baixa em sangue periférico (CARITHERS e MOORE, 2015). Além disso, o *MTOR* c.2997C>T está em desequilíbrio de ligação com o c.4731G>A ($D' = 0,90$; $r^2 = 0,42$) (MACHIELA e CHANOCK, 2015).

Com base nas informações prévias de expressão gênica, o desequilíbrio de ligação reportado entre ambos os SNPs é indicativo que o alelo G *MTOR* c.4731G>A está associado a níveis baixos de expressão gênica de *MTOR*, em linfócitos periféricos.

Em vários estudos *in vitro* em linhagens celulares ou tecidos carcinogênicos, a expressão aumentada da proteína mTOR, ou de alguma proteína efetora (Akt, tuberina, quinase 6 ribossômica) é característica do desenvolvimento de carcinomas (POPULO *et al.*, 2012; RIQUELME *et al.*, 2016), inclusive de carcinoma renal (PANTUCK *et al.*, 2007). Sendo assim, parece que a maior expressão gênica ou proteica de mTOR pode ocasionar um aumento da proliferação celular, em modelos de câncer.

A rejeição mediada por células pode ser descrita como a consequência de uma proliferação exacerbada de células T ativadas e que lesionam o enxerto. Nesse sentido, é esperado que os portadores de genótipos com maior expressão de mTOR

nos linfócitos apresentem resposta farmacodinâmica menor ao everolimo, permitindo o linfócito T continuar com os processos de proliferação, e em consequência, ocasionar maior susceptibilidade a rejeição. Portanto, nos linfócitos T, as concentrações intracelulares de everolimo seriam insuficientes para inibir a atividade exacerbada de mTOR, nos indivíduos portadores de genótipo AA, o qual está associado com expressão gênica maior.

Pelos resultados do nosso estudo os portadores do alelo G (AG+GG) de *MTOR* c.4731G>A, que foi associado com expressão gênica menor, em linfócitos T, tem maior risco de rejeição do aloenxerto renal. Na nossa análise multivariável, foi observado que o polimorfismo não se manteve associado, enquanto o tempo de função renal tardia e a variabilidade de tacrolimo foram significativos. Isto sugere que há outros mecanismos que regulam a proliferação celular, além do aumento da expressão da proteína MTOR. A associação de variabilidade de tacrolimo descrita na análise de regressão com maior risco de rejeição é sugestiva de que aspectos farmacocinéticos de iCAN, polimorfismos em genes da via da calcineurina ou em genes envolvidos na farmacocinética podem influenciar neste resultado.

A regulação do mTOR e de sua via de sinalização depende do tipo de sinais extracelulares, tais como nutrientes, fatores energéticos, fatores de crescimento e aloantígenos, e pode desencadear efeitos diferenciados, em linfócitos T efetores e Treg (ZENG, 2017). Além disso, foram observados efeitos opostos de iCAN e iMTOR, na proliferação de linfócitos Treg, isolados de receptores de transplante renal (LATORRE *et al.*, 2016).

Nosso estudo é o primeiro a descrever a associação do polimorfismo *MTOR* c.4731G>A com rejeição aguda. Por tanto, para entender a influência dos polimorfismos *MTOR* serão necessários mais estudos que avaliem de forma holística a associação genética e a influência da expressão gênica na rejeição aguda, além de estudos funcionais realizados em linfócitos T e modelos apropriados para transplante renal.

Neste estudo, o SNP exônico *PPP3CA* c.249G>A não foi associado com os desfechos de eficácia, como função renal e rejeição do aloenxerto renal, no primeiro ano pós-transplante.

Na pesquisa clínica de Pouche e colaboradores foram analisados 23 polimorfismos envolvidos na via da calcineurina, em receptores de aloenxerto renal sob terapia com MFS combinada com CsA ou tacrolimo. Os resultados revelaram falta de associação dos polimorfismos com rejeição aguda, risco de infecções graves

ou diferença nas concentrações de creatinina sérica, ao longo do primeiro ano (POUCHE; KOITKA; *et al.*, 2016). Os polimorfismos foram selecionados com base em resultados de 34 pesquisas clínicas que relataram associação de genes candidatos com diversas doenças, incluindo 4 estudos sobre transplante renal, sem impacto na farmacogenética da resposta imunossupressora.

Nosso grupo de pesquisa avaliou a associação do polimorfismo *PPP3CA* c.249G>A e desfechos clínicos de receptores de transplante renal, nos primeiros três meses de tratamento de com esquema imunossupressor a base de tacrolimo. A variante não influenciou parâmetros farmacocinéticos de tacrolimo ou outros parâmetros laboratoriais, e não foi associada com função renal, rejeição aguda e incidência de citomegalovírus. O estudo conseguiu detectar a associação univariável com distúrbios hematológicos, no entanto, a associação não foi mantida após ajuste com covariáveis (SALGADO *et al.*, 2017).

Neste trabalho, os polimorfismos *FOXP3* c.-22-902A>G e c.-23+2882A>C não foram associados com rejeição aguda. No entanto, o número de casos de rejeição aguda identificados no nosso estudo (n=40) pode ser insuficiente para detectar a associação de ambos os polimorfismos.

Cinco estudos investigaram a associação entre os polimorfismos *FOXP3* c.-22-902A>G e c.-23+2882A>C com rejeição aguda em receptores de transplante renal, principalmente em populações do leste da Ásia. Em um estudo que avaliou uma população chinesa Han por mais de 10 anos, foi observada associação entre o genótipo AA de *FOXP3* c.-23+2882A>C com maior risco de desenvolver um primeiro episódio de rejeição quando comparado com o genótipo CC (Hazard ratio=2,37; IC95%= 1,17-4,80; p não ajustado=0,017), enquanto que o polimorfismo *FOXP3* c.-22-902A>G não mostrou estar associado (QIU *et al.*, 2012).

O estudo conduzido por Misra e colaboradores investigou a associação de polimorfismos nos genes *FOXP3* e *NF-κB1* na rejeição aguda em receptores de transplante renal em uma população do norte da Índia. O alelo A do *FOXP3* c.-23+2882A>C (genótipo CA+AA) e o alelo G *FOXP3* c.-22-902A>G (genótipo AG+GG) foram associados com alto risco de desenvolver um episódio de rejeição aguda (MISRA *et al.*, 2016).

O estudo de Wu e colaboradores, que teve por objetivo replicar o estudo de Qiu e colaboradores, não encontrou associação do polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C com rejeição aguda. Entretanto, os indivíduos portadores do alelo A (genótipo CA+AA) estavam expostos a um risco 10 vezes maior de desenvolver

nefrotoxicidade aguda induzida por tacrolimo quando comparado aos portadores do genótipo CC (*Hazard ratio*=10,71; IC95%=2,22-51,72; *p* ajustado= 0,003) (WU *et al.*, 2017). Em ambos os estudos os pacientes receberam tacrolimo ou MFS como terapia de manutenção, a administração de terapia de indução foi opcional, e a frequência de doadores falecidos foi alta, como no nosso estudo.

Em 2017, um estudo conduzido em uma população coreana analisou a associação de vários polimorfismos *FOXP3* com desfechos clínicos do enxerto. O estudo mostrou que polimorfismos *FOXP3* c.-23+2882A>C e c.-22-902A>G não foram associados com episódios de rejeição aguda. Entretanto, a análise de sobrevivência por Kaplan-Meier revelou que o genótipo CC *FOXP3* c.-23+2882A>C foi associado com uma melhor sobrevivência de enxerto (*p*=0,03) e menor probabilidade de recorrência de doença glomerular (*p*=0,01) (PARK *et al.*, 2017).

Um estudo retrospectivo recente, em populações europeias e norte-americanas, não encontrou associação do polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C com falha renal (ADAMEK *et al.*, 2017). Os autores ressaltaram a importância de estudar polimorfismos localizados em genes do cromossomo X, e como as análises devem considerar o gênero do paciente. A análise deste polimorfismo em homens e mulheres pode superestimar o efeito real do alelo nos pacientes masculinos. Os autores discutiram o fato de que todas as pesquisas anteriores realizadas com polimorfismos *FOXP3* incluíram homens e mulheres na análise, o que poderia ter ocasionado um viés na interpretação dos resultados. É importante mencionar que no estudo de Adamek e colaboradores, pela natureza retrospectiva e multicêntrica da pesquisa, os autores não indicaram como foi definida a falha renal, e argumentaram que esta informação é própria de cada centro.

Vários dos trabalhos que reportaram associação entre o polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C e desfechos desfavoráveis, em receptores de transplante renal, se basearam no estudo funcional *in vitro* que Shen e colaboradores desenvolveram para explicar o impacto funcional do SNP. Foi observado no experimento uma redução drástica da expressão de luciferase na presença do promotor *FOXP3* com o alelo A c.-23+2882A>C, no entanto, os resultados da pesquisa foram removidos do banco de dados PubMed (SHEN *et al.*, 2010). Isto questiona a influência da variante c.-23+2882A na rejeição aguda, e os achados dos trabalhos prévios que basearam sua hipótese naquele estudo funcional.

As análises de predição computacional, entretanto, revelaram que os polimorfismos *FOXP3* c.-23+2882A>C e c.-22-902A>G, localizados na região

promotora, alteram a interação com o fator de transcrição proteína 3 de união a GATA (do termo em inglês, *GATA-binding protein 3*) e proteína 1 de especificidade (do termo em inglês, *specificity protein-1*), respectivamente, e por tanto, modificam a regulação transcricional (SAXENA *et al.*, 2015). O impacto do SNP *FOXP3* c.-23+2882A>C na interação com seu fator de transcrição pode ser um mecanismo que altere a diferenciação dos linfócitos Treg (WANG *et al.*, 2010).

Os resultados deste trabalho indicaram falta de associação do polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C com rejeição aguda, enquanto que os estudos previamente citados relataram risco de rejeição aguda maior, nos portadores de alelo A (genótipo CA+AA). Não há evidência experimental sobre a regulação do polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C na expressão gênica, mas as predições em computador sugerem que a presença do polimorfismo pode alterar a expressão de *FOXP3*. Em consequência, para verificar a influência dos polimorfismos *FOXP3* são necessários mais estudos em linfócitos dos receptores.

Em relação aos distúrbios sanguíneos e linfáticos, neste estudo, o polimorfismo *FKBP2* c.-2110G>T foi associado com leucopenia no 1º ano pós-transplante, inclusive após ajuste com covariáveis. Além disso, o uso combinado de tacrolimo/micofenolato de sódio e as concentrações de tacrolimo, no décimo segundo mês, foram associados com leucopenia, o que não foi mantido no modelo multivariável.

O efeito do micofenolato de sódio sobre a medula óssea foi reportado, e estima-se que 13 a 35% de pacientes em terapia com micofenolato desenvolvem episódios de leucopenia (YANG *et al.*, 2015). Uso de inibidores de calcineurina ou mTOR também foi associado com aumento de episódios de leucopenia (DE RYCKE *et al.*, 2011).

Outro fator de risco identificado é o uso de antivirais para CMV como valganciclovir ou ganciclovir (BRUM *et al.*, 2008). Devido a que o grupo que recebeu terapia combinada de tacrolimo/micofenolato (TAC10/MFS) apresentou o maior número de episódios de CMV, é esperado que a exposição de micofenolato e antivirais aumentasse o risco de desenvolver leucopenia neste grupo.

A contribuição de polimorfismos nos genes de imunofilinas pode se encontrar em processos de regulação transcricional. O polimorfismo *FKBP2* c.-2110G>T, segundo as bases de dados de genes, está localizada em regiões superpostas com genes que codificam RNAs longos não codificadores (lncRNA). Estas moléculas têm despertado interesse no estudo de mecanismos fisiopatológicos associados a

doenças. Um estudo tem reportado recentemente o perfil de expressão diferencial de 5 lncRNAs candidatos validados por PCR em tempo real em biópsias de enxertos renais com rejeição aguda após transplante (CHEN *et al.*, 2014).

Nosso estudo não antecipou a inclusão de uso de medicamentos antivirais como covariável no modelo multivariável, mesmo assim, o efeito da terapia com tacrolimo e micofenolato de sódio confirma o relatado na literatura. Nesse sentido, pacientes portadores do polimorfismo *FKBP2* c.-2110G>T expostos à terapia com micofenolato teriam maior susceptibilidade de leucopenia, no período pós-transplante, e o tratamento de episódios de CMV com antivirais poderia se comportar como um fator de risco adicional.

Na nossa pesquisa, a variante *MTOR* c.2997C>T não foi associada com eventos de anemia. O tamanho da nossa amostra pode ter sido um fator limitante para identificar a associação entre polimorfismos do *MTOR* e anemia. Outro aspecto que poderia ser observado é a variabilidade nas concentrações sanguíneas de hemoglobina durante o acompanhamento dos receptores de transplante renal, como observado em outros estudos.

Woillard e colaboradores relataram que um haplótipo *MTOR*, contendo o polimorfismo c.-15+346T>C, foi associado com a diminuição em 1 unidade g/dL de hemoglobina, em pacientes tratados com sirolimo por 6 meses e depois mantido ou convertido para outra terapia, e com esquemas imunossupressores mais tradicionais contendo ciclosporina, micofenolato de mofetila e/ou sirolimo (WOILLARD *et al.*, 2012). O desequilíbrio de ligação entre polimorfismos *MTOR* c.-15+346T>C e c.2997C>T encontrado em pacientes com câncer de cólon e relatado previamente (SLATTERY *et al.*, 2010), é sugestivo de que *MTOR* c.2997C>T pode também estar associado com alterações na hemoglobina.

No que concerne aos distúrbios gastrointestinais, a variante *FKBP1A* n.259+24936T>C foi associada com maior risco de constipação. Ademais, os polimorfismos *FOXP3* c.-22-902A>G e c.-23+2882A>C foram associados com epigastralgia e náuseas e/ou vômitos, respectivamente.

Cabe ressaltar que até o momento nenhuma pesquisa avaliou a influência de polimorfismos nos genes da via de sinalização do mTOR com distúrbios gastrointestinais no transplante renal.

A análise dos distúrbios metabólicos revelou associação dos polimorfismos *FKBP2* c.-2110G>T e *FOXP3* c.-22-902A>G com dislipidemia, no 1º ano pós-transplante. No entanto, esta associação não se manteve no modelo de análise

multivariável. Também foi observada falta de associação dos polimorfismos *MTOR* ou em genes da via de sinalização mTOR, como *FKBP2* e *FOXP3*, com eventos de dislipidemia, no modelo multivariável.

De forma similar, Woillard e colaboradores, utilizando um modelo misto de regressão linear, não encontraram associação de polimorfismos nos genes do complexo MTOR com variabilidade nas concentrações colesterol total, LDL colesterol e triglicérides em receptores de transplante renal tratados com sirolimo. Entretanto, o aumento da concentração sanguínea de sirolimo foi o único preditor associado com piora do perfil lipídico (WOILLARD *et al.*, 2012).

Apesar da diferença inicial na frequência de casos de dislipidemia entre os grupos terapêuticos deste trabalho, o uso de iMTOR não foi incluído como covariável. Contudo, analisar as variações dos valores de colesterol e outros parâmetros do perfil lipídico pré- e pós-transplante resultaria em uma vantagem para observar a influência dos polimorfismos nestas variáveis.

Futuros estudos genômicos e/ou epigenômicos, no contexto do transplante renal, poderiam incluir outras variáveis além de desfechos clínicos e laboratoriais. Para o estudo de polimorfismos no *MTOR*, por exemplo, a quantificação da atividade quinase do complexo mTOR (DEKTER *et al.*, 2010; FIORINI *et al.*, 2014) e da expressão de mRNA e expressão proteica, em células do sangue periférico, poderiam auxiliar no entendimento dos mecanismos fisiopatológicos relacionados com aspectos genômicos.

Finalmente, nosso estudo é pioneiro na descrição da influência de polimorfismos nos genes *MTOR*, *FKBP1A*, *FKBP2* e *FOXP3*, envolvidos na farmacodinâmica e vias de sinalização de iCAN e iMTOR, na resposta clínica de receptores brasileiros de transplante renal.

6. CONCLUSÕES

As frequências dos polimorfismos de *MTOR*, *PPP3CA*, *FKBP1A*, *FKBP2* e *FOXP3* de receptores de transplante renal são similares às de amostra da população global analisada pelo projeto 1000genomes que inclui indivíduos de diferentes grupos étnicos.

O dobro da dose de tacrolimo no esquema imunossupressor com everolimo está associada pior função renal do aloenxerto, enquanto que a combinação de tacrolimo com micofenolato de sódio predispõe ao risco de infecção por citomegalovírus, no 1º ano pós-transplante.

Em relação aos desfechos de eficácia, polimorfismo *FOXP3* c.-23+2882A>C está associado com creatinina sérica aumentada, no 1º ano pós-transplante renal, o que é sugestivo de piora da função renal, em portadores de genótipo CC. Além disso, o polimorfismo *MTOR* c.4731G>A (alelo G) predispõe à rejeição aguda e está associado com maior incidência cumulativa de rejeição aguda, no 1º ano pós-transplante. Este resultado é sugestivo de que os portadores do alelo G apresentam uma resposta farmacodinâmica diferente ao everolimo.

Em relação aos desfechos de segurança, o polimorfismo *FKBP2* c.-2110G>T (genótipo GG) foi associado com maior risco de leucopenia, no 1º ano pós-transplante renal. Ademais, os polimorfismos *FKBP1A* n.259+24936T>C (alelo C), *FOXP3* c.-22-902A>G (alelo A) e *FOXP3* c.-23+2882A>C (alelo A) foram associados com maior risco de constipação, epigastralgia e náuseas e/ou vômitos, respectivamente, no 1º ano pós-transplante renal. Por fim, os polimorfismos *FKBP2* c.-2110G>T (genótipo GG) e *FOXP3* c.-22-902A>G (genótipo GG) foram associados com maior risco de dislipidemia, no 1º ano pós-transplante renal. Estes resultados revelam que os portadores de polimorfismos em genes envolvidos na farmacodinâmica de tacrolimo e everolimo podem ter maior predisposição a desenvolver eventos adversos, no 1º ano pós-transplante, o que exige um monitoramento constante dos pacientes.

Em conclusão, os polimorfismos de genes *MTOR*, *FKBP1A*, *FKBP2* e *FOXP3* influenciam na função renal do enxerto e estão associados com risco de rejeição aguda e de eventos adversos, em receptores de transplante renal.

7. BIBLIOGRAFIA

ADAMEK, M.; DOHLER, B.; HASAN, K. K.; FIEDLER, G.; SCHERER, S.; OPELZ, G.; TRAN, T. H. Assessing the impact of FoxP3 and Vav1 gene polymorphisms on kidney allograft survival. **HLA**, v. 90, n. 2, p. 102-105, Aug 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28470865> >.

AICKIN, M.; GENSLER, H. Adjusting for multiple testing when reporting research results: the Bonferroni vs Holm methods. **Am J Public Health**, v. 86, n. 5, p. 726-8, May 1996. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8629727> >.

ALI, J. M.; BOLTON, E. M.; BRADLEY, J. A.; PETTIGREW, G. J. Allorecognition pathways in transplant rejection and tolerance. **Transplantation**, v. 96, n. 8, p. 681-8, Oct 27 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23715047> >.

ALVES, C.; FELIPE, C.; NISHIKAWA, A.; SALGADO, P.; FAJARDO, C.; SPINELLI, G.; TEDESCO, H.; MEDINA-PESTANA, J.; HIRATA, M.; HIRATA, R.; RODRIGUES, A. Influence of SLCO1B1 and SLCO2B1 Polymorphisms on Tacrolimus Pharmacokinetics and Clinical Efficacy and Safety. **American Journal of Transplantation**, v. 13, p. 503-503, Apr 2013. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000318240301812 >.

ARIAS, M.; CAMPISTOL, J. M.; VINCENTI, F. Evolving trends in induction therapy. **Transplant Rev (Orlando)**, v. 23, n. 2, p. 94-102, Apr 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19298940> >.

AZEVEDO, L. S.; CASTRO, M. C.; MONTEIRO DE CARVALHO, D. B.; D'AVILA, D. O.; CONTIERI, F.; GONCALVES, R. T.; MANFRO, R.; IANHEZ, L. E. Incidence of delayed graft function in cadaveric kidney transplants in Brazil: a multicenter analysis. **Transplant Proc**, v. 37, n. 6, p. 2746-7, Jul-Aug 2005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16182798> >.

BACZKOWSKA, T.; DURLIK, M. Calcineurin inhibitor sparing immunosuppressive regimens in kidney allograft recipients. **Pol Arch Med Wewn**, v. 119, n. 5, p. 318-25, May 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19579814> >.

BARBARINO, J. M.; STAATZ, C. E.; VENKATARAMANAN, R.; KLEIN, T. E.; ALTMAN, R. B. PharmGKB summary: cyclosporine and tacrolimus pathways. **Pharmacogenet Genomics**, v. 23, n. 10, p. 563-85, Oct 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23922006> >.

BESTARD, O.; CRUZADO, J. M.; RAMA, I.; TORRAS, J.; GOMA, M.; SERON, D.; MORESO, F.; GIL-VERNET, S.; GRINYO, J. M. Presence of FoxP3+ regulatory T Cells predicts outcome of subclinical rejection of renal allografts. **J Am Soc Nephrol**, v. 19, n. 10, p. 2020-6, Oct 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18495961> >.

BIRDWELL, K. A.; DECKER, B.; BARBARINO, J. M.; PETERSON, J. F.; STEIN, C. M.; SADEE, W.; WANG, D.; VINKS, A. A.; HE, Y.; SWEN, J. J.; LEEDER, J. S.; VAN SCHAİK, R.; THUMMEL, K. E.; KLEIN, T. E.; CAUDLE, K. E.; MACPHEE, I. A. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. **Clin Pharmacol Ther**, v. 98, n. 1, p. 19-24, Jul 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25801146> >.

BRAGA, L. S.; MORATELLI, L.; CARMINATTI, M.; MARSICANO, E. O.; COLUGNATI, F. A.; SANDERS-PINHEIRO, H. Low-Activity Kidney Transplant Center, A Single-Center Experience: Early Care as a Major Challenge. **Exp Clin Transplant**, v. 14, n. 6, p. 634-640, Dec 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27934560> >.

BRONZATTO, E. J.; DA SILVA QUADROS, K. R.; SANTOS, R. L.; ALVES-FILHO, G.; MAZZALI, M. Delayed graft function in renal transplant recipients: risk factors and impact on 1-year graft function: a single center analysis. **Transplant Proc**, v. 41, n. 3, p. 849-51, Apr 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19376369> >.

BRUM, S.; NOLASCO, F.; SOUSA, J.; FERREIRA, A.; POSSANTE, M.; PINTO, J. R.; BARROSO, E.; SANTOS, J. R. Leukopenia in kidney transplant patients with the association of valganciclovir and mycophenolate mofetil. **Transplant Proc**, v. 40, n. 3, p. 752-4, Apr 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18455007> >.

BUDDE, K.; BECKER, T.; ARNS, W.; SOMMERER, C.; REINKE, P.; EISENBERGER, U.; KRAMER, S.; FISCHER, W.; GSCHAIIDMEIER, H.; PIETRUCK, F.; INVESTIGATORS, Z. S. Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomised, controlled trial. **Lancet**, v. 377, n. 9768, p. 837-47, Mar 5 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21334736> >.

BUDDE, K.; LEHNER, F.; SOMMERER, C.; REINKE, P.; ARNS, W.; EISENBERGER, U.; WUTHRICH, R. P.; MUHLFELD, A.; HELLER, K.; PORSTNER, M.; VEIT, J.; PAULUS, E. M.; WITZKE, O.; INVESTIGATORS, Z. S. Five-year outcomes in kidney transplant patients converted from cyclosporine to everolimus: the randomized ZEUS study. **Am J Transplant**, v. 15, n. 1, p. 119-28, Jan 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25521535> >.

CARITHERS, L. J.; MOORE, H. M. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) Project. **Biopreserv Biobank**, v. 13, n. 5, p. 307-8, Oct 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26484569> >.

CASTRO, M. C.; ARAUJO, L. M.; NAHAS, W. C.; ARAP, S.; DAVID-NETO, E.; IANHEZ, L. E. Induction versus noninduction therapy in kidney transplantation: considering different PRA levels and different induction therapies. **Transplant Proc**, v. 36, n. 4, p. 874-6, May 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15194299> >.

CORDEIRO, A. C.; CARRERO, J. J.; QURESHI, A. R.; CUNHA, R. F.; LINDHOLM, B.; CASTRO, I.; NORONHA, I. L. Study of the incidence of dialysis in Sao Paulo, the largest Brazilian city. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 68, n. 6, p. 760-5, Jun 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23778473> >.

COURT, H. M. A simple calculator to determine whether observed genotype frequencies are consistent with Hardy-Weinberg equilibrium. 2008

CUSUMANO, A. M.; ROSA-DIEZ, G. J.; GONZALEZ-BEDAT, M. C. Latin American Dialysis and Transplant Registry: Experience and contributions to end-stage renal disease epidemiology. **World J Nephrol**, v. 5, n. 5, p. 389-97, Sep 06 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27648403> >.

CHEN, W.; PENG, W.; HUANG, J.; YU, X.; TAN, K.; CHEN, Y.; LIN, X.; CHEN, D.; DAI, Y. Microarray analysis of long non-coding RNA expression in human acute rejection biopsy samples following renal transplantation. **Mol Med Rep**, v. 10, n. 4, p. 2210-6, Oct 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25198465> >.

DABROWSKA-ZAMOJCIN, E.; DZIEDZIEJKO, V.; SAFRANOW, K.; KURZAWSKI, M.; DOMANSKI, L.; PAWLIK, A. Association between the CX3CR1 gene V249I polymorphism and delayed kidney allograft function. **Transpl Immunol**, v. 32, n. 3, p. 172-4, Jun 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25898802> >.

DE CASTRO, M. C.; DEBONI, L.; ESMERALDO RDE, M.; MATUK, T. A.; PACHECO, A.; SAITOVITCH, D.; SALOMAO, A.; SILVA JUNIOR, H. T.; VILLACA, S. Use of Thymoglobulin(R) (antithymocyte immunoglobulin) in renal transplantation: practical guide. **J Bras Nefrol**, v. 37, n. 2, p. 228-40, Apr-Jun 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26154644> >.

DE CASTRO, M. C. R. Desafios na imunossupressão do transplante renal. Riscos e benefícios da minimização/eliminação dos inibidores da calcineurina. **Rev Bras Med**, v. 70, p. 4, 2013.

DE RYCKE, A.; DIERICKX, D.; KUYPERS, D. R. Tacrolimus-induced neutropenia in renal transplant recipients. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 6, n. 3, p. 690-4, Mar 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21258040> >.

DE SANDES-FREITAS, T. V.; FELIPE, C. R.; AGUIAR, W. F.; CRISTELLI, M. P.; TEDESCO-SILVA, H.; MEDINA-PESTANA, J. O. Prolonged Delayed Graft Function Is Associated with Inferior Patient and Kidney Allograft Survivals. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0144188, 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26679933> >.

DEKTER, H. E.; ROMIJN, F. P.; TEMMINK, W. P.; VAN PELT, J.; DE FIJTER, J. W.; SMIT, N. P. A spectrophotometric assay for routine measurement of mammalian target of rapamycin activity in cell lysates. **Anal Biochem**, v. 403, n. 1-2, p. 79-87, Aug 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20417611> >.

DUMMER, C. D.; CARPIO, V. N.; DA SILVA LORETO, M.; JOELSONS, G.; CARRARO, D. M.; OLIVIERI, E. R.; MANFRO, R. C.; GONCALVES, L. F.; VERONESE, F. V. Analysis of FOXP3 gene and protein expressions in renal allograft biopsies and their association with graft outcomes. **Ren Fail**, v. 35, n. 4, p. 521-30, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23438049> >.

DUMMER, C. D.; CARPIO, V. N.; GONCALVES, L. F.; MANFRO, R. C.; VERONESE, F. V. FOXP3+ regulatory T cells: from suppression of rejection to induction of renal allograft tolerance. **Transpl Immunol**, v. 26, n. 1, p. 1-10, Jan 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21939765> >.

EKBERG, H.; TEDESCO-SILVA, H.; DEMIRBAS, A.; VITKO, S.; NASHAN, B.; GURKAN, A.; MARGREITER, R.; HUGO, C.; GRINYO, J. M.; FREI, U.; VANRENTERGHEM, Y.; DALOZE, P.; HALLORAN, P. F.; STUDY, E. L.-S. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. **N Engl J Med**, v. 357, n. 25, p. 2562-75, Dec 20 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18094377> >.

ENGEL, M.; SIDWELL, T.; VASANTHAKUMAR, A.; GRIGORIADIS, G.; BANERJEE, A. Thymic regulatory T cell development: role of signalling pathways and transcription factors. **Clin Dev Immunol**, v. 2013, p. 617595, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24187564> >.

ENGELA, A. U.; BOER, K.; ROODNAT, J. I.; PEETERS, A. M.; EILERS, P. H.; KALVAN GESTEL, J. A.; RIVADENEIRA, F.; WEIMAR, W.; BAAN, C. C. Genetic variants of FOXP3 influence graft survival in kidney transplant patients. **Hum Immunol**, v. 74, n. 6, p. 751-7, Jun 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23459079> >.

EUROPEAN MEDICINE AGENCY. Guideline on Clinical Investigation of Immunosuppressants or Solid Organ Transplantation. 2008.

EVANS, W. E.; MCLEOD, H. L. Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. **N Engl J Med**, v. 348, n. 6, p. 538-49, Feb 6 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12571262> >.

FIORINI, C.; MASSARI, F.; PEDRON, S.; SANAVIO, S.; CICCARESE, C.; PORCARO, A. B.; ARTIBANI, W.; BERTOLDO, F.; ZAMPINI, C.; SAVA, T.; FICIAL, M.; CALIO, A.; CHILOSI, M.; D'AMURI, A.; SANGUEDOLCE, F.; TORTORA, G.; SCARPA, A.; DELAHUNT, B.; PORTA, C.; MARTIGNONI, G.; BRUNELLI, M. Methods to identify molecular expression of mTOR pathway: a rationale approach to stratify patients affected by clear cell renal cell carcinoma for more likely response to mTOR inhibitors. **Am J Cancer Res**, v. 4, n. 6, p. 907-15, 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25520878> >.

FLEMING, G. M. Renal replacement therapy review: past, present and future. **Organogenesis**, v. 7, n. 1, p. 2-12, Jan-Mar 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21289478> >.

FODOR, E.; GARACZI, E.; POLYANKA, H.; KORECK, A.; KEMENY, L.; SZELL, M. The rs3761548 polymorphism of FOXP3 is a protective genetic factor against allergic rhinitis in the Hungarian female population. **Hum Immunol**, v. 72, n. 10, p. 926-9, Oct 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21763379> >.

GE, J.; WANG, J.; ZHAO, H.; LI, K.; JING, Y.; LI, G. Impact of FOXP3 Polymorphisms on the Blood Level of Tacrolimus in Renal Transplant Recipients. **Transplant Proc**, v. 48, n. 6, p. 1962-7, Jul-Aug 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27569929> >.

GENVIGIR, F. D.; SALGADO, P. C.; FELIPE, C. R.; LUO, E. Y.; ALVES, C.; CERDA, A.; TEDESCO-SILVA, H., JR.; MEDINA-PESTANA, J. O.; OLIVEIRA, N.; RODRIGUES, A. C.; DOI, S. Q.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. Influence of the CYP3A4/5 genetic score and ABCB1 polymorphisms on tacrolimus exposure and renal function in Brazilian kidney transplant patients. **Pharmacogenet Genomics**, v. 26, n. 10, p. 462-72, Oct 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27434656> >.

GENVIGIR, F. D. V.; NISHIKAWA, A. M.; FELIPE, C. R.; TEDESCO-SILVA, H., JR.; OLIVEIRA, N.; SALAZAR, A. B. C.; MEDINA-PESTANA, J. O.; DOI, S. Q.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. C. Influence of ABCC2, CYP2C8, and CYP2J2 Polymorphisms on Tacrolimus and Mycophenolate Sodium-Based Treatment in Brazilian Kidney Transplant Recipients. **Pharmacotherapy**, v. 37, n. 5, p. 535-545, May 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28316087> >.

GOMEZ-PINILLOS, A.; FERRARI, A. C. mTOR signaling pathway and mTOR inhibitors in cancer therapy. **Hematol Oncol Clin North Am**, v. 26, n. 3, p. 483-505, vii, Jun 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22520976> >.

GRAFFELMAN, J.; WEIR, B. S. Testing for Hardy-Weinberg equilibrium at biallelic genetic markers on the X chromosome. **Heredity (Edinb)**, v. 116, n. 6, p. 558-68, Jun 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27071844> >.

HARIKISHORE, A.; YOON, H. S. Immunophilins: Structures, Mechanisms and Ligands. **Curr Mol Pharmacol**, v. 9, n. 1, p. 37-47, 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25986569> >.

HEEGER, P. S.; DINAHAHI, R. Transplant immunology for non-immunologist. **Mt Sinai J Med**, v. 79, n. 3, p. 376-87, May-Jun 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22678861> >.

HEIDT, S.; WOOD, K. J. Biomarkers of Operational Tolerance in Solid Organ Transplantation. **Expert Opin Med Diagn**, v. 6, n. 4, p. 281-293, Jul 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22988481> >.

HELPER, M. S.; VICARI, A. R.; SPULDARO, F.; GONCALVES, L. F.; MANFRO, R. C. Incidence, risk factors, and outcomes of delayed graft function in deceased donor kidney transplantation in a Brazilian center. **Transplant Proc**, v. 46, n. 6, p. 1727-9, Jul-Aug 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25131022> >.

HOLM, S. A simple sequential rejective method procedure. **Scandinavian Journal of Statistics**, v. 6, p. 65-70, 1979.

HOSKING, L.; LUMSDEN, S.; LEWIS, K.; YEO, A.; MCCARTHY, L.; BANSAL, A.; RILEY, J.; PURVIS, I.; XU, C. F. Detection of genotyping errors by Hardy-Weinberg equilibrium testing. **Eur J Hum Genet**, v. 12, n. 5, p. 395-9, May 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14872201> >.

HU, M.; WANG, Y. M.; WANG, Y.; ZHANG, G. Y.; ZHENG, G.; YI, S.; O'CONNELL, P. J.; HARRIS, D. C.; ALEXANDER, S. I. Regulatory T cells in kidney disease and transplantation. **Kidney Int**, v. 90, n. 3, p. 502-14, Sep 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27263492> >.

IVANI DE PAULA, M.; MEDINA PESTANA, J. O.; NICOLAU FERREIRA, A.; PONTELLO CIRSTELI, M.; FABIANO FRANCO, M.; FERREIRA AGUIAR, W.; TEDESCO SILVA, H.; ROSSO FELIPE, C. Long-term follow up of de novo use of mTOR and calcineurin inhibitors after kidney transplantation. **Ther Drug Monit**, 2015.

KANG, C. B.; HONG, Y.; DHE-PAGANON, S.; YOON, H. S. FKBP family proteins: immunophilins with versatile biological functions. **Neurosignals**, v. 16, n. 4, p. 318-25, 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18635947> >.

KIDNEY DISEASE: IMPROVING GLOBAL OUTCOMES TRANSPLANT WORK, G. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. **Am J Transplant**, v. 9 Suppl 3, p. S1-155, Nov 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19845597> >.

KONING, O. H.; PLOEG, R. J.; VAN BOCKEL, J. H.; GROENEWEGEN, M.; VAN DER WOUDE, F. J.; PERSIJN, G. G.; HERMANS, J. Risk factors for delayed graft function in cadaveric kidney transplantation: a prospective study of renal function and graft survival after preservation with University of Wisconsin solution in multi-organ donors. European Multicenter Study Group. **Transplantation**, v. 63, n. 11, p. 1620-8, Jun 15 1997. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9197357> >.

KOOLLOOS, W. M.; WESSELS, J. A.; VAN DER STRAATEN, T.; HUIZINGA, T. W.; GUCHELAAR, H. J. Criteria for the selection of single nucleotide polymorphisms in pathway pharmacogenetics: TNF inhibitors as a case study. **Drug Discov Today**, v. 14, n. 17-18, p. 837-44, Sep 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19524701> >.

KOTTON, C. N. Management of cytomegalovirus infection in solid organ transplantation. **Nat Rev Nephrol**, v. 6, n. 12, p. 711-21, Dec 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20978468> >.

KOTTON, C. N. CMV: Prevention, Diagnosis and Therapy. **Am J Transplant**, v. 13 Suppl 3, p. 24-40; quiz 40, Feb 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23347212> >.

KOVARIK, J. M.; TEDESCO, H.; PASCUAL, J.; CIVATI, G.; BIZOT, M. N.; GEISSLER, J.; SCHMIDLI, H. Everolimus therapeutic concentration range defined from a prospective trial with reduced-exposure cyclosporine in de novo kidney transplantation. **Ther Drug Monit**, v. 26, n. 5, p. 499-505, Oct 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15385832> >.

KROTH, L. V.; BARREIRO, F. F.; SAITOVITCH, D.; TRAESEL, M. A.; D'AVILA, D. O.; POLI-DE-FIGUEIREDO, C. E. Kidney Transplantation at a Southern Brazilian University Hospital: A 35-Year Practice Review. **Transplant Proc**, v. 48, n. 7, p. 2272-2275, Sep 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27742277> >.

KWON, T. K.; CHUNG, E. J.; LEE, N.; ROH, E. Y.; SONG, E. Y. Associations of FoxP3 gene polymorphisms with severe recurrent respiratory papillomatosis in Korean patients. **J Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 46, n. 1, p. 21, Mar 15 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28298239> >.

LAMB, K. E.; LODHI, S.; MEIER-KRIESCHE, H. U. Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. **Am J Transplant**, v. 11, n. 3, p. 450-62, Mar 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20973913> >.

LANGER, R. M.; HENE, R.; VITKO, S.; CHRISTIAANS, M.; TEDESCO-SILVA, H., JR.; CIECHANOWSKI, K.; CASSUTO, E.; ROSTAING, L.; VILATOBA, M.; MACHEIN, U.; ULBRICHT, B.; JUNGE, G.; DONG, G.; PASCUAL, J. Everolimus plus early tacrolimus minimization: a phase III, randomized, open-label, multicentre trial in renal transplantation. **Transpl Int**, v. 25, n. 5, p. 592-602, May 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22471345> >.

LATORRE, I.; ESTEVE-SOLE, A.; REDONDO, D.; GIEST, S.; ARGILAGUET, J.; ALVAREZ, S.; PELIGERO, C.; FORSTMANN, I.; CRESPO, M.; PASCUAL, J.; MEYERHANS, A. Calcineurin and mTOR inhibitors have opposing effects on regulatory T cells while reducing regulatory B cell populations in kidney transplant recipients. **Transpl Immunol**, v. 35, p. 1-6, Mar 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26836476> >.

LIEFELDT, L.; BRAKEMEIER, S.; GLANDER, P.; WAISER, J.; LACHMANN, N.; SCHONEMANN, C.; ZUKUNFT, B.; ILLIGENS, P.; SCHMIDT, D.; WU, K.; RUDOLPH, B.; NEUMAYER, H. H.; BUDDE, K. Donor-specific HLA antibodies in a cohort comparing everolimus with cyclosporine after kidney transplantation. **Am J Transplant**, v. 12, n. 5, p. 1192-8, May 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22300538> >.

LIM, M. A.; KOHLI, J.; BLOOM, R. D. Immunosuppression for kidney transplantation: Where are we now and where are we going? **Transplant Rev (Orlando)**, v. 31, n. 1, p. 10-17, Jan 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28340885> >.

LOUPY, A.; HAAS, M.; SOLEZ, K.; RACUSEN, L.; GLOTZ, D.; SERON, D.; NANKIVELL, B. J.; COLVIN, R. B.; AFROUZIAN, M.; AKALIN, E.; ALACHKAR, N.; BAGNASCO, S.; BECKER, J. U.; CORNELL, L.; DRACHENBERG, C.; DRAGUN, D.; DE KORT, H.; GIBSON, I. W.; KRAUS, E. S.; LEFAUCHEUR, C.; LEGENDRE, C.; LIAPIS, H.; MUTHUKUMAR, T.; NICKELEIT, V.; ORANDI, B.; PARK, W.; RABANT, M.; RANDHAWA, P.; REED, E. F.; ROUFOSSE, C.; SESHAN, S. V.; SIS, B.; SINGH, H. K.; SCHINSTOCK, C.; TAMBUR, A.; ZEEVI, A.; MENGEL, M. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology. **Am J Transplant**, v. 17, n. 1, p. 28-41, Jan 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27862883> >.

MABASA, V. H.; ENSOM, M. H. The role of therapeutic monitoring of everolimus in solid organ transplantation. **Ther Drug Monit**, v. 27, n. 5, p. 666-76, Oct 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16175142> >.

MACHIELA, M. J.; CHANOCK, S. J. LDlink: a web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants. **Bioinformatics**, v. 31, n. 21, p. 3555-7, Nov 1 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26139635> >.

MALONE, A. F.; BRENNAN, D. C. Singing a New SONG: Outcomes for Clinical Trials. **Transplantation**, v. 101, n. 8, p. 1748-1750, Aug 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28403129> >.

MARCEN, R.; FERNANDEZ-RODRIGUEZ, A.; RODRIGUEZ-MENDIOLA, N.; PONTE, B.; GALEANO, C.; VILAFRUELA, J. J.; TERUEL, J. L.; BURGOS, F. J.; ORTUNO, J. Evolution of rejection rates and kidney graft survival: a historical analysis. **Transplant Proc**, v. 41, n. 6, p. 2357-9, Jul-Aug 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19715918> >.

MISRA, M. K.; MISHRA, A.; PANDEY, S. K.; KAPOOR, R.; SHARMA, R. K.; AGRAWAL, S. Association of functional genetic variants of transcription factor Forkhead Box P3 and Nuclear Factor-kappaB with end-stage renal disease and renal allograft outcome. **Gene**, v. 581, n. 1, p. 57-65, Apr 25 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26794449> >.

MONGUIO-TORTAJADA, M.; LAUZURICA-VALDEMOROS, R.; BORRAS, F. E. Tolerance in organ transplantation: from conventional immunosuppression to extracellular vesicles. **Front Immunol**, v. 5, p. 416, 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25278936> >.

MUTHUKUMAR, T.; DADHANIA, D.; DING, R.; SNOBKOWSKI, C.; NAQVI, R.; LEE, J. B.; HARTONO, C.; LI, B.; SHARMA, V. K.; SESHAN, S. V.; KAPUR, S.; HANCOCK, W. W.; SCHWARTZ, J. E.; SUTHANTHIRAN, M. Messenger RNA for FOXP3 in the urine of renal-allograft recipients. **N Engl J Med**, v. 353, n. 22, p. 2342-51, Dec 1 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16319383> >.

NOCETI, O. M.; WOILLARD, J. B.; BOUMEDIENE, A.; ESPERON, P.; TAUPIN, J. L.; GERONA, S.; VALVERDE, M.; TOURINO, C.; MARQUET, P. Tacrolimus pharmacodynamics and pharmacogenetics along the calcineurin pathway in human lymphocytes. **Clin Chem**, v. 60, n. 10, p. 1336-45, Oct 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25142246> >.

ODA, J. M.; HIRATA, B. K.; GUEMBAROVSKI, R. L.; WATANABE, M. A. Genetic polymorphism in FOXP3 gene: imbalance in regulatory T-cell role and development of human diseases. **J Genet**, v. 92, n. 1, p. 163-71, Apr 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23640423> >.

OJO, A. O.; WOLFE, R. A.; HELD, P. J.; PORT, F. K.; SCHMOUDER, R. L. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. **Transplantation**, v. 63, n. 7, p. 968-74, Apr 15 1997. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9112349> >.

PALLARDO MATEU, L. M.; SANCHO CALABUIG, A.; CAPDEVILA PLAZA, L.; FRANCO ESTEVE, A. Acute rejection and late renal transplant failure: risk factors and prognosis. **Nephrol Dial Transplant**, v. 19 Suppl 3, p. iii38-42, Jun 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15192134> >.

PANTUCK, A. J.; SELIGSON, D. B.; KLATTE, T.; YU, H.; LEPPERT, J. T.; MOORE, L.; O'TOOLE, T.; GIBBONS, J.; BELLDEGRUN, A. S.; FIGLIN, R. A. Prognostic relevance of the mTOR pathway in renal cell carcinoma: implications for molecular patient selection for targeted therapy. **Cancer**, v. 109, n. 11, p. 2257-67, Jun 1 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17440983> >.

PARK, H.; LEE, N.; IN, J. W.; ROH, E. Y.; PARK, K. U.; SHIN, S.; YANG, J.; SONG, E. Y. Association of Foxp3 Polymorphism With Allograft Outcome in Kidney Transplantation. **Ann Lab Med**, v. 37, n. 5, p. 420-425, Sep 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28643491> >.

PASCUAL, J.; DEL CASTILLO, D.; CABELLO, M.; PALLARDO, L.; GRINYO, J. M.; FERNANDEZ, A. M.; BRUNET, M. Interaction between everolimus and tacrolimus in renal transplant recipients: a pharmacokinetic controlled trial. **Transplantation**, v. 89, n. 8, p. 994-1000, Apr 27 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20335831> >.

PIAO, Y.; LI, Y.; XU, Q.; LIU, J. W.; XING, C. Z.; XIE, X. D.; YUAN, Y. Association of MTOR and AKT Gene Polymorphisms with Susceptibility and Survival of Gastric Cancer. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0136447, 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26317520> >.

PICARD, N.; BERGAN, S.; MARQUET, P.; VAN GELDER, T.; WALLEMACQ, P.; HESSELINK, D. A.; HAUFROID, V. Pharmacogenetic Biomarkers Predictive of the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Immunosuppressive Drugs. **Ther Drug Monit**, v. 38 Suppl 1, p. S57-69, Apr 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26469711> >.

POPULO, H.; LOPES, J. M.; SOARES, P. The mTOR signalling pathway in human cancer. **Int J Mol Sci**, v. 13, n. 2, p. 1886-918, 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22408430> >.

POUCHE, L.; KOITKA, M.; STOJANOVA, J.; WOILLARD, J. B.; MONCHAUD, C.; VILLENEUVE, C.; ESSIG, M.; ABRAHAM, J.; LE MEUR, Y.; REROLLE, J. P.; KAMAR, N.; ROSTAING, L.; MERVILLE, P.; GANDIA, P.; BOUCHET, S.; PETERSEN, B. S.; MARQUET, P.; PICARD, N. A candidate gene approach of the calcineurin pathway to identify variants associated with clinical outcomes in renal transplantation. **Pharmacogenomics**, Feb 19 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26894651> >.

POUCHE, L.; STOJANOVA, J.; MARQUET, P.; PICARD, N. New challenges and promises in solid organ transplantation pharmacogenetics: the genetic variability of proteins involved in the pharmacodynamics of immunosuppressive drugs. **Pharmacogenomics**, v. 17, n. 3, p. 277-96, Feb 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26799749> >.

PRETAGOSTINI, R.; LAI, Q.; POLI, L.; LEVI SANDRI, G. B.; TRAVAGLIA, D.; ROSSI, M.; BERLOCO, P. B. Predictive characteristics of delayed graft function after expanded and standard criteria donor kidney transplantations. **Transplant Proc**, v. 41, n. 4, p. 1149-51, May 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19460502> >.

QIU, X. Y.; JIAO, Z.; ZHANG, M.; CHEN, J. P.; SHI, X. J.; ZHONG, M. K. Genetic association of FOXP3 gene polymorphisms with allograft rejection in renal transplant patients. **Nephrology (Carlton)**, v. 17, n. 4, p. 423-30, May 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22239151> >.

RACUSEN, L. C.; SOLEZ, K.; COLVIN, R. B.; BONSI, S. M.; CASTRO, M. C.; CAVALLO, T.; CROKER, B. P.; DEMETRIS, A. J.; DRACHENBERG, C. B.; FOGO, A. B.; FURNESS, P.; GABER, L. W.; GIBSON, I. W.; GLOTZ, D.; GOLDBERG, J. C.; GRANDE, J.; HALLORAN, P. F.; HANSEN, H. E.; HARTLEY, B.; HAYRY, P. J.; HILL, C. M.; HOFFMAN, E. O.; HUNSICKER, L. G.; LINDBLAD, A. S.; YAMAGUCHI, Y.; ET AL. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. **Kidney Int**, v. 55, n. 2, p. 713-23, Feb 1999. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9987096> >.

RIBEIRO, M. P.; SANDES-FREITAS, T. V.; SATO, K. H.; RIBEIRO JUNIOR, M. A.; SILVA-JUNIOR, H. T.; MEDINA-PESTANA, J. O. Effect of induction therapy in kidney transplantation in sensitive patients: analysis of risks and benefits. **J Bras Nefrol**, v. 38, n. 1, p. 82-9, Mar 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27049369> >.

RIQUELME, I.; TAPIA, O.; ESPINOZA, J. A.; LEAL, P.; BUCHEGGER, K.; SANDOVAL, A.; BIZAMA, C.; ARAYA, J. C.; PEEK, R. M.; ROA, J. C. The Gene Expression Status of the PI3K/AKT/mTOR Pathway in Gastric Cancer Tissues and Cell Lines. **Pathol Oncol Res**, v. 22, n. 4, p. 797-805, Oct 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27156070> >.

ROSSO FELIPE, C.; DE SANDES, T. V.; SAMPAIO, E. L.; PARK, S. I.; SILVA, H. T., JR.; MEDINA PESTANA, J. O. Clinical impact of polymorphisms of transport proteins and enzymes involved in the metabolism of immunosuppressive drugs. **Transplant Proc**, v. 41, n. 5, p. 1441-55, Jun 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19545654> >.

SALGADO, C. P. **Estudo de polimorfismos de MTOR e PPP3CA em receptores de transplante renal e sua relação com a resposta a imunossupressores**. 2012. 110 Dissertation (Masters degree). Clinical and toxicological analysis, University of São Paulo

SALGADO, P. C.; GENVIGIR, F. D.; FELIPE, C. R.; TEDESCO-SILVA, H., JR.; MEDINA-PESTANA, J. O.; DOI, S. Q.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. Association of the PPP3CA c.249G>A variant with clinical outcomes of tacrolimus-based therapy in kidney transplant recipients. **Pharmgenomics Pers Med**, v. 10, p. 101-106, 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28435308> >.

SAMANIEGO, M.; BECKER, B. N.; DJAMALI, A. **Drug insight: maintenance immunosuppression in kidney transplant recipients**. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2: 688-99 p. 2006.

SANTIAGO, E. V.; SILVEIRA, M. R.; ARAUJO, V. E.; FARAH KDE, P.; ACURCIO FDE, A.; CECCATO, M. Gender in the allocation of organs in kidney transplants: meta-analysis. **Rev Saude Publica**, v. 49, p. 68, 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26465666> >.

SAXENA, D.; MISRA, M. K.; PARVEEN, F.; PHADKE, S. R.; AGRAWAL, S. The transcription factor Forkhead Box P3 gene variants affect idiopathic recurrent pregnancy loss. **Placenta**, v. 36, n. 2, p. 226-31, Feb 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25499308> >.

SESSO, R. C.; LOPES, A. A.; THOME, F. S.; LUGON, J. R.; MARTINS, C. T. Brazilian Chronic Dialysis Census 2014. **J Bras Nefrol**, v. 38, n. 1, p. 54-61, Mar 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27049365> >.

SHEN, Z.; CHEN, L.; HAO, F.; WANG, G.; LIU, Y. Intron-1 rs3761548 is related to the defective transcription of Foxp3 in psoriasis through abrogating E47/c-Myb binding. **J Cell Mol Med**, v. 14, n. 1-2, p. 226-41, Jan 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20414968> >.

SHUKER, N.; BOUAMAR, R.; VAN SCHAİK, R. H.; CLAHSSEN-VAN GRONINGEN, M. C.; DAMMAN, J.; BAAN, C. C.; VAN DE WETERING, J.; ROWSHANI, A. T.; WEIMAR, W.; VAN GELDER, T.; HESSELINK, D. A. A Randomized Controlled Trial Comparing the Efficacy of Cyp3a5 Genotype-Based With Body-Weight-Based Tacrolimus Dosing After Living Donor Kidney Transplantation. **Am J Transplant**, v. 16, n. 7, p. 2085-96, Jul 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26714287> >.

SLATKIN, M. Linkage disequilibrium--understanding the evolutionary past and mapping the medical future. **Nat Rev Genet**, v. 9, n. 6, p. 477-85, Jun 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18427557> >.

SLATTERY, M. L.; HERRICK, J. S.; LUNDGREEN, A.; FITZPATRICK, F. A.; CURTIN, K.; WOLFF, R. K. Genetic variation in a metabolic signaling pathway and colon and rectal cancer risk: mTOR, PTEN, STK11, RPKAA1, PRKAG2, TSC1, TSC2, PI3K and Akt1. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 9, p. 1604-11, Sep 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20622004> >.

SLATTERY, M. L.; LUNDGREEN, A.; MULLANY, L. E.; PENNEY, R. B.; WOLFF, R. K. Influence of CHIEF pathway genes on gene expression: a pathway approach to functionality. **Int J Mol Epidemiol Genet**, v. 5, n. 2, p. 100-11, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24959314> >.

STAATZ, C. E.; GOODMAN, L. K.; TETT, S. E. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. **Clin Pharmacokinet**, v. 49, n. 3, p. 141-75, Mar 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20170205> >.

STEVENS, P. E.; LEVIN, A.; KIDNEY DISEASE: IMPROVING GLOBAL OUTCOMES CHRONIC KIDNEY DISEASE GUIDELINE DEVELOPMENT WORK GROUP, M. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. **Ann Intern Med**, v. 158, n. 11, p. 825-30, Jun 4 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23732715> >.

STRIMPAKOS, A. S.; KARAPANAGIOTOU, E. M.; SAIF, M. W.; SYRIGOS, K. N. The role of mTOR in the management of solid tumors: an overview. **Cancer Treat Rev**, v. 35, n. 2, p. 148-59, Apr 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19013721> >.

TABER, D. J.; WEIMERT, N. A.; HENDERSON, F.; LIN, A.; BRATTON, C. F.; CHAVIN, K. D.; BALIGA, P. K. Long-term efficacy of induction therapy with anti-interleukin-2 receptor antibodies or thymoglobulin compared with no induction therapy in renal transplantation. **Transplant Proc**, v. 40, n. 10, p. 3401-7, Dec 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19100399> >.

TAMASHIRO, E. Y.; FELIPE, C. R.; GENVIGIR, F. D. V.; RODRIGUES, A. C.; CAMPOS, A. B.; HIRATA, R. D. C.; TEDESCO-SILVA, H.; MEDINA-PESTANA, J. O. Influence of CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms on tacrolimus and sirolimus exposure in stable kidney transplant recipients. **Drug Metab Pers Ther**, v. 32, n. 2, p. 89-95, May 24 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28593920> >.

TEDESCO-SILVA, H.; FELIPE, C.; FERREIRA, A.; CRISTELLI, M.; OLIVEIRA, N.; SANDES-FREITAS, T.; AGUIAR, W.; CAMPOS, E.; GERBASE-DELIMA, M.; FRANCO, M.; MEDINA-PESTANA, J. Reduced Incidence of Cytomegalovirus Infection in Kidney Transplant Recipients Receiving Everolimus and Reduced Tacrolimus Doses. **Am J Transplant**, v. 15, n. 10, p. 2655-64, Oct 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25988935> >.

TSANG, C. K.; QI, H.; LIU, L. F.; ZHENG, X. F. Targeting mammalian target of rapamycin (mTOR) for health and diseases. **Drug Discov Today**, v. 12, n. 3-4, p. 112-24, Feb 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17275731> >.

UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, U. Chapter 7: Transplantation. **Am J Kidney Dis**, v. 69, n. 3, p. 30, 2017.

VERVOORT, G.; WILLEMS, H. L.; WETZELS, J. F. Assessment of glomerular filtration rate in healthy subjects and normoalbuminuric diabetic patients: validity of a new (MDRD) prediction equation. **Nephrol Dial Transplant**, v. 17, n. 11, p. 1909-13, Nov 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12401845> >.

WANG, Y.; SOUABNI, A.; FLAVELL, R. A.; WAN, Y. Y. An intrinsic mechanism predisposes Foxp3-expressing regulatory T cells to Th2 conversion in vivo. **J Immunol**, v. 185, n. 10, p. 5983-92, Nov 15 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20944002> >.

WEBSTER, A. C.; RUSTER, L. P.; MCGEE, R.; MATHESON, S. L.; HIGGINS, G. Y.; WILLIS, N. S.; CHAPMAN, J. R.; CRAIG, J. C. Interleukin 2 receptor antagonists for kidney transplant recipients. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 1, p. CD003897, Jan 20 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20091551> >.

WEICHHART, T. mTOR as Regulator of Lifespan, Aging, and Cellular Senescence: A Mini-Review. **Gerontology**, Dec 1 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29190625> >.

WESOLOWSKA-ANDERSEN, A.; BORST, L.; DALGAARD, M. D.; YADAV, R.; RASMUSSEN, K. K.; WEHNER, P. S.; RASMUSSEN, M.; ORNTOFT, T. F.; NORDENTOFT, I.; KOEHLER, R.; BARTRAM, C. R.; SCHRAPPE, M.; SICHERITZ-PONTEN, T.; GAUTIER, L.; MARQUART, H.; MADSEN, H. O.; BRUNAK, S.; STANULLA, M.; GUPTA, R.; SCHMIEGELOW, K. Genomic profiling of thousands of candidate polymorphisms predicts risk of relapse in 778 Danish and German childhood acute lymphoblastic leukemia patients. **Leukemia**, v. 29, n. 2, p. 297-303, Feb 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24990611> >.

WOILLARD, J. B.; KAMAR, N.; ROUSSEAU, A.; ROSTAING, L.; MARQUET, P.; PICARD, N. Association of sirolimus adverse effects with m-TOR, p70S6K or Raptor polymorphisms in kidney transplant recipients. **Pharmacogenet Genomics**, v. 22, n. 10, p. 725-32, Oct 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22863900> >.

WU, Z.; XU, Q.; QIU, X.; JIAO, Z.; ZHANG, M.; ZHONG, M. FOXP3 rs3761548 polymorphism is associated with tacrolimus-induced acute nephrotoxicity in renal transplant patients. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 73, n. 1, p. 39-47, Jan 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27747372> >.

XAVIER, H. T.; IZAR, M. C.; FARIA NETO, J. R.; ASSAD, M. H.; ROCHA, V. Z.; SPOSITO, A. C.; FONSECA, F. A.; DOS SANTOS, J. E.; SANTOS, R. D.; BERTOLAMI, M. C.; FALUDI, A. A.; MARTINEZ, T. L.; DIAMENT, J.; GUIMARAES, A.; FORTI, N. A.; MORIGUCHI, E.; CHAGAS, A. C.; COELHO, O. R.; RAMIRES, J. A. [V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis]. **Arq Bras Cardiol**, v. 101, n. 4 Suppl 1, p. 1-20, Oct 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24217493> >.

XIE, X.; JIANG, Y.; LAI, X.; XIANG, S.; SHOU, Z.; CHEN, J. mTOR inhibitor versus mycophenolic acid as the primary immunosuppression regime combined with calcineurin inhibitor for kidney transplant recipients: a meta-analysis. **BMC Nephrol**, v. 16, p. 91, 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26126806> >.

YANG, Y.; YU, B.; CHEN, Y. Blood disorders typically associated with renal transplantation. **Front Cell Dev Biol**, v. 3, p. 18, 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25853131> >.

ZENG, H. mTOR signaling in immune cells and its implications for cancer immunotherapy. **Cancer Lett**, v. 408, p. 182-189, Nov 1 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28888995> >.

ZENG, H.; CHI, H. mTOR signaling in the differentiation and function of regulatory and effector T cells. **Curr Opin Immunol**, v. 46, p. 103-111, Jun 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28535458> >.

ZHU, J.; WANG, M.; ZHU, M.; HE, J.; WANG, J. C.; JIN, L.; WANG, X. F.; XIANG, J. Q.; WEI, Q. Associations of PI3KR1 and mTOR polymorphisms with esophageal squamous cell carcinoma risk and gene-environment interactions in Eastern Chinese populations. **Sci Rep**, v. 5, p. 8250, Feb 05 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25654238> >.

ZHU, M. L.; YU, H.; SHI, T. Y.; HE, J.; WANG, M. Y.; LI, Q. X.; SUN, M. H.; JIN, L.; YANG, Y. J.; WANG, J. C.; XIANG, J. Q.; WEI, Q. Y. Polymorphisms in mTORC1 genes modulate risk of esophageal squamous cell carcinoma in eastern Chinese populations. **J Thorac Oncol**, v. 8, n. 6, p. 788-95, Jun 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23524405> >.

ZSOM, L.; WAGNER, L.; FULOP, T. Minimization vs tailoring: Where do we stand with personalized immunosuppression during renal transplantation in 2015? **World J Transplant**, v. 5, n. 3, p. 73-80, Sep 24 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26421259> >.

8. ANEXOS

ANEXO 1

Informações relevantes dos polimorfismos genéticos em estudo

Applied Biosystems_ID	dbSNP_ID	Gene	SNP	Troca de alelo	Classificação funcional
C_8862305_1	rs1057079	<i>MTOR</i>	c.4731G>A	GCG > GCA	Variante Sinônima ^a
C_8862346_10	rs1135172	<i>MTOR</i>	c.1437T>C	GAC > GAT	Variante sinônima ^a
C_28027381_10	rs1064261	<i>MTOR</i>	c.2997C>T	AAT > AAC	Variante sinônima ^a
C_25618069_10	rs3730251	<i>PPP3CA</i>	c.249G>A	GCG > GCA	Variante sinônima ^a
C__30149598_20	rs6033557	<i>FKBP1A</i>	n.259+24936T>C	GGA A AAG GGA G AAG	Variante <i>downstream</i> ^b
C__2981262_20	rs2159370	<i>FKBP2</i>	c.-2110G>T	CTTG C GATT CTTG A GATT	Variante <i>downstream</i> ^b
C__27476877_10	rs3761548	<i>FOXP3</i>	c.-23+2882A>C	AACTG C AGGC AACTG A AGGC	Variante intrônica ^c
C__15942641_10	rs2232365	<i>FOXP3</i>	c.-22-902A>G	CCCC A TCTC CCCC G TCTC	Variante intrônica ^c

Nota: ^aVariante sinônima considera todo aquele SNP que altera um nucleotídeo de um códon dentro de um éxon, mas que não altera o aminoácido correspondente. ^bVariante *downstream* se refere a aqueles SNPs encontrados fora do transcrito, a uma distância não maior a 5kb. ^cVariante intrônica se refere a todo SNP que altere a sequência nucleotídica numa região não codificadora (intron).

ANEXO 2

Notificação do parecer do Comitê de Ética da UNIFESP



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 6 de maio de 2011.
CEP 0339/11

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) HELIO TEDESCO SILVA JUNIOR
Co-Investigadores:
Disciplina/Departamento: Nefrologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: Novartis Biociências S.A.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **“Eficácia e segurança de estratégias de indução combinadas com exposição reduzida a tacrolimo em receptores de transplante renal em uso de everolimo ou micofenolato de sódio”**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Intervenção terapêutica.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Risco mínimo, desconforto leve, envolvendo coleta de sangue.

OBJETIVOS: Verificar incidência de doença ou infecção por CMV durante o primeiro ano de transplante.

RESUMO: Estudo prospectivo, randomizado, de centro único. Os pacientes serão captados a partir do atendimento no Hospital do Rim e Hipertensão, sendo selecionados pacientes candidatos a transplante renal em acompanhamento no ambulatório pré-transplante da Instituição, ou que estiverem inscritos na lista única de receptores da Central de transplante. O protocolo foi desenhado para comparar a segurança e eficácia de 3 regimes imunossuppressores: 1- única dose de globulina antitímócita, exposição reduzida a tacrolimo, everolimo começando no dia 2 após o transplante e prednisona; 2- basiliximab, exposição reduzida a tacrolimo, everolimo começando no dia 2 após o transplante e prednisona; 3- (grupo controle)- basiliximab, exposição reduzida a tacrolimo, micofenolato e prednisona. Todos os pacientes receberão 1g de metilprednisolona antes da revascularização do enxerto. Pacientes randomizados para o grupo 1 receberão uma dose única de 3 mg/kg de peso corporal de globulina antitímócita administrada via intravenosa começando nas primeiras 24 horas após revascularização do enxerto. O pré-tratamento inclui hidrocortisona e dipirona antes da infusão da globulina antitímócita, que será reconstituída de acordo com a bula. Pacientes dos grupos 2 e 3 receberão basiliximabe nos dias 0 e 4 de acordo com as instruções da bula. Nenhuma profilaxia contra CMV será usada. Abordagem preventiva será usada baseada na avaliação semanal de antigenemia para CMV. Pacientes serão acompanhados por 12 meses ou até serem descontinuados do estudo ou por perda de seguimento com extensão planejada para 5 anos, dependendo da análise dos objetivos no primeiro ano. Serão realizados estudos exploratórios: investigar os polimorfismos genéticos de transportadores de droga e de enzimas metabolizadoras de tacrolimo, everolimo e ácido micofenólico; investigar a expressão de enzimas alvo em células do sangue periférico; investigar a proporção de células T regulatórias (Treg) em sangue periférico usando FACS; investigar nas células Treg, genes associados com estado tolerogênico. O estudo espera incluir 300

pacientes em 12 meses. Apenas candidatos adultos de baixo risco para primeiro transplante renal de doadores vivos ou falecidos serão considerados para inclusão..

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Apesar da melhora dos resultados de eficácia com os esquemas imunossuppressores atuais, a segurança dos regimes utilizados não demonstra os mesmos resultados. O regime mais utilizado mundialmente consiste em tacrolimo, micofenolato e prednisona. Apesar dos resultados de eficácia favoráveis, em nossa população, o uso dessa combinação está associado à elevada incidência de infecções virais, como citomegalovírus e eventos gastrointestinais, duas causas comuns de re-hospitalizações após o transplante renal.

A hipótese do estudo é que uma única dose de globulina antitímocita na terapia de indução ou basiliximab em combinação com baixas doses de tacrolimo, everolimo e prednisona pode resultar em eficácia comparável observada em pacientes recebendo tacrolimo/ micofenolato/ prednisona, mas com um melhor perfil de segurança..

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos do estudo..

TCLE: Apresentado adequadamente, de acordo com a Res 196/96.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Laboratório Novartis Biociências S A.

CRONOGRAMA: 24 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Não envolve obtenção de título.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: **30/4/2012 e 30/4/2013.**

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

0339/11

ANEXO 3

Notificação DO Comitê de Ética da FCF/USP

São Paulo, 19 de Março de 2015.

Ilmo. Sr.

Prof. Dr. MauricioYonamine

Coordenador

CEP-FCF/USP

Ref.: Notificação de participação em projeto de Pesquisa
Hospital do Rim e Hipertensão/UNIFESP

Prezado Professor,

Venho comunicar a inclusão de membros do grupo de pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF/USP), como colaboradores do subprojeto **“Estudos farmacogenômicos e biomarcadores de rejeição aguda”** (Protocolo CEP-UNIFESP 0339/11) incluído no projeto principal **“Eficácia e segurança de estratégias de indução combinadas com exposição reduzida a tacrolimo em receptores de transplante renal em uso de everolimo ou micofenolato de sódio”**. Em anexo, se encontra a notificação do pesquisador principal, Dr. Helio Tedesco Silva Jr do Hospital do Rim e Hipertensão, ao CEP da UNIFESP e cópias do projeto de pesquisa, parecer do CEP-UNIFESP e três emendas ao protocolo. .

Colaboradores que foram incluídos:

Profa. Rosario D. C. Hirata

Prof. Mario H. Hirata

Alvaro Cerda (pos-doutorando)

Fabiana Dalla Vecchia Gengivir (pos-doutoranda)

Vivian Bonezi (aluna de mestrado)

Gabriela Vieira Monteiro (aluna de Iniciação científica)

Antony Brayan Campos Salazar (aluno de mestrado – situação em março/2015)

Cristina Fajardo (técnica de laboratório)

Sem mais para o momento, estou à disposição para dar esclarecimentos que se fizerem necessários.

Atenciosamente,
Profa. Dra. Rosario D. C. Hirata

ANEXO 4

Ficha de Aluno atualizada

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9136 - 8873670/1 - Antony Brayan Campos Salazar

Email: antonybcampos@usp.br
Data de Nascimento: 11/02/1993
Cédula de Identidade: RNE - V998544-0 - SP
Local de Nascimento: Peru
Nacionalidade: Peruana
Graduação: Bachiller en Farmacia y Bioquímica - Facultad de Farmacia y Bioquímica - Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Peru - 2015

Curso: Mestrado
Programa: Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)
Área: Análises Clínicas
Data de Matrícula: 12/03/2015
Início da Contagem de Prazo: 12/03/2015
Data Limite para o Depósito: 12/09/2017
Orientador: Prof(a). Dr(a). Rosario Dominguez Crespo Hirata - 12/03/2015 até o presente. Email: rosariohirata@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 12/03/2015
Português, Aprovado em 12/05/2016
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 12/05/2016
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 12/03/2015

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor a partir de 20/04/2013).

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 17/07/2017

Impresso em: 12/09/2017 10:02:52

9136 - 8873670/1 - Antony Brayan Campos Salazar

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
MCM5772-7/1	Temas Básicos de Imunologia (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	06/04/2015	03/05/2015	60	4	90	A	N	Concluída
FBA5728-3/11	Aprimoramento Didático	14/04/2015	11/05/2015	60	4	85	A	N	Concluída
FBT5700-3/2	Preparo de Artigos Científicos na Área de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica	08/05/2015	09/07/2015	90	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBF5817-1/1	Tópicos Avançados em Fármacos e Medicamentos - Planejamento de Fármacos: As Bases para o Desenvolvimento de Candidatos a Antineoplásicos	11/05/2015	17/05/2015	30	2	100	A	N	Concluída
MCP5870-1/1	A Construção de uma Carreira Científica: da Teoria à Prática (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	15/06/2015	28/06/2015	30	2	90	A	N	Concluída
FBC5757-6/2	Tópicos em Análises Clínicas II	04/08/2015	16/11/2015	15	1	100	A	N	Concluída
FBC5780-2/3	Análise de Dados Aplicados às Pesquisas Biológicas	10/08/2015	21/09/2015	90	6	100	A	N	Concluída
IBI5011-3/3	Introdução à Computação para Bioinformática (Curso Interunidades: Bioinformática - Universidade de São Paulo)	22/02/2016	30/05/2016	120	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBC5792-3/3	Tópicos em Análises Clínicas III	08/03/2016	20/06/2016	15	1	87	A	N	Concluída
MAE5755-7/3	Métodos Estatísticos Aplicados às Ciências Biológicas (Instituto de Matemática e Estatística - Universidade de São Paulo)	08/08/2016	25/11/2016	120	0	91	R	N	Concluída
ICB5752-1/1	Como Comunicar Sua Ciência: Melhorando a Oratória e a Empatia com o Público (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	14/09/2016	27/09/2016	30	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBA5905-1/1	Planejamento Experimental e Análise Multivariada	13/02/2017	26/02/2017	60	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBT5700-3/4	Preparo de Artigos Científicos na Área de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica	10/03/2017	11/05/2017	90	6	80	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	26
Estágios:			
Total:	0	25	26

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 17/07/2017

Impresso em: 12/09/2017 10:02:52

ANEXO 5

Monitoramento terapêutico dos imunossupressores

Concentrações de tacrolimo nos grupos terapêuticos no 1º ano pós-transplante

Dias pós-transplante	n	Total	TAC5-EVR	TAC10-EVR	TAC10-MPS	p
3	266	8,0 [5,0 – 11,5]	79 5,8 [3,6 – 8,7] ^a	96 8,7 [5,5 – 12,3] ^b	91 8,8 [6,2 – 13,1] ^b	<0,0001
7	265	8,2 [6,2 – 11,0]	79 6,0 [4,4 – 8,1] ^a	96 9,0 [6,6 – 11,5] ^b	90 9,5 [7,6 – 11,9] ^b	<0,0001
14	260	6,8 [5,3 – 9,1]	78 5,2 [3,9 – 6,5] ^a	95 7,2 [5,9 – 9,2] ^b	87 8,2 [6,7 – 10,8] ^b	<0,0001
30	261	6,4 [4,8 – 8,6]	79 4,7 [4,1 – 6,3] ^a	94 7,3 [5,4 – 9,0] ^b	88 7,5 [6,0 – 9,3] ^b	<0,0001
60	258	5,2 [4,1 – 7,4]	78 4,2 [3,3 – 5,6] ^a	93 5,1 [4,2 – 7,6] ^b	87 6,5 [4,7 – 8,6] ^c	<0,0001
90	259	5,4 [4,2 – 7,0]	79 4,4 [3,4 – 5,6] ^a	92 5,1 [4,3 – 6,3] ^b	88 6,9 [5,8 – 8,7] ^c	<0,0001
120	258	5,2 [4,1 – 6,8]	78 4,2 [3,3 – 5,4] ^a	92 5,2 [4,0 – 6,8] ^b	88 6,3 [5,2 – 7,8] ^c	<0,0001
150	256	5,3 [3,9 – 6,8]	77 4,3 [3,3 – 5,7] ^a	92 5,2 [3,7 – 6,5] ^a	87 6,4 [5,0 – 7,9] ^b	<0,0001
180	257	5,2 [3,9 – 6,8]	79 4,5 [3,5 – 5,6] ^a	92 4,9 [3,6 – 6,5] ^a	86 6,3 [5,2 – 7,5] ^b	<0,0001
270	254	4,8 [3,8 – 6,3]	78 4,2 [3,4 – 4,9] ^a	91 4,4 [3,6 – 6,1] ^a	85 5,9 [4,8 – 7,9] ^b	<0,0001
365	248	4,8 [3,9 – 6,4]	77 4,5 [3,7 – 5,8] ^a	88 4,7 [3,4 – 6,4] ^a	83 5,9 [4,4 – 7,1] ^b	<0,0001

Nota: As concentrações de tacrolimo são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses. Letras diferentes na mesma linha representam valores estatisticamente diferentes, indicados por teste de Dunn's ($p < 0,05$). n, número de indivíduos.

ANEXO 6

Doses de tacrolimo nos grupos terapêuticos no 1º ano pós-transplante

Dias pós-transplante	n	Total	n	TAC5-EVR	n	TAC10-EVR	n	TAC10-MPS	p
3	266	12,0 [10,0 – 14,0]	79	8,0 [6,0 – 10,0] ^a	96	14,0 [12,0 – 14,0] ^b	91	14,0 [12,0 – 16,0] ^b	<0,0001
7	265	10,0 [7,0 – 12,0]	79	8,0 [6,0 – 10,0] ^a	96	10,0 [8,0 – 14,0] ^b	90	10,5 [8,0 – 14,0] ^b	<0,0001
14	262	8,0 [6,0 – 10,0]	78	6,0 [4,0 – 8,0] ^a	95	8,0 [6,0 – 10,0] ^b	89	10,0 [6,0 – 12,0] ^b	<0,0001
30	263	6,0 [4,0 – 10,0]	79	4,0 [4,0 – 6,0] ^a	95	6,0 [4,0 – 10,0] ^b	89	6,0 [4,0 – 10,0] ^b	<0,0001
60	258	4,0 [3,0 – 6,0]	78	4,0 [2,0 – 5,0] ^a	93	4,0 [3,0 – 8,0] ^b	87	6,0 [4,0 – 8,0] ^b	<0,0001
90	258	4,0 [3,0 – 6,0]	79	3,0 [2,0 – 4,0] ^a	91	4,0 [3,0 – 6,0] ^b	88	6,0 [4,0 – 6,0] ^b	<0,0001
120	258	4,0 [2,0 – 6,0]	78	3,0 [2,0 – 4,0] ^a	92	4,0 [2,3 – 6,0] ^b	88	6,0 [3,0 – 6,0] ^b	<0,0001
150	256	4,0 [2,0 – 6,0]	77	3,0 [2,0 – 4,0] ^a	92	3,5 [2,0 – 6,0] ^a	87	4,0 [3,0 – 6,0] ^b	<0,0001
180	257	4,0 [2,0 – 6,0]	79	3,0 [2,0 – 4,0] ^a	92	3,0 [2,0 – 5,8] ^{ab}	86	4,0 [3,0 – 6,0] ^b	0,001
270	254	3,0 [2,0 – 6,0]	78	3,0 [2,0 – 4,0] ^a	91	3,0 [2,0 – 6,0] ^a	85	4,0 [3,0 – 6,0] ^b	0,001
365	248	4,0 [2,0 – 6,0]	77	3,0 [2,0 – 4,0] ^a	88	3,0 [2,0 – 6,0] ^{ab}	83	4,0 [2,0 – 6,0] ^b	0,013

Nota: As doses de tacrolimo são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses. Letras diferentes na mesma linha representam valores estatisticamente diferentes, indicados por teste de Dunn's ($p < 0,05$). n, número de indivíduos.

ANEXO 7

Concentrações corrigidas pelas doses de tacrolimo nos grupos terapêuticos no 1º ano pós-transplante

Dias pós-transplante	n	Total	n	TAC5-EVR	n	TAC10-EVR	n	TAC10-MPS	p
3	266	0,66 [0,44 – 0,99]	79	0,74 [0,44 – 0,97]	96	0,65 [0,44 – 1,00]	91	0,65 [0,46 – 0,99]	0,913
7	265	0,85 [0,59 – 1,25]	79	0,85 [0,60 – 1,25]	96	0,87 [0,57 – 1,25]	90	0,86 [0,59 – 1,25]	0,920
14	259	0,88 [0,59 – 1,37]	78	0,81 [0,52 – 1,23]	95	0,89 [0,62 – 1,21]	86	0,89 [0,62 – 1,53]	0,349
30	261	1,05 [0,69 – 1,60]	79	1,05 [0,61 – 1,58]	94	1,08 [0,69 – 1,77]	88	0,99 [0,75 – 1,59]	0,592
60	258	1,13 [0,76 – 1,95]	78	1,22 [0,74 – 2,01]	93	1,08 [0,70 – 1,82]	87	1,13 [0,78 – 1,80]	0,626
90	258	1,36 [0,85 – 1,90]	79	1,35 [0,85 – 1,95]	91	1,28 [0,77 – 1,75]	88	1,38 [1,01 – 1,99]	0,368
120	258	1,37 [0,87 – 2,07]	78	1,49 [0,89 – 2,10]	92	1,34 [0,87 – 1,99]	88	1,37 [0,86 – 2,19]	0,799
150	256	1,39 [0,87 – 2,19]	77	1,38 [0,89 – 2,15]	92	1,41 [0,85 – 2,29]	87	1,35 [0,95 – 2,23]	0,965
180	257	1,53 [0,93 – 2,40]	79	1,47 [0,93 – 2,43]	92	1,40 [0,88 – 2,29]	86	1,62 [0,97 – 2,45]	0,537
270	254	1,45 [0,95 – 2,40]	78	1,58 [1,03 – 2,26]	91	1,50 [0,90 – 2,40]	85	1,40 [0,90 – 2,53]	0,870
365	248	1,49 [0,98 – 2,33]	77	1,53 [0,94 – 2,36]	88	1,53 [1,00 – 2,35]	83	1,40 [0,98 – 2,15]	0,969

Nota: As concentrações corrigidas pelas doses de tacrolimo são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses. Letras diferentes na mesma linha representam valores estatisticamente diferentes, indicados por teste de Dunn's ($p < 0,05$).
n, número de indivíduos.

ANEXO 8

Concentrações de everolimo nos grupos terapêuticos no 1º ano pós-transplante

Dias pós-transplante	n	Total	n	TAC5-EVR	n	TAC10-EVR	p
3	165	3,3 [2,7 – 4,3]	77	3,1 [2,6 – 4,1]	88	3,3 [2,8 – 4,4]	0,229
7	172	3,8 [3,1 – 4,8]	78	4,1 [3,4 – 5,0]	96	3,8 [3,2 – 5,0]	0,452
14	174	4,0 [3,3 – 5,0]	78	4,1 [3,4 – 5,0]	96	3,8 [3,2 – 5,0]	0,404
30	169	4,8 [3,6 – 6,2]	79	4,9 [3,6 – 6,2]	90	4,7 [3,6 – 6,2]	0,510
60	167	5,4 [4,2 – 6,8]	77	5,5 [4,1 – 7,2]	90	5,2 [4,3 – 6,4]	0,603
90	166	5,4 [4,4 – 6,6]	78	5,6 [4,5 – 6,6]	88	5,3 [4,4 – 6,5]	0,483
120	170	5,6 [4,4 – 6,7]	78	5,6 [4,5 – 6,7]	87	5,5 [4,2 – 6,6]	0,363
150	168	5,8 [4,8 – 7,0]	76	5,9 [4,8 – 7,5]	87	5,8 [4,8 – 7,0]	0,838
180	172	5,8 [4,8 – 7,6]	78	5,7 [4,9 – 7,8]	86	5,8 [4,4 – 7,2]	0,394
270	160	6,1 [4,9 – 7,1]	73	6,3 [5,1 – 7,2]	78	5,8 [4,6 – 6,9]	0,102
365	158	5,8 [4,7 – 7,0]	72	6,2 [5,1 – 7,4]	77	5,6 [4,6 – 6,8]	0,064

Nota: As concentrações de everolimo são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses. n, número de indivíduos.

ANEXO 9

Doses de everolimo nos grupos terapêuticos no 1º ano pós-transplante

Dias pós-transplante	n	Total	n	TAC5-EVR	n	TAC10-EVR	p
3	175	3,0 [3,0 – 3,0]	79	3,0 [3,0 – 3,0]	95	3,0 [3,0 – 3,0]	0,034
7	175	3,0 [3,0 – 3,0]	79	3,0 [3,0 – 3,5]	96	3,0 [3,0 – 3,0]	0,319
14	174	3,0 [3,0 – 4,0]	78	3,0 [3,0 – 4,0]	96	3,0 [3,0 – 4,0]	0,834
30	168	4,0 [3,0 – 4,0]	79	4,0 [3,0 – 4,0]	89	4,0 [3,0 – 4,0]	0,419
60	167	4,0 [3,0 – 4,0]	78	4,0 [3,0 – 4,0]	89	4,0 [3,0 – 4,0]	0,809
90	166	4,0 [3,0 – 4,0]	78	4,0 [3,0 – 4,0]	88	4,0 [3,0 – 4,0]	0,292
120	169	4,0 [3,0 – 4,0]	77	4,0 [3,0 – 4,0]	87	4,0 [3,0 – 4,0]	0,796
150	169	4,0 [3,0 – 4,0]	75	4,0 [3,0 – 4,0]	87	4,0 [3,0 – 4,0]	0,637
180	171	4,0 [3,0 – 4,0]	77	4,0 [3,0 – 4,0]	86	4,0 [3,0 – 4,0]	0,859
270	163	4,0 [3,0 – 4,0]	74	4,0 [3,0 – 4,0]	80	4,0 [3,0 – 4,0]	0,674
365	161	4,0 [3,0 – 4,0]	73	3,0 [3,0 – 4,0]	79	3,0 [3,0 – 4,1]	0,419

Nota: As doses de everolimo são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses. n, número de indivíduos.

ANEXO 10

Concentrações corrigidas pelas doses de everolimo nos grupos terapêuticos no 1º ano pós-transplante

Dias pós-transplante	n	Total	n	TAC5-EVR	n	TAC10-EVR	p
3	165	1,10 [0,90 – 1,43]	77	1,03 [0,87 – 1,37]	88	1,10 [0,93 – 1,53]	0,160
7	172	1,22 [0,95 – 1,60]	79	1,25 [0,95 – 1,57]	93	1,17 [0,96 – 1,62]	0,849
14	173	1,17 [0,91 – 1,53]	78	1,17 [1,00 – 1,54]	95	1,17 [0,87 – 1,50]	0,551
30	168	1,30 [1,03 – 1,78]	79	1,30 [1,02 – 1,83]	89	1,30 [1,05 – 1,77]	0,764
60	166	1,43 [1,07 – 2,01]	77	1,43 [1,07 – 1,98]	89	1,43 [1,08 – 2,08]	0,939
90	166	1,43 [1,14 – 2,12]	78	1,45 [1,13 – 2,13]	88	1,41 [1,14 – 2,08]	0,952
120	169	1,57 [1,17 – 1,94]	77	1,53 [1,21 – 2,17]	87	1,58 [1,13 – 1,87]	0,587
150	167	1,60 [1,23 – 2,15]	75	1,62 [1,23 – 2,23]	87	1,58 [1,23 – 2,07]	0,649
180	171	1,63 [1,23 – 2,23]	77	1,73 [1,23 – 2,38]	86	1,57 [1,16 – 2,16]	0,476
270	160	1,67 [1,23 – 2,33]	73	1,73 [1,30 – 2,40]	78	1,59 [1,10 – 2,23]	0,099
365	158	1,73 [1,29 – 2,54]	72	1,80 [1,39 – 2,65]	77	1,53 [1,14 – 2,37]	0,114

Nota: As concentrações corrigidas pelas doses de everolimo são apresentadas como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses. n, número de indivíduos.

ANEXO 11

Avaliação dos desfechos clínicos de eficácia e segurança

Taxa de filtração glomerular estimada

Taxa de filtração glomerular estimada dos receptores no 1º ano pós-transplante renal

Dias pós-transplante	n	Total	n	TAC5-EVR	n	TAC10-EVR	n	TAC10-MPS	p
Pre-Tx	269	7,0 (5,0 – 8,0)	80	6,5 (6,0 – 8,0)	96	6,0 (5,0 – 8,0)	93	7,0 (5,0 – 9,0)	0,925
D7	267	20,2 (7,6 – 54,0)	80	11,1 (7,4 – 49,8)	96	24,8 (8,2 – 57,0)	91	26,3 (8,6 – 57,6)	0,357
D14	264	39,4 (14,9 – 60,4)	78	33,6 (12,1 – 57,2)	96	41,8 (14,5 – 65,8)	90	41,3 (17,7 – 61,7)	0,357
M1	265	57,1 (39,5 – 73,4)	79	59,1 (43,8 – 72,0)	96	56,1 (36,4 – 75,3)	90	57,2 (42,2 – 73,5)	0,918
M2	262	63,8 (49,4 – 77,7)	78	64,3 (52,1 – 80,8)	94	60,5 (43,4 – 72,4)	90	66,7 (50,9 – 79,1)	0,192
M3	260	62,9 (50,7 – 79,1)	79	65,2 (53,8 – 76,2) ^{ab}	93	59,0 (48,5 – 74,0) ^a	88	67,6 (53,4 – 84,6) ^b	0,044
M4	259	64,5 (50,7 – 81,1)	78	64,0 (54,6 – 83,2)	93	59,2 (46,4 – 74,0)	88	68,8 (51,8 – 82,5)	0,050
M5	257	63,2 (49,7 – 79,5)	77	63,1 (50,5 – 78,8) ^{ab}	93	60,1 (46,0 – 72,6) ^a	87	68,1 (53,1 – 86,1) ^b	0,029
M6	260	62,8 (49,2 – 79,6)	79	62,9 (51,5 – 81,6)	93	57,4 (45,8 – 71,3)	88	66,6 (51,5 – 85,0)	0,053
M9	257	61,9 (47,4 – 77,3)	78	64,0 (50,0 – 78,7)	92	56,2 (45,9 – 73,6)	87	65,2 (52,0 – 83,1)	0,050
M12	250	63,5 (49,7 – 78,2)	77	64,6 (48,9 – 79,1) ^{ab}	90	57,8 (44,6 – 70,7) ^a	83	67,3 (55,7 – 81,5) ^b	0,014

Nota: Os valores de TFGe são apresentados como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses. n, número de indivíduos.

ANEXO 12

Creatinina sérica

Concentrações de creatinina sérica dos receptores no 1º ano pós-transplante renal

Dias pós-transplante	n	Total	n	TAC5-EVR	n	TAC10-EVR	n	TAC10-MPS	p
Pre-Tx	268	9,32 (7,47 – 11,27)	80	9,15 (7,69 – 11,45)	96	9,42 (7,33 – 11,79)	93	9,32 (7,38 – 10,81)	0,981
D7	267	3,44 (1,50 – 7,99)	80	5,67 (1,58 – 8,19)	96	2,68 (1,44 – 7,92)	91	2,77 (1,45 – 7,98)	0,328
D14	264	1,94 (1,33 – 4,23)	78	2,08 (1,42 – 5,33)	96	1,82 (1,26 – 4,31)	90	1,92 (1,32 – 3,99)	0,354
M1	265	1,41 (1,14 – 1,89)	79	1,34 (1,16 – 1,87)	96	1,47 (1,10 – 2,03)	90	1,43 (1,13 – 1,77)	0,964
M2	262	1,30 (1,06 – 1,71)	78	1,28 (1,08 – 1,61)	94	1,41 (1,11 – 1,92)	90	1,28 (1,02 – 1,72)	0,291
M3	260	1,33 (1,07 – 1,62)	79	1,32 (1,07 – 1,53)	93	1,36 (1,14 – 1,78)	88	1,02 (1,23 – 1,50)	0,153
M4	259	1,31 (1,04 – 1,63)	78	1,34 (1,04 – 1,58)	93	1,40 (1,11 – 1,68)	88	1,20 (1,00 – 1,60)	0,189
M5	257	1,30 (1,07 – 1,67)	77	1,30 (1,06 – 1,61)	93	1,39 (1,11 – 1,70)	87	1,24 (1,03 – 1,63)	0,137
M6	260	1,32 (1,08 – 1,65)	79	1,31 (1,09 – 1,63)	93	1,40 (1,12 – 1,74)	88	1,28 (1,00 – 1,63)	0,145
M9	257	1,33 (1,08 – 1,68)	78	1,31 (1,08 – 1,65)	92	1,43 (1,14 – 1,90)	87	1,31 (1,05 – 1,59)	0,142
M12	250	1,33 (1,07 – 1,62)	77	1,31 (1,11 – 1,67) ^{ab}	90	1,44 (1,10 – 1,81) ^a	83	1,24 (0,99 – 1,53) ^b	0,034

Nota: As concentrações de creatinina sérica são apresentados como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses. n, número de indivíduos.

ANEXO 13

Polimorfismos genéticos e função renal do enxerto

Creatinina sérica

Associação de polimorfismos genéticos com creatinina sérica, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Dia pós-transplante	Genótipo	Tercil baixo	Tercil médio	Tercil alto	OR (IC95%)	p
<i>MTOR c.4731G>A</i>	14	AA	29,0% (18)	38,7% (24)	32,3% (20)	1,03 (0,58 – 1,80)	0,929
		AG+GG	36,6% (41)	25,0% (28)	38,4% (43)	Reference	
	90	AA	29,5% (18)	31,1% (19)	39,3% (24)	1,10 (0,61 – 1,96)	0,758
		AG+GG	27,9% (31)	37,8% (42)	34,2% (38)	Reference	
	365	AA	33,9% (20)	28,8% (17)	37,3% (22)	0,90 (0,50 – 1,62)	0,726
		AG+GG	27,8% (30)	36,1% (39)	36,1% (39)	Reference	
<i>MTOR c.1437T>C</i>	14	CC	30,2% (19)	39,7% (25)	30,2% (19)	0,92 (0,53 – 1,61)	0,772
		CT+TT	36,0% (40)	24,3% (27)	39,6% (44)	Reference	
	90	CC	26,2% (16)	32,8% (20)	41,0% (25)	1,30 (0,73 – 2,32)	0,372
		CT+TT	29,7% (33)	36,9% (41)	33,3% (37)	Reference	
	365	CC	23,7% (14)	30,5% (18)	45,8% (27)	1,74 (0,96 – 3,15)	0,067
		CT+TT	33,3% (36)	35,2% (38)	31,5% (34)	Reference	
<i>MTOR c.2997C>T</i>	14	TT	31,9% (23)	38,9% (28)	29,2% (21)	0,82 (0,48 – 1,43)	0,492
		TC+CC	35,3% (36)	23,5% (24)	41,2% (42)	Reference	
	90	TT	29,0% (20)	33,3% (23)	37,7% (26)	1,05 (0,60 – 1,84)	0,866
		TC+CC	28,2% (29)	36,9% (38)	35,0% (36)	Reference	
	365	TT	26,9% (18)	32,8% (22)	40,3% (27)	1,30 (0,73 – 2,30)	0,371
		TC+CC	32,0% (32)	34,0% (34)	34,0% (34)	Reference	
<i>PPP3CA c.249G>A</i>	14	GG	35,6% (80)	32,5% (72)	32,4% (73)	0,64 (0,34 – 1,17)	0,147
		GA+AA	20,5% (8)	41,1% (16)	38,5% (15)	Reference	
	90	GG	35,6% (79)	31,1% (69)	33,3% (74)	0,77 (0,42 – 1,41)	0,390
		GA+AA	21,1% (8)	47,4% (18)	31,6% (12)	Reference	
	365	GG	35,0% (75)	31,3% (67)	33,6% (72)	0,86 (0,46 – 1,62)	0,646
		GA+AA	25,0% (9)	44,4% (16)	30,6% (11)	Reference	

Nota: Os dados de frequência relativa em cada tercil de TFG_e é apresentado como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.

(CONT.) Associação de polimorfismos genéticos com creatinina sérica, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Dia pós-transplante	Genótipo	Tercil baixo	Tercil médio	Tercil alto	OR (IC95%)	p
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	14	TT	32,5% (38)	35,0% (41)	32,5% (38)	1,00 (0,64 – 1,56)	1,000
		TC+CC	34,0% (50)	32,0% (47)	34,0% (50)	Reference	
	90	TT	31,9% (37)	31,0% (36)	37,1% (43)	1,26 (0,80 – 1,97)	0,324
		TC+CC	34,7% (50)	35,4% (51)	29,9% (43)	Reference	
	365	TT	37,2% (42)	27,4% (31)	35,4% (40)	0,94 (0,60 – 1,50)	0,807
		TC+CC	30,7% (42)	38,0% (52)	31,4% (43)	Reference	
<i>FKBP2</i> 2110G>T	14	GG	36,4% (32)	27,3% (24)	36,4% (32)	1,00 (0,63 – 1,60)	1,000
		GT+TT	31,8% (56)	36,4% (64)	31,8% (56)	Reference	
	90	GG	29,5% (26)	31,8% (28)	38,6% (34)	1,38 (0,86 – 2,23)	0,180
		GT+TT	35,5% (61)	34,3% (59)	30,2% (52)	Reference	
	365	GG	32,5% (27)	30,1% (25)	37,3% (31)	1,19 (0,73 – 1,94)	0,475
		GT+TT	34,1% (57)	34,7% (58)	31,1% (52)	Reference	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	14	GG	25,9% (36)	36,0% (50)	38,1% (53)	1,80 (1,15 – 2,82)	0,010
		GA+AA	41,6% (52)	30,4% (38)	28,0% (35)	Reference	
	90	GG	30,7% (42)	32,1% (44)	37,2% (51)	1,39 (0,89 – 2,18)	0,147
		GA+AA	36,6% (45)	35,0% (43)	28,5% (35)	Reference	
	365	GG	31,3% (41)	30,5% (40)	38,2% (50)	1,41 (0,89 – 2,23)	0,141
		GA+AA	36,1% (43)	36,1% (43)	27,7% (33)	Reference	
<i>FOXP3</i> 23+2882A>C	14	CC	32,6% (56)	34,9% (60)	32,6% (56)	1,00 (0,63 – 1,59)	1,000
		CA+AA	34,8% (32)	30,4% (28)	34,8% (32)	Reference	
	90	CC	28,1% (48)	35,1% (60)	36,8% (63)	1,85 (1,15 – 2,99)	0,012
		CA+AA	43,8% (39)	30,3% (27)	25,8% (23)	Reference	
	365	CC	28,0% (46)	36,0% (59)	36,0% (59)	1,75 (1,07 – 2,86)	0,025
		CA+AA	44,2% (38)	27,9% (24)	27,9% (24)	Reference	

Nota: Os dados de frequência relativa em cada tercil de TFGe é apresentado como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.

ANEXO 14

Polimorfismos genéticos e eventos adversos

Infecções e infestações

Associação de polimorfismos genéticos com eventos por CMV, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Citomegalovírus (Não)	Citomegalovírus (Sim)	OR (IC95%)	p
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	93,7% (59)	6,3% (4)	Referência	0,558
	AG+GG	91,2% (103)	8,8% (10)	1,43 (0,43 – 4,77)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	93,8% (60)	6,3% (4)	Referência	0,530
	CT+TT	91,1% (102)	8,9% (10)	1,47 (0,44 – 4,90)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	94,5% (69)	5,5% (4)	Referência	0,313
	TC+CC	90,3% (93)	9,7%(10)	1,86 (0,56 – 6,16)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	82,2% (189)	17,8% (41)	Referência	0,688
	GA+AA	79,5% (31)	20,5% (8)	1,19 (0,51 – 2,78)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	81,4% (96)	18,6% (22)	Referência	0,872
	TC+CC	82,1% (124)	17,9% (27)	0,95 (0,51 – 1,77)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	78,9% (71)	21,1% (19)	Referência	0,384
	GT+TT	83,2% (149)	16,8% (30)	0,76 (0,40 – 1,43)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	81,7% (116)	18,3% (26)	Referência	0,966
	GA+AA	81,9% (104)	18,1% (23)	0,99 (0,53 – 1,84)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	CC	81,7% (143)	18,3% (32)	Referência	0,968
	CA+AA	81,9% (77)	18,1% (17)	0,99 (0,52 – 1,89)	

Nota: Os dados de frequência de eventos por citomegalovírus são apresentados como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. CMV: Citomegalovírus; OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.

ANEXO 15

Distúrbios sanguíneos e linfáticos

Associação de polimorfismos genéticos com anemia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Anemia (Não)	Anemia (Sim)	OR (IC95%)	p
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	91,0% (81)	9,0% (8)	Referência	0,733
	AG+GG	92,2% (166)	7,8% (14)	0,85 (0,34 – 2,12)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	91,1% (82)	8,9% (8)	Referência	0,763
	CT+TT	92,2% (165)	7,8% (14)	0,87 (0,35 – 2,16)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	91,2% (104)	8,8% (10)	Referência	0,761
	TC+CC	92,3% (143)	7,7% (12)	0,87 (0,36 – 2,10)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	92,2% (212)	7,8% (18)	Referência	0,610
	GA+AA	89,7% (35)	10,3% (4)	1,35 (0,43 – 4,21)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	89,8% (106)	10,2% (12)	Referência	0,296
	TC+CC	93,4% (141)	6,6% (10)	0,63 (0,26 – 1,51)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	88,9% (80)	11,1% (10)	Referência	0,218
	GT+TT	93,3% (167)	6,7% (12)	0,58 (0,24 – 1,39)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	93,0% (132)	7,0% (10)	Referência	0,474
	GA+AA	90,6% (115)	9,4% (12)	1,38 (0,57 – 3,31)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	CC	93,7% (164)	6,3% (11)	Referência	0,128
	CA+AA	88,3% (83)	11,7% (11)	1,98 (0,82 – 4,75)	

Nota: Os dados de frequência de anemia são apresentados como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.

ANEXO 16

Distúrbios gastrointestinais

Associação de polimorfismos genéticos com diarreia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Diarreia (Não)	Diarreia (Sim)	OR (IC95%)	p
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	76,2% (48)	23,8% (15)	Referência	0,990
	AG+GG	76,1% (86)	23,9% (27)	1,01 (0,49 – 2,07)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	76,6% (49)	23,4% (15)	Referência	0,920
	CT+TT	75,9% (85)	24,1% (27)	1,04 (0,50 – 2,14)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	78,1% (57)	21,9% (16)	Referência	0,610
	TC+CC	74,8% (77)	25,2% (26)	1,20 (0,59 – 2,45)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	73,5% (169)	26,5% (61)	Referência	0,428
	GA+AA	79,5% (31)	20,5% (8)	0,72 (0,31 – 1,64)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	72,0% (85)	28,0% (33)	Referência	0,442
	TC+CC	76,2% (115)	23,8% (36)	0,81 (0,47 – 1,40)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	74,4% (67)	25,6% (23)	Referência	0,980
	GT+TT	74,3% (133)	25,7% (46)	1,01 (0,56 – 1,80)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	75,4% (107)	24,6% (35)	Referência	0,691
	GA+AA	73,2% (93)	26,8% (34)	1,12 (0,65 – 1,93)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	CC	74,3% (130)	25,7% (45)	Referência	0,974
	CA+AA	74,5% (70)	25,5% (24)	0,99 (0,56 – 1,76)	

Nota: Os dados de frequência de constipação são apresentados como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.

ANEXO 17

Distúrbios gastrointestinais

Associação de polimorfismos genéticos com dispepsia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Dispepsia (Não)	Dispepsia (Sim)	OR (IC95%)	p
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	88,9% (56)	11,1% (7)	Referência	0,102
	AG+GG	95,6% (108)	4,4% (5)	0,37 (0,11 – 1,22)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	89,1% (57)	10,9% (7)	Referência	0,112
	CT+TT	95,5% (107)	4,5% (5)	0,38 (0,12 – 1,25)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	90,4% (66)	9,6% (7)	Referência	0,228
	TC+CC	95,1% (98)	4,9% (5)	0,48 (0,15 – 1,58)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	92,2% (212)	7,8% (18)	Referência	0,307
	GA+AA	87,2% (34)	12,8% (5)	1,73 (0,60 – 4,97)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	89,0% (105)	11,0% (13)	Referência	0,205
	TC+CC	93,4% (141)	6,6% (10)	0,57 (0,24 – 1,36)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	93,3% (84)	6,7% (6)	Referência	0,436
	GT+TT	90,5% (162)	9,5% (17)	1,47 (0,56 – 3,87)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	90,8% (129)	9,2% (13)	Referência	0,708
	GA+AA	92,1% (117)	7,9% (10)	0,85 (0,36 – 2,01)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	CC	92,0% (161)	8,0% (14)	Referência	0,660
	CA+AA	90,4% (85)	9,6% (9)	1,22 (0,51 – 2,93)	

Nota: Os dados de frequência de dispepsia são apresentados como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.

ANEXO 18

Distúrbios gerais e condições do local de administração

Associação de polimorfismos genéticos com edema localizado, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Edema	Edema	OR (IC95%)	p
		localizado (Não)	localizado (Sim)		
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	55,6% (35)	44,4% (28)	Reference	0,670
	AG+GG	52,2% (59)	47,8% (54)	1,14 (0,62 – 2,13)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	59,4% (38)	40,6% (26)	Reference	0,231
	CT+TT	50,0% (56)	50,0% (56)	1,46 (0,79 – 2,72)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	56,2% (41)	43,8% (32)	Reference	0,537
	TC+CC	51,5% (53)	48,5% (50)	1,21 (0,66 – 2,21)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	59,1% (136)	40,9% (94)	Reference	0,750
	GA+AA	56,4% (22)	43,6% (17)	1,12 (0,56 – 2,22)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	60,2% (71)	39,8% (47)	Reference	0,673
	TC+CC	57,6% (87)	42,4% (64)	1,11 (0,68 – 1,81)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	60,0% (54)	40,0% (36)	Reference	0,765
	GT+TT	58,1% (104)	41,9% (75)	1,08 (0,65 – 1,81)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	GG	56,3% (80)	43,7% (62)	Reference	0,398
	GA+AA	61,4% (78)	38,6% (49)	0,81 (0,50 – 1,32)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902A>G	CC	61,7% (108)	38,3% (67)	Reference	0,177
	CA+AA	53,2% (50)	46,8% (44)	1,42 (0,85 – 2,36)	

Nota: Os dados de frequência de edema localizado são apresentados como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.

ANEXO 19

Distúrbios metabólicos

Associação de polimorfismos genéticos com hiperglicemia, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Hiperglicemia (Não)	Hiperglicemia (Sim)	OR (IC95%)	p
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	87,3% (55)	12,7% (8)	Reference	0,079
	AG+GG	76,1% (86)	23,9% (27)	2,16 (0,92 – 5,09)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	84,4% (54)	15,6% (10)	Reference	0,287
	CT+TT	77,7% (87)	22,3% (25)	1,55 (0,69 – 3,48)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	82,2% (60)	17,8% (13)	Reference	0,561
	TC+CC	78,6% (81)	21,4% (22)	1,25 (0,59 – 2,69)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	80,4% (123)	19,6% (30)	Reference	0,811
	GA+AA	78,3% (18)	21,7% (5)	1,14 (0,39 – 3,31)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	81,3% (61)	18,7% (14)	Reference	0,727
	TC+CC	79,2% (80)	20,8% (21)	1,14 (0,54 – 2,43)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	83,1% (49)	16,9% (10)	Reference	0,489
	GT+TT	78,6% (92)	21,4% (25)	1,33 (0,59 – 2,99)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902 ^a >G	GG	77,7% (73)	22,3% (21)	Reference	0,384
	GA+AA	82,9% (68)	17,1% (14)	0,72 (0,34 – 1,52)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902 ^a >G	CC	78,3% (90)	21,7% (25)	Reference	0,399
	CA+AA	83,6% (51)	16,4% (10)	0,71 (0,31 – 1,59)	

Nota: Os dados de frequência de hiperglicemia são apresentados como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.

ANEXO 20

Distúrbios metabólicos

Associação de polimorfismos genéticos com diabetes, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Diabetes pós-transplante (Não)	Diabetes pós-transplante (Sim)	OR (IC95%)	p
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	92,1% (58)	7,9% (5)	Reference	0,179
	AG+GG	85,0% (96)	15,0% (17)	2,05 (0,72 – 5,87)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	87,5% (56)	12,5% (8)	Reference	1,000
	CT+TT	87,5% (98)	12,5% (14)	1,00 (0,40 – 2,53)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	86,3% (63)	13,7% (10)	Reference	0,686
	TC+CC	88,3% (91)	11,7% (12)	0,83 (0,34 – 2,04)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	86,3% (132)	13,7% (21)	Reference	0,232
	GA+AA	95,7% (22)	4,3% (1)	0,29 (0,04 – 2,23)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	86,7% (65)	13,3% (10)	Reference	0,773
	TC+CC	88,1% (89)	11,9% (12)	0,88 (0,36 – 2,15)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	91,5% (54)	8,5% (5)	Reference	0,257
	GT+TT	85,5% (100)	14,5% (17)	1,84 (0,64 – 5,25)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902 ^a >G	GG	89,4% (84)	10,6% (10)	Reference	0,426
	GA+AA	85,4% (70)	14,6% (12)	1,44 (0,59 – 3,53)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902 ^a >G	CC	87,8% (101)	12,2% (14)	Reference	0,857
	CA+AA	86,9% (53)	13,1% (8)	1,09 (0,43 – 2,76)	

Nota: Os dados de frequência de diabetes pós-transplante são apresentados como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.

ANEXO 21

Associação de polimorfismos genéticos com proteinúria, no 1º ano pós-transplante renal: Regressão logística univariável

Polimorfismo	Genótipo	Proteinúria (Não)	Proteinúria (Sim)	OR (IC95%)	P
<i>MTOR</i> c.4731G>A	AA	94,4% (84)	5,6% (5)	Referência	0,188
	AG+GG	89,4% (161)	10,6% (19)	1,98 (0,72 – 5,50)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	CC	90,0% (81)	10,0% (9)	Referência	0,660
	CT+TT	91,6% (164)	8,4% (15)	0,82 (0,35 – 1,96)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	TT	90,4% (103)	9,6% (11)	Referência	0,720
	TC+CC	91,6% (142)	8,4% (13)	0,86 (0,37 – 1,99)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	GG	91,3% (210)	8,7% (20)	Referência	0,752
	GA+AA	89,7% (35)	10,3% (4)	1,20 (0,39 – 3,72)	
<i>FKBP1A</i> n.259+24936T>C	TT	91,5% (108)	8,5% (10)	Referência	0,820
	TC+CC	90,7% (137)	9,3% (14)	1,10 (0,47 – 2,58)	
<i>FKBP2</i> c.-2110G>T	GG	95,6% (86)	4,4% (4)	Referência	0,078
	GT+TT	88,8% (159)	11,2% (20)	2,70 (0,90 – 8,17)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902 ^a >G	GG	88,7% (126)	11,3% (16)	Referência	0,159
	GA+AA	93,7% (119)	6,3% (8)	0,53 (0,22 – 1,28)	
<i>FOXP3</i> c.-22-902 ^a >G	CC	89,7% (157)	10,3% (18)	Referência	0,289
	CA+AA	93,6% (88)	6,4% (6)	0,59 (0,23 – 1,55)	

Nota: Os dados de frequência de proteinúria são apresentados como porcentagem, e número de indivíduos entre parênteses. OR, *Odds ratio*; IC95%, intervalo de confiança ao 95%.