RENATA VALENTE CARNEIRO

Uso de acitretina para prevenção e tratamento de
câncer de pele em transplantados renais:
avaliação clínica, histológica e imuno-histoquímica

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Dermatologia

Orientadora: Profa. Dra. Mírian Nacagami Sotto

São Paulo

2003

Dedicatória

Aos meus pais, pela minha formação

Ao Wilson, pela compreensão

Ao meu filho, Rodrigo, razão da minha vida

Agradecimentos

À minha orientadora Profa. Dra. Mirian Nacagami Sotto que, não se restringiu apenas a orientar, mostrando-se disponível para ensinar e acrescentando muito à minha formação dermatológica não apenas pelo assunto em questão, mas pela sua dedicação à vida científica.

Ao Prof. Dr. Luiz Sérgio de Azevedo por todo suporte clínico, científico e co-orientação neste trabalho.

Ao Dr. Luiz Estevan Ianhez, marco do incentivo à pesquisa, abriu as portas do seu departamento e propiciou toda infraestrutura.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Cucé, pelo ingresso na pós-graduação.

À equipe do Laboratório de Histopatologia do Departamento de Dermatologia do HCFMUSP, que sempre teve paciência para me fornecer ajuda.

Aos funcionários da Unidade de Transplante Renal que me receberam sempre solícitos.

Aos médicos da Unidade de Transplante Renal por terem permitido a realização deste protocolo em seus pacientes e ainda terem dado acompanhamento clínico paralelo.

Aos colegas e funcionários da Divisão/Departamento de Dermatologia, que, direta ou indiretamente auxiliaram na realização desta dissertação.

À FAPESP pelo auxílio e incentivo para a realização desta pesquisa (processo 00/022674).

Aos pacientes transplantados renais pela lição de quem sabe lutar pela saúde.

Sumário

LISTAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Fatores de risco para câncer de pele em pacientes transplantados	4
1.2. Sistema imune e neoplasias	7
1.3. Retinóides na quimioprevenção de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas da pele	14
1.4. Retinóides na quimioprofilaxia do câncer de pele em doentes transplantados	20
2. OBJETIVOS	26
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	29
3.1. Casuística	30
3.1.1. Critérios de exclusão / inclusão para o estudo	31
3.1.2. Caracterização dos doentes selecionados	32
3.2. Métodos	33
3.2.1. Avaliação dermatológica, laboratorial e seguimento dos doentes submetidos à terapêutica	33
3.2.2. Avaliação histopatológica e de sub-populações de linfócitos e de células de Langerhans da pele aparentemente sã de área exposta ao sol e área protegida	34
3.2.3. Análise histopatológica do material	35
3.2.4. Demonstração de subpopulações de linfócitos e células de Langerhans	36
3.2.5. Quantificação dos elementos celulares imuno-marcados	39
3.2.6. Análise estatística dos resultados	40
4. RESULTADOS	42
4.1. Seleção dos doentes e caracterização da casuística	48
4.2. Comportamento da casuística durante a terapêutica	50
4.3. Avaliação dermatológica e evolução dos doentes	51
4.4. Avaliação laboratorial dos doentes antes e durante o tratamento com acitretina	53
4.5. Comportamento da casuística quanto à manutenção da terapêutica com acitretina	56
4.6. Avaliação histopatológica da pele exposta e protegida da luz solar antes, após seis e 12 meses de tratamento com acitretina	57
4.7. Demonstração de subtipos de linfócitos (CD4+ e CD8+), células <i>natural killer</i> (CD4+) e células de Langerhans epidérmicas	61
4.8. Quantificação e comparação da população de subtipos de linfócitos, células <i>natural killer</i> e fração de área epidérmica com expressão de antígeno CD1a (células de Langerhans) na pele exposta e protegida do sol de doentes transplantados renais antes e aos seis e 12 meses de tratamento com acitretina	65
5. DISCUSSÃO	71
6. CONCLUSÕES	82
7. ANEXOS	85
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

Listas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Comparação dos níveis séricos de creatinina, colesterol, transaminase glutâmico pirúvica e gama glutamil transferase de doentes transplantados renais antes, após 06 e 12 meses de tratamento com acitretina 20mg/dia	54
Tabela 2	Número de camadas celulares da epiderme de pele foto-exposta de doentes transplantados renais antes e após 06 e 12 meses de terapêutica com acitretina (20mg/dia)	60
Tabela 3	Número de camadas celulares da epiderme de pele foto-protegida de doentes transplantados renais antes e após 06 e 12 meses de terapêutica com acitretina (20mg/dia)	60
Tabela 4	Número de linfócitos CD4+, CD8+ e células <i>natural killer</i> /mm ² de derme de pele exposta ao sol de doentes transplantados renais antes, após seis e 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia)	66
Tabela 5	Número de linfócitos CD4+, CD8+ e células <i>natural killer</i> /mm ² de derme de pele protegida do sol de doentes transplantados renais antes, após seis e 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia)	66
Tabela 6	Fração de área epidérmica CD1a positiva de pele exposta ao sol dos doentes transplantados renais antes, após seis meses de tratamento e 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/ dia)	69
Tabela 7	Fração de área epidérmica CD1a positiva da pele protegida do sol dos doentes transplantados renais ante, após seis meses de tratamento e 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia)	69

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Anticorpos monoclonais utilizados	36
Quadro 2	Caracterização de grupo de doentes transplantados renais submetidos a exame dermatológico no período de 01 de março de 2000 e 01 de março de 2002 segundo sexo, idade, tempo de pós-transplante, fototipo e lesões cutâneas observadas	44
Quadro 3	Doenças dermatológicas mais freqüentes em grupo de 138 doentes transplantados renais examinados durante período de março de 2000 a março de 2001	47
Quadro 4	Doentes transplantados renais submetidos à terapêutica com acitretina 20mg/dia: identificação, sexo, idade, doença renal que motivou o transplante, tempo pós-transplante, queratoses actínicas, carcinomas espinocelulares e basocelulares prévios ao tratamento e aparecimento de novos carcinomas durante o tratamento	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Doente AGZ submetida a tratamento com acitretina 20mg/dia. a) Aspecto cutâneo com numerosas queratoses actínicas ao início do tratamento; b) aos 06 meses de tratamento; c) aos 12 meses de tratamento	52
Figura 2	Comparação de exames laboratoriais dos doentes transplantados renais antes, após 06 meses e 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia)	55
Figura 3	Pele exposta ao sol (dorso da mão) de doente transplantado renal (doente STE). a) antes do início do tratamento; b) após 06 meses de tratamento; c) após 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia)	58
Figura 4	Pele protegida do sol (face medial do terço superior do braço) de doente transplantado renal (doente STE). a) antes do início do tratamento; b) após 06 meses de tratamento; c) após 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia)	59
Figura 5	Pele protegida do sol (face medial do terço superior do braço) de doente transplantado renal antes do tratamento com acitretina (20mg/dia) (doente ACT)	62
Figura 6	Células de Langerhans epidérmicas na pele exposta ao sol de doente transplantado renal (LCS) reveladas pelo anticorpo CD1a: a) antes do tratamento com acitretina 20 mg/dia; b) após 6 meses de tratamento; c) após 12 meses de tratamento	63
Figura 7	Células de Langerhans epidérmicas na pele protegida do sol de doente transplantado renal (LCS) reveladas pelo anticorpo CD1a: a) antes do tratamento com acitretina 20 mg/dia; b) após 6 meses de tratamento; c) após 12 meses de tratamento	64
Figura 8	Número de linfócitos CD4+/mm ² na pele exposta ao sol de doentes transplantados renais antes, após 06 e 12 meses de uso de acitretina (20mg/dia); barra - mediana dos valores	67
Figura 9	Número de linfócitos CD4+/mm ² na pele protegida do sol de doentes transplantados renais antes, após 06 e 12 meses de uso de acitretina (20mg/dia); barra - mediana dos valores	67
Figura 10	Número de linfócitos CD8+/mm ² na pele exposta ao sol de doentes transplantados renais antes, após 06 e 12 meses de uso de acitretina (20mg/dia); barra - mediana dos valores	67
Figura 11	Número de linfócitos CD8+/mm ² na pele protegida do sol de doentes transplantados renais antes, após 06 e 12 meses de uso de acitretina (20mg/dia); barra - mediana dos valores	67

Figura 12	Número de células CD56+/mm ² na pele exposta ao sol de doentes transplantados renais antes, após 06 e 12 meses de uso de acitretina (20mg/dia); barra - mediana dos valores	68
Figura 13	Número de células CD56+/mm ² na pele protegida do sol de doentes transplantados renais antes, após 06 e 12 meses de uso de acitretina (20mg/dia); barra - mediana dos valores	68
Figura 14	Fração de área epidérmica CD1a+ da pele exposta ao sol de doentes transplantados renais antes, aos 06 meses e 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia); barra - mediana dos valores	70
Figura 15	Fração de área epidérmica CD1a+ da pele protegida do sol de doentes transplantados renais antes, aos 06 meses e 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia); barra - mediana dos valores	70

LISTA DE ABREVIATURAS

anti-HBc	anticorpo contra parte central do vírus da hepatite B (core)
APC	<i>antigen-presenting cell</i> - célula apresentadora de antígeno
BD	bilirrubina direta
BI	bilirrubina indireta
BT	bilirrubina total
CBC	carcinoma basocelular
CD	<i>cluster of designation</i> - sistema de designação de anticorpos monoclonais que evidenciam antígenos ou moléculas de superfície das células
CD1a	CD1a+: anticorpo monoclonal que evidencia antígenos das células de Langerhans
CD4	Célula CD4+: linfócito T auxiliador/indutor
CD8	Célula CD8+: linfócito T supressor/citotóxico
CEC	carcinoma espinocelular
CL	células de Langerhans
CSA	<i>Catalysed signal amplification</i> : sistema de amplificação catalizado
DB	doença de Bowen
DNA	ácido desoxinucléico
EGF	fator de crescimento epidérmico
FA	fosfatase alcalina
GGT ou γ GT	gama glutamil transferase
HBs Ag	antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HCV	vírus da hepatite C
HLA-DR	<i>human leukocyte antigen</i> : antígeno da classe II do complexo principal de histocompatibilidade
HPV	vírus do papiloma humano
ICAM	molécula de adesão intercelular
IFN- γ	interferon gama
IL	<i>interleukin</i> : interleucina
LFA-1	antígeno de função linfocitária
MHC	<i>major histocompatibility complex</i> : complexo principal de histocompatibilidade
MHC-II	complexo principal de histocompatibilidade classe II
NK	<i>natural killer</i>

PBS	<i>phosphatase buffer saline</i> : solução salina tamponada com fosfatos (NaCl 0,14M, NaHPO ₄ 0,01M, pH 7,2)
QA	queratose actínica
RUV	radiação ultravioleta
SABC	streptavidin-biotin complex: técnica imunohistoquímica pelo complexo enzimático estreptavidina-biotina-peroxidase
SALT	<i>skin associated lymphoid tissue</i>
SIS	<i>skin immune system</i> : sistema imune da pele
TGF	fator de transformação de crescimento
TGO	transaminase glutâmico oxalacética
TGP	transaminase glutâmico pirúvica
TNF	fator de necrose tumoral
TP	tempo de protrombina

Resumo

CARNEIRO, R.V. **Uso de acitretina para prevenção e tratamento de câncer de pele em transplantados renais: avaliação clínica, histológica e imuno-histoquímica.** São Paulo, 2003. 101p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo

Os doentes transplantados renais têm alto risco para desenvolver queratoses actínicas e câncer de pele. Para verificar o efeito quimioprolático da acitretina estudamos a evolução de 13 doentes transplantados renais com queratoses actínicas múltiplas e história de carcinomas cutâneos submetidos a tratamento por 12 meses (20mg/dia). Fez-se a avaliação clínica e laboratorial regularmente em todo o período do estudo. Realizou-se exame histopatológico, demonstração imuno-histoquímica de sub-populações de linfócitos T (CD4, CD8), células *natural killer* e células de Langerhans, sua quantificação e comparação em biopsias de pele, sem lesão, de área exposta e protegida do sol antes, após seis e 12 meses de tratamento. Observou-se melhora das lesões cutâneas e ausência de aparecimento de novos tumores em 12 dos 13 pacientes. Não ocorreram alterações laboratoriais relacionadas a função renal, hepatotoxicidade e hiperlipidemia. Não houve diferenças significativas histopatológicas e da população de linfócitos T e células *natural killer* da pele exposta e protegida do sol com o tratamento. Verificou-se aumento numérico de células de Langerhans epidérmicas aos 12 meses quando comparado aos da pele antes e após seis meses de tratamento ($p = 0,002$ e $p = 0,003$). Em nossa casuística o uso de acitretina em doses baixas foi útil para melhorar o aspecto cutâneo e prevenir lesões cutâneas pré-cancerosas e carcinomas. O aumento das células de Langerhans epidérmicas estaria relacionado ao efeito imunomodular da acitretina.

Summary

CARNEIRO, R.V. Acitretin therapy for chemoprophylaxis of skin cancer in renal transplant recipients: clinical, histological and immunohistochemical evaluation. São Paulo, 2003. 101p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo.

Renal transplant recipients have an increased incidence of actinic keratosis and skin cancer. In order to examine the chemoprophylactic effects of low-dose acitretin on skin cancer development we submitted 13 renal transplanted patients to acitretin therapy (20 mg/day) for 12 months. The patients were assessed at monthly intervals during the first 6 months and every two months until the 12th month for new skin lesions and for acitretin toxicity. Normal skin biopsies of sun exposed and sun protected area were taken for histopathological exam and submitted to immunohistochemistry technique to demonstrate CD4+ and CD8+ T lymphocytes, natural killer cells and Langerhans cells which were counted and compared in the beginning, after 6th month and 12th month of the treatment. There was an improvement of actinic keratosis and all patients but one did not develop new skin cancer. Side-effects were well-tolerated and no significant biochemical effects were observed. Although there were no differences in the microscopic aspects of the skin and in the number of CD4+ and CD8+ T lymphocytes and natural killer cells, there was a significant increase in the number of epidermal Langerhans cells after 12 months of acitretin therapy. The data obtained permit us to conclude that low dose acitretin therapy is safe, well-tolerated and partially effective in chemoprophylaxis of skin cancer in renal transplant recipients. The increase in epidermal Langerhans cells observed may be an expression of the immunomodulatory effect of acitretin.

1 Introdução

A sobrevida de pacientes transplantados tem aumentado substancialmente nas duas últimas décadas, como resultado de melhores regimes imunossupressores, melhor controle de complicações infecciosas e melhor conhecimento do sistema de histocompatibilidade, além de outros fatos tais como maior número de centros de transplantes e melhora no sistema de captação e distribuição de órgãos. Em decorrência dos fatos mencionados a expectativa de vida dos transplantes renais praticamente dobrou, aumentando portanto o tempo de exposição destes pacientes aos imunossupressores (Berg; Otley, 2002).

Os receptores de transplantes possuem um risco aumentado para desenvolverem neoplasias malignas. Esse risco é de três a quatro vezes maior que o da população geral. As neoplasias mais freqüentemente observadas nos doentes transplantados são o câncer de pele não melanoma, linfoma, carcinoma cervical e sarcoma de Kaposi (Montagnino *et al.*, 1996).

As doenças de pele são comuns em pacientes imunodeprimidos cronicamente. Os pacientes transplantados renais apresentam freqüentemente queratose actínica, verrugas virais e câncer de pele, que são mais freqüentes nesse grupo quando comparadas com as da população

geral (Penn, 1998a). Cerca de 45% dos pacientes na Austrália, têm câncer de pele no período de 10 anos após o transplante (Bavinck *et al.*, 1996).

A incidência do carcinoma espinocelular é cerca de 40 a 250 vezes maior do que a população geral (Penn, 1998b).

O carcinoma espinocelular é a neoplasia mais freqüente nesses pacientes, cerca de 40 a 250 vezes maior do que a população geral (Penn, 1998b), principalmente em países com predominância de população branca e clima mais quente; podendo acometer cerca de 34 a 58% dos indivíduos no período de 15 a 20 anos após o transplante (Penn, 1998b; Dréno *et al.*, 1998; Paula; Ianhez, 1999; Euvrard *et al.*, 1998).

Hartevelt *et al.* (1990) referem que o carcinoma basocelular pode ser mais freqüente que o carcinoma espinocelular nos primeiros anos que se seguem ao transplante. A sua incidência é descrita como de 10 vezes maior que a da população geral. Com o decorrer do tempo pós-transplante a relação carcinoma basocelular/espinocelular inverte-se nesse grupo de doentes (Euvrard *et al.*, 1995). Tarsis (1989), em nosso meio verificou inversão nas estatísticas de CEC:CBC, onde carcinoma espinocelular representou 40% dos tumores malignos detectados na população de pacientes transplantados renais. Neste material a relação CEC:CBC foi de 1:0,6 contrastando com a incidência na população pesquisada na Clínica Dermatológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) no mesmo período que foi de 1:1,5. Observou-se também, que nessa população de pacientes

transplantados renais da Unidade de Transplante Renal do HCFMUSP, a incidência de cânceres cutâneos é 7,1 vezes maior do que na população atendida na Clínica Dermatológica do HCFMUSP.

A queratose actínica é considerada como lesão pré-neoplásica e, mesmo como carcinoma espinocelular incipiente (Odom, 1998), tem freqüência aumentada nos doentes transplantados quando comparada com a da população geral. Cerca de 38% dos doentes transplantados renais apresentam queratoses actínicas após os cinco anos de imunossupressão (Dréno *et al.*, 1998).

O carcinoma espinocelular nos doentes transplantados renais diferencia-se do habitual por incidir em indivíduos mais jovens. Geralmente as lesões são múltiplas, tem comportamento mais agressivo, com recidivas freqüentes após o tratamento, recorrência local ou regional e maior risco de metástases. A mortalidade pelo carcinoma espinocelular chega a ser de 5% nesses doentes (Euvrard *et al.*, 1995).

1.1 Fatores de risco para câncer de pele em pacientes transplantados

Vários fatores são relacionados com o surgimento dos carcinomas nesse grupo de doentes. Destacam-se a área geográfica, a maior exposição aos raios ultravioleta (RUV), o fototipo do paciente, a predisposição genética, idade, o tempo de evolução pós-transplante (isto é, tempo de

imunossupressão) e a terapia imunossupressora propriamente dita (Glover *et al.*, 1994).

Os pacientes transplantados mais idosos são mais predispostos ao desenvolvimento de lesões neoplásicas, provavelmente devido à taxa cumulativa de exposição solar anterior ao transplante. A radiação ultravioleta (RUV) atua como fator patogênico primário na população geral e nos indivíduos transplantados, agindo tanto como fator iniciador como promotor de carcinogênese devido à sua capacidade de induzir mutações celulares relacionadas ao câncer de pele. Além disso, a radiação ultravioleta (RUV) suprime a resposta imune, inibe a expressão e atividade das células apresentadoras de antígenos e compromete o reconhecimento de antígenos das células neoplásicas pelo hospedeiro imunocomprometido (Kripke, 1994; Odom 1998). Destacamos que, dentre todos os fatores de risco, a exposição à radiação ultravioleta é provavelmente, o único que pode ser evitado.

A duração do tratamento imunossupressor também é diretamente relacionada com o risco de desenvolver câncer de pele (Berg; Otley, 2002) . A imunossupressão intensa com a combinação de vários agentes imunossupressores também é relatada como agravante (Jensen *et al.*, 1999a).

O câncer de pele é mais freqüente em pacientes com fototipos I, II ou III de Fitzpatrick (Fitzpatrick *et al.*, 1993) principalmente quando estes apresentam antecedentes de exposição solar excessiva. História de

neoplasias cutâneas antes da realização do transplante é outro fator de risco para a ocorrência de evolução com metástases nos doentes transplantados renais (Penn, 1998a).

Outro fator que tem sido relacionado ao câncer de pele nos doentes transplantados renais é o vírus do papiloma humano (HPV). O seu envolvimento nos carcinomas mucosos genitais é bem estabelecido, entretanto, é ainda questionado para a pele (Zumtobel *et al.*, 2001). Exceção cabe a epidermodisplasia verruciforme, doença autossômica recessiva caracterizada por lesões cutâneas verrucosas, desencadeadas pelo HPV, em áreas expostas ao sol. Essas lesões verrucosas podem evoluir para tumores epiteliais em 30% dos pacientes. O carcinoma espinocelular na epidermodisplasia verruciforme é freqüentemente associado com HPV dos tipos 5, 8, 14 e 20 (Anadolu *et al.*, 2001).

Seqüência de DNA (ácido desoxinucleico) de HPV tem sido demonstrada em lesões pré-malignas e carcinomas cutâneos de doentes transplantados renais. Os dados da literatura são, entretanto, discrepantes. Há relatos de cerca de 50% de positividade até resultados negativos. Este fato tem sido interpretado como resultante de diferenças nas metodologias de demonstração de HPV (Euvrard *et al.*, 1998). Técnicas mais sensíveis de demonstração, como o PCR (reação em cadeia de polimerase) tem demonstrado que a incidência de HPV nos carcinomas de doentes transplantados renais chega a 90%. Entretanto, a alta prevalência de HPV em lesões benignas e mesmo na pele são de doentes imunocomprometidos

e controles normais fazem questionar o papel do HPV nos carcinomas cutâneos (Boxman *et al.*, 1999).

Os fatores que não contribuem para o risco de maior incidência de neoplasias cutâneas nos doentes transplantados renais são o sexo, enxerto de doador vivo ou cadáver, repetidos transplantes e o tempo a que o doente foi submetido à diálise (Berg; Otley, 2002).

1.2 Sistema imune e neoplasias

Uma das funções fisiológicas do sistema imunológico é a prevenção e erradicação de tumores. O principal mecanismo imunológico envolvido na erradicação de neoplasias é a lise do tumor por linfócitos T citolíticos. Estas células respondem contra as células neoplásicas através do reconhecimento dos antígenos tumorais. Neste processo participam as células apresentadoras de antígenos profissionais (APC) que processam os antígenos neoplásicos e os apresentam aos linfócitos T. A ativação de linfócitos T CD8+ é dependente de reconhecimento de antígenos (peptídeos associados a MHC-I) como também dependente da co-estimulação por linfócitos T CD4+ que são MHC-II restritos. Desse modo os antígenos tumorais podem ser reconhecidos por linfócitos T CD8+ e CD4+ (Abbas; Lichtman, 1994, 2001). Os linfócitos T *helper* CD4+ desempenham ainda importante papel na resposta antitumoral, ao produzirem citocinas que são

essenciais na resposta citotóxica. Células T *helper* ativadas por antígenos tumorais secretam fator de necrose tumoral (TNF) e interferon gama (IFN - γ), responsáveis pelo aumento da expressão de antígenos de classe I do complexo principal de histocompatibilidade (MHC-I) pelas células neoplásicas e sua consequente lise pelos linfócitos T. As células NK (*natural killer*), para reconhecerem o tumor, dependem da produção de interleucina 2 (IL-2) pelos linfócitos T tumor específico. A vigilância das células infectadas por vírus oncogênicos também depende da ação dos linfócitos T citotóxicos. Os tumores associados a infecções virais ocorrem com maior frequência em pacientes imunossuprimidos (Aguirre, 2002). Macrófagos ativados e células *natural killer* (NK) são capazes de destruir células neoplásicas em experimentos *in vitro*, mas o seu papel protetor nos doentes portadores de neoplasias não está totalmente esclarecido (Abbas; Lichtman, 2001).

Destacamos a importância dos mecanismos que ocorrem em ambiente cutâneo na imunovigilância contra tumores e por este motivo vamos rever o conceito de pele como órgão imunológico.

A pele não é somente uma barreira física e mecânica entre o organismo e o meio ambiente, pois desempenha função de órgão imunológico. Elementos celulares e mediadores humorais interagem nas reações imunes em ambiente cutâneo. Os elementos celulares mais importantes que participam destas reações são os linfócitos, os queratinócitos e as células apresentadoras de antígenos (APC) –

representadas pelas células de Langerhans (CL). Streilen (1983) introduziu o termo de **SALT** (*Skin Associated Lymphoid Tissue*) que compreende os elementos celulares cutâneos e o linfonodo regional. Como tanto mecanismos dependentes de imunidade celular como relacionados à imunidade humoral podem ocorrer no próprio ambiente cutâneo, Bos *et al.* (1987) propuseram o termo SIS (*Skin Immune System*) – sistema imune da pele.

BERGFELT (1993a) fez uma boa revisão do sistema imune da pele ressaltando a participação dos elementos celulares envolvidos nos mecanismos de imunovigilância:

As células de Langerhans (CL), principais APC da pele, capturam os antígenos e realizam o seu processamento. Migram para os nódulos linfóides regionais onde ocorre a apresentação antigênica aos linfócitos T. A interação das CL com os linfócitos T também pode ocorrer na própria epiderme como o observado na dermatite de contato alérgica e no mecanismo de defesa contra neo-antígenos de tumores cutâneos. A união entre os linfócitos T e as APC ocorre através de moléculas de adesão. Estas são proteínas de superfície celular que facilitam o contato célula-célula. As moléculas de adesão intercelular (ICAM) 1 e 3 expressas pelas CL ligam-se ao antígeno de função linfocitária 1 (LFA-1) da superfície dos linfócitos. Os linfócitos T não aderem à epiderme em circunstâncias normais, entretanto, se os queratinócitos são induzidos a expressar ICAM-1, sob o estímulo de interferon gama (IFN- γ), como ocorre nas dermatoses

inflamatórias haverá um fluxo de linfócitos T para a epiderme. Amplificação da resposta imune pode ser obtida através de citocinas. Estas são mediadores de regulação, produzidos pelos queratinócitos, fibroblastos ou pelas células derivadas da medula óssea em resposta a injúrias como, por exemplo: irritação mecânica, radiação ultravioleta, promotores tumorais ou de ativação celular.

Esses mecanismos de defesa ocorrem quando a capacidade imunológica é intacta e preservada. Nos pacientes com transplantes renais, o tratamento imunossupressor associado à radiação ultravioleta proveniente da exposição solar, acarreta deficiência na resposta imune. O maior número de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas cutâneas pode ser associado a esses fatores o que é reforçado pela observação e evolução dos doentes ao longo do tempo de pós-transplante. O uso prolongado de imunossupressores induz falha na vigilância imunológica dando oportunidade para o desenvolvimento de neoplasias (Rook *et al.*, 1995; Montagnino *et al.*, 1996).

A prevenção e o tratamento da rejeição de enxertos fundamenta-se na imunossupressão, que tem por objetivo inibir a ativação e funções efectoras dos linfócitos T. Todas as drogas imunossupressoras têm o problema da imunossupressão não específica. Os doentes tratados com estas drogas tornam-se susceptíveis a infecções e ao aumento da incidência de neoplasias (Abbas; Lichtman, 2001).

Após o transplante renal várias drogas imunossupressoras (poliquimioterapia) são administradas para prevenção de rejeição aguda por mecanismos imunes do hospedeiro contra antígenos estranhos do órgão transplantado. Essa terapia é mais agressiva nas primeiras semanas e mantida posteriormente para prevenir a rejeição crônica. Múltiplos regimes imunossupressores são utilizados. Os protocolos usados na década de 70 incluíam a prednisona e a azatioprina. A ciclosporina foi introduzida em 1979 e nos anos 90 o micofenolato mofetil e o tacrolimus (FK 506) foram incorporados nos protocolos de imunossupressão para transplantes (Mattos *et al.*, 1996; Denton *et al.*, 1999).

Os imunossupressores podem acelerar o desenvolvimento de câncer de pele em pacientes transplantados por dois mecanismos distintos. As drogas podem ser diretamente carcinogênicas e a imunossupressão crônica gera um estado no qual a vigilância imunológica e a erradicação de lesões pré-cancerosas estão prejudicadas (Abbas; Lichtman, 2001; Berg; Otley, 2002).

Estudos clínicos comparando a incidência de diferentes protocolos imunossupressores são, geralmente, retrospectivos e comparam populações de diferentes períodos, já que há um intervalo de 20 anos entre a fase de uso de azatioprina e ciclosporina. Além disso, houve um aumento na incidência de câncer de pele na população geral nas duas últimas décadas. Alguns estudos relatam que o uso da ciclosporina relaciona-se mais ao câncer de pele que o da azatioprina ou tacrolimus (Jensen *et al.*,

1999a). Como os resultados podem ser conflitantes, até hoje não se obteve um consenso de qual tratamento imunossupressor favoreceria mais o aparecimento das lesões cutâneas displásicas e neoplásicas, mas sabe-se que quanto mais drogas imunossupressoras são utilizadas, maior é o risco de neoplasias no pós-transplante (Jensen *et al.*, 1999 b).

A resposta imune mediada por células está prejudicada nos pacientes transplantados. Esta alteração pode ser evidenciada por ausência de resposta aos testes intradérmicos (toxina tetânica, diftérica, estreptocócica, tuberculina, candidina, e tricoftina). Essa anergia estaria relacionada à maior suscetibilidade à transformação tumoral (Shuttleworth, 1988). As alterações da imunidade tornam-se mais marcadas com o tempo de imunossupressão sendo as áreas expostas ao sol ainda mais suscetíveis (Bergfelt, 1993a, 1993b).

Entre os fatores de risco para o desenvolvimento de neoplasias cutâneas dos doentes transplantados renais, submetidos a longo tempo de imunossupressão, tem sido referido o baixo nível de linfócitos T CD4+ no sangue periférico (Ducloux *et al.*, 1998).

Os pacientes renais crônicos e transplantados renais apresentam diminuição numérica de subtipos linfocitários (CD4 e CD8) e de linfócitos que expressam o receptor de interleucina 2 na pele normal protegida e exposta ao sol, antes mesmo de apresentarem complicações neoplásicas cutâneas. Essas alterações acentuam-se com o tempo de imunossupressão (Galvão *et al.*, 1996; Galvão *et al.*, 1998). As CL, componentes importantes

na imunovigilância contra tumores, estão diminuídas na pele protegida e na exposta ao sol dos doentes transplantados renais (Servitje *et al.* 1991; Galvão *et al.*, 1998). A diminuição de CL, assim como a sua menor expressão de MHC-II também relacionada à lesão foto-induzida comprometem ainda mais a competência imunológica local favorecendo o aparecimento de lesões pré - neoplásicas e neoplásicas (Azizi *et al.*, 1987; Murphy *et al.*, 1998).

A radiação ultravioleta por si só altera os elementos celulares envolvidos na vigilância imunológica contra tumores na pele (Thiers *et al.*, 1984). A radiação ultravioleta induziria a menor expressão de moléculas MHC-II pelas CL com o conseqüente prejuízo de sua capacidade como APC ou, sua acentuada diminuição numérica e até sua ausência na pele foto-danificada. Além disso, a radiação ultravioleta B atuaria também através da alteração de produção de citocinas, moléculas de adesão e substâncias tróficas necessárias para o melhor microambiente epidérmico e por alterar a migração das CL (Mommaas *et al.*, 1993).

Pelo acima exposto os doentes transplantados renais apresentam complicações cutâneas importantes decorrentes de seu estado de imunossupressão crônica. Estas se expressam no sistema imunológico e também no sistema imune local da pele propiciando o aparecimento de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas cutâneas. O dermatologista tem papel importante na abordagem multidisciplinar do cuidado desses doentes e deve interagir com o clínico não só no diagnóstico e tratamento dessas

complicações cutâneas, mas, principalmente na sua prevenção (Berthoux *et al.*, 2002).

1.3 Retinóides na quimioprevenção de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas da pele

Derivados da vitamina A têm sido utilizados na prevenção e no tratamento de processos neoplásicos cutâneos.

Os retinóides são compostos naturais e sintéticos originados a partir da vitamina A. O conhecimento de sua ação sobre os epitélios revolucionou a terapêutica dermatológica nas últimas duas décadas. Derivados sintéticos da vitamina A com menor toxicidade e maior especificidade foram sintetizados e incluem os compostos não aromáticos, os monoaromáticos e os poliaromáticos. Dentre os compostos monoaromáticos destacam-se o etretinato e a acitretina (Orfanos; Zouboulis, 1997).

O etretinato é um retinóide aromático usado inicialmente para o tratamento da psoríase. Devido ao seu alto poder lipofílico é armazenado no tecido adiposo por longos períodos. Após a descontinuação do tratamento a droga é lentamente liberada e tem sido detectada no plasma até dois ou três anos após cessado o tratamento. A acitretina, o maior metabólito do etretinato, a princípio, não se acumula nos tecidos. Tem uma meia vida muito mais curta de 50 a 60 horas, quando comparada com a meia vida do

etretinato que é de 100 a 120 dias. Entretanto, a acitretina é esterificada resultando na produção de etretinato e esta característica pode ser potencializada pela ingestão de álcool. O etretinato promove a diferenciação celular terminal e normaliza a expressão de queratinas. A acitretina tem o mesmo efeito sobre os queratinócitos. Esta droga atinge concentrações máximas de uma a quatro horas após a ingestão e deve ser preferencialmente administrada com a refeição, o que aumenta sua biodisponibilidade. A dose inicial pode variar de 0,3 a 1 mg/kg/dia estando a dose ideal entre 0,5 a 0,6mg/kg/dia, por duas a quatro semanas aumentando-se progressivamente, se necessário, até um máximo de 1,5mg/kg/dia até se obter o controle da doença quando a dose pode ser progressivamente diminuída; estes dados de dose por quilo de peso por dia são bem padronizados para o tratamento da psoríase e de outras disqueratoses (Orfanos; Zouboulis, 1997; Berbis, 2001), mas não encontramos um consenso quanto à dose por kilo de peso quando se refere ao tratamento de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas nos transplantados renais (Odom, 1998, Ling, 1999).

As indicações terapêuticas da acitretina são similares às do etretinato: distúrbios acentuados da queratinização, tais como psoríase generalizada, eritrodérmica e pustulosa. A acitretina é também indicada para o tratamento da doença de Darier, ictiose, pitiríase rubra pilar e outras condições disqueratólicas refratárias aos tratamentos habituais. Tem sido também utilizada na prevenção de neoplasias epiteliais e cutâneas e no

tratamento de certos tipos de linfomas T cutâneos (Orfanos; Zouboulis, 1997).

A toxicidade do etretinato e da acitretina é semelhante. Alguns efeitos colaterais são freqüentes com o seu uso: queilite, conjuntivite, ressecamento de mucosas (nasal, labial e ocular), descamação palmo-plantar e alopecia. Nos tratamentos prolongados, com altas doses, podem ocorrer alterações ósteo-esqueléticas (hiperostose, calcificação de tendões, de ligamentos e osteoporose). Cerca de 10 a 15% dos doentes desenvolvem anormalidades nos testes de função hepática, usualmente nas transaminases. Porcentagem semelhante desenvolve elevação do colesterol sérico e dos níveis de triglicérides. A elevação de triglicérides pode ser bem expressiva, mas raramente associa-se a pancreatite. Devido a esses efeitos adversos a monitorização laboratorial cuidadosa dos doentes é necessária. Os retinóides sistêmicos são teratogênicos, portanto, controle contraceptivo das pacientes deve ser extremamente rigoroso, uma vez que este efeito não é dose dependente. Em doses habituais, de 25 a 30mg/dia, os problemas graves geralmente não ocorrem e os efeitos adversos encontrados freqüentemente desaparecem com a parada do medicamento e não constituem grande desconforto para os pacientes e, caso ocorram, costumam ser possíveis de manejar (Berbis, 2001). Os exames laboratoriais devem ser realizados antes, durante e ao término do tratamento. Hiperlipidemia, elevação transitória de transaminases e de fosfatase alcalina podem ser observadas, principalmente em indivíduos

predispostos (obesidade, diabetes e hiperlipidemia hereditária) (Orfanos; Zouboulis, 1997; DiGiovanna, 2001).

Os retinóides exercem seus efeitos biológicos através da ativação de receptores nucleares e transcrição de genes reguladores. Influenciam uma grande variedade de atividades biológicas como a proliferação e diferenciação celular, a produção de sebo, a função imunológica e a reposta inflamatória. Os retinóides penetram na célula através de endocitose não mediada por receptor. Em ambiente intracelular os retinóides interagem com proteínas citosólicas e com seus receptores nucleares. Os receptores nucleares de retinóides são tecido-específico, sendo os receptores RAR gama e RXR alfa os mais importantes da pele (Orfanos; Zouboulis, 1997). Essas drogas induzem expressão de genes responsáveis pelo reconhecimento do complexo retinóide/receptor. Dessa forma, através da promoção ou supressão da expressão de determinadas proteínas, os retinóides podem modificar a produção de fatores de crescimento, oncogenes, queratinas ou transglutaminases, exercendo múltiplos efeitos no crescimento e diferenciação celular (Kang; Voorhess, 1998).

O interesse nos retinóides e o seu uso em câncer datam de 1920 quando a hipovitaminose A foi associada com neoplasias. O papel do ácido retinóico sobre a carcinogênese relaciona-se, provavelmente, à sua ação sobre a diferenciação e o crescimento celular. Além disso, o ácido retinóico pode apresentar ação sinérgica com o interferon alfa ($IFN\alpha$) como inibidor de certas linhagens tumorais. Os retinóides induzem e modulam a

expressão de fatores de crescimento celular e também de seus próprios receptores nucleares. Podemos, através dos receptores RAR, ter um efeito negativo sobre a proliferação celular, o que é particularmente interessante no caso de proliferação de certas linhagens tumorais, essa via de "down regulation" seria através de fator de transformação de crescimento (TGF)- β 2 que inibiria o fator de crescimento epidérmico (EGF). Já o estímulo de proliferação de queratinócitos, é associado com indução de adenosina monofosfato cíclico (AMPc), ligação com o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator de transformação de crescimento (TGF) - α . Essa via é particularmente importante no caso de doenças como disqueratoses nas quais seria fundamental o papel do ácido retinóico para regular a diferenciação epidérmica (Orfanos; Zouboulis, 1997).

Quanto à ação imunomoduladora dos retinóides de uso sistêmico há relatos conflitantes. Estimulariam a imunidade celular e humoral com aumento da produção de anticorpos e do número de linfócitos T *helper* no sangue periférico, mas não atuariam sobre as células NK (Orfanos; Zouboulis, 1997). A sua ação imunomoduladora ocorreria via estímulo da função de linfócitos T tumor-específico (Medawar; Hunt 1981; Bedford; Knight, 1989). McKerrow *et al.* (1988) verificam que doentes tratados para acne com isotretinoína apresentaram redução na atividade NK, ao passo que doentes com psoríase tratados com etretinato exibiram atividade NK elevada e aumento numérico desta população celular no sangue periférico. Não observaram alteração na transformação blástica linfocitária induzida por fito-hemaglutinina, no número de linfócitos T, de suas subpopulações

(CD4+ e CD8+), de linfócitos B e nos níveis de imunoglobulinas A, M e E tanto no grupo submetido a isotretinoína como a etretinato. Além disso, não houve diferença na população de células de Langerhans da pele normal dos dois grupos de doentes.

A ação dos retinóides sobre os elementos celulares do sistema imune da pele é abordada principalmente quando de seu uso tópico para a terapêutica da pele foto-envelhecida. Esses dados, entretanto, também são conflitantes. O uso de tretinoína não protegeria a pele da depleção de células de Langerhans induzida pela radiação ultravioleta (Meurnier *et al.*, 1996), entretanto, Murphy *et al.* (1998) observaram repopulação de CL epidérmicas na pele cronicamente exposta ao sol. O seu uso tópico por tempo prolongado tem sido relacionado à lesão e depleção dessa população celular (Barnadas *et al.*, 1995). Os retinóides sistêmicos, por outro lado, promoveriam um aumento das CL. Fernandez-Bussy *et al.* (1983) observaram um aumento das CL nas lesões crônicas de líquen plano com o uso de etretinato. Na psoríase, após oito semanas de tratamento com acitretina, é descrito o aumento do número de CL epidérmicas, provavelmente pela sua migração da derme para a epiderme (Moys *et al.*, 1989). Bedford *et al.* (1989) estudaram *in vitro* a ação de ácido retinóico sobre cultura de células apresentadoras de antígenos (células dendríticas de rato) e documentaram um efeito estimulatório direto sobre a capacidade dessas células dendríticas.

Alguns trabalhos referem-se ao uso de retinóides tópicos no tratamento de queratoses actínicas. Kligman *et al.* (1986) observaram reversão das atipias celulares com o uso de tretinoína. Euvrard *et al.* (1992), ao utilizar a tretinoína 0,05% no tratamento de queratoses actínicas e verrugas virais em grupo de doentes transplantados renais, relataram redução de 45 % no número de lesões após três meses de tratamento.

Os retinóides sistêmicos são utilizados como terapêutica quimioprolática em pacientes de risco para câncer de pele, mas que não necessariamente receberam transplante de órgãos. Os primeiros estudos foram com isotretinoína na dose de 2mg/kg reduzindo a incidência de câncer de pele em pacientes com xeroderma pigmentoso (Kraemer *et al.* 1988; Kraemer *et al.*, 1992).

1.4 Retinóides na quimioprolaxia do câncer de pele em doentes transplantados

Os retinóides sistêmicos (etretinato e acitretina) têm sido usados para a prevenção e tratamento de lesões neoplásicas e pré-neoplásicas cutâneas em doentes imunossuprimidos por transplantes de órgãos sólidos.

Kelly *et al.* (1991) utilizaram etretinato na dosagem de 50mg/dia em 4 pacientes do sexo masculino por um período que variou de 8 a 13 meses; todos os pacientes obtiveram uma boa resposta ao tratamento, diminuindo

o número de lesões de queratose actínica e o número de lesões de carcinoma espinocelular durante o período com etretinato.

Bellman *et al.* (1996) administraram isotretinoína (0,5mg/kg/dia) como quimioprolático para câncer cutâneo e queratoses actínicas em um único paciente transplantado renal. Observaram diminuição de queratoses e, após dois meses de tratamento aumentaram a dosagem para 1mg/kg/dia sem observar efeitos adversos.

Rook *et al.* (1995) ao tratar 11 doentes transplantados renais com etretinato (10 mg/dia) associado a creme de tretinoína a 0,025% observaram, aos seis meses de tratamento, uma considerável melhora nas lesões cutâneas. Mantiveram os doentes em uso de etretinato em dias alternados e tretinoína tópica a 0,05%. Observaram que na pele perilesional de quatro doentes o número de CL foi maior que antes do tratamento. Esse aumento foi maior na pele de dois doentes observados após 12 meses de tratamento. Entretanto, em um doente que foi submetido somente à terapêutica tópica o aumento das CL foi sete vezes maior que o basal. O número de linfócitos T aumentou na pele controle pós-tratamento de uma e meia a duas vezes o da pele controle antes do tratamento. Os autores concluem que o uso de tretinoína tópica seria adequado para a prevenção das lesões pré-neoplásicas e neoplásicas da pele desses doentes.

Gibson *et al.* (1998a) submeteram 11 doentes transplantados renais a terapêutica com etretinato na dose de 0,3 mg/kg/dia, como quimioprolaxia para neoplasias cutâneas, e observam uma diminuição do

número de lesões cutâneas nos primeiros três a seis meses de tratamento quando comparado igual período antes do tratamento além de tendência a diminuir o número de carcinomas de pele nos 12 e 18 meses. Observaram boa tolerância dos doentes à medicação.

Gibson *et al.* (1998b) verificam uma tendência ao aumento da densidade das CL nas lesões de carcinoma espinocelular dos doentes transplantados renais que se desenvolveram durante o tratamento com etretinato em baixas doses quando comparada com aquela de tumores prévios à terapêutica.

Vandeghinste *et al.* (1992) relatam o uso da acitretina em um doente transplantado renal com queratoses actínicas e carcinomas. Referem que não houve aparecimento de novas lesões durante o tratamento.

Yuan *et al.* (1995) tratam 15 doentes transplantados renais com complicações cutâneas (queratose actínicas de aparecimento progressivo, verrugas virais múltiplas e carcinomas recorrentes) com acitretina em dose que variou de 10 a 50mg/dia. Os doentes referiram melhora subjetiva de sua pele e as queratose actínicas e verrugas melhoraram ou mesmo desapareceram. De seis doentes que usaram a medicação por 12 meses, o número de carcinomas diminuiu em quatro deles. Nove doentes apresentaram efeitos colaterais muco-cutâneos que foram controlados com a redução da dose. Nenhum doente apresentou alteração da função renal ou hepática. Não verificaram interação entre acitretina e ciclosporina em sete doentes que a utilizavam no esquema de imunossupressão. Os

autores ressaltam a necessidade de estudos prospectivos, duplo – cegos e multicêntricos para melhor avaliação dos benefícios da acitretina nesses doentes.

Shuttleworth *et al.* (1988) relatam bons resultados com etretinato na dosagem de 1mg/kg/dia por 6 meses em 6 pacientes. Quatro doentes apresentaram remissão completa total do quadro de queratoses durante o tratamento e em um foi quase total. A função renal manteve-se adequada em todos os pacientes submetidos ao tratamento.

Bavinck *et al.* (1995) verificam o efeito da acitretina (dose de 30mg/dia) no desenvolvimento de lesões queratósicas e carcinomas (espino e basocelular) em grupo de doentes transplantados renais através de estudo duplo-cego com grupo controle submetido a placebo. Não observam degradação da função renal com o uso do retinóide. Num período de seis meses de tratamento dois dos 19 doentes do grupo da acitretina apresentaram novos carcinomas espinocelulares contra 18 dos 19 doentes que tomaram o placebo. Observam ainda uma diminuição relativa de queratoses actínicas de 13,4% no grupo em uso do medicamento e 28,2% no grupo em uso do placebo. Três dos 19 doentes apresentaram aumento do colesterol no período e nenhum apresentou alteração na função hepática.

McKenna; Murphy (1999) verificam o efeito da acitretina em baixa dose (0,3 mg/kg/dia) como profilático, por período de cinco anos, do câncer de pele em grupo de 16 doentes transplantados renais. Doze dos doentes

apresentaram redução significativa do número de lesões quando comparado a igual período antes do tratamento. Dois doentes abandonaram o tratamento devido a efeitos colaterais e dois desenvolveram hiperlipidemia.

George *et al.* (2002) também utilizaram a acitretina na prevenção das lesões cutâneas pré-cancerosas e carcinomas de pele em doentes transplantados renais. Administraram a droga na dose de 25 mg/dia ou em dias alternados. De 23 doentes que iniciaram o tratamento 11 completaram dois anos no experimento. Dos 12 que abandonaram o tratamento nove o fizeram devido aos efeitos colaterais. Os autores referiram que o número de novos carcinomas no período de tratamento foi menor que em igual período sem tratamento. Relataram um efeito rebote no aparecimento de novos carcinomas espinocelulares em um dos doentes após terminado o período de tratamento.

A acitretina também foi utilizada na profilaxia de câncer cutâneo em doentes transplantados cardíacos. McNamara *et al.* (2002) utilizaram a acitretina em doses de 10 a 25mg/dia em cinco doentes transplantados cardíacos com lesões cutâneas pré-cancerosas e carcinomas. Verificaram melhora das lesões cutâneas sendo que em somente um dos doentes houve a necessidade de descontinuar a droga transitoriamente por efeitos colaterais.

Como vimos a maioria dos trabalhos revisados sobre o efeito dos retinóides na prevenção de processos pré-cancerosos e neoplásicos da pele nos doentes imunossuprimidos por transplantes avaliam a sua eficácia por

critérios clínicos comparativos relativos a igual período anterior ao tratamento ou com grupo controle pareado. Há raros trabalhos que analisam as alterações histopatológicas cutâneas e o comportamento de seus elementos celulares relacionados a imunovigilância contra tumores com o uso dos retinóides.

2 Objetivos

O propósito do presente trabalho foi o de verificar a eficácia da terapêutica quimioprolática com acitretina em baixa dosagem em grupo de doentes transplantados renais portadores de queratoses actínicas múltiplas e antecedentes de neoplasias cutâneas, durante um período de 12 meses, através de:

- Avaliação clínica quanto a melhora geral do aspecto cutâneo, diminuição das queratoses actínicas e aparecimento de novos carcinomas no período.
- Avaliação clínica e laboratorial da manutenção da função renal adequada durante o período submetido a terapêutica.
- Detecção de possíveis efeitos colaterais da droga no período.
- Monitoramento laboratorial da função hepática e níveis séricos de colesterol no período.
- Estudo histopatológico comparativo da pele aparentemente sã de área foto-exposta e foto-protegida antes, aos seis e aos 12 meses de tratamento.

- Estudo comparativo da população de linfócitos T CD4+, CD8+, células *natural killer* e células de Langerhans da pele aparentemente sã de área foto-exposta e foto-protegida antes, aos seis e aos 12 meses de tratamento para verificar o efeito imunomodulador da terapêutica com acitretina sobre esses elementos celulares cutâneos envolvidos na imunovigilância local contra tumores.

3 Casuística e Métodos

3.1 Casuística

Os doentes que compreenderam a casuística foram selecionados dentre aqueles com rim transplantado funcionante que procuraram o ambulatório da Unidade de Transplante Renal (UTR) do Hospital das Clínicas da FMUSP, fosse para consultas de rotina, ou por qualquer intercorrência relacionada ou não ao transplante renal. Foram avaliados sob o ponto de vista dermatológico os pacientes transplantados renais que procuraram o ambulatório da UTR no período de 12 meses, entre 01 de março de 2000 a 01 de março de 2001, para se verificar a prevalência das lesões cutâneas em estudo. A consulta dermatológica consistia de exame clínico de todo o tegumento incluindo o exame dos apêndices cutâneos, unhas e cabelos. A partir desse primeiro exame selecionamos os pacientes transplantados renais portadores de lesões suspeitas de queratose actínica (QA), carcinoma basocelular (CBC), carcinoma espinocelular (CEC) e doença de Bowen (DB) para participar do protocolo de tratamento com acitretina.

3.1.1 Critérios de exclusão / inclusão para o estudo

Excluimos do estudo crianças até 12 anos, doentes do sexo feminino com capacidade fértil, doentes em estado de hipercolesterolemia acentuada (definimos exclusão de pacientes quando o colesterol total era maior que 300 mg/dl), insuficiência hepática (ou a nosso critério transaminases maior ou igual a 100 U/L) e os doentes que não concordaram em participar do estudo após a informação através do documento de informação/consentimento. Doentes que no decorrer do tratamento com acitretina vieram a perder o rim transplantado também foram excluídos, pois os mesmos deixam de receber o esquema de imunossupressão.

Os doentes incluídos no projeto foram devidamente esclarecidos sobre os objetivos desse trabalho, os possíveis efeitos adversos e sobre métodos do estudo. Todos que concordaram em participar assinaram o “Termo de consentimento pós-informação” aprovado pela Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina USP (ver anexo 1).

3.1.2 Caracterização dos doentes selecionados

Os doentes para o estudo foram aqueles com transplantes renais funcionantes, sob regime de imunossupressão e que apresentavam alterações cutâneas representadas por QA (áreas extensas de acometimento, na qual as lesões se tornavam praticamente incontáveis), CBC, CEC e DB. Os doentes com lesões cutâneas suspeitas de processos neoplásicos cutâneos foram encaminhados para o Ambulatório da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da FMUSP para realização de tratamento desses tumores. De acordo com o comprometimento cutâneo restante, foram incluídos no ensaio clínico.

Após o exame inicial, os doentes selecionados foram convocados para consulta dermatológica, que consistia de anamnese detalhada, orientação e instrução sobre câncer de pele e sua profilaxia. Foram solicitados exames laboratoriais preliminares para inclusão/exclusão dos mesmos no protocolo.

De acordo com os critérios laboratoriais estabelecidos estes foram submetidos ao protocolo de tratamento com retinóide: Acitretina na dose de 20 mg/dia por via oral. O tratamento planejado foi o de 12 meses. Os exames laboratoriais realizados **previamente** à introdução da terapêutica com o acitretina foram representados por: exames para a avaliação renal (uréia, creatinina, urina tipo 1, proteinúria de 24 horas); avaliação da função

hepática (transaminase glutâmico oxalacética (TGO), transaminase glutâmico pirúvica (TGP), gamaglutamiltransferase (γ GT), bilirrubinas totais e frações (BT, BI, BD), tempo de protrombina (TP), fosfatase alcalina (FA), colesterol total e frações, triglicérides, amilase, hemograma completo e ácido úrico. As provas para diagnóstico de hepatopatia por vírus da hepatite B (HBs Ag, anti HBs e anti HB_C) e C (HCV) foram incluídas no protocolo, uma vez que muitos desses doentes foram anteriormente ao transplante renal, submetidos a esquema dialítico crônico que é fator de risco para infecção desses vírus e que podem comprometer a função hepática.

3.2 Método

3.2.1 Avaliação dermatológica, laboratorial e seguimento dos doentes submetidos à terapêutica

Realizamos o monitoramento clínico evolutivo das lesões cutâneas durante a administração de acitretina, principalmente no que diz respeito à frequência de aparecimento de novas lesões de QA e carcinomatosas.

A avaliação dermatológica em relação às QA foi realizada principalmente pela impressão do observador dermatologista e do paciente, devido às dificuldades de quantificação das lesões uma vez que eram múltiplas, acometendo superfícies extensas e por não dispormos de meios

técnicos para mapeamento de lesões. A avaliação clínica dermatológica detalhada foi complementada através de documentação com câmara fotográfica digital antes do início da terapêutica e nos seguimentos aos seis e 12 meses de tratamento.

Os exames laboratoriais de controle eram realizados mensalmente nos primeiros três meses de tratamento e a cada dois ou três meses no período restante, até que se completassem os 12 meses de tratamento ou sempre que se fizesse necessário valorizando as queixas e as dúvidas dos doentes.

3.2.2 Avaliação histopatológica e de subpopulações de linfócitos e de células de Langerhans da pele aparentemente sã de área exposta ao sol e área protegida

Foram tomadas biopsias de pele aparentemente sem lesões cutâneas, com *punch* de 4 mm sob anestesia local com lidocaína sem vasoconstritor, de área protegida da luz solar (face medial da porção proximal do braço) e área foto-exposta ipsilateral (dorso da mão). As biopsias foram tomadas antes da introdução do tratamento com acitretina, aos seis meses e aos 12 meses de tratamento.

Os fragmentos de biopsia assim que colhidos foram fixados em formol a 10% tamponado (pH 7,4) e submetidos às técnicas histológicas de rotina.

3.2.3 Análise histopatológica do material

Os cortes histológicos do material embebido em parafina foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina e analisados através de protocolos de avaliação das alterações morfológicas epidérmicas e dérmicas. Avaliamos a camada córnea de cada um dos preparados classificando quanto ao tipo morfológico (lamelar, compacta ou em cesta) e a camada granulosa se espessada (hipergranulose), se ausente (agranulose) ou se de espessura habitual. Realizamos a contagem numérica do número de camadas celulares da camada espinhosa entre cones epiteliais (três segmentos/biopsia) e nos cones epiteliais (três cones/biopsia) sendo anotadas as médias aritméticas/biopsia. Em todos os fragmentos foram procuradas atipias celulares nas camadas basal e espinhosa. As alterações dérmicas pesquisadas eram representadas pela presença de infiltrado inflamatório dérmico perivascular e presença de elastose solar.

3.2.4 Demonstração de subpopulações de linfócitos e células de Langerhans

Cortes histológicos de 4 µm do material embebido em parafina, colhidos em lâminas de vidro tratadas com solução adesiva de órgano-silano (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO/USA, cód. A3648) foram submetidos à técnica imuno-histoquímica da estreptavidina-biotina peroxidase (modificado de Hsu *et al.*, 1981) para demonstração de linfócitos T CD4+ e CD8+, células NK e células de Langerhans. O quadro 1 demonstra os anticorpos monoclonais utilizados, procedência, diluições de uso e células por eles marcadas.

QUADRO 1. ANTICORPOS MONOCLONAIS UTILIZADOS

Anticorpo	Código Marca	Diluição	Célula marcada
Mouse anti-human T cell (OPD4)	M834 DAKO	1:1000	Linfócitos T CD4 +
Mouse anti-human T cell (CD8)	M7103 DAKO	1:50	Linfócitos T CD8+
Mouse anti-CD56	MS-204-P Neomarkers	1:20	Células <i>natural killer</i>
Mouse anti-CD1a	1590 Immunotech	Puro	Células de Langerhans

As reações imuno-histoquímicas foram feitas de acordo com o protocolo a seguir:

1. Retirou-se a parafina dos cortes histológicos através de dois banhos de xilol, a 56°C durante 30 minutos e à temperatura ambiente durante 20 minutos.
2. O material foi hidratado em seqüência decrescente de etanol (absoluto, 95% e 70%) e água corrente durante 5 minutos cada.
3. Fez-se o bloqueio da peroxidase endógena em câmara escura com três incubações em água oxigenada 3% durante 10 minutos cada e em seguida as lâminas eram lavadas em água corrente e água destilada por 10 minutos.
4. Para a reação com o anticorpo anti-CD56 fez-se a exposição antigênica através de calor úmido com o uso de panela de vapor e banho com a solução “Target retrieval solution” marca DAKO, código S1699 diluída a 1/10.
5. Após os procedimentos acima descritos, fez-se o bloqueio de proteínas do tecido com incubação em solução de leite desnatado (Molico, Nestlé) a 10% durante 30 minutos à temperatura ambiente.
6. Procedeu-se, a seguir, a incubação das lâminas com os anticorpos primários, diluídos em solução 1% de albumina bovina fração V (SERVA cód. 11930) acrescida de azida sódica 0,1% em PBS (solução salina tamponada com fosfato pH 7,4, 0,01M) “overnight” a 4°C.

7. A seguir os preparados foram lavados por duas vezes em PBS por 5 minutos cada, antes de se proceder a incubação com o anticorpo secundário anti-imunoglobulina de camundongo produzido em cabra (DAKO K492) diluído 1:1000 em PBS, durante 30 minutos a 37°C.
8. As lâminas foram lavadas em PBS e incubadas com o complexo SABC (DAKO K492) diluído 1:1000 em PBS, durante 30 minutos a 37°C.
9. Para as reações com os anticorpos anti-CD4, anti-CD8 e anti CD1a utilizou-se sistema de amplificação CSA (Catalysed Signal Amplification DAKO cód. K1500), que consiste da utilização do reagente biotinil tiramida após a incubação com o complexo SABC, durante 15 minutos. Esse reagente tem por finalidade a multiplicação da biotina presente no sistema. A seguir as lâminas foram incubadas com estreptavidina conjugada à enzima peroxidase e a reação foi revelada como descrito anteriormente. Os tempos de lavagem com tampão e incubações foram seguidos rigorosamente de acordo com as instruções do fabricante.
10. Após nova lavagem em PBS, os sítios de reação foram revelados com solução cromógena de diaminobenzidina (3,3'-diaminobenzidine, SIGMA Chemical Co., St. Louis, MO/USA, cód. D5637) 0,03% acrescida de 1,2 ml de água oxigenada 3%. A intensidade de cor foi controlada ao microscópio óptico através dos controles positivos que acompanhavam cada reação.
11. Os cortes histológicos foram lavados em água corrente por 10 minutos, contracorados com hematoxilina de Harris por 10 segundos, e lavadas

em água corrente, desidratadas em etanol e diafanizadas em xilol.

12. A seguir as lâminas foram cobertas com resina Permount (FISHER Scientific, Fair Lawn, NJ/USA, cód. SP15-100) e montadas com lamínula de vidro.

Fragmentos histológicos de gânglio linfático para os subtipos de linfócitos e células NK, e de biopsia de pele de histiocitose X para células CD1a+, foram utilizados como controles positivos das reações. O controle negativo de cada reação foi obtido através da omissão dos anticorpos primários que eram substituídos por PBS.

3.2.5 Quantificação dos elementos celulares imuno-marcados

O número de linfócitos T CD4+, CD8+ e células *natural killer* foi obtido através da contagem do número de células imunomarcadas dérmicas utilizando-se ocular de 10× com graticulo e objetiva de 40×. A área do graticulo nesse aumento corresponde a 0,0625mm². Para cada um dos fragmentos foram analisadas as áreas de pelo menos seis campos (três junto aos vasos do plexo dérmico superficial e três de plano mais profundo da derme). Desse modo obteve-se a média do número de células imunomarcadas por unidade de área de derme (mm²).

A avaliação de células CD1a+ epidérmicas (células de Langerhans) foi obtida através da fração de área epidérmica com expressão de antígeno CD1a (BIEBER *et al.*, 1988). Optou-se por esse método de aferição uma vez que as células de Langerhans exibem dendritos que se dispõem por entre os queratinócitos e podem se anastomosar, o que torna difícil a individualização das células para contagem. A fração de área CD1a+ foi obtida pela contagem do número de pontos (cruzamento de duas retas no graticulo) que incidiam sobre reação positiva dividido pelo total de pontos que incidiam sobre a epiderme, excluída a camada córnea. Para isso utilizou-se a mesma ocular de 10x com graticulo e objetiva de 40x. Toda a epiderme de cada fragmento de pele foi avaliada.

$$\text{Fração de área epidérmica CD1a+} = \frac{\text{Número de pontos sobre reação positiva}}{\text{Total de número de pontos sobre a epiderme}}$$

3.2.6 Análise estatística dos resultados

Foram escolhidos alguns parâmetros laboratoriais para análise estatística. Optamos pelos níveis de TGP e Gama GT para análise de função hepática, colesterol total pelo fato do medicamento ser potencialmente hipercolesterolêmico e creatinina para monitoramento da função renal. Foram comparados valores nessas variáveis antes do início da

terapêutica aos seis meses e aos doze meses através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

O número de camadas celulares na camada espinhosa da epiderme entre cones epiteliais e nos cones epiteliais dos fragmentos de pele exposta e protegida do sol antes, após seis e 12 meses de tratamento com acitretina foi comparado pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

As populações de subtipos de linfócitos, células *natural killer* e fração de área epidérmica positiva para o antígeno CD1a da pele protegida e exposta ao sol antes, aos seis e 12 meses de tratamento foram também comparados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

A comparação de dois grupos entre si foi realizada pelo teste de comparação múltipla de Dunn.

Utilizou-se o programa estatístico Graph-Pad Prims versão 3.00 (San Diego, CA/USA). Foi estabelecido o nível de significância de 95% ($p \leq 0,05$).

4 Resultados

Cento e trinta e oito doentes transplantados renais (com enxerto renal funcional) que procuraram o ambulatório da Unidade de Transplante Renal (UTR) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, no período de 01 de março de 2000 a 01 de março de 2001, foram submetidos a exame dermatológico completo. O grupo era constituído por 69 doentes do sexo feminino e 69 do sexo masculino. A faixa etária variou dos oito a 75 anos (média e mediana de 47). O tempo pós-transplante variou de 16 dias a 30 anos (média de 139 meses e mediana de 60 meses).

A avaliação dermatológica compreendeu também a classificação dos doentes segundo o fototipo de pele de acordo com Fitzpatrick (1999). Foram encontrados três doentes do fototipo I, 31 do fototipo II, 60 do fototipo III, 32 do fototipo IV, 10 do fototipo V e dois doentes do fototipo VI.

O quadro 2 demonstra o sexo, idade, tempo pós-transplante [sendo (1) o tempo do primeiro transplante e (2) o do atual transplante], fototipo e tipo de lesão cutânea observada para cada um dos 138 doentes avaliados.

QUADRO 2. CARACTERIZAÇÃO DE GRUPO DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIS SUBMETIDOS A EXAME DERMATOLÓGICO NO PERÍODO DE 01 DE MARÇO DE 2000 E 01 DE MARÇO DE 2002 SEGUNDO SEXO, IDADE, TEMPO DE PÓS-TRANSPLANTE, FOTOTIPO E LESÕES CUTÂNEAS OBSERVADAS

	Sexo	Idade (a)	TPT(a)	Fototipo*	Lesões cutâneas observadas
1	Masc	48	23	III	Queratose seborreica, queratose actínica, pitíriase alba, queratose pilar
2	Masc	45	4	V	Pitíriase versicolor
3	Fem	35	27	IV	NDN
4	Masc	65	14	IV	Hematoma, queratose actínica, queratose seborreica, onicomucose, Tinha dos pés, estucoqueratose, verruga vulgar
5	Fem	55	2	IV	Melasma, Dermatite de contato
6	Fem	35	4	II	Pitíriase versicolor, hematoma
7	Masc	47	5	III	Verruga filiforme, queratose seborreica
8	Masc	32	1	III	Nevo melanocítico displásico
9	Masc	56	1	IV	Queratose actínica
10	Fem	39	1	III	Acne escoriada, melasma
11	Fem	21	7	III	Alopécia androgenética, queratose pilar
12	Fem	42	10m	II	Melasma, pitíriase versicolor, queratodermia plantar
13	Masc	34	9	III	Estrias, estucoqueratose, queratose pilar
14	Fem	58	2	III	Queratoses seborreica, úlceras de perna
15	Fem	30	2	III	Melasma, acne
16	Fem	41	11	III	Melasma
17	Fem	52	12	III	Onicomucose, queratose seborreica, verrugas virais
18	Fem	41	6	IV	Melasma
19	Masc	47	7	III	Nevo displásico, onicomucose, queratose seborreica
20	Fem	26	17	II	Melasma, verruga viral, nevo displásico
21	Fem	41	5	III	Queratose pilar, cisto epidérmico, asteatose
22	Masc	69	9	II	Carcinomas espinocelular, verrugas virais, Queratose seborreica
23	Masc	38	3	II	Pitíriase versicolor, tinha dos pés
24	Fem	64	7	I	Carcinomas espinocelular, queratose actínica, onicomucose
25	Masc	49	18	III	Queratose seborreica, onicomucose
26	Fem	55	2m	II	Melanoses solares, queratose seborreica, herpes simples
27	Masc	62	1,5	II	Queratose seborreica queratose actínica, estucoqueratose, onicomucose
28	Masc	49	17	II	Queratoses actínicas
29	Masc	37	3	IV	Hiper Cromia da face
30	Masc	18	2	IV	Acne por corticóide
31	Masc	46	2	III	Equimoses, pitíriase versicolor
32	Fem	51	4	II	Ictiose, Poiquilodermia de Civatte
33	Fem	53	4	II	Verrugas múltiplas, nasais, mãos, membros, onicomucose
34	Fem	21	6	I	Dermatite de contato nas mãos, lentigos
35	Masc	62	22	III	Queratoses actínicas
36	Masc	31	12	II	Acne na face, pitíriase versicolor, estrias
37	Masc	59	6	V	NDN
38	Fem	37	7	III	Melasma
39	Masc	53	2	III	Queratose seborreica, queratose actínica
40	Masc	63	1,3	IV	Psoríase
41	Fem	44	24	II	Queratose actínica e carcinoma espinocelular
42	Fem	39	2,5	III	Pitíriase versicolor, onicomucose, queratose seborreica
43	Fem	52	4m	III	Melasma nos braços
44	Fem	39	9m	III	Pitíriase versicolor

45	Masc	50	26	III	Queratoses actínica e seborreica, onicomicose
46	Fem	36	7	II	Melasma, onicomicose, nevo displásico
47	Fem	41	3	II	Molusco contagioso, verrugas planas nas mãos
48	Fem	49	1 ^a 3m	III	Queratose actínica, verrugas vulgares
49	Fem	49	9	II	Verrugas vulgares, carcinoma espinocelular, Doença de Bowen
50	Fem	30	49d	IV	Erupção acneiforme
51	Fem	26	2m	I	Erupção acneiforme
52	Fem	52	2	III	Escabiose, tinha interdigital
53	Fem	21	6m	III	NDN
54	Fem	32	3	III	Nevo melanocítico displásico
55	Masc	75	4a3m	II	Queratose seborreica e onicomicose
56	Fem	54	2	IV	Melasma, melanoníquia
57	Masc	42	7	III	Pitíriase versicolor
58	Masc	63	6m	IV	Poiquilodermia Civate
59	Masc	53	12	III	Queratose actínica, carcinoma basocelular
60	Fem	39	5 m	IV	Queilite angular
61	Masc	26	9	III	Tinha do corpo
62	Masc	44	17	II	Queratoses actínicas
63	Masc	29	3	III	Tinha do corpo
64	Masc	36	5a2m	II	Acne, dermatite seborreica, queratose seborreica, Verruga viral no tronco
65	Masc	16	1a8m	IV	NDN
66	Masc	57	11	V	Onicomicose, tinha do pé, asteatose
67	Masc	40	10	II	Queratoses actínicas
68	Fem	25	7	III	Verruga viral, melasma, acne, queratodermia palmo plantar
69	Masc	60	29	II	Queratoses actínicas, carcinoma basocelular
70	Masc	68	12	III	Carcinoma basocelular, queratose actínica
71	Fem	39	14	IV	NDN
72	Fem	60	3	V	Hiperplasia sebácea, verruga vulgar, onicomicose
73	Fem	18	11	IV	Erupção acneiforme, pitíriase versicolor, verruga vulgar
74	Fem	53	(1) 6 (2) 2	II	Queratoses actínicas, hiperplasia sebácea
75	Masc	46	3	V	Asteatose
76	Fem	35	10m	IV	Dermatose papulosa nigra
77	Fem	31	10m	IV	Melasma, pitíriase versicolor
78	Fem	50	1m	IV	Onicomicose
79	Masc	35	10m	III	Quelóide, Poiquilodermia de Civate
80	Masc	28	8	IV	Asteatose, cicatrizes de acne
81	Masc	66	10	VI	NDN
82	Masc	47	10m	III	Poiquilodermia de Civate, erupção acneiforme.
83	Masc	47	1m	III	Erupção acneiforme
84	Fem	65	2m	V	NDN
85	Masc	33	20d	IV	NDN
86	Masc	28	3	IV	Poiquilodermia de Civate, erupção acneiforme
87	Fem	22	12	II	Impetigo, hematomas, pitíriase versicolor
88	Fem	41	10	IV	Verrugas virais, Poiquilodermia de Civate
89	Fem	72	28	VI	Asteatose
90	Masc	16	4a5m	III	Acne, onicomicose, unha encravada
91	Masc	8	2	IV	Pitíriase versicolor
92	Fem	43	16	III	Poiquilodermia de Civate, carcinoma basocelular, queratose actínica
93	Fem	57	25	II	Queratose actínica, doença de Bowen
94	Masc	59	13	III	Queratoses actínicas, carcinoma basocelular
95	Fem	51	29	III	Poiquilodermia de Civate, onicomicose
96	Fem	48	6m	IV	Poiquilodermia de Civate
97	Fem	50	(1) 3 (2) 2	III	Queratose seborreica, Poiquilodermia de Civate, queratoses actínicas
98	Fem	39	1	III	Poiquilodermia de Civate

99	Masc	54	6	V	Prurido generalizado
100	Masc	45	9	III	Herpes simples, carcinoma basocelular, Poiquiloderma de Civatte
101	Masc	50	2m	V	Asteatose, lipoma na fronte
102	Fem	36	8	II	Onicomucose
103	Fem	47	3	IV	Poiquiloderma de Civatte
104	Masc	57	1	III	Equimoses, vitiligo
105	Fem	51	11	IV	Queratoses seborreicas, onicomucose
106	Masc	46	9m	III	Poiquiloderma de Civatte
107	Fem	48	20 d	IV	Hipocromia peribucal
108	Fem	53	14	III	Queratoses actínicas
109	Fem	47	30	III	Queratoses actínicas, Poiquiloderma de Civatte
110	Fem	41	2m	III	Pitíriase alba, onicomucose, Poiquiloderma de Civatte
111	Masc	49	5	II	Poiquiloderma de Civatte, queratose seborreica
112	Masc	35	2	IV	Acne
113	Fem	67	12	II	Queratose actínica, onicomucose
114	Masc	32	16 d	III	NDN
115	Fem	36	(1) 4 (2) 2	IV	Asteatose
116	Masc	48	26	II	Queratose actínica
117	Fem	27	4	V	NDN
118	Fem	24	24	II	Queratose actínica, verruga vulgar
119	Fem	50	10	III	Verrugas vulgares nas mãos
120	Masc	34	6	III	Calosidade nos pés, melanosos solares, herpes labial, onicomucose
121	Masc	46	10 m	IV	Asteatose
122	Fem	69	9	II	Queratose actínica
123	Fem	72	40d	IV	Hirsutismo
124	Fem	61	41d	III	Hematomas puntiformes subungueais
125	Masc	60	7	III	Equimoses, cisto epidérmico, Poiquiloderma de Civatte, Hiperplasia sebácea
126	Masc	20	25d	III	Erupção acneiforme
127	Masc	49	50d	III	Ictiose, melanosos solares
128	Masc	53	15	III	Carcinoma basocelular, queratose actínica
129	Masc	43	12	III	Queratoses actínicas e Poiquiloderma de Civatte
130	Masc	65	14	IV	Queratoses actínicas, Poiquiloderma de Civatte e onicomucose.
131	Masc	52	22	II	Queratose actínica.
132	Masc	53	4m	III	Queratose actínica.
133	Masc	43	7	V	Dermatite de contato, queratoderma palmoplantar.
134	Fem	63	7	III	Acrocórdons, queratose seborreica
135	Masc	60	4	III	Queratoses seborreica, nevos intradérmicos
136	Fem	56	29	II	Queratose actínica
137	Masc	60	5	III	Queratose actínica
138	Masc	46	9	III	Queratose actínica

Fem - feminino; Masc - masculino; TPT - tempo pós-transplante, a = anos, m= meses e d= dias; * fototipo segundo Fitzpatrick (1999); NDN - nada digno de nota.

O quadro 3 demonstra as doenças dermatológicas mais freqüentemente observadas no grupo de 138 doentes transplantados renais examinados.

QUADRO 3. DOENÇAS DERMATOLÓGICAS MAIS FREQUENTES EM GRUPO DE 138 DOENTES TRANSPLANTADOS RENAI EXAMINADOS DURANTE PERÍODO DE MARÇO DE 2000 A MARÇO DE 2001

Doença dermatológica	Número de doentes
Queratose actínica	35
Onicomicose	22
Queratose seborreica	20
Poiquilodermia de Civatte	20
Verrugas virais múltiplas	16
Melasma	14
Pitiríase versicolor	13
Erupção acneiforme	08
Asteatose acentuada	08
Acne	07
Hematomas e equimoses	07
Carcinoma basocelular*	07
Carcinoma espinocelular*	05
Doença de Bowen*	02

* Suspeita de neoplasias observadas por ocasião da avaliação dermatológica. Entretanto, não foi considerada história de neoplasias anteriores já confirmadas por exame anátomo patológico.

Outras doenças encontradas em um número menos expressivo de doentes foram representadas por: tinha do corpo, acrocórdons, alopecia androgenética, calosidades, dermatite de contato, dermatose papulosa nigra, escabiose, estrias, herpes simples, hiperplasia sebácea, hirsutismo,

ictiose, impetigo, melanoses solares e lentigos, molusco contagioso, nevos displásicos, pitiríase alba, prurido a esclarecer, psoríase, queilite, quelóide, queratose pilar, cistos epidérmicos, dermatite seborreica, estucoqueratose, lipomas, melanoníquia, nevos, queratodermia palmo plantar, úlcera de perna, unha encravada, vitiligo e linfoma cutâneo (um paciente).

4.1 Seleção dos doentes e caracterização da casuística

Do total dos doentes avaliados foram selecionados 33 que se enquadravam nos critérios clínicos de inclusão do protocolo de tratamento com a acitretina. Desses 33 doentes 13 submeteram-se ao esquema terapêutico proposto de 12 meses. O quadro 4 demonstra as características quanto a idade, sexo, tempo de pós-transplante, lesões de queratose actínica e carcinomas antes e após o período de tratamento.

QUADRO 4. DOENTES TRANSPLANTADOS RENAI SUBMETIDOS À TERAPÊUTICA COM ACITRETINA 20mg/dia: IDENTIFICAÇÃO, SEXO, IDADE, DOENÇA RENAL QUE MOTIVOU O TRANSPLANTE, TEMPO PÓS-TRANSPLANTE, QUERATOSES ACTÍNICAS, CARCINOMAS ESPINOCELULARES E BASOCELULARES PRÉVIOS AO TRATAMENTO E APARECIMENTO DE NOVOS CARCINOMAS DURANTE O TRATAMENTO

Nº	Doente	Sexo	Idade	Doença renal	TPP	QA	CEC	CBC	Novos carcinomas
1*	AES*	F	49	IRC	28	Presente	Não	Não	Não
2	AGZ	F	56	GNC	355	Presente	Não	Não	Não
3	EPT	F	64	GNC	96	Presente	Não	Não	Não
4	RANP	F	46	GNC	372	Presente	Não	Não	Não
5	ACT	M	43	PNC	156	Presente	Não	Não	Não
6	ACSA	M	45	GNC	216	Presente	Não	Não	Não
7	AS	M	59	IRC	48	Presente	Não	Não	Não
8	JAD	M	54	IRC	16	Presente	01	Não	CBC – 02**
9	LZM	M	50	GNC	324	Presente	Não	Não	Não
10	LCS	M	46	Tb Renal	108	Presente	01	Não	Não
11	PRC	M	41	Nefropatia diabética	136	Presente	07	08	Não
12	STE	M	52	GNC	280	Presente	02	Não	Não
13*	IRJ*	F	54	GNC	180	Presente	02	Não	Não

* - doentes que não completaram 12 meses de tratamento; M - masculino; F - feminino; idade em anos; GNC - glomerulonefrite crônica, IRC - insuficiência renal crônica não esclarecida, TB renal - tuberculose renal; TPP - tempo pós-transplante em meses; QA - queratose actínica; CEC - carcinoma espinocelular (número de lesões nos 05 anos precedentes ao tratamento); CBC - carcinoma basocelular (número de lesões nos 05 anos precedentes ao tratamento); ** - dois carcinomas basocelulares durante o tratamento com acitretina.

4.2 Comportamento da casuística durante a terapêutica

Durante o tratamento os doentes compareceram ao ambulatório mensalmente para a avaliação dermatológica e dos exames laboratoriais, orientação quanto a fotoproteção e esclarecimento de eventuais dúvidas relacionadas ou não ao tratamento introduzido. Alguns doentes inicialmente seguiram a orientação de uso de filtro solar, mas, pelo alto custo do produto e dificuldade de aquisição deste hábito na prática diária, muitos apenas evitaram exposição solar exagerada. Os doentes também foram orientados para evitar a ingestão de álcool pela capacidade deste interferir com a metabolização da acitretina e também diminuir a ingestão de comidas gordurosas, frituras, reduzir o consumo de ovos e leite em alguns casos; uma vez que alguns desses pacientes apresentavam colesterol aumentado e sabidamente a acitretina poderia agravar o quadro.

Por vezes, foi necessário o ajuste da dose frente aos efeitos colaterais do medicamento. Alguns pacientes queixavam-se de ressecamento labial intenso com fissuras de difícil controle. Quando isto ocorria optávamos por redução à metade da dose diária de acitretina até o controle do quadro dermatológico quando então eram novamente submetidos às doses diárias de 20 mg. Esse desconforto foi observado geralmente no início da terapêutica.

4.3 Avaliação dermatológica e evolução dos doentes

Os doentes logo às primeiras semanas de tratamento apresentaram melhoras clínicas objetivas quanto às lesões queratósicas. A textura da pele, em geral, tornou-se mais lisa e homogênea quanto à sua aparência e consistência de sua superfície. Houve diminuição do número e da espessura das lesões, isto é, menor queratose e também desaparecimento de algumas lesões antigas (figura 1).

Os doentes mostraram-se muito satisfeitos e animados com as respostas cutâneas iniciais ao tratamento. Queixavam-se, entretanto, de ressecamento labial (importante em alguns casos) e cutâneo evidenciado principalmente nos três primeiros meses de tratamento. Descamação em todo o tegumento foi observada e muitas vezes era seguida por prurido leve a moderado que foi atenuado com uso de emolientes.

Outras queixas como dores musculares, cefaléia e epistaxe, queda de pêlos entre outras menos expressivas, foram relatadas. Entretanto, não foram intensas para que fosse necessário interromper o tratamento.

FIGURA 1. DOENTE AGZ SUBMETIDA A TRATAMENTO COM ACITRETINA 20 mg/dia
a) Aspecto cutâneo com numerosas queratoses actínicas no dia 15/09/00 ao início do tratamento; b) 17/04/01 aos 06 meses de tratamento; c) 23/10/01 aos 12 meses de tratamento.

4.4 Avaliação laboratorial dos doentes antes e durante o tratamento com acitretina

O acompanhamento laboratorial dos doentes durante o tratamento com acitretina pode ser observado no quadro 1 do anexo A. Foram eleitos alguns destes parâmetros laboratoriais para comparação através de análise estatística (ver tabela 1 e figura 2). Não observamos alterações significativas nos parâmetros laboratoriais escolhidos. Optamos, a conselho da equipe de Unidade de Transplante Renal, pelas dosagens de creatinina sérica como parâmetro da função renal, de colesterol total como parâmetro de avaliação de lipídeos, transaminase glutâmico pirúvica (TGP) e gama glutamil transferase (Gama GT) como parâmetros de análise da função hepática. Esses parâmetros laboratoriais não se alteraram durante o tratamento com acitretina (20 mg/dia) (ver tabela 1 e figura 2).

TABELA 1. COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CREATININA, COLESTEROL, TRANSAMINASE GLUTÂMICO PIRÚVICA E GAMA GLUTAMIL TRANSFERASE DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS 06 E 12 MESES DE TRATAMENTO COM ACITRETINA 20mg/dia

		Inicial (n = 13)	06 meses (n = 13)	12 meses (n = 11)
Creatinina	Máximo	3,5	4,3	3,7
	Mediana	1,1	1,3	1,5
	Mínimo	0,8	0,9	0,6
Colesterol	Máximo	273	279	258
	Mediana	210	195	209
	Mínimo	161	153	151
TGP	Máximo	76	95	68
	Mediana	22	22	27
	Mínimo	9	11	15
GamaGT	Máximo	199	218	218
	Mediana	37	32	34
	Mínimo	9	12	12

N - número de doentes; Colesterol (mg/dl); Creatinina (mg/dl); TGP - transaminase glutâmico-pirúvica (U/L); GamaGT - gama glutamiltransferase (U/L); sem diferenças entre os grupos (testes de Kruskal-Wallis e Dunn)

FIGURA 2. COMPARAÇÃO DE EXAMES LABORATORIAIS DOS DOENTES TRANSPLANTADOS RENAI ANTES, APÓS 06 MESES E 12 MESES DE TRATAMENTO COM ACITRETINA (20 mg/dia).
 A - Creatinina sérica (mg/dl); B - Colesterol total (mg/dl); C - TGP - Transaminase glutâmico pirúvica (U/l); D - Gama GT - Gama glutamil transferase (U/l). Testes de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$) e Dunn ($p > 0,05$); barra – mediana dos valores.

4.5. Comportamento da casuística quanto à manutenção da terapêutica com acitretina

Dentre os 13 doentes a doente AES portadora do vírus da hepatite C abandonou o protocolo com sete meses de tratamento por apresentar hepatite medicamentosa causada ou agravada pelo retinóide. Inicialmente suspeitou-se de hepatite pela azatioprina que foi substituída com melhora do quadro. Posteriormente repetiu o quadro de hepatite que somente se resolveu com a interrupção do uso da acitretina.

Aos 10 meses de tratamento uma doente (IRJ) apresentou quadro hemorrágico. Foram suspensas várias medicações em uso no momento desse diagnóstico, inclusive o retinóide.

Pelos motivos acima expostos terminamos o estudo de 12 meses com 11 dos 13 pacientes.

Os 11 doentes que concluíram o período de tratamento proposto o fizeram sem outras intercorrências significativas, relacionadas ao medicamento, além das já mencionadas como descamação palmo plantar esporádica, ressecamento cutâneo corporal e queda de pêlos dos membros superiores e inferiores, entretanto, sem intensidade que implicasse na suspensão da acitretina. Para alguns doentes a exacerbação desses sintomas foi controlada apenas com a fragmentação da dose diária (de uma

vez para duas vezes ao dia), pois inicialmente, na introdução do medicamento, eram orientados para ingestão de 2 cápsulas pela manhã.

Verificamos que somente um dos doentes apresentou aparecimento de novos carcinomas (basocelulares) durante o período do estudo (ver quadro 4).

4.6. Avaliação histopatológica da pele exposta e protegida da luz solar antes, após seis e 12 meses de tratamento com acitretina

O exame dos preparados histológicos foi realizado sem o conhecimento da identificação do caso e respectivo tempo de tratamento. A avaliação histopatológica quanto às alterações epidérmicas antes, após seis meses e 12 meses de tratamento com acitretina estão demonstradas no quadro 2 do anexo B. A alteração dérmica mais expressiva foi a elastose solar da pele exposta ao sol, entretanto, não observamos alteração quando comparadas as biopsias prévias e sob tratamento aos seis e 12 meses. Os linfócitos perivasculares mostraram-se escassos, ou mesmo ausentes na derme da pele antes e após 06 e 12 meses de tratamento com a acitretina. Esse aspecto foi observado tanto na pele exposta como na pele protegida do sol dos doentes. As figuras 3 e 4 apresentam os aspectos microscópicos de pele exposta e protegida antes, após 06 meses e 12 meses de tratamento.

FIGURA 3. PELE EXPOSTA AO SOL (DORSO DA MÃO) DE DOENTE TRANSPLANTADO RENAL (DOENTE STE)
A) antes do início do tratamento; B) após 06 meses de tratamento; C) após 12 meses de tratamento com acitretina (20 mg/dia). Todos os espécimes exibem elastose solar moderada. O espécime aos 6 meses de tratamento mostra dilatação dos vasos dérmicos superficiais e o espécime aos 12 meses de tratamento exhibe aparente espessamento da epiderme quando comparado aos demais. Hematoxilina-eosina (a, c: aumento original de 100×; b: aumento original de 200×).

FIGURA 4. PELE PROTEGIDA DO SOL (FACE MEDIAL DO TERÇO SUPERIOR DO BRAÇO) DE DOENTE TRANSPLANTADO RENAL (DOENTE STE)

A) antes do início do tratamento; B) após 06 meses de tratamento; C) após 12 meses de tratamento com acitretina (20 mg/dia). Os aspectos morfológicos são semelhantes; a epiderme é pouco adelgada e as estruturas dérmicas mostram-se conservadas. Hematoxilina-eosina (aumento original de 100×).

A análise estatística da comparação do número de camadas celulares da epiderme entre cones epiteliais e nos cones epiteliais da pele exposta e protegida do sol antes e após 06 e 12 meses de tratamento está apresentada nas tabela 2 e 3.

TABELA 2. NÚMERO DE CAMADAS CELULARES DA EPIDERMIS DE PELE FOTO-EXPOSTA DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES E APÓS 06 E 12 MESES DE TERAPÊUTICA COM ACITRETINA (20 mg/dia)

	Número de camadas celulares epidérmicas entre cones epidérmicos			Número de camadas celulares epidérmicas nos cones epidérmicos		
	Controle N = 13	06 meses N = 13	12 meses N = 11	Controle N = 13	06 meses N = 12	12 meses N = 10
Mediana	4	3	4	9	8,5	12
Máximo	8	6	8	15	16	18
Mínimo	2	2	3	6	5	6

N - número de espécimes; Teste de Kruskal-Wallis e Dunn (não significativo)

TABELA 3. NÚMERO DE CAMADAS CELULARES DA EPIDERMIS DE PELE FOTO-PROTEGIDA DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES E APÓS 06 E 12 MESES DE TERAPÊUTICA COM ACITRETINA (20 mg/dia)

	Número de camadas celulares na epiderme entre cones epidérmicos			Número de camadas celulares nos cones epidérmicos		
	Controle N = 11	06 meses N = 13	12 meses N = 11	Controle N = 12	06 meses N = 13	12 meses N = 11
Mediana	4	3	3	7	9	7
Máximo	5	7	5	10	17	10
Mínimo	2	2	1	4	6	4

N - número de espécimes; Teste de Kruskal-Wallis e Dunn (não significativo)

4.7. Demonstração de subtipos de linfócitos (CD4+ e CD8+), células *natural killer* (CD56+) e células de Langerhans epidérmicas

Os preparados histológicos exibiam, de modo geral, poucos elementos celulares inflamatórios dérmicos. As células dérmicas marcadas pelos anticorpos anti CD4, CD8 e CD56 eram raras e presentes geralmente ao redor dos vasos dérmicos superficiais tanto na pele exposta como na pele protegida da luz solar. Esse aspecto foi semelhante nos exames iniciais, após seis e 12 meses de tratamento para todas as células imunomarcadas (figura 5).

As células de Langerhans epidérmicas reveladas pelo anticorpo anti-CD1a mostraram-se escassas, com dendritos curtos e irregulares por entre os queratinócitos da epiderme e até mesmo ausentes, em raros casos, antes do tratamento. Esse aspecto foi semelhante na pele exposta e foto-protegida. Aos 06 e 12 meses de tratamento com acitretina notou-se aparente recuperação dessa população celular epidérmica. Apresentaram-se melhor distribuídas na camada espinhosa da epiderme e exibiam dendritos mais longos. Esse aspecto foi mais expressivo após os 12 meses de tratamento com acitretina (figura 6 e 7).

FIGURA 5. PELE PROTEGIDA DO SOL (FACE MEDIAL DO TERÇO SUPERIOR DO BRAÇO DE DOENTE TRANSPLANTADO RENAL ANTES DO TRATAMENTO COM ACITRETINA (20 mg/dia) (DOENTE ACT). Linfócitos CD8+ com membrana celular corada em marrom, escassos, ao redor de vaso dérmico superficial. Técnica imunohistoquímica da estreptavidina-biotina-peroxidase com amplificação pelo CSA - anticorpo anti-CD8 (aumento original 400×).

FIGURA 6. CÉLULAS DE LANGERHANS EPIDÉRMICAS NA PELE EXPOSTA AO SOL DE DOENTE TRANSPLANTADO RENAL (LCS) REVELADAS PELO ANTICORPO CD1a

A) antes do tratamento com acitretina 20 mg/dia; B) após 6 meses de tratamento; C) após 12 meses de tratamento. Notar aumento de células de Langerhans epidérmicas aos 12 meses de tratamento. Técnica imuno-histoquímica da estreptavidina-biotina-peroxidase com amplificação pelo CSA (aumento original de 400×).

FIGURA 7. CÉLULAS DE LANGERHANS EPIDÉRMICAS NA PELE PROTEGIDA DO SOL DE DOENTE TRANSPLANTADO RENAL (LCS) REVELADAS PELO ANTICORPO CD1a

A) antes do tratamento com acitretina 20 mg/dia; B) após 6 meses de tratamento; C) após 12 meses de tratamento. Notar aumento da população de células de Lagerhans epidérmicas aos 12 meses de tratamento. Técnica imuno-histoquímica da estreptavidina-biotina-peroxidase com amplificação pelo CSA (aumento original de 400×).

4.8 Quantificação e comparação da população de subtipos de linfócitos, células *natural killer* e fração de área epidérmica com expressão de antígeno CD1a (células de Langerhans) na pele exposta e protegida do sol de doentes transplantados renais antes e aos seis e 12 meses de tratamento com acitretina

O número de linfócitos T CD4+, CD8+ e células CD56+ por mm² de área dérmica da pele exposta e protegida do sol do grupo de doentes estudados está demonstrado no quadro 3 do anexo B.

A fração de área epidérmica com expressão de antígeno CD1a (células de Langerhans) para cada um dos espécimes de pele está também apresentada no quadro 3 do anexo B.

Não houve diferenças estatisticamente significativas quando comparadas as populações de linfócitos T CD4+, CD8+ e células natural killer (CD56+), tanto da pele exposta ao sol como protegida antes e após seis e 12 meses de tratamento com acitretina (ver tabelas 4 e 5 e figuras 8 a 13).

TABELA 4. NÚMERO DE LINFÓCITOS CD4+, CD8+ E CÉLULAS NATURAL KILLER/mm² DE DERME DE PELE EXPOSTA AO SOL DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS SEIS E 12 MESES DE TRATAMENTO COM ACITRETINA (20mg/dia)

	Antes			06 meses			12 meses		
	CD4 N = 13	CD8 N = 13	CD56 N = 13	CD4 N = 13	CD8 N = 13	CD56 N = 13	CD4 N = 12	CD8 N = 10	CD56 N = 11
Mediana	0,00	2,666	0,000	0,00	0,000	0,000	2,666	0,000	0,000
Máximo	10,67	10,67	16,00	10,67	5,333	13,33	48,00	2,666	0,000
Mínimo	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000

N – número de espécimes; comparação pelo teste de Kruskal-Wallis (sem diferença entre os grupos); teste de Dunn (sem diferença entre os grupos)

TABELA 5. NÚMERO DE LINFÓCITOS CD4+, CD8+ E CÉLULAS NATURAL KILLER/mm² DE DERME DE PELE PROTEGIDA DO SOL DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS SEIS E 12 MESES DE TRATAMENTO COM ACITRETINA (20mg/dia)

	Antes			06 meses			12 meses		
	CD4 N = 13	CD8 N = 13	CD56 N = 11	CD4 N = 13	CD8 N = 13	CD56 N = 12	CD4 N = 11	CD8 N = 11	CD56 N = 11
Mediana	0,00	0,00	0,000	0,00	0,000	0,000	2,666	2,66	0,00
Máximo	10,67	13,33	2,66	21,33	45,33	5,33	13,33	16,00	10,67
Mínimo	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000

N – número de espécimes; comparação pelo teste de Kruskal-Wallis (sem diferença entre os grupos); teste de Dunn (sem diferença entre os grupos)

FIGURA 8. NÚMERO DE LINFÓCITOS CD4+/mm² NA PELE EXPOSTA AO SOL DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS 06 E 12 MESES DE USO DE ACITRETINA (20mg/dia); BARRA - MEDIANA DOS VALORES

FIGURA 9. NÚMERO DE LINFÓCITOS CD4+/mm² NA PELE PROTEGIDA DO SOL DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS 06 E 12 MESES DE USO DE ACITRETINA (20mg/dia); BARRA - MEDIANA DOS VALORES

FIGURA 10. NÚMERO DE LINFÓCITOS CD8+/mm² NA PELE EXPOSTA AO SOL DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS 06 E 12 MESES DE USO DE ACITRETINA (20mg/dia); BARRA - MEDIANA DOS VALORES

FIGURA 11. NÚMERO DE LINFÓCITOS CD8+/mm² NA PELE PROTEGIDA DO SOL DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS 06 E 12 MESES DE USO DE ACITRETINA (20mg/dia); BARRA - MEDIANA DOS VALORES

FIGURA 12. NÚMERO DE CÉLULAS CD56+/mm² NA PELE EXPOSTA AO SOL DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS 06 E 12 MESES DE USO DE ACITRETINA (20mg/dia); BARRA - MEDIANA DOS VALORES

FIGURA 13. NÚMERO DE CÉLULAS CD56+/mm² NA PELE PROTEGIDA DO SOL DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS 06 E 12 MESES DE USO DE ACITRETINA (20mg/dia); BARRA - MEDIANA DOS VALORES

A fração de área epidérmica positiva para CD1a foi maior, tanto na pele exposta como na pele protegida do sol, aos 12 meses de tratamento ($p = 0,002$ e $p = 0,003$ respectivamente) quando comparada com a da pele antes e após seis meses de tratamento. As tabelas 6 e 7 e as figuras 14 e 15 demonstram os resultados.

TABELA 6. FRAÇÃO DE ÁREA EPIDÉRMICA CD1a POSITIVA DE PELE EXPOSTA AO SOL DOS DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS SEIS MESES DE TRATAMENTO E 12 MESES DE TRATAMENTO COM ACITRETINA (20mg/ dia)

	Antes	06 meses	12 meses
	CD1 N = 13	CD1 N = 12	CD1 N = 10
Mediana	0,020	0,033	0,174
Máximo	0,119	0,153	0,285
Mínimo	0,003	0,002	0,003

N – número de biopsias; fração de área epidérmica CD1a+ da pele de 12 meses > 06 meses e inicial (teste de Kruskal-Wallis; p = 0,002)

TABELA 7. FRAÇÃO DE ÁREA EPIDÉRMICA CD1a POSITIVA DA PELE PROTEGIDA DO SOL DOS DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTE, APÓS SEIS MESES DE TRATAMENTO E 12 MESES DE TRATAMENTO COM ACITRETINA (20mg/dia)

	Antes	06 meses	12 meses
	CD1a N=12	CD1a N=13	CD1a N=11
Mediana	0,051	0,076	0,177
Máximo	0,213	0,180	0,349
Mínimo	0,004	0,011	0,062

N - número de biopsias; fração de área epidérmica CD1a+ da pele 12 meses > 06 meses e inicial (teste de Kruskal-Wallis; p = 0,003)

Figura 14 – Fração de área epidérmica CD1a+ da pele exposta ao sol de doentes transplantados renais antes, aos 06 meses e 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia); barra – mediana dos valores.

Figura 15 – Fração de área epidérmica CD1a+ da pele protegida do sol de doentes transplantados renais antes, aos 06 meses e 12 meses de tratamento com acitretina (20mg/dia); barra – mediana dos valores.

5 Discussão

Os receptores de transplantes renais, no curso da imunossupressão, possuem um risco de três a quatro vezes maior que o da população geral para desenvolverem neoplasias e lesões pré-cancerosas cutâneas (Montagnino *et al.*, 1996). Tarsis (1989), em nosso meio, demonstrou uma incidência de tumores cutâneos malignos de 7,1 vezes maior que o da população geral atendida no Departamento de Dermatologia do HC-FMUSP e que a frequência do carcinoma espinocelular foi de 40%.

Num período de 12 meses examinamos 138 doentes transplantados renais atendidos no Ambulatório da Unidade de Transplante Renal do HC-FMUSP para a seleção de nossa casuística. Verificamos que 33 deles apresentavam queratoses actínicas e histórico de carcinomas cutâneos em sua evolução pós-transplante. Os 13 doentes selecionados para o estudo apresentavam tempo de imunossupressão que variou de 16 a 372 meses (mediana de 156 meses) e todos já apresentavam histórico de carcinomas cutâneos e queratoses actínicas. Os dados de literatura referem que o carcinoma espinocelular pode acometer cerca de 34 a 58% dos indivíduos no período de 15 a 20 anos após o transplante (Penn, 1998b; Dréno *et al.*, 1998; Paula; Ianhez, 1999; Euvrard *et al.*, 1998) e há relatos, em países com alta taxa de insolação como a Austrália, de incidência de 45% no período de

10 anos após o transplante (Bavinck *et al.*, 1996). É referido que cerca de 38% dos doentes transplantados renais apresentam queratoses actínicas após os cinco anos de imunossupressão (Dréno *et al.*, 1998). Os nossos doentes apresentam comportamento semelhante ao esperado de acordo com a literatura consultada.

Os retinóides sistêmicos tem sido usados para a prevenção e tratamento de lesões neoplásicas e pré-neoplásicas cutâneas de doentes imunossuprimidos por transplantes de órgãos sólidos. No presente trabalho, o tratamento com acitretina mostrou-se eficaz no controle clínico das lesões de queratose actínica e não foi observado surgimento de novos carcinomas durante o período do estudo em 12 dos 13 pacientes. O doente JAD, que é o doente que possui menor tempo de imunossupressão (16 meses) foi exceção, pois apresentou 2 carcinomas basocelulares durante o tratamento. Talvez esse doente apresentasse outros fatores predisponentes (como os genéticos) e mesmo exposição crônica abusiva à radiação ultravioleta. Todos os doentes referiram uma melhora subjetiva da aparência e textura da pele. Esses resultados são concordantes com os da literatura referentes ao uso da acitretina como profilático para o aparecimento de novas lesões cancerosas cutâneas e controle de queratoses actínicas (Yuan *et al.*, 1995; Bavinck *et al.*, 1995; Gibson *et al.*, 1998a; McKenna; Murphy, 1999; George *et al.*, 2002). Não podemos prever o comportamento futuro dos nossos doentes após cessar o tratamento; há referência de efeito rebote com aumento do surgimento de carcinomas espinocelulares em um dos 11

doentes tratados por dois anos com acitretina 25 mg/dia ou em dias alternados (George *et al.*, 2002).

Os efeitos colaterais observados inicialmente, como queilite, xerose, descamação palmo-plantar e dores musculares, foram reduzidos com o fracionamento da dose de acitretina até que houvesse a melhor adaptação dos pacientes. Um regime de dose inicial baixa com aumento gradativo é recomendado para a melhor tolerância e adesão dos pacientes ao tratamento (Ling, 1999; Berbis, 2001).

Não observamos alteração da função renal durante o tratamento. Os níveis de creatinina não exibiram variação significativa quando comparados os períodos após seis e 12 meses com os níveis iniciais. Yuan *et al.* (1995) ressaltam em seu trabalho a manutenção de função renal adequada com o uso da acitretina. As provas laboratoriais escolhidas como indicativas de alteração hepática, assim como os níveis de colesterol, não apresentaram alterações significativas durante todo o período de tratamento. Os dois doentes que abandonaram o tratamento após os seis meses o fizeram por outros motivos que não as alterações clínicas ou laboratoriais relacionadas exclusivamente ao uso da acitretina. Há referência de alterações microscópicas hepáticas observadas em 17% de 83 doentes com controle por biópsia hepática pré e pós-tratamento com acitretina (Roenigk *et al.*, 1999). Lembramos ainda que os doentes submetidos à terapêutica com acitretina devem ser advertidos do risco da ingestão alcoólica, pois ocorre a conversão da droga para etretinato. A abstinência é indicada durante o

tratamento e até dois meses cessado o mesmo (Gronhoj Larsen *et al.*, 2000).

Apesar da expressiva melhora do aspecto cutâneo quanto a sua textura e melhora das lesões queratósicas, não observamos alterações morfológicas microscópicas significativas quando comparada a pele, tanto protegida como exposta à luz solar, antes e após seis e 12 meses de tratamento com a acitretina. Com o uso de retinóides tópicos, particularmente a tretinoína no tratamento do foto-envelhecimento tem sido descrito alterações morfológicas e ultraestruturais da pele. É relatada a deposição de colágeno novo na derme papilar assim como a reconstrução e melhora dos componentes da junção dermo-epidérmica (Gilchrest, 1997). A tretinoína tópica restauraria a pele foto-envelhecida para padrões morfológicos semelhantes aos da pele não foto-exposta no que diz respeito a organização do colágeno e diminuição da elastose solar (Bhawan *et al.*, 1991). Kang; Voorhess (1998) através de análise baseada em evidências concluem que a tretinoína tem efeito terapêutico no reparo do dano foto-induzido. Não encontramos trabalhos que relacionam o uso de acitretina com os aspectos microscópicos da pele sã protegida e exposta ao sol de doentes transplantados renais, na literatura consultada. No nosso estudo talvez o tempo de uso da acitretina (12 meses) não tenha sido suficiente para induzir alterações estruturais na pele protegida e exposta ao sol dos doentes por nós estudados, além disso os mesmos continuavam sob esquema de imunossupressão.

O mecanismo de ação antitumoral dos retinóides não é totalmente conhecido. Os retinóides podem modificar a expressão de vários genes que envolvem diferenciação e crescimento celular entre eles proto-oncogenes, moléculas de adesão e fatores de crescimento. Possuem ainda ação direta sobre o epitélio e o seu papel nos processos pré-neoplásicos e neoplásicos da pele poderia também estar relacionado a melhora na atividade de queratinização e diferenciação epidérmicas (Levine, 1998).

Os relatos quanto a ação imunomoduladora dos retinóides de uso sistêmico são conflitantes. Estimulariam a imunidade celular e humoral com aumento da produção de anticorpos e do número de linfócitos T *helper* no sangue periférico, mas não atuariam sobre as células NK (Orfanos; Zouboulis 1997). A sua ação imunomoduladora ocorreria via estímulo da função de linfócitos T tumor-específicos (Medawar; Hunt 1981; Bedford; Knight 1989).

Entre os fatores de risco para o desenvolvimento de neoplasias cutâneas dos doentes transplantados renais, submetidos a longo tempo de imunossupressão, tem sido referido o baixo nível de linfócitos T CD4+ (Ducloux *et al.*, 1998).

Os doentes transplantados renais, antes mesmo de desenvolverem neoplasias cutâneas, apresentam acentuada diminuição dos elementos celulares participantes dos mecanismos de imunovigilância contra tumores na pele, a saber, linfócitos T e suas subpopulações, assim como as CL

(Bergfelt, 1993a; Galvão *et al.*, 1998). Essa diminuição acentua-se com o evoluir do tempo de regime de imunossupressão (Galvão *et al.*, 1998).

No presente estudo, verificamos que a população de linfócitos T CD4+ e CD8+ é muito escassa nesse grupo de doentes imunossuprimidos que já apresentavam complicações neoplásicas cutâneas. O número de subtipos de linfócitos e células NK não diferiu durante o período de estudo, tanto na pele exposta como protegida do sol. Entretanto, Rook *et al.* (1995) verificaram aumento no número de linfócitos T na pele de doentes transplantados renais submetidos a tratamento com etretinato (10mg/dia) combinado a tretinoína tópica (0,025% em creme).

Há controvérsia quanto a atuação dos retinóides sobre a população de células NK. O uso da isotretinoína está relacionado à diminuição no número e atividade das células NK, ao passo que o etretinato levaria a um aumento numérico e de atividade dessas células, no sangue periférico, após 12 semanas de uso (McKerrow *et al.*, 1988).

Verificamos que as CL epidérmicas antes do início do tratamento com acitretina, tanto na pele exposta ao sol como na protegida, mostraram-se extremamente escassas e com alterações tróficas representadas por dendritos curtos e irregulares. Os regimes de imunossupressão, particularmente aqueles que envolvem o uso de azatioprina (Servitje *et al.*, 1991) e o esquema triplo (azatioprina, ciclosporina A e prednisona) (Bergfelt, 1993) são relacionados a maior redução numérica das CL.

As CL representam uma população única de células apresentadoras de antígenos da epiderme envolvidas nos mecanismos de defesa contra tumores, pois são responsáveis pela imunovigilância local da pele. Sua alteração e diminuição numérica tem sido relacionadas ao aparecimento de neoplasias cutâneas nos doentes imunossuprimidos por transplantes (Bergfelt, 1993a; Gibson *et al.*, 1998b; Murphy *et al.*, 1998). Lembramos que o grupo por nós estudado era de doentes transplantados renais já com complicações cutâneas neoplásicas e queratoses actínicas numerosas.

O achado mais expressivo de nosso trabalho foi a observação da melhora nos aspectos morfológicos e aumento numérico significativo da população de CL epidérmicas, expresso pela maior fração de área epidérmica CD1a+, após 12 meses de tratamento com a acitretina tanto em pele exposta como protegida do sol.

Como poderíamos explicar esse aumento da população das células de Langerhans epidérmicas com o uso da acitretina?

Os dados de literatura quanto a atuação dos retinóides sobre a densidade de CL são controversos. O uso de retinóides tópicos não protegeria a pele da depleção de CL induzida pela radiação ultravioleta (Meurnier *et al.*, 1996) embora Murphy *et al.* (1998) observaram repopulação de CL epidérmicas da pele cronicamente exposta ao sol. Entretanto, o seu uso tópico por tempo prolongado tem sido relacionado à lesão e diminuição numérica dessa população celular (Barnadas, 1995).

Os retinóides orais induziriam um aumento das CL epidérmicas nas lesões crônicas de líquen plano (Fernandez- Bussy *et al.*, 1983). Por outro lado, Gibson *et al.* (1998b) não encontraram diferenças na população de CL da pele sã de doentes transplantados renais quando comparada a indivíduos normais, mas verificaram uma menor densidade dessas células nas lesões de queratose actínica, verrugas virais e carcinoma espinocelular nesses doentes e observaram uma tendência ao aumento da densidade das CL com o uso de baixas doses de etretinato.

Nossos resultados quanto ao aumento da densidade de CL epidérmicas são semelhantes aos de Rook *et al.* (1995) que, com o uso combinado de tretinoína tópica e etretinato em doses baixas, por nove meses, para a quimioprevenção de lesões pré-malignas e malignas da pele, verificaram o aumento progressivo do número de CL epidérmicas concomitante com a redução de incidência de novas lesões tumorais cutâneas.

O ácido retinóico atuaria ainda na melhora da atividade funcional das CL, por induzir maior expressão de moléculas HLA-DR e CD11c (beta 2 integrina) envolvidas nos processos de ativação de linfócitos T (Meunier *et al.*, 1994) e desse modo nos mecanismos de reconhecimento de neo antígenos envolvidos na carcinogênese cutânea. Um outro fato importante relacionado a atuação dos retinóides sobre a atividade das CL é o de que o ácido retinóico induz um aumento da produção de IL-12 por estas células (Kang *et al.*, 1996).

Os mecanismos relacionados a ação dos retinóides na restauração das CL epidérmicas não é totalmente conhecido. Os retinóides orais induziriam a diferenciação de CL a partir de macrófagos e monócitos como relatado na psoríase (Tsambaos; Orfanos, 1981). A ação dos retinóides sobre a maturação das CL pode ser direto ou indireto. As CL expressam receptores para os retinóides e desse modo são alvos potenciais para transdução direta de sinais (Reichrath *et al.*, 1995). Os retinóides também atuam sobre a diferenciação de queratinócitos promovendo um microambiente favorável para as CL e induzem a produção de fator de estimulação de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) pelos queratinócitos que influencia a maturação e atividade das CL (Nakajima *et al.*, 1994). A repopulação epidérmica de CL poderia ocorrer a partir de reservatórios presentes na bainha epitelial dos folículos pilosos como sugerido por Murphy *et al.* (1998) para a pele danificada pela exposição solar crônica, após o tratamento tópico com tretinoína. No nosso trabalho observamos uma maior densidade das CL epidérmicas após 12 meses de tratamento com a acitretina (20mg/dia), entretanto, não nos foi possível inferir a partir de onde seriam repostas para a superfície cutânea. Acreditamos que todos esses fatores relatados poderiam contribuir para a repopulação das CL epidérmicas induzida pelo uso da acitretina.

Embora o tempo de tratamento de nossos doentes tenha sido de apenas 12 meses, os resultados observados sugerem que o uso de acitretina em doses baixas foi eficaz como quimioprolático para queratoses actínicas e carcinomas cutâneos nesse grupo de doentes transplantados

renais. Houve uma melhora clínica no aspecto das queratoses actínicas e somente um dos 13 doentes apresentou novos carcinomas durante o tratamento. Nos trabalhos consultados da literatura, com o uso de acitretina em doses semelhantes, o tempo de tratamento variou de seis meses (Bavinck *et al.*, 1995), 12 meses (Yuan *et al.*, 1995), dois anos (George *et al.*, 2002) e cinco anos (MacKenna; Murphy, 1999). Todos os autores referem dados semelhantes aos por nós observados.

Apesar de não termos observado alterações histopatológicas cutâneas significativas com o uso da acitretina, o seu provável efeito imunomodulador pode ser evidenciado, após 12 meses de tratamento, através da repopulação de CL epidérmicas que são elementos celulares relacionados ao sistema imune da pele e que exercem papel fundamental nos mecanismos de imunovigilância contra tumores. Por estes motivos acreditamos que o uso de acitretina nesse grupo de doentes, desde que com controle rigoroso e cuidadoso, venha a ser benéfico como quimioprofilático dos processos pré-neoplásicos e neoplásicos da pele.

6 Conclusões

Os resultados obtidos quanto ao uso de acitretina 20mg/dia como quimioprolático para lesões de queratose actínica e carcinomas, por período de 12 meses, no grupo de 13 doentes transplantados renais permitiram-nos as seguintes conclusões:

- Houve melhora dos aspectos gerais da pele e das queratoses actínicas dos doentes estudados.
- Não houve aparecimento de novos carcinomas em 12 dos 13 doentes no período de estudo.
- A terapêutica introduzida não alterou a função renal dos doentes.
- Os efeitos colaterais observados foram discretos e de fácil controle.
- Não houve alterações significativas das provas de função hepática no período de tratamento.
- Não houve diferenças significativas dos níveis de colesterol no período de tratamento.

-
- Não houve diferenças morfológicas microscópicas significativas quando comparada a pele foto-exposta e protegida antes, aos seis e 12 meses de tratamento.
 - Não houve diferenças significativas quando comparadas as populações de linfócitos T CD4+ e CD8+, assim como de células *natural killer* da pele foto-exposta e protegida antes, aos seis e 12 meses de tratamento.
 - Houve aumento significativo do número de células de Langerhans epidérmicas da pele foto-exposta e protegida aos 12 meses de tratamento quando comparado aos da pele antes e após seis meses de tratamento.
 - O aumento do número de células de Langerhans epidérmicas seria resultado do efeito imunomodulador da acitretina que, desse modo, promoveria melhora dos mecanismos de imunovigilância cutâneos desses doentes.

7 Anexos

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS - INFORMAÇÃO PACIENTE COM TRANSPLANTE RENAL

Câncer de pele é comum em transplantados de rim e pode começar com lesões áspera na pele, são chamadas de queratoses actínicas. Tanto o câncer de pele como essas queratoses fazem mal a saúde do paciente e deixam a pele com um aspecto doente.

Existe um remédio que está sendo usado para tratar essa pele doente de câncer ou pré-câncer.

Antes de começar o tratamento iremos fazer exames de sangue e de urina e exame de pele no qual após iremos colher um pedaço de pele para ser retirado e mandado para análise (biopsia). Esse procedimento é feito com anestesia local para o paciente não sentir dor, e com material cirúrgico esterilizado. Esse exame de pele (biopsia) será repetido após os 6 meses de tratamento e depois de um ano de tratamento.

Esse remédio é seguro e vem sendo usado há muito tempo porém pode ressecar os lábios e aumentar o colesterol. Para isso e outras eventuais alterações, assim como durante todo o tratamento a equipe médica se encontrará a disposição no ambulatório da unidade de transplante renal ou nos telefones abaixo para dúvidas e eventuais alterações.

Dra Renata Valente Carneiro: Bip 887-7722 cod 1295758

Cons 263- 7672 ou 257-2856

Dr Luiz Sérgio Azevedo: Bip 5188-3838 cod 1029164

Cons 3348-4334

HC 852-9006

O paciente não é obrigado a participar do tratamento, e nada irá mudar no seu acompanhamento com a equipe de transplante.

O paciente pode desistir do tratamento a qualquer momento.

Qualquer problema por causa do tratamento será tratado pela equipe do HCFMUSP.

Consentimento pós-esclarecido.

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente protocolo de pesquisa.

São Paulo, de de

Assinatura do paciente da pesquisa ou responsável
assinatura do pesquisador

(carimbo e/ou nome legível)

QUADRO 1 EXAMES LABORATORIAIS DOS PACIENTES PERFIL INICIAL, AOS 6 MESES E AOS 12 MESES DE TRATAMENTO

Nº	NOME	Período	UREIA	CREAT	TRIGL	COL	BD	BI	GLIC	FA	GGT
1	AES	ANTES	51	1	177	270	0.4	0.5	82	79	196
		6M	36	1.3	207	169	0.5	0.3	76	415	218
		12M									
		ANTES	30	0.8	109	169	0.1	0.4	85	62	9
2	AG	6M	37	1.3	130	180	0.08	0.12	81	60	12
		12M	29	0.8	153	176	0.1	0.2	71	72	12
		ANTES	52	1.1	273	240	0.2	1	178	65	19
		6M	60	0.9	200	266	0.2	1.1	168		20
3	EPT	12M	60	1.1	214	210	0.2	1.1	170	56	18
		ANTES	37	0.9	79	226	0.2	0.5	91	59	20
		6M	40	0.9	86	232	0.1	0.6	80	50	29
		12M	44	0.9	125	258	0.1	0.5	83	60	41
4	RANP	ANTES	46	1.1	60	200	0.3	1	81	73	33
		6M	41	1.2	113	183	0.3	1	76	71	34
5	ACT	12M	42	1.2	80	209	0.3	1.3	75	72	29
		ANTES	58	1.6	133	210	0.1	0.4	94	41	37
		6M	67	1.8	184	279	0.2	0.4	85	43	31
		12M	59	1.6	144	251	0.2	0.4	75	45	36
6	ACSA	ANTES	71	2	256	161	0.6	0.5	97	162	197
		6M	88	2.2	159	153	0.2	0.3	76	167	53
7	AS	12M	75	2.3	148	167	0.3	0.3	103	167	34
		ANTES	42	0.9	148	194	0.2	0.7	62	87	55
		6M	41	0.9	246	195	0.3	0.7	95	167	34
		12M	36	0.6	156	208	0.3	0.6	82	102	46
8	JAD	ANTES	37	1.1	86	237	0.1	0.5	95	54	18
		6M	33	1.3	144	220	0.2	0.6	97	50	19
9	LZM	12M	42	1.5	126	221	0.2	0.5	95	46	22
		ANTES	74	1.7	152	185	0.3	0.4	76	99	199
		6M	81	1.3	118	174	0.3	0.4	91	146	82
		12M	64	1.6	146	229	0.3	0.3	91	108	33
		ANTES	125	3.5	115	227	0.2	0.3	322	122	80
		6M	151	4.3	85	242	0.1	0.2	266	128	29
11	PRC	12M	145	3.7	216	168	0.1	0.3	164	134	35
		ANTES	172	3	113	179	0.1	0.3	88	151	76
		6M	169	3.9	135	166	0.1	0.3	82		189
		12M	171	3.7	350	151	0.3	0.2	95	194	286
12	STE	ANTES	26	2.1	202	273	0.2	0.2	76	137	35
		6M	71	1.7	206	195	0.2	0.2	81	120	32
13	IRJ	12M									

OBS: Fosfatase alcalina de STE aos 6 meses dado não disponível
Fosfatase alcalina de EPT aos 6 meses dado não disponível
Legenda e valores normais - Laboratório Central HCFMUSP:
UREIA 1010 a 45mg /dl CREAT - creatinin
CREAT - Creatinina 0,6 A 1,4 mg/dl
TRIGL- Tríglicérides menor 150mg/dl (ótimo)
COL : Colesterol total até 200mg/dl
BD - Bilirrubina direta até 0,4mg/dl BI - Bilirrubina indireta 0,1-0,6mg/dl
GLIC- glicemia de jejum 70-110mg/dl
FA- Fosfatase alcalina Homens 45 a 122 Mulheres 32 a 104 U/L
GGT -gam aglutam il transferase homens 11 a50U/Lmulheres 7a32U/L
TGO/AST - Transaminase glútâmico oxalacética/Aspartato amino transferase Homens: 10 a 34 Mulheres 10 a 30U/L
TGP/ALT - Transaminase glútâmico piruvica/Alanina amino transferase Homens 10 a 44 e Mulheres 10 a 36U/L
ERTR - Eritróctos Homens 4 a 5,9 e mulheres 4,0 a 5,4 milhões/mm 3
LEUC: Leucócitos 5 a 10.mil/mm 3
PLAQ: Plaquetas 140 a 450 mil/mm 3

QUADRO 2. ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS DA PELE EXPOSTA AO SOL E PROTEGIDA DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS ANTES, APÓS SEIS E 12 MESES DE TRATAMENTO COM ACITRETINA

Doente	Pele	Tempo (meses)	Biopsia	córnea	granulosa	Número de camadas celulares da epiderme		Atipias epiteliais
						Entre cones	cones	
1 - AES	Exposta	inicial	3393-00	Lamelar	Normal	06	09	Discreta
	Protegida	inicial	3394-00	Lamelar	Normal	04	10	Ausente
	Exposta	06	986-01	Cesta	Normal	02	06	Ausente
	Protegida	06	985-01	Compacta	Normal	03	07	Ausente
2 - AGZ	Exposta	inicial	5016-00	Lamelar	Normal	03	11	Moderada
	Protegida	inicial	5017-00	Lamelar	Normal	04	10	Ausente
	Exposta	06	1573-01	Lamelar	Normal	02	09	Ausente
	Protegida	06	1574-01	Cesta	Normal	03	07	Ausente
	Exposta	12	4762-01	Compacta	Normal	03	08	Ausente
	Protegida	12	4763-01	Lamelar	Normal	04	10	Ausente
3 - EPT	Exposta	inicial	3537-00	Lamelar	Normal	04	06	Ausente
	Protegida	inicial	3538-00	Lamelar	Normal	03	04	Ausente
	Exposta	06	1259-01	Lamelar	Normal	03	07	Ausente
	Protegida	06	1260-01	Cesta	Normal	06	16	Ausente
	Exposta	12	4764-01	Lamelar	Normal	03	08	Ausente
	Protegida	12	4765-01	Lamelar	Normal	02	04	Ausente
4 - RAN	Exposta	inicial	3535-00	Lamelar	Normal	04	11	Ausente
	Protegida	inicial	3536-00	Cesta	Normal	03	07	Ausente
	Exposta	06	1375-01	s/epiderme	s/epiderme	s/epiderme	s/epiderme	s/epiderme
	Protegida	06	1376-01	Cesta	Normal	04	06	Ausente
	Exposta	12	4760-01	Compacta	Normal	08	17	Ausente
	Protegida	12	4761-01	Lamelar	Normal	03	09	Ausente
5 - ACT	Exposta	inicial	3749-00	Cesta	Normal	04	07	Ausente
	Protegida	inicial	3750-00	Lamelar	Normal	04	06	Ausente
	Exposta	06	1720-01	Lamelar	Hiper-granulose	06	13	Ausente
	Protegida	06	1721-01	Cesta	Normal	02	06	Ausente
	Exposta	12	4530-01	Compacta	Normal	03	13	Ausente
	Protegida	12	4531-01	Cesta	Normal	01	04	Ausente
6 - ACSA	Exposta	inicial	3747-00	Compacta	Normal	08	13	Discreta
	Protegida	inicial	3748-00	Cesta	Normal	05	08	Ausente
	Exposta	06	2955-00	Compacta	Normal	03	08	Ausente
	Protegida	06	2956-00	Lamelar	Normal	07	17	Ausente
	Exposta	12	4399-01	s/epiderme	s/epiderme	s/epiderme	s/epiderme	s/epiderme
	Protegida	12	4400-01	Lamelar	Normal	03	07	Ausente
7 - AS	Exposta	inicial	3874-00	Compacta	Normal	03	07	Ausente
	Protegida	inicial	3875-00	Cesta	Normal	03	08	Ausente
	Exposta	06	874-01	Compacta	Normal	05	05	Ausente
	Protegida	06	875-01	Lamelar	Normal	03	08	Ausente
	Exposta	12	4882-01	Lamelar	Normal	04	10	Discreta
	Protegida	12	4397-01	Lamelar	Normal	05	09	Ausente
8 - JAD	Exposta	inicial	4605-00	Compacta	Normal	05	06	Discreta
	Protegida	inicial	4606-00	Lamelar	Normal	04	07	Ausente
	Exposta	06	3279-01	Compacta	Hiper-granulose	04	07	Ausente
	Protegida	06	3280-01	Cesta	Normal	03	06	Ausente
	Exposta	12	5329-01	Compacta	Normal	03	11	Ausente
	Protegida	12	5330-01	Cesta	Normal	03	07	Ausente
9 - LZM	Exposta	inicial	3457-00	Compacta	Normal	02	07	Ausente
	Protegida	inicial	3458-00	s/epiderme	s/epiderme	s/epiderme	s/epiderme	s/epiderme
	Exposta	06	606-01	Cesta	Normal	03	07	Ausente
	Protegida	06	607-01	Cesta	Normal	03	09	Ausente

	Exposta	12	4265-01	Cesta	Normal	03	16	Ausente
	Protegida	12	4266-01	Lamelar	Normal	04	09	Ausente
10 - LCS	Exposta	inicial	4541-00	Compacta	Normal	03	09	Discreta
	Protegida	inicial	4542-00	Lamelar	Normal	02	04	Ausente
	Exposta	06	1575-01	Cesta	Normal	03	09	Ausente
	Protegida	06	1576-01	Compacta	Normal	05	10	Ausente
	Exposta	12	4157-01	Cesta	Normal	08	18	Ausente
	Protegida	12	4158-01	Cesta	Normal	03	07	Ausente
11 - PRC	Exposta	inicial	3575-00	Cesta	Normal	07	15	Discreta
	Protegida	inicial	3576-00	Cesta	Normal	04	07	Ausente
	Exposta	06	1377-01	Cesta	Normal	06	09	Ausente
	Protegida	06	1378-01	Lamelar	Normal	03	10	Ausente
	Exposta	12	4401-01	Compacta	Normal	04	13	Ausente
	Protegida	12	4402-01	Compacta	Normal	04	10	Ausente
12-STE	Exposta	inicial	4539-00	Cesta	Normal	05	11	Moderada
	Protegida	inicial	4540-00	Lamelar	Hiper-granulose	03	05	Ausente
	Exposta	06	4640-01	Lamelar	Normal	03	07	Ausente
	Protegida	06	4641-01	Lamelar	Normal	03	09	Ausente
	Exposta	12	2640-02	Lamelar	Normal	04	06	Ausente
	Protegida	12	2641-02	Compacta	Normal	03	07	Ausente
13 - IRJ	Exposta	inicial	3395-00	Compacta	Hiper-granulose	06	12	Ausente
	Protegida	inicial	3396-00	Lamelar	Agranulose	03	07	Ausente
	Exposta	06	208-02	Cesta	Normal	03	09	Ausente
	Protegida	06	209-02	Cesta	Normal	04	09	Ausente

S/epiderme – epiderme não representada nos cortes examinados

QUADRO 3 - FRAÇÃO DE ÁREA EPIDÉRMICA COM EXPRESSÃO DE ANTÍGENO CD1A E POPULAÇÃO DE LINFÓCITOS T CD4+, CD8+ E CÉLULAS NATURAL KILLER (NÚMERO DE CÉLULAS MARCADAS POR mm² DE ÁREA DÉRMICA) EM PELE EXPOSTA E PROTEGIDA DO SOL DE DOENTES TRANSPLANTADOS RENAI, ANTES, APÓS SEIS E 12 MESES DE TRATAMENTO COM ACITRETINA

Doente	Pele	Período	Biopsia	CD1a*	CD4/mm ²	CD8/mm ²	CD56/m ²
1. AES	Exposta	antes	3393-00	0,003	0	2,666	0
	Protegida	antes	3394-00	0,048	5,333	2,666	0
	Exposta	06 m	986-01	0,085	0	0	0
	Protegida	06 m	985-01	0,131	2,666	0	0
2. AGZ	Exposta	antes	5016-00	0,041	10,666	5,333	16
	Protegida	antes	5017-00	0,018	0	5,333	0
	Exposta	06 m	1573-01	0,007	0	0	13,333
	Protegida	06 m	1574-01	0,066	0	0	0
	Exposta	12 m	4762-01	0,076	0	2,666	0
	Protegida	12 m	4763-01	0,062	0	0	0
3. EPT	Exposta	antes	3537-00	0,007	2,666	0	0
	Protegida	antes	3538-00	0,069	2,666	13,333	0
	Exposta	06 m	1259-01	0,013	0	0	0
	Protegida	06 m	1260-01	0,115	0	0	0
	Exposta	12 m	4764-01	0,192	0	0	0
	Protegida	12 m	4765-01	0,206	0	0	0
4. RAN	Exposta	antes	3535-00	0,009	0	2,666	0
	Protegida	antes	3536-00	0,005	0	0	0
	Exposta	06 m	1375-01	S/EPI	0	0	0
	Protegida	06 m	1376-01	0,056	0	0	0
	Exposta	12 m	4760-01	0,003	26,666	0	0
	Protegida	12 m	4761-01	0,068	2,666	16	10,666
5. ACT	Exposta	antes	3749-00	0,023	0	8	0
	Protegida	antes	3750-00	0,080	0	0	0
	Exposta	06 m	1720-01	0,036	0	0	0
	Protegida	06 m	1721-01	0,076	0	0	5,333
	Exposta	12 m	4530-01	0,090	2,666	2,666	0
	Protegida	12 m	4531-01	0,118	5,333	5,333	0
6. ACSA	Exposta	antes	3747-00	0,026	0	2,666	0
	Protegida	antes	3748-00	0,054	0	0	2,666
	Exposta	06 m	2955-00	0,045	0	0	0
	Protegida	06 m	2956-00	0,061	0	0	0
	Exposta	12 m	4399-01	S/EPI	0	0	0
	Protegida	12 m	4400-01	0,213	0	8	0
7. AS	Exposta	antes	3874-00	0,020	0	5,333	5,333
	Protegida	antes	3875-00	0,127	2,666	8	0
	Exposta	06 m	874-01	0,021	0	0	0
	Protegida	06 m	875-01	0,143	0	0	0
	Exposta	12 m	4882-01	0,156	48	0	0
	Protegida	12 m	4397-01	0,143	13,333	0	0
8. JAD	Exposta	antes	4605-00	0,039	0	0	0

	Protegida	antes	4606-00	0,076	0	0	0
	Exposta	06 m	3279-01	0,019	0	2,666	0
	Protegida	06 m	3280-01	0,147	0	0	0
	Exposta	12 m	5329-01	0,154	2,666	2,666	0
	Protegida	12 m	5330-01	0,318	0	0	0
9. LZM	Exposta	antes	3457-00	0,007	0	10,666	0
	Protegida	antes	3458-00	S/EPI	0	0	0
	Exposta	06 m	606-01	0,030	0	5,333	0
	Protegida	06 m	607-01	0,023	2,666	45,333	NR
	Exposta	12 m	4265-01	0,206	5,333	0	0
	Protegida	12 m	4266-00	0,254	5,333	0	0
10. LCS	Exposta	antes	4541-00	0,006	0	2,666	0
	Protegida	antes	4542-00	0,034	0	0	0
	Exposta	06 m	1575-01	0,061	0	0	0
	Protegida	06 m	1576-01	0,060	0	0	0
	Exposta	12 m	4157-01	0,207	5,333	0	0
	Protegida	12 m	4158-00	0,349	13,333	5,333	0
11. PRC	Exposta	antes	3575-00	0,119	0	0	0
	Protegida	antes	3576-00	0,213	10,666	0	NR
	Exposta	06 m	1377-01	0,003	2,666	0	2,666
	Protegida	06 m	1378-01	0,011	0	21,333	0
	Exposta	12 m	4401-01	0,285	0	0	0
	Protegida	12 m	4402-01	0,177	0	2,666	0
12-STE	Exposta	antes	4539-00	0,094	0	0	2,666
	Protegida	antes	4540-00	0,011	0	2,666	0
	Exposta	06 m	4640-01	0,153	10,666	2,666	0
	Protegida	06 m	4641-01	0,180	21,333	2,666	0
	Exposta	12 m	2640-02	0,285	0	0	0
	Protegida	12 m	2641-02	0,082	2,666	8	8
13. IRJ	Exposta	antes	3395-00	0,018	2,666	0	0
	Protegida	antes	3396-00	0,004	2,666	0	NR
	Exposta	06 m	208-02	0,091	10,666	0	0
	Protegida	06 m	209-02	0,143	8	0	0

Antes – início protocolo, m – meses; * - fração de área epidérmica CD1a+; S/EPI – epiderme não representada; NR – não realizado.

8 Referências bibliográficas

Abbas AK, Lichtman AH. *Basic immunology. Functions and disorders of the immune system*. Philadelphia: W. B. Saunders, 2001.

Abbas AK; Lichtman AH. Immune responses against tumors and transplants: immunity to noninfectious transformed and foreign cells. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology*. New York, Saunders, 1994. cap.10, p.183-99.

Aguirre L. Câncer de pele e imunossupressão. *Fundação Nacional do Câncer de Pele* 2002; 4(15):8.

Anadolu R, Oskay T, Erdem C, Boyvat A, Terzi E, Gurgey E. Treatment of epidermodysplasia verruciformis with a combination of acitretin and interferon alfa-2a. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2001; 45(2):296-9.

Azizi E, Bucana C, Goldberg L, Kripke ML. Perturbation of epidermal Langerhans' cells in basal cell carcinomas. *Am. J. Dermatopathol.* 1987; 9:465-73.

Barnadas MA, Curell R, Moragas JM. Effects of topical tretinoin on epidermal Langerhans' cells in photomaged skin. *Int. J. Dermatol.* 1995; 34(8):580-2.

Bavinck JN, Tieben LM, Van der Woude FJ, et al. Prevention of skin cancer and reduction of keratotic skin lesions during acitretin therapy in renal transplant recipients: a double-blind, placebo - controlled study. *J. Clin. Oncol.* 1995;13:1933-8.

Bavinck JN, Hardie DR, Green A, Cutmore S, et al. The risk of skin cancer in renal transplant recipients in Queensland, Australia. A follow-up study. *Transplantation* 1996; 61:715-21.

Bedford PA, Knight SC. The effect of retinoids on dendritic cell function. *Clin. Exp. Immunol.* 1989; 75:481-6.

Bellman BA, Eaglstein WH, Miller J. Low dose isotretinoin in the prophylaxis of skin cancer in renal transplant patients. *Transplantation* 1996; 61:173.

Berbis, P. Acitretin. *Ann. Dermatol. Venereol.* 2001; 128:737-45.

Berg D, Otley CC. Skin cancer in organ transplant recipients: epidemiology, pathogenesis, and management. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2002; 47:1-17.

Bergfelt AL. Langerhans cells, immunomodulation and skin lesions. A quantitative, morphological and clinical study. *Acta Dermatol. Venereol. Suppl.* (Stockh) 1993a; 180:1-37.

Bergfelt AL. UV-related skin conditions and Langerhans cell populations in human skin. *Acta Dermatol. Venereol.* (Stock) 1993b; 73:194-6.

Berthoux F, Bradley B, Ekberg H, Frei U. European best practice guidelines for renal transplantation (part 2). *Nephrol. Dial. Transplant. Suppl.* 2002; 17(4):3-67.

Bhawan J, González-Serva A, Nehal K, Labadie R, Lufrano L, Thorne EG, Gilchrest BA. Effects of tretinoin on photodamaged skin. A histologic study. *Arch. Dermatol.* 1991; 127:666-672.

Bos, J.D., Zonneveld, I., Das, P.K., Krieg, S.R., Van Der Loos, C.M., Kapsenberg, M.L. The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocyte subpopulations in the normal human skin. *J. Invest. Dermatol.* 1987; 88: 569-573.

Boxman IL, Mulder LH, Russel A, Bouwes Bavinck JN, Green A, Ter Schegget J. Human papillomavirus tipo 5 is commonly present in immunosuppressed and immunocompetent individuals. *Br. J. Dermatol.* 1999; 141:246-9.

Denton MD, Magee CC, Sayeg MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet* 1999; 353:1083-91.

DiGiovanna JJ. Retinoid chemoprevention in patients at high risk for skin cancer. *Med. Pediatr. Oncol.* 2001; 36(5):564-7.

Dréno B, Mansat E, Legoux B, Litoux P. Skin cancers in transplant patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998; 13:1374-9.

Ducloux D, Carron PL, Rebibou JM, Aubin F, Fournier V, Bresson-Vautrin C, Blanc D, Humbert P, Chalopin JM. CD4 lymphocytopenia as a risk factor for skin cancers in renal transplant recipients. *Transplantation* 1998; 65(9):1270-2.

Euvrard S, Kanitakis J, Noble CP. Skin cancers in organ transplant recipients. *Transplant. Oncol.* 1998; 3:96-104

Euvrard S, Kanitakis J, Pouteil-Noble C, Disant F, Dureau G. Aggressive squamous cell carcinomas in organ transplant recipients. *Transplant. Proc.* 1995; 27:1767-8.

Euvrard S, Verschoore M, Touraine JL, Dureau G, Cochat P, Thivolet J. Topical retinoids for warts and keratoses in transplant recipients. *Lancet* 1992; 340:48-9.

Fernandez-Bussy RA, Schmitt D, Mauduit G, Thivolet J. Effects of aromatic retinoid (Ro 109359) on Langerhans' cells in lichen planus. *Arch. Dermatol. Res.* 1983; 275(2):105-8.

Festa Neto, C. Aspectos imunológicos dos carcinomas basocelulares. Tese FMUSP Doutor São Paulo, 1994.

Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolf K, Freedberg IM, Austen KF. Dermatology in general medicine. 4th ed. New York: McGraw-Hill, 1993. chapter 137 v.1, p.1699.

Galvão M, Sotto MN, Kihara SM, Rivitti EA, Sabbaga E. Alterações na pele de pacientes portadores de insuficiência renal crônica em fase dialítica – um estudo morfológico e imuno-histoquímico. *J. Bras. Nefrol.* 1996; 18:S32-S38.

Galvão MM, Sotto MN, Kihara SM, Rivitti EA, Sabbaga E. Lymphocyte subsets and Langerhans cells in sun – protected and sun exposed skin of immunosuppressed renal allograft recipients. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1998, 38(1)38-44.

George R, Weightman W, Russ GR, Bannister KM, Mathew TH. Acitretin for chemoprevention of non-melanoma skin cancers in renal transplant recipients. *Austr. J. Dermatol.* 2002; 43:269-73.

Gibson GE, O'Grady A, Kay EW, Murphy GM. Low-dose retinoid therapy for chemoprophylaxis of skin cancer in renal transplant recipients. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 1998a; 10(1): 42-7

Gibson GE, O'Grady A, Kay EW, Leader M, Murphy GM. Langerhans cells in benign, premalignant and malignant skin lesions of renal transplant recipients and the effect of retinoid therapy. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 1998b; 10(2):130-6.

Gilchrest BA. Treatment of photodamage with topical tretinoin: an overview. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1997; 36 (3 Pt 2):S27-36.

Glover MT, Niranjana N, Kwan JTC, Leigh IM. Non melanoma skin cancer in renal transplant recipients the extent of the problem and a strategy for management. *Br. J. Plast. Surg.* 1994; 47:86-9.

Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. In: McGraw-Hill, 1996. cap.65, p.1576-9.

Gronhoj Larsen F, Steinkjer B, Jakobsen P, Hjorter A, Brockhoff PB, Nielsen-Kudsk F. Acitretin is converted to etretinate only during concomitant alcohol intake. *Br. J. Dermatol.* 2000; 143(6):1164-9.

Hartevelt MM, Bavinck JN, Koote AM, Vermer BJ, Vandenbroucke JP. Incidence of skin cancer after renal transplantation in The Netherlands. *Transplantation* 1990; 49:506-9

Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin- peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques. A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.* 1981; 29: 577-88.

Jensen P, Hansen S, Leivestad T, Pfeffer P, Fauchald P. Are renal transplant recipients on csa-base immunosuppressive regimens more likely to develop skin cancer than those on azathioprine and prednisolone? *Transplant. Proc.* 1999a; 31:1120.

Jensen P, Hansen S, Leivestad T, Pfeffer P, Geiran O. Skin cancer in kidney an heart transplant recipients and different long term immunosuppressive therapy regimens. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1999b;40:177-86.

Kang K, Kubin M, Cooper RD, Lessin SR, Trinchieri G, Rook AH. IL-12 synthesis by human Langerhans cells. *J. Immunol.* 1996; 156:1402-7.

Kang S, Voorhess JJ. Photoaging therapy with topical tretinoin: an evidenced-based analysis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1998; 39(2 pt 3):S55-61.

Kelly JW, Sabto J, Gurr FW, Bruce F. Retinoids to prevent skin cancer in organ transplant recipients. *Lancet* 1991; 338:1407.

Kligman AM, Grove GL, Hirose R, Leyden JL. Topical tretinoin for photoaged skin. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1986;15:836.

Kraemer KH, DiGiovanna JJ, Moschell NA, Tarone RE. Prevention of skin cancer in xeroderma pigmentosum with the use of oral isotretinoin. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318:1633-7.

Kraemer KH, DiGiovanna JJ, Peck GL. Chemoprevention of skin cancer in xeroderma pigmentosum. *J. Dermatol.* 1992; 19:715-8.

Kripke ML. Ultraviolet radiation and immunology: something new under the sun- presidential address. *Cancer Res.* 1994; 54:6102-5.

Levine N. Role of retinoids in skin cancer treatment and prevention. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1998; 39(2 Pt 3):S62-6.

Ling MR. Acitretin: optimal dosing strategies. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1999; 41(3 pt.2):S-13-17.

Mattos AM, Olyaei AJ, Bennett WM. Pharmacology of immunosuppressive medications used in renal diseases and transplantation. *Am. J. Kidney Dis.* 1996; 2815:631-67.

McKenna DB, Murphy GM. Skin cancer chemoprophylaxis in renal transplant recipients: 5 years of experience using low-dose acitretin. *Br. J. Dermatol.* 1999; 140:656-60.

McKerrow KJ, Mackie RM, Lesko MJ, Pearson C. The effect of oral retinoid therapy on the normal human immune system. *Br. J. Dermatol.* 1988; 119:313-20.

McNamara IR, Muir J, Galbraith AJ. Acitretin for prophylaxis of cutaneous malignancies after cardiac transplantation. *J. Heart Lung Transplant.* 2002; 21:1201-5.

Medawar PB, Hunt R. Anti-cancer actions of retinoids. *Immunology* 1981; 42:349-53.

Meunier L, Bohjane K, Voohees JJ, Coper KD. Retinoic acid upregulates human Langerhans cell antigen presentation and surface expression of HLA-DR, and CD11c, a beta 2 integrin critically involved in T-cell activation. *J. Invest. Dermatol.* 1994; 103:775-9.

Meunier L, Voorhees JJ, Cooper KD. In vivo retinoic acid modulates expression of class II major histocompatibility complex and function of antigen-presenting macrophages and keratinocytes in ultraviolet-exposed human skin. *J. Invest. Dermatol.* 1996; 106(5):1042-6.

Mommaas AM, Mulder AA, Vermeer BJ. Short-term and long term UVB induced immunosuppression in human skin exhibit different ultrastructural features. *Eur. J. Morphol.* 1993; 31(1-2):30-4.

Montagnino G, Lorca E, Tarantino A, Bencini P, Aroldi A, Cesana B, Braga M. Cancer incidence in 854 kidney transplant recipients from a single institution: comparison with normal population and with patients under dialytic treatment. *Clin. Transplant.* 1996;10:461-9.

Moy LS, David M, Cochran A, Lowe NJ. Langerhans cell and T lymphocyte response in psoriatic before and after acitretin therapy. *Clin. Res.* 1989; 37(1):A234.

Murphy GF, Katz S, Kligman AM. Topical tretinoin replenishes CD1a positive epidermal Langerhans cells in chronically photodamaged human skin. *J. Cutan. Pathol.* 1998; 25(1):30-4.

Nakajima H, Kizaki M, Sonoda A, Mori S, Harigaya K, Ikeda Y. Retinoids (all-trans and 9-cis retinoic acid) stimulate production of macrophage colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by human bone marrow stromal cells. *Blood* 1994; 84: 4107-15.

Odom R. Managing actinic keratoses with retinoids. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1998; 39(2 pt 3):S74-8.

Orfanos CE, Zouboulis CC. Current use and future potential role of retinoids in dermatology. *Drugs* 1997; 53(3):358-87.

Paula FJ, Ianhez LE. Tumores malignos no pós transplante renal. *J. Bras. Nefrol.* 1999; 21(4):161-6.

Penn I. Malignancies that occur in organ allograft recipients. *Curr Opin Organ Transplant*. 1998a; 3:73-7.

Penn I. De novo cancers in organ allograft recipients. *Renal Transplant*. 1998b; 3:188-96

Reik D, Harvey G, Armstrong RB. Acitretin (RO 10-1670) Investigational drug brochure addendum. Jan 20, 1989. Research report. data on file, Roche Laboratories.

Reichrath J, Munssinger T, Kerber A, Rochette – Egly C, Chambon P, Bahmer FA, Baum HP. In situ detection of retinoid-X receptor expression in normal and psoriatic human skin. *Br. J. Dermatol*. 1995; 133:168-175.

Roenigk HH Jr, Callen JP, Guzzo CA, Katz HI, Lowe N, Madison K, Nigra T, Fiedler VC, Armstrong RB. Effects of acitretin on the liver. *J. Am. Acad. Dermatol*. 1999; 41:584-8.

Rook AH, Jaworsky C, Nguyen T, Grossman RA, Wolfe JT, Witmer WK, Kligman AM. Beneficial effect of low dose systemic retinoid in combination with topical tretinoin for the treatment and prophylaxis of premalignant and malignant skin lesions in renal transplant recipients. *Transplantation* 1995; 59:714-9.

Servitje O, Seron D, Ferrer I, Carrera M, Pagerols X, Peyri J. Quantitative and morphometric analysis of Langerhans cells in non-exposed skin in renal transplant patients. *J. Cutan. Pathol*. 1991; 18:106-11.

Shuttleworth D, Marks R, Griffin PJA, Salaman JR. Treatment of cutaneous neoplasia with etretinate in renal transplant recipients. *Q. J. Med*. 1988; 68:717-24.

Streilein JW. Skin – associated lymphoid tissues (SALT): origins and functions. *J. Invest. Dermatol*. 1983; 80:12S-16S.

Tarsis, S. *Tumores malignos em transplantados renais*. São Paulo; 1989. 103p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Thiers BH, Maize JC, Spicer SS, Cantor AB. The effect of aging and chronic sun exposure on human Langerhans' cell population. *J. Invest. Dermatol.* 1984; 82:223-36.

Tsamboas D, Orfanos CE. Ultrastructural evidence suggesting an immunomodulatory activity of oral retinoid. Its effect on dermal components in psoriasis. *Br. J. Dermatol.* 1981; 104: 37-45.

Vandeghinste N, De Bersaques J, Geerts ML, Kint A. Acitretin as cancer chemoprophylaxis in a renal transplant recipient. *Dermatology* 1992; 185:307-8.

Yuan Z, Davis A, Macdonald K, Bailey RR. Use of acitretin for the skin complications in renal transplant recipients. *N. Z. Med. J.* 1995; 108(1002):255-6.

Zumtobel U, Schwarze HP, Favre M, Taieb A, Delaunay M. Widespread cutaneous carcinomas associated with human papillomaviruses 5,14 and 20 after introduction of methotrexate in two long term PUVA-treated patients. *Dermatology* 2001; 202:127-30.