UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Estudo de polimorfismos de *MTOR* e *PPP3CA* em receptores de
transplante renal e sua relação com a resposta a imunossupressores

Patricia de Cássia Salgado

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profa. Dra. Rosario Dominguez Crespo Hirata

São Paulo
2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Estudo de polimorfismos de *MTOR* e *PPP3CA* em receptores de
transplante renal e sua relação com a resposta a imunossupressores

Patricia de Cássia Salgado

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profa. Dra. Rosario Dominguez Crespo Hirata

São Paulo
2012

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

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S164e Salgado, Patricia de Cássia
Estudo de polimorfismos de *MTOR* e *PPP3CA* em receptores de
transplante renal e sua relação com a resposta a imunossuppressores /
Patricia de Cássia Salgado. -- São Paulo, 2012.
110p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas
e Toxicológicas.

Orientador: Hirata, Rosário Dominguez creso

1. Farmacogenética 2. Biologia molecular I. T. II. Hirata,
Rosário Dominguez creso, orientador.

615.766 CDD

Patricia de Cássia Salgado

Estudo de polimorfismos de *MTOR* e *PPP3CA* em receptores de
transplante renal e sua relação com a resposta a imunossupressores

Comissão Julgadora da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Rosario Dominguez Crespo Hirata
orientadora/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, _____ de 2012.

*À minha família, com amor, admiração e gratidão
por sua compreensão, carinho, presença e
incansável apoio ao longo do período de
elaboração deste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

À professora Rosario Dominguez Crespo Hirata, minha orientadora, pelo apoio e dedicação.

Ao professor Mario Hirata, pela oportunidade de estar no laboratório, pelas conversas e conselhos tão preciosos.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, em nome de seu diretor, Prof. Jorge Mancini Filho.

Ao Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, em nome de seu chefe, Profa. Marina Baquerizo Martinez.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Aos dedicados funcionários do setor de Pesquisa Clínica do Hospital do Rim e Hipertensão da Universidade Federal de São Paulo, pela colaboração nesse trabalho. Agradeço ainda especialmente ao Dr. Hélio Tedesco e Dra. Cláudia Felipe pela oportunidade de conhecer o fascinante mundo do transplante renal.

À Cristina Moreno Fajardo, por toda paciência com que me ensinou tantas técnicas moleculares.

Aos colegas do Laboratório de Biologia molecular Aplicada ao Diagnóstico, pelo apoio e amizade.

Aos pacientes que contribuíram de maneira anônima e desinteressada para a execução deste trabalho.

*“...o real não está na saída nem na chegada:
ele se dispõe para a gente é no meio da
travessia.”*

- João Guimarães Rosa –

RESUMO

SALGADO, P. C. **Estudo de polimorfismos de *MTOR* e *PPP3CA* em receptores de transplante renal e sua relação com a resposta a imunossupressores.** 2012. 110f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Os imunossupressores tacrolimo (Tac) e sirolimo (Srl) são amplamente utilizados no transplante renal. Estes medicamentos apresentam estreita faixa terapêutica e estão associados a uma vasta gama de efeitos colaterais. Polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) parecem ter um impacto significativo sobre a farmacocinética dos imunossupressores. Com o objetivo de avaliar a associação de SNP nos genes *PPP3CA* e *MTOR* com a resposta farmacológica dos imunossupressores tacrolimo e sirolimo foram selecionados 156 indivíduos indicados para transplante renal entre os pacientes atendidos no Hospital do Rim e Hipertensão da UNIFESP. Esses indivíduos foram tratados com esquema imunossupressor baseado em tacrolimo ou convertido para sirolimo. Amostras de sangue foram coletadas antes do transplante para extração de DNA. As determinações das concentrações sanguíneas de Tac foram determinadas por *chemiluminescent microparticle immunoassay* (CMIA) e as concentrações sanguíneas de Srl foram obtidas pela técnica de HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*). Os polimorfismos do *MTOR* (c.1437T>C, T c.2997C>T e c.4731G>A) e *PPP3CA* (c.249G>A) foram identificados por PCR em tempo real. O polimorfismo *PPP3CA* c.246G>A não foi associado à dose diária de tacrolimo ou sirolimo. Já a concentração sanguínea de tacrolimo foi menor nos portadores do alelo A no terceiro dia e terceiro mês de estudo. Os polimorfismos do *MTOR* foram relacionados à concentração sanguínea corrigida pela dose de tacrolimo. Os portadores dos alelos raros G, T e C dos polimorfismos c.4731G>A, c.1437T>C e c.2997C>T, respectivamente, apresentaram valores de Co/Do de tacrolimo menores em relação aos não portadores destes alelos. As diferenças significativas ocorreram principalmente nos primeiros três meses de estudo. A concentração sanguínea de tacrolimo foi no geral menor nos portadores dos alelos raros, sendo significativamente menor no décimo quarto dia. Doses maiores de tacrolimo foram associadas aos alelos T do c.1437T>C e C do c.2997C>T. No sexto mês de estudo, os portadores dos alelos raros receberam doses de sirolimo significativamente maiores do que os não portadores. O alelo T do polimorfismo c.1437T>C foi associado a menores valores de Co/Do de sirolimo. Os SNPs c.2997C>T e c.1437T>C do *MTOR* encontram-se em desequilíbrio de ligação ($D' = 0,981$; $r^2 = 0,690$). Nos três primeiros meses de estudo, os portadores do haplótipo TC receberam doses menores de tacrolimo e apresentaram a melhor relação Co/Do. Foi possível observar que após a randomização, o haplótipo TC continuou associado a menores doses de tacrolimo e de sirolimo e manteve a tendência de melhores índices de Co/Do de ambos os fármacos. Os polimorfismos c.1437T>C e c.4731G>A foram associados a parâmetros de função renal no grupo TAC. O alelo G do SNP c.4731G>A relacionou-se a valores menores de ureia no pré-Tx, menor redução de ureia e creatinina entre o pré-Tx e o sexto mês de estudo. O alelo T do SNP c.1437T>C também foi relacionado a menores valores de ureia no pré-Tx e menor redução de creatinina. No grupo TAC, o alelo raro do SNP *PPP3CA*

c.249G>A foi relacionado a menores valores de triglicérides no pré-Tx e no grupo SRL uma menor variação de LDL-colesterol. Os portadores do alelo C do SNP c.2997C>T apresentaram menor aumento de colesterol total e LDL colesterol entre o pré-Tx e o sexto mês de estudo, maiores valores de HDL colesterol no pré-Tx e menores valores de triglicérides no sexto mês de estudo. Os portadores do alelo T do SNP c.1437T>C apresentaram menor aumento de colesterol total, LDL colesterol, VLDL colesterol e triglicérides. No sexto mês de estudo apresentaram menores valores de triglicérides em relação aos não portadores deste alelo. Os portadores do alelo G do SNP c.4731G>A tiveram variação menor de colesterol total, VLDL colesterol e triglicérides. Não foi encontrada relação dos polimorfismos estudados e a rejeição aguda comprovada por biópsia ou com a nefropatia crônica do enxerto. Esses resultados são sugestivos de que os polimorfismos do *MTOR* e *PPP3CA* estão associados com a dose e concentração sanguínea dos imunossupressores tacrolimo e sirolimo, assim como um perfil lipídico menos aterogênico.

Palavras-chave: Transplante renal. Tacrolimo. Sirolimo. Polimorfismos.

ABSTRACT

SALGADO, P. C. **Study of *MTOR* and *PPP3CA* polymorphisms in renal transplant recipients and its relationship with the response to immunosuppressive agents.** 2012. 110p. Dissertation (Masters degree) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The immunosuppressant tacrolimus (Tac) and Sirolimus (Srl) are widely used in renal transplantation. These drugs have a narrow therapeutic range and are associated with a wide range of side effects. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) have a significant impact on the pharmacokinetics of immunosuppressants. In order to evaluate the association of SNPs in genes *MTOR* and *PPP3CA* with the pharmacological response of immunosuppressive drugs tacrolimus and sirolimus were selected 156 individuals referred for kidney transplantation among patients treated in the Hospital do Rim e Hipertensão, UNIFESP. These individuals were treated with tacrolimus-based immunosuppressive regimen or converted to sirolimus. Blood samples were collected before transplantation for DNA extraction. Determinations of blood concentrations of Tac were determined by Chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) and blood concentrations Srl were obtained by the technique of HPLC (High-Performance Liquid Chromatography). Polymorphisms of *MTOR* (c.1437T>C, T c.2997C>T and c.4731G>A) and *PPP3CA* (c.249G>A) were identified by real-time PCR. The Polymorphism *PPP3CA* c.246G>A was not associated with the daily dose of tacrolimus or sirolimus. The blood concentration of tacrolimus was lower in carriers of the allele on the third day and third month of study. The Polymorphisms of *MTOR* were related to blood concentration corrected by the dose of tacrolimus. The carriers of rare alleles G, T and C polymorphisms c.4731G> A, c.14337T> C and c.2997C> T, respectively, had values of Co/Do tacrolimus lower than the non-carriers of these alleles. Significant differences occurred mainly during the first three months of study. The blood concentration of tacrolimus was generally lower in carriers of the rare alleles being significantly lower on the fourteenth day. Higher doses of tacrolimus were associated with alleles c.14337T T>C and C c.2997C>T. In the sixth month of study, the carriers of rare alleles received doses of sirolimus significantly higher than non-carriers. SNPs c.2997C>T and c.1437T>C *MTOR* are in linkage disequilibrium ($D' = 0.981$; $r^2 = 0.690$). In the first three months of study, carriers of the TC haplotype received lower doses of tacrolimus and presented the best value for Co / Do. It was observed that after randomization, the TC haplotype remained associated with lower doses of tacrolimus and sirolimus and continued the trend of higher rates of Co/Do of both drugs. Polymorphisms c.1437T>C and c.4731G>A were associated with renal function parameters in the TAC group. The G allele of SNP c.4731G> A was related to lower levels of urea in the pre-Tx, a smaller reduction of urea and creatinine between the pre-Tx and sixth months of study. The T allele of SNP c.1437T>C was also related to lower levels of urea in the pre-Tx and a smaller reduction of creatinine. In the TAC group, the rare allele of SNP *PPP3CA* c.249G>A was related to lower levels of triglycerides in the pre-Tx and the SRL group a smaller variation of LDL-cholesterol. The C allele of the SNP c.2997C>T showed a lower

increase in total cholesterol and LDL cholesterol between pre-Tx and sixth months of study, higher HDL cholesterol in pre-Tx and lower levels of triglycerides in the sixth month of study. The T allele of SNP c.1437T>C showed a lower increase in total cholesterol, LDL cholesterol, VLDL cholesterol and triglycerides. In the sixth month of the study, they had lower triglyceride levels compared to non-carriers of this allele. The G allele of SNP c.4731G>A change had lower total cholesterol, VLDL cholesterol and triglycerides. There was no relationship between the studied polymorphisms and biopsy-proven acute rejection or chronic allograft nephropathy. These results suggest that *MTOR* and *PPP3CA* polymorphisms are associated with dose and blood concentration of immunosuppressants tacrolimus and sirolimus, as well as a less atherogenic lipid profile.

Key words: Renal transplantation. Tacrolimus. Sirolimus. Polymorphisms

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Esquema dos mecanismos de ação dos fármacos tacrolimo e sirolimo.....	19
Figura 2 -	Representação dos polimorfismos e isoformas alternativas do PPP3CA.....	23
Figura 3 -	Esquema da terapia imunossupressora e procedimentos do estudo	28
Figura 4 -	Análise dos polimorfismos pelo programa <i>Haploview</i>	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Dados demográficos e clínicos dos receptores de transplante renal	35
Tabela 2 -	Dose e concentração plasmática de tacrolimo e sirolimo em pacientes submetidos a transplante renal	37
Tabela 3 -	Comparação do perfil bioquímico e de função renal dos receptores de transplante renal entre os grupos TAC e SRL	39
Tabela 4 -	Perfil bioquímico e de função renal dos receptores de transplante renal durante o tratamento imunossupressor	40
Tabela 5 -	Frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos <i>MTOR</i> e <i>PPP3CA</i> nos receptores de transplante renal	41
Tabela 6 -	Relação do polimorfismo <i>MTOR</i> c.4731G>A com a dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal	45
Tabela 7 -	Relação do polimorfismo <i>MTOR</i> c.1437T>C na dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal	46
Tabela 8 -	Relação do polimorfismo <i>MTOR</i> c.2997C>T na dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal	47
Tabela 9 -	Relação do polimorfismo <i>PPP3CA</i> c.249G>A na dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal	48
Tabela 10 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.4731G>A com parâmetros de função renal no grupo TAC	50
Tabela 11 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.4731G>A com parâmetros bioquímicos no grupo TAC	51
Tabela 12 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.4731G>A com parâmetros de função renal no grupo SRL Relação do SNP <i>MTOR</i> c.4731G>A com parâmetros de função renal no grupo SRL	52
Tabela 13 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.4731G>A com parâmetros bioquímicos no grupo SRL	53
Tabela 14 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.1437T>C com parâmetros de função renal no grupo TAC	55

Tabela 15 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.1437T>C com parâmetros bioquímicos no grupo TAC	56
Tabela 16 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.1437T>C com parâmetros de função renal no grupo SRL	57
Tabela 17 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.1437T>C com parâmetros bioquímicos no grupo SRL	58
Tabela 18 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.2997C>T com parâmetros de função renal no grupo TAC	60
Tabela 19 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.2997C>T com parâmetros bioquímicos no grupo TAC	61
Tabela 20 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.2997C>T com parâmetros de função renal no grupo SRL	62
Tabela 21 -	Relação do SNP <i>MTOR</i> c.2997C>T com parâmetros bioquímicos no grupo SRL	63
Tabela 22 -	Relação do SNP <i>PPP3CA</i> c.249G>A com parâmetros de função renal no grupo TAC	65
Tabela 23 -	Relação do SNP <i>PPP3CA</i> c.249G>A com parâmetros bioquímicos no grupo TAC	66
Tabela 24 -	Relação do SNP <i>PPP3CA</i> c.249G>A com parâmetros de função renal no grupo SRL	67
Tabela 25 -	Relação do SNP <i>PPP3CA</i> c.249G>A com parâmetros bioquímicos no grupo SRL	68
Tabela 26 -	Relação entre os polimorfismos do <i>MTOR</i> e <i>PPP3CA</i> e rejeição aguda comprovada por biópsia	70
Tabela 27 -	Relação entre os polimorfismos do <i>MTOR</i> e <i>PPP3CA</i> e nefropatia crônica do enxerto	71
Tabela 28 -	Blocos haplotípicos do <i>MTOR</i> e valores do desequilíbrio de ligação	72
Tabela 29 -	Frequência relativa dos haplótipos <i>MTOR</i> nos grupos SRL e TAC	73
Tabela 30 -	Relação dos haplótipos do <i>MTOR</i> com a dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal	76

LISTA DAS PRINCIPAIS ABREVIATURAS

ABTO	Associação Brasileira de Transplante de Órgãos
ANOVA	Análise de variância
bp	Pares de base
CMIA	Imunoensaio quimioluminescente por micropartículas
CnA	Calcineurina A
CnAα	Isoforma alpha da calcineurina A
CnAβ	Isoforma beta da calcineurina A
CnAγ	Isoforma gama da calcineurina A
CnB	Calcineurina B
Co	Concentração sanguínea
Co/Do	Concentração sanguínea corrigida pela dose
CsN	Calcineurina
D'	Desequilíbrio de ligação
DNA	Ácido desoxirribonucleico
Do	Dose
DRC	Doença renal crônica
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
FSGS	Glomerulosclerose segmentar focal
GFR	Taxa de Filtração Glomerular
HBV	Vírus da hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno leucocitário humano

HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
HRH	Hospital do Rim e Hipertensão
I.C.	Intervalo de confiança
IL-2	Interleucina 2
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MPGN	Glomerulonefrite membranoproliferativa
MTOR	Gene alvo da rapamicina de mamífero
mTOR	Alvo mecanicista da rapamicina
NFAT	<i>Fator</i> nuclear de células T ativadas
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PPP3CA	Gene da calcineurina A
PRA	Anticorpos Reativos contra Pannel
RACB	Rejeição aguda comprovada por biópsia
Rapa	Rapamicina
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único
SRL	Grupo sirolimo
Srl	Sirolimo
SUS	Sistema Único de Saúde
TAC	Grupo tacrolimo
Tac	Tacrolimo
TBE	Tris/Borato/EDTA
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
Tx	Transplante
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	25
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivos específicos	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Casuística	26
3.2 Protocolo de tratamento	28
3.3 Material biológico	29
3.4 Métodos	30
3.4.1 Parâmetros bioquímicos	30
3.4.2 Determinação dos imunossupressores	30
3.4.3 Extração de DNA genômico	30
3.4.4 Genotipagem por PCR em tempo real	31
3.4.5 Estudo de Haplótipos	32
3.4.6 Análise estatística	32
4 RESULTADOS	34
4.1 Dados dos indivíduos do estudo	34
4.2 Resposta ao tratamento farmacológico	36
4.3 Frequência alélica e genotípica dos polimorfismos	41
4.4 Relação de polimorfismos MTOR e PPP3CA com dose e concentração de imunossupressores	42
4.5 Relação de polimorfismos MTOR e PPP3CA com perfil bioquímico e de função renal	49
4.6 Relação dos polimorfismos e rejeição aguda e nefropatia crônica do enxerto	69
4.7 Análises de Haplótipos	72
5 DISCUSSÃO	77
6 CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
ANEXOS	94

1 INTRODUÇÃO

O transplante renal é reconhecidamente o melhor tratamento para aqueles que necessitam de terapia para substituição da função renal tanto no que diz respeito à mortalidade, morbidade, quanto nos custos e qualidade de vida, sendo esta a terapia de escolha para a maioria dos pacientes com insuficiência renal crônica terminal (WOLFE, ASHBY *et al.*, 1999).

Além do benefício ao paciente, o transplante de sucesso também tem impacto direto sobre o sistema mundial de saúde. Por exemplo, em comparação com o custo de diálise renal, o transplante de rim bem sucedido economiza mais de 300 mil dólares por paciente ao longo de cinco anos (LEVY, 2010).

Em relatório publicado pela Organização Mundial da Saúde, em 2007 foram realizados 59.627 transplantes renais em todo o mundo (SHRESTHA, 2009). No Brasil, o censo realizado pela Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos apontou cerca de 5000 transplantes renais realizados no Brasil no ano de 2011, com indicativos de que este valor será superado em 2012 (ABTO, 2011; ABTO, 2012).

Embora os resultados a curto prazo em transplante de órgãos sólidos sejam excelentes, a longo prazo permanecem abaixo do ideal. Avanços na imunossupressão reduziram a taxa de rejeição aguda a menos de 10%. No entanto, a nefropatia crônica do enxerto permanece problemática e destaca-se como a principal causa da diminuição da sobrevida do rim transplantado (HEEGER e DINAVAH, 2012).

No transplante humano, raramente os transplantados mostram tolerância espontânea ao enxerto, mantendo-o com função estável na ausência de imunossupressores (BROUARD, MANSFIELD *et al.*, 2007). As estratégias usadas para reduzir a imunogenicidade dos enxertos envolvem a minimização das diferenças alogênicas entre doador e receptor com a seleção de doadores e principalmente o uso de imunossupressores que bloqueiam a ação das células do sistema imune (DEMIRKIRAN, HENDRIKX *et al.*, 2008).

Imunossupressores

Uma das estratégias atualmente aplicadas para melhorar os resultados da sobrevida do enxerto e sobrevivência do receptor em longo prazo, após o transplante renal, é a otimização de imunossupressão, que responda às necessidades individuais dos pacientes em termos de número, dosagem e tipo de fármacos imunossupressores usados no tratamento (BACZKOWSKA e DURLIK, 2009).

Os imunossupressores convencionais incluem corticosteroides, inibidores de calcineurina, agentes antiproliferativos e anticorpos mono e policlonais, (SINGH, NORI *et al.*, 2009). Os inibidores de calcineurina Tacrolimo (Tac) e de *mammalian target of rapamycin* (mTOR) Sirolimo (Srl) são imunossupressores largamente utilizados em transplantes de órgãos sólidos.

O Tac é um inibidor da fosfatase calcineurina, essencial para a ativação dos linfócitos. No citoplasma, o tacrolimo se liga a imunofilina FKBP12, formando um complexo Tac-FKBP12 que se liga a calcineurina impedindo a desfosforilação e translocação do *nuclear factor of activated T cells* (NFAT). O NFAT, quando dentro do núcleo celular (NFATn), liga-se a região promotora do gene da interleucina 2 (IL-2) e estimula a sua transcrição. Assim, a inibição da calcineurina mediada pelo tacrolimo diminui a translocação de NFAT e consequentemente a expressão de IL-2 e outras citocinas (STEPKOWSKI, 2000; WU, BORDE *et al.*, 2006) (**Figura 1**). A IL-2 é crucial para o recrutamento e ativação de linfócitos T CD4+. A quantidade de IL-2 produzida por linfócitos T CD4 + ativados é um dos principais determinantes da magnitude da resposta imune a um órgão transplantado (PERRY e NEUBERGER, 2005).

O Srl é uma molécula derivada da rapamicina que inibe a sinalização desencadeada pela IL-2. O Srl se liga à imunofilina FKBP12 e o complexo formado (Rapa-FKBP12) liga-se ao alvo da rapamicina de mamíferos (mTOR), prevenindo a progressão do ciclo celular do estágio G1 para S, inibindo a ativação e a proliferação de linfócitos T (SAUNDERS, METCALFE *et al.*, 2001; SEHGAL, 2003) (**Figura 1**).

Figura 1. Esquema dos mecanismos de ação dos fármacos tacrolimo e sirolimo (SAMANIEGO, BECKER *et al.*, 2006).

O Tac e o Srl apresentam baixa disponibilidade oral (Tac: 25% e Srl: 15%) (MOURAD, MOURAD *et al.*, 2005; YU, WU *et al.*, 2006), baixo índice terapêutico, e estão associados a uma vasta gama de efeitos colaterais (WALLEMACQ, ARMSTRONG *et al.*, 2009). O monitoramento diário do Tac revela uma grande variabilidade interindividual na sua farmacocinética, especialmente na dose necessária para alcançar concentrações sanguíneas terapêuticas (THERVET, LORIOT *et al.*, 2010). Manter a concentração terapêutica é importante, pois concentrações sanguíneas acima da faixa terapêutica estão associadas com o aumento de efeitos adversos, especialmente neurotoxicidade e nefrotoxicidade, enquanto baixas concentrações são associadas ao aumento da incidência de rejeição (KATSAKIORI, PAPAPETROU *et al.*, 2010).

Farmacogenética em Transplante Renal

O principal objetivo da farmacoterapia do receptor de transplante renal é a individualização do tratamento, a fim de estabelecer um equilíbrio entre eficácia e segurança dos imunossupressores (ROSSO FELIPE, DE SANDES *et al.*, 2009).

O monitoramento terapêutico é utilizado como um instrumento essencial para individualizar a terapia com imunossupressores em receptores de transplantes de órgãos vascularizados (ZHAO, FAKHOURY *et al.*, 2010). Esta abordagem permite reduzir a variabilidade farmacocinética através de ajustes nas doses com base nas concentrações sanguíneas (D'ALESSANDRO, MARIANI *et al.*, 2010). A principal limitação deste método é o fato de iniciar após o fármaco ter sido administrado ao paciente. Desta forma, doses iniciais inadequadas são ajustadas após o tempo necessário para se atingir um estado de equilíbrio, o que aumenta potencialmente o risco de rejeição aguda durante a primeira semana após o transplante. O ideal é identificar, antes do início da imunoterapia, os pacientes com maior risco de serem expostos a concentrações baixas ou elevadas de imunossupressores (FELIPE, DE SANDES *et al.*, 2009).

Neste contexto, a farmacogenética surge como uma estratégia para complementar o monitoramento terapêutico, permitindo a previsão da dose inicial do fármaco com o objetivo de atingir as concentrações sanguíneas ideais mais rapidamente (MACPHEE, 2010).

A variabilidade na resposta a imunossupressores tem sido atribuída a fatores genéticos e não genéticos como idade, sexo, índice de massa corporal, função hepática ou renal, concentrações plasmáticas hormonais, interações medicamentosas, e outros (EVANS E JOHNSON, 2001; WEINSHILBOUM, 2003; EVANS E RELLING, 2004). Estima-se que os fatores genéticos podem contribuir com 20 a 95% da variabilidade na biodisponibilidade e efeito de fármacos (ZAZA, GRANATA *et al.*, 2010).

Polimorfismos em genes de enzimas metabolizadoras e de transportadores de drogas têm sido associados às modificações nas características farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos imunossupressores, de forma a contribuir para a variabilidade interindividual na resposta e segurança destes medicamentos (ANGLICHEAU, LEGENDRE *et al.*, 2007). Polimorfismos de nucleotídeo único

(SNP) parecem ter um impacto significativo sobre a incidência de rejeição aguda e em efeitos adversos dos imunossupressores (PICARD E MARQUET, 2011).

Na procura por genes candidatos que possam fornecer informações sobre a resposta à terapia imunossupressora baseada em tacrolimo ou sirolimo, os genes codificadores dos alvos se destacam, sejam por serem poucos explorados como por estarem diretamente ligados ao mecanismo de ação dos fármacos.

Calcineurina

A calcineurina é uma proteína serina/treonina fosfatase 3 (ppp3 ou CsN) regulada por cálcio e calmodulina que desempenha um papel crítico em muitas vias de transdução de sinal mediada por cálcio (KLEE, REN *et al.*, 1998; FENG e STEMMER, 1999; HE, Z. H., HU, Y. *et al.*, 2010). A calcineurina regula uma série de fatores de transcrição e de canais iônicos e está envolvida na regulação da ativação de linfócitos T. É o principal alvo dos inibidores de calcineurina, como o tacrolimo (RODRÍGUEZ, ROY *et al.*, 2009). Sua ativação ocorre quando há aumento dos níveis intracelulares de cálcio e a ligação Ca^{2+} /calmodulina através da subunidade A (KISSINGER, PARGE *et al.*, 1995).

A CsN é um heterodímero composto de duas subunidades: uma subunidade catalítica CnA (58-61 kDa), denominada calcineurina A; e uma subunidade reguladora CnB (kDa 19), denominada calcineurina B.

Em humanos a CnA tem três isoformas diferentes: CnA α , CnA β e CnA γ que são codificadas, respectivamente, pelos genes *PPP3CA*, *PPP3CB* e *PPP3CC* (HE, Z. H., HU, Y. *et al.*, 2010). A expressão de CnA γ é restrita ao testículo, enquanto que as isoformas CnA α e CnA β estão presentes em diversos órgãos como o cérebro, rim e timo, com expressão diferencial (RUSNAK E MERTZ, 2000). Por exemplo, CnA α é mais abundante no rim, mas a sua expressão está restrita aos túbulos, enquanto que a expressão CnA β foi observada somente na região glomerular. Em contraste, a CnA β é mais abundante nos linfócitos T e B (JIANG, XIONG *et al.*, 1997). Foi demonstrado que ratos nocaute para *Ppp3cb* apresentam alterações na função dos linfócitos T enquanto ratos nocaute para o gene *Ppp3ca*

apresentam alterações no desenvolvimento do sistema renal e do sistema nervoso central (SUN, ZHU *et al.*, 2007).

A calcineurina A pode ser diferencialmente desfosforilada *in vivo* quando sofre alterações nas isoenzimas CnA α e CnA β , possivelmente influenciando a ação de imunossupressores. Foi demonstrado por Perrino e colaboradores (2002) que as subunidades α e β da calcineurina são responsáveis por diferenças na ação catalítica dessa fosfatase, bem como na afinidade entre FKBP12/tacrolimo devido principalmente a variações em parâmetros cinéticos. (PERRINO, WILSON *et al.*, 2002).

Alguns pacientes diferem na sua resposta ao tratamento com inibidores da calcineurina, o que poderia ser uma consequência de variações herdadas nas CnA α e CnA β . A presença de polimorfismos genéticos nos genes codificadores da calcineurina A pode contribuir para as diferenças individuais na resposta ao tratamento com drogas imunossupressoras (BROGAN, PRAVICA *et al.*, 2000).

Existem poucos estudos sobre SNPs envolvidos nas ações farmacológicas dos inibidores de calcineurina. Polimorfismos funcionais de genes como *PPIA* (que codifica para a ciclofilina), *FKBP1A* (que codifica para a FKBP12), *PPP3CA/PPP3CB/PPP3R1* (que codificam para a calcineurina), *NFATC1/NFATC2/NFAT5* (que codificam para NFAT) e *IL-2* (que codifica para a IL-2) já começaram a ser explorados em relação a doenças como alzheimer, distrofia muscular e hipertrofia cardíaca (CHIOCCO, ZHU *et al.*, 2010; HE, Z., HU, Y. *et al.*, 2010; PRESS, DE FIJTER *et al.*, 2010). Entretanto, em receptores de transplante renal não há informações sobre o papel desses SNPs na farmacodinâmica dos ICN.

O *PPP3CA* está localizado no braço longo do cromossomo 4, em humanos (WANG, YI *et al.*, 1996). As variáveis deste gene codificam isoformas alternativas da CnA α (GUERINI e KLEE, 1989; KINCAID *et al.*, 1990; REUTER *et al.*, 2001), que são funcionalmente diferentes, resultado da exclusão de nucleotídeos codificantes durante o *splicing* alternativo dos transcritos primários (GUERINI e KLEE, 1989) (**Figura 2**). No entanto, cada isoforma codificada pelo *PPP3CA* mantêm seu domínio de ligação, promovendo a regulação de cálcio/calmodulina (CHIOCCO, ZHU *et al.*, 2010).

A importância do *PPP3CA* na conformação da calcineurina A (PERRINO, WILSON *et al.*, 2002) levou-nos a acreditar em suas potenciais relações com a resposta farmacológica aos imunossupressores tacrolimo e sirolimo.

Figura 2. Representação dos polimorfismos e isoformas alternativas do *PPP3CA* (CHIOCCO, ZHU *et al.*, 2010)

mTOR

O alvo da rapamicina em mamíferos (*mTOR*, recentemente reconhecido como alvo mecanicista da rapamicina) é uma serina / treonina quinase que tem um papel central na regulação do crescimento e metabolismo celular (CHI, 2012).

Araki e colaboradores (2009) demonstraram que o *mTOR* é o principal regulador de diferenciação de memória de linfócitos T CD8⁺ (ARAKI, TURNER *et al.*, 2009). Em 2010, Rao e colaboradores concluíram que *mTOR* é o regulador central dos programas de transcrição que determinam destinos de células efectoras e / ou na memória de linfócitos T CD8⁺ (RAO, LI *et al.*, 2010).

O *mTOR* está envolvido no controle de transdução do sinal de vários fatores de crescimento e na regulação da expressão de proteínas com efeitos regulatórios na progressão do ciclo, proliferação e crescimento celular. O *mTOR* ocupa uma posição-chave no cruzamento de várias vias de sinalização (Ras, PI3K/Akt, TSC,

NF-kappaB) para síntese de RNAm, ribossomos e tradução de moléculas importantes. A inibição de mTOR pela rapamicina (produto natural) ou seus análogos tem objetivo de prevenir os efeitos deletérios de uma sinalização anormal, independente do ponto da via de sinalização que foi inicialmente afetada (STRIMPAKOS, KARAPANAGIOTOU *et al.*, 2009).

O gene *MTOR* codifica a proteína alvo do complexo rapa-FKBP12, responsável pela interrupção do ciclo celular ocasionado por imunossupressores como a rapamicina e o sirolimo. Curiosamente, a despeito de seu papel chave na ação destes fármacos, não há descrito na literatura científica estudos sobre o impacto dos polimorfismos do *MTOR* na resposta aos imunossupressores.

Os genes *MTOR* e *PPP3CA* se apresentam, portanto, como bons modelos para avaliar os efeitos de imunossupressores sobre a resposta imune, e consequentemente a aceitação do rim transplantado, com a finalidade de elucidar os mecanismos envolvidos na farmacogenética desses agentes terapêuticos.

Considerando a importância de estudar os fatores que afetam a resposta aos imunossupressores, a fim de reduzir o risco de rejeição ou de efeitos adversos graves, é de grande interesse avaliar as relações entre variantes genéticas e os imunossupressores empregados na terapia de receptores de transplante renal.

Este estudo contribuirá para ampliar o conhecimento de mecanismos envolvidos na resposta a imunossupressores e seus resultados poderão auxiliar na prática da terapia individualizada.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a associação de polimorfismos em *PPP3CA* e *MTOR* com a resposta farmacológica dos imunossupressores tacrolimo e sirolimo em pacientes transplantados renais.

2.2 Objetivos específicos

- Conhecer a frequência dos polimorfismos *MTOR* c.1437T>C, c.2997C>T, c.4731G>A e *PPP3CA* c.249G>A, em receptores de transplante renal;
- Avaliar a relação dos polimorfismos com a concentração sanguínea e a concentração sanguínea corrigida pela dose dos imunossupressores tacrolimo e sirolimo, em pacientes submetidos a transplante renal;
- Avaliar a relação entre os polimorfismos dos genes alvos dos imunossupressores e parâmetros bioquímicos e de rejeição renal em pacientes submetidos a terapia imunossupressora baseada em tacrolimo ou convertida para sirolimo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Casuística

Foram selecionados 156 indivíduos com doença renal crônica terminal, de ambos os sexos, com idade 18 a 69 anos e de qualquer etnia, indicados para aloenxerto renal primário de doador falecido ou vivo (com ou sem parentesco), entre os pacientes atendidos no Hospital do Rim e Hipertensão da Universidade Federal de São Paulo (HRH/UNIFESP).

Os indivíduos foram convidados a participar do estudo, sendo selecionados apenas aqueles que concordaram em participar assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O protocolo de estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do HRH/UNIFESP e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (**Anexos 1 e 2**).

Os dados clínicos (gênero, etnia, idade, índice de massa corporal, diagnósticos de diabetes, causas da doença renal crônica) foram obtidos dos prontuários dos pacientes, fornecidos pelo HRH/UNIFESP.

Neste estudo, foram estabelecidos vários critérios para inclusão e exclusão de receptores de transplante renal, incluindo critérios de exclusão durante o protocolo de tratamento, que estão descritos no **quadro 1**.

Quadro 1. Critérios de inclusão e exclusão do estudo

TIPO	CRITÉRIOS
Inclusão	Idade ≥ 18 anos
	Doença renal terminal
	Indicação para aloenxerto renal primário de um doador cadáver ou vivo (com ou sem parentesco)
	Doador com idade inferior a 65 anos
	Anticorpos Reativos contra Painei (PRA) $\leq 30\%$
Exclusão	Pacientes sem condições clínicas de completar o protocolo de estudo
	HLA idêntico do Doador/Receptor
	Transplantes múltiplos de órgãos
	Histórico de glomerulosclerose segmentar focal (FSGS) ou glomerulonefrite membranoproliferativa (MPGN)
	Evidência de infecção de grande porte ativa sistêmica ou localizada
	Evidência de infiltrado, cavitação ou consolidação em raios-X de tórax durante a triagem/visita basal
	Uso de qualquer medicamento sob investigação ou tratamento até 4 semanas antes do transplante
	Hipersensibilidade conhecida ou suspeita ao tacrolimo, sirolimo ou Myfortic
	Em uso de imunossupressor diferente do indicado no protocolo do estudo
	Tratamento com aminoglicosídeos, anfotericina B, cisplatina ou outros medicamentos que causam disfunção renal
	Contagem total de leucócitos $\leq 2000/\text{mm}^3$, contagem de plaquetas $\leq 100000/\text{mm}^3$
	Triglicérides ≥ 400 mg/dL ou colesterol total ≥ 350 mg/dL
	Histórico de malignidade, nos 3 últimos anos, exceto para carcinoma adequadamente tratado de células basal ou células escamosas da pele.
	Mulheres grávidas
	Teste imunológico positivo para HIV, HBV e HCV
Exclusão aos 3 meses de protocolo	Sem indicação para conversão para esquema terapêutico com sirolimo
	Sem tratamento com tacrolimo, ácido micofenólico e prednisona
	Taxa de Filtração Glomerular (GFR) < 40 mL/min (depuração plasmática de ^{51}Cr -EDTA).
	Razão proteínas/creatinina na urina $\geq 0,5$ (nas últimas 3 avaliações)
	Grau Banff 1997 2A, rejeição aguda vascular ou qualquer rejeição dentro de 4 semanas
	Rejeição aguda refratária ao anticorpo monoclonal Orthoclone OKT3 /timoglobulina
	Cirurgia de grande porte nas 2 semanas anteriores
	Complicação pós-operatória ativa (infecção, cicatrização retardada de ferimentos)
	Tratamento com voriconazol, cisaprida ou cetoconazol
	Tratamento com aminoglicosídeos, anfotericina B, cisplatina ou outros medicamentos que causam disfunção renal
Exclusão após biópsia do enxerto	Pacientes que não aprovelem a alteração do esquema imunossupressor
	Rejeição subclínica
	Infecção por poliomavírus
	Glomerulopatia de transplante
	Recorrência ou glomerulopatia <i>de novo</i>

3.2 Protocolo de tratamento

O protocolo de tratamento consistiu na administração dos imunossupressores, em até 24 horas após o transplante renal, contendo micofenolato de mofetil, prednisona e tacrolimo. Após três meses de tratamento, o tacrolimo foi substituído por sirolimo para parte dos pacientes, como indicado na **Figura 3**. O protocolo teve duração de seis meses.

Figura 3. Esquema da terapia imunossupressora e procedimentos do estudo

O micofenolato de mofetil foi administrado na dose de 2 g/dia. A prescrição de prednisona foi de 500 mg no dia do transplante, 30 mg/dia na primeira semana pós-transplante, 20 mg/dia na segunda pós-transplante, 15 mg/dia na terceira semana pós-transplante e, posteriormente, 10 mg/dia. O tacrolimo foi administrado na dose

inicial de 0,1 a 0,2 mg/Kg/dia e, após o monitoramento terapêutico realizado a partir do terceiro dia, foi ajustado para manter a concentração sanguínea de 5 a 15 ng/mL. Após três meses desse esquema imunossupressor, o tacrolimo foi substituído por sirolimo para um grupo de pacientes (randomicamente selecionados). O sirolimo foi administrado na dose inicial de ataque de 5 mg/dia, seguido de manutenção de 3 mg/dia por 7 dias quando então a dose passou a ser ajustada até atingir as concentrações plasmáticas entre 5 e 10 ng/mL.

O controle clínico foi realizado conforme a rotina aplicada pelo serviço de Transplante Renal do Hospital do Rim e Hipertensão. Foram obtidas biópsias protocolos e quando o paciente apresentava sinais clínicos e/ou laboratoriais que sugerissem rejeição. Neste estudo a rejeição do enxerto foi classificada em aguda ou crônica, baseando-se nos critérios de *Banff 1997*.

3.3 Material biológico

Amostras de material biológico (sangue e urina) foram coletadas no Ambulatório do HRH/UNIFESP pela equipe de enfermagem, antes do transplante renal, nos dias 3, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 após o transplante renal, em 1, 2 e 3 meses após a randomização do estudo, e quando houve suspeita de rejeição do órgão transplantado. Foram realizadas biópsias protocolares no transplante renal e quando clinicamente indicadas. Coletou-se 10 mL de sangue em tubo a vácuo (Becton Dickinson Company, Plymouth, Reino Unido) sem anticoagulante para as determinações bioquímicas (creatinina, ureia, perfil lipídico, e glicemia), e 20 ml de urina para o cálculo da depuração de creatinina nos momentos indicados anteriormente.

Também foi coletado sangue (7,5 mL) em tubo com EDTA para o hemograma e dosagens de tacrolimo. As concentrações de tacrolimo foram determinadas nos dias indicados anteriormente e a critério do investigador ao longo do estudo. As concentrações de vale de sirolimo foram determinadas nos primeiro, segundo e terceiro mês após a conversão e a critério do investigador ao longo do estudo.

Antes do transplante foram coletados 2,5 mL de sangue em tubo com EDTA para extração de DNA.

3.4 Métodos

3.4.1 Parâmetros bioquímicos

Creatinina, glicose, colesterol total, HDL colesterol, triglicérides e ureia foram determinados por métodos imunoquímicos, utilizando o equipamento automatizado *Olympus AU400* (Olympus Optical Co., Brasil). As determinações bioquímicas foram realizadas no Laboratório Central do Hospital do Rim e Hipertensão (UNIFESP).

A depuração de creatinina calculada pela fórmula de *Modification of Diet in Renal Disease* (α MDRD) (Vervoort, Willems *et al.*, 2002).

3.4.2 Determinação dos imunossupressores

As concentrações de tacrolimo foram determinadas por imunoensaio *chemiluminescent microparticle immunoassay* (CMIA), usando-se o equipamento *Architect I 2000* (Abbott Laboratories, EUA).

As concentrações de sirolimo foram medidas por HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*), utilizando-se o equipamento *IMX Automated Immunology Auction* (Abbott Laboratories, EUA).

3.4.3 Extração de DNA genômico

O DNA genômico foi extraído do sangue coletado em EDTA utilizando-se o conjunto de reagentes *QIAamp DNA Blood* (Qiagen Inc., Valencia, EUA), e seguindo a orientação do fabricante. Este método utiliza o sistema de colunas contendo membrana de sílica gel onde o DNA se liga, é lavado e posteriormente eluído por centrifugação. O processo foi realizado utilizando-se a plataforma robótica automatizada *QIAcube* (Qiagen Inc., Valencia, EUA).

A integridade das amostras de DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 0,8% utilizando tampão TBE 0,5X [Tris-HCl a 45mM, ácido bórico a 45mM e EDTA a 1mM (pH 8,0)] (SAMBROOK e RUSSELL, 2001). A separação eletroforética foi realizada a 100V, 60mA por 30 min, em cuba de eletroforese horizontal (Gibco BRL, Life Technologies Inc. Gaithersburg, MD, EUA) e fonte modelo EPS 200 (GE Healthcare, Amersham Biosciences do Brasil, São Paulo, SP). Como referência foi utilizado um marcador de tamanho molecular de DNA de 1000bp (1kb) (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EUA). As bandas foram visualizadas sob luz UV, após coloração do gel com *GelRed*® (Phenix Research, Candler, NC, EUA) e fotodocumentadas em sistema de captura de imagem modelo *MF-ChemiBis 3.2* (DNR Bio-Imaging Systems, Mahale HaHamisha, Jerusalém, Israel).

A quantificação e pureza do DNA genômico foram determinadas utilizando-se o espectrofotômetro *Nanodrop ND-1000* (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, EUA). Foram utilizadas somente preparações de DNA que obtiverem relação A_{260}/A_{280} entre 1,8 e 2,0.

3.4.4 Genotipagem por PCR em tempo real

Para escolha dos polimorfismos nucleotídeo único (SNP) utilizou-se do banco de dados público dbSNP do *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Foi utilizado como argumento de busca, critérios como frequência do alelo raro superior a 5% para SNPs presentes em regiões codificadoras e superior 10% para SNPs presentes em regiões regulatórias como as promotoras, 3'UTR, 5'UTR e de *splicing*, além da apresentação de resultados validados por outros estudos e pelo projeto HAPMAP. Os SNPs selecionados foram: *MTOR* rs1057079 (c.4731G>A), rs1135172 (c.1437T>C), rs1064261 (c.2997C>T) e *PPP3CA* rs3730251 (c.249G>A).

Os SNPs foram analisados por PCR em tempo real utilizando-se o ensaio *TaqMan*® *SNP Genotyping Assays* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) desenhado para discriminação alélica específica para cada polimorfismo, marcado com as sondas VIC e FAM. Os reagentes fornecidos em solução denominada

TaqMan® Universal PCR Master Mix e tampão de reação *Gold PCR Buffer* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) para os polimorfismos c.1437T>C e c.2997C>T ou *TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) para o polimorfismo c.4731G>A.

O programa de PCR utilizado foi constituído de: (1) um ciclo de 1 min a 60°C; (2) um ciclo de 10 min a 95°C; (3) 50 ciclos de 15 s a 92°C e 90s a 60°C para os polimorfismos *PPP3CA* c.249G>A, *MTOR* c.1437T>C e c.2997C>T. Para o polimorfismo *MTOR* c.4731G>A utilizou-se o programa em modo *fast* sendo: (1) um ciclo de 1 min a 60°C; (2) um ciclo de 10 min a 95°C; (3) 50 ciclos de 15 s a 92°C e 90s a 60°C. Os sinais de fluorescência emitidos pelos fluoróforos das sondas *TaqMan®* foram dectados pelo equipamento *ABI 7500 FAST* (Applied Biosystem, Forest City, EUA). Os dados foram analisados utilizando-se o programa *SDS 7500 software v.2.0.4* (Applied Biosystem, Forest City, EUA).

Os ensaios de discriminação alélica por PCR em tempo real foram monitorados utilizando-se um controle negativo (poço no qual não se adiciona amostra) para cada conjunto de reações. Os ensaios também foram repetidos aleatoriamente para 30% das amostras testadas, não sendo encontrado nenhum erro de genotipagem.

3.4.5 Estudo de Haplótipos

Ampliando o estudo dos polimorfismos *MTOR* c.1437T>C, c.2997C>T e c.4731G>A, realizou-se o estudo de haplótipos. A análise dos dados foi realizada com o auxílio do programa computacional *Haploview v4.2* (Barrett, Fry *et al.*, 2005).

3.4.6 Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados utilizando-se o programa *Sigma Stat* para Windows, versão 3.5 (Sigma Chemical, Co., St Louis, MO, EUA).

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva dos parâmetros demográficos e bioquímicos para todos os indivíduos triados. Nas análises dos polimorfismos genéticos, os genótipos heterozigotos foram agrupados com os genótipos raros, para aumentar o poder estatístico dos testes.

As variáveis categóricas, as frequências genotípicas e alélicas bem como Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foram avaliadas pelo teste de qui-quadrado (χ^2) ou, no caso de frequências inferiores a 5 indivíduos em alguma categoria, foi utilizado o Teste Exato de *Fisher*. Também foram calculados a razão de probabilidade (OR - Odds Ratio) e seu intervalo de confiança de 95% (95% I.C.) associado às diferentes variáveis.

Duas variáveis contínuas não pareadas foram comparadas por teste *t de Student* ou, no caso de não ajuste à distribuição normal, pelo teste de *Mann-Whitney*. Com esse mesmo número de variáveis, quando a amostra foi pareada, o teste de escolha foi o teste *t de Student* para amostras pareadas (paramétrico) ou o teste de *Wilcoxon* (não paramétrico). Para mais de duas variáveis foi utilizado o teste *one way ANOVA on Ranks* (para amostras pareadas) ou o teste *Kruskal-Wallis one way ANOVA on Ranks* (para amostras não pareadas), seguido do teste de *Dunn* quando necessário.

Foram considerados estatisticamente significantes os resultados cujos níveis descritivos eram inferiores a 0,05 ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 Dados dos indivíduos do estudo

As características demográficas e clínicas dos receptores de transplante renal incluídos no estudo estão descritas na **Tabela 1**. A faixa etária dos pacientes foi similar entre os grupos TAC e SRL ($p=0,152$). Embora mais homens tenham sido transplantados (TAC: 65%, SRL: 72%), a proporção entre homens e mulheres foi similar ($p=0,388$). A maioria dos pacientes do estudo se declarou de etnia branca (TAC: 56%, SRL: 40%), e não foi observada diferença de proporções de etnias entre os dois grupos estudados ($p=0,099$).

Entre as causas de doença renal crônica (DRC) destacam-se diabetes (20%), hipertensão arterial sistêmica (15%) e outras (25%) que incluem glomerulonefrite crônica, litíase renal, doença renal policística, nefroesclerose e lúpus (**Tabela 1**). Em 41% dos pacientes não foi possível determinar a causa da DRC. A prevalência de causas de DRC não diferiu entre os grupos TAC e SRL ($p=0,698$).

Os doadores foram em sua maioria vivos (57%) e entre esses 71% são relacionados geneticamente aos receptores. A idade, tipo e parentesco do doador, assim como o tempo de isquemia fria, não diferiram entre os grupos TAC e SRL ($p\leq 0,05$).

Ao aplicarem-se os critérios de exclusão aos três meses de protocolo, 23% dos indivíduos apresentaram pelo menos um motivo para ser excluído do estudo (TAC: 16; SRL: 20). Não houve diferença significativa no número de indivíduos excluídos entre os grupos TAC e SRL ($p<0,05$).

Ao final de seis meses de estudo, 47 pacientes apresentaram pelo menos uma ocorrência de rejeição aguda comprovada por biópsia (TAC: 20; SRL: 27), 54 pacientes tiveram ocorrência de nefropatia crônica do enxerto (TAC: 24; SRL: 30), três pacientes perderam o enxerto (TAC: 2; SRL: 1) e dois pacientes foram a óbito (TAC: 1; SRL: 1).

Tabela 1. Dados demográficos e clínicos dos receptores de transplante renal

Variável	Total (156)	Grupo TAC (78)	Grupo SRL (78)	p
Idade, anos	46,1 ± 13,1	47,6 ± 12,8	44,6 ± 13,3	0,163 ^a
Sexo				
Masculino	68,6% (107)	65,4% (51)	71,8% (56)	0,388
Feminino	31,4% (49)	34,6% (27)	28,2% (22)	
Etnia				
Branco	48,1% (75)	56,4% (44)	39,7% (31)	0,099
Negro	11,5% (18)	6,4% (5)	16,7% (13)	
Pardo	35,3% (55)	32,1% (25)	38,5% (30)	
Asiático	5,1% (8)	5,1% (4)	5,1% (4)	
Causa da DRC				
Diabetes	19,9% (31)	19,2% (15)	20,5% (16)	0,698
Hipertensão arterial	14,7% (23)	12,8% (10)	16,7% (13)	
Outras (*)	24,4% (38)	28,2% (22)	20,5% (16)	
Indeterminado	41,0% (64)	39,8% (31)	42,3% (33)	
Idade do doador	43,5 ± 10,3	45,0 ± 10,7	42,0 ± 9,8	0,069
Tipo de doador				
Falecido	43,0% (67)	42,3% (33)	43,6% (34)	0,872
Vivo	57,0% (89)	57,7% (45)	56,4% (44)	
Parentesco do doador				
Relacionado	70,8% (63)	68,9% (31)	72,3% (32)	0,690
Não relacionado	29,2% (26)	31,1% (14)	27,3% (12)	
Tempo de isquemia fria, h	12,7 ± 19,3	13,5 ± 24,2	11,9 ± 12,9	0,830 ^a
Pacientes excluídos	23,1% (36)	20,5% (16)	25,6% (20)	0,569
Rejeição renal aguda	30,1% (47)	25,6% (20)	34,6% (27)	0,295
Nefropatia crônica do enxerto	34,6% (54)	15,4% (24)	19,2% (30)	0,400
Perda do enxerto	1,9% (3)	2,6% (2)	1,3% (1)	1,000
Óbito	1,3% (2)	1,3% (1)	1,3% (1)	0,477

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Variáveis contínuas estão apresentadas como média ± desvio padrão e foram comparadas por teste *t* ou de *Man Whitney*^(a). Variáveis categóricas estão apresentadas como porcentagem e foram comparadas por teste Qui-quadrado. DRC: doença renal crônica. (*): glomerulonefrite crônica, litíase renal, doença renal policística, nefroesclerose e lúpus.

4.2 Resposta ao tratamento farmacológico

Na **Tabela 2** estão representados dados de doses diárias, concentração sanguínea e concentração corrigida pela dose (razão concentração/dose) de tacrolimo dos pacientes do estudo até o terceiro mês de tratamento. Também se encontram indicados os valores das doses diárias, concentração sanguínea e concentração corrigida pela dose de tacrolimo após randomização para o grupo TAC e de sirolimo para o grupo SRL.

Nos três primeiros meses de estudo houve uma diminuição significativa na dose diária de tacrolimo, principalmente entre o terceiro dia de imunossupressão ($12,7 \pm 3,2$ mg/dia) e o segundo mês pós-transplante ($5,0 \pm 2,9$ mg/dia) ($p < 0,001$). Já a concentração sanguínea de tacrolimo apresentou diminuição significativa entre o terceiro dia ($11,6 \pm 17,7$ ng/mL) e o terceiro mês de estudo ($5,9 \pm 2,6$ ng/mL). A razão concentração/dose de tacrolimo foi de $0,9 \pm 0,9$ ng/mL.mg no terceiro dia pós-transplante renal, aumentando significativamente no décimo quarto dia ($1,2 \pm 0,7$ ng/mL.mg) e no segundo mês de estudo ($1,7 \pm 1,1$ ng/mL.mg).

Após a randomização do estudo, os pacientes do grupo TAC mantiveram a imunossupressão baseada em tacrolimo, micofenolato de mofetil e prednisona, enquanto o grupo SRL passou a receber imunossupressão baseada em sirolimo, micofenolato de mofetil e prednisona.

Nos três meses após a randomização, não houve mudança significativa na dose e concentração corrigida pela dose de tacrolimo no grupo TAC ($p > 0,05$). No sexto mês de tratamento com tacrolimo houve uma diminuição da concentração sanguínea em relação aos meses anteriores ($p = 0,024$).

No grupo SRL, a dose de sirolimo se manteve estável desde o quarto mês de estudo ($3,1 \pm 0,6$ mg/dia) até o sexto mês ($3,1 \pm 1,0$ mg/dia) ($p = 0,962$). A concentração sanguínea de sirolimo diminuiu significativamente do quarto mês ($9,4 \pm 4,3$ ng/mL) para o quinto ($7,5 \pm 2,3$ ng/mL) e sexto mês ($7,2 \pm 2,1$ ng/mL) ($p = 0,015$). A concentração corrigida pela dose de sirolimo diminuiu durante o período analisado, porém de forma não significativa ($p > 0,05$).

Tabela 2. Dose e concentração plasmática de tacrolimo e sirolimo em pacientes submetidos a transplante renal

Tempo	Dose (mg/dia)	Concentração (ng/mL)	Concentração/dose (ng/mL.mg)
Tacrolimo			
Grupo total (156)			
3 dias	12,7 ± 3,2 ^a	11,6 ± 17,7 ^a	0,9 ± 0,9 ^a
7 dias	11,7 ± 4,0 ^{a,b}	11,0 ± 5,6 ^a	1,1 ± 0,8 ^{a,b}
14 dias	10,0 ± 4,3 ^b	9,9 ± 3,8 ^a	1,2 ± 0,7 ^{b,c}
21 dias	8,2 ± 4,4 ^c	8,6 ± 3,6 ^{a,b}	1,4 ± 1,0 ^c
28 dias	7,0 ± 4,1 ^{c,d}	8,0 ± 3,6 ^b	1,5 ± 0,9 ^{c,d}
60 dias	5,0 ± 2,9 ^e	6,6 ± 2,5 ^c	1,7 ± 1,1 ^d
90 dias	4,5 ± 2,6 ^e	5,9 ± 2,6 ^c	1,7 ± 1,3 ^d
<i>p</i> ¹	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Tacrolimo			
Grupo TAC (62)			
4º mês	4,3 ± 2,3	5,9 ± 2,0 ^a	1,8 ± 1,1
5º mês	4,0 ± 2,0	5,8 ± 2,7 ^a	1,7 ± 1,0
6º mês	4,0 ± 1,9	5,0 ± 1,7 ^b	1,5 ± 0,9
<i>p</i> ²	0,959	0,024	0,255
Sirolimo			
Grupo SRL (58)			
4º mês	3,1 ± 0,6	9,4 ± 4,3 ^a	3,0 ± 1,7
5º mês	3,2 ± 1,5	7,5 ± 2,3 ^b	2,6 ± 1,4
6º mês	3,1 ± 1,0	7,2 ± 2,1 ^b	2,5 ± 1,0
<i>p</i> ³	0,962	0,015	0,205

Nota: Valores expressos em média ± desvio-padrão e comparados por *One-Way ANOVA on Ranks*. Letras diferentes na mesma coluna representam valores estatisticamente diferentes, indicados por teste de Dunn ($p < 0,05$).

Na **Tabela 3**, está descrita a comparação do perfil bioquímico e de função renal dos receptores de transplante renal entre os grupos TAC e SRL. Ambos os grupos apresentaram perfil bioquímico similar de colesterol, triglicérides e glicose no pré-transplante e no terceiro mês de tratamento ($p>0,05$), quando os pacientes ainda recebiam imunossupressão baseada em tacrolimo. Os valores de ureia, creatinina e depuração de creatinina também não diferiram entre os grupos neste período ($p>0,05$).

No sexto mês de tratamento, as concentrações de colesterol total e LDL colesterol foram maiores no grupo SRL comparado com o TAC ($p<0,001$), indicando que o SRL confere um perfil lipídico mais aterogênico. A concentração de ureia foi maior no grupo TAC que no SRL ($p=0,027$).

Na **Tabela 4**, estão descritos o perfil bioquímico e de função renal dos grupos TAC e SRL no pré-transplante e sexto mês de estudo. No grupo TAC, do pré-transplante ao sexto mês de estudo, foram observadas alterações das variáveis estudadas ($p<0,05$), com exceção dos valores de triglicérides e de VLDL colesterol. Já no grupo SRL, todos os parâmetros avaliados sofreram alteração significativa entre o pré-transplante e o sexto mês de estudo ($p<0,05$). Os indivíduos do estudo, independentemente do protocolo imunossupressor utilizado, apresentaram significativa melhora nos parâmetros de função renal (diminuição da creatinina e ureia além do aumento da depuração de creatinina). Também apresentaram diminuição da glicose, indicando melhora no controle glicêmico. Em relação ao perfil lipídico apresentaram aumento do colesterol total, LDL e HDL colesterol. Os pacientes submetidos ao tratamento convertido para sirolimo apresentaram aumento significativo de VLDL colesterol ($p<0,001$) e triglicérides ($p<0,001$), o que não ocorreu com os pacientes do grupo TAC ($p>0,05$).

Tabela 3. Comparação do perfil bioquímico e de função renal dos receptores de transplante renal entre os grupos TAC e SRL

Variáveis	Pré-Tx			3º mês			6º mês		
	TAC (78)	SRL (78)	p	TAC (78)	SRL (78)	p	TAC (62)	SRL (58)	p
Creatinina, mg/dL	8,5±3,1	9,7±3,8	0,053	1,3±0,4	1,4±0,6	0,719*	1,2±0,3	1,2±0,3	0,826
Depuração de creatinina, mL/min	10,5±3,9	9,7±4,7	0,142	68,7±20,8	66,7±19,7	0,554*	72,8±19,7	72,6±18,8	0,909
Ureia, mg/dL	108±43	119±44	0,122	44±14	45±19	0,739	42±13	37±10	0,027*
Glicose, mg/dL	110±35	122±72	0,520*	105±43	105±53	0,506*	96±38	93±21	0,303*
Colesterol Total, mg/dL	156±41	154±38	0,809	178±47	178±43	0,969	199±43	237±42	<0,001
HDL colesterol, mg/dL	40±14	41±13	0,325*	39±13	43±13	0,060	47±21	47±10	0,276*
LDL colesterol, mg/dL	83±34	80±32	0,564	104±36	99±36	0,420	113±32	149±35	<0,001*
VLDL colesterol, mg/dL	32±16	31±16	0,678	33±14	32±20	0,457	33±15	38±16	0,071
Triglicérides, mg/dL	182±138	166±97	0,466	174±88	165±91	0,314	186±114	204±105	0,168

Nota: número de indivíduos entre parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos em média ± desvio padrão. Variáveis comparadas por teste *t* ou por *Mann-Whitney Rank Sum test* (*).

Tabela 4. Perfil bioquímico e de função renal dos receptores de transplante renal durante o tratamento imunossupressor

Variáveis	TAC (62)			SRL (58)		
	pré-Tx	6° mês	p	pré-Tx	6° mês	p
Creatinina, mg/dL	8,3±2,7	1,2±0,3	<0,001	9,3±3,7	1,2±0,3	<0,001
Depuração de creatinina, mL/min	10,4±3,7	71,5±18,7	<0,001	9,8±4,4	72,8±19,6	<0,001
Ureia, mg/dL	106±43	42±13	<0,001	119±47	37±10	<0,001
Glicose, mg/dL	111±35	93±21	<0,001*	122±73	96±38	<0,001*
Colesterol Total, mg/dL	159±42	198±43	<0,001	155±38	237±42	<0,001
HDL colesterol, mg/dL	40±15	47±21	<0,001*	43±13	47±10	0,002
LDL colesterol, mg/dL	85±35	113±32	<0,001	82±29	149±35	<0,001
VLDL colesterol, mg/dL	32±16	32±15	0,738	27±14	38±16	<0,001
Triglicérides, mg/dL	193±148	182±116	0,654*	150±95	204±105	<0,001

Nota: Número de indivíduos entre parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos em média ± desvio padrão. Variáveis comparadas por teste *t* pareado ou teste de Wilcoxon (*).

4.3 Frequência alélica e genotípica dos polimorfismos

As frequências genotípicas e alélicas dos SNPs *MTOR* c.1437T>C, c.2997C>T, c.4731G>A e *PPP3CA* c.249G>A dos participantes deste estudo podem ser observados na **Tabela 5**. Todos os SNPs estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

As frequências dos genótipos e dos alelos foram similares entre os grupos SRL e TAC, o que parece confirmar uma adequada forma de seleção dos pacientes. Devido a grande miscigenação étnica em nossa população, para as análises genéticas os indivíduos não foram separados por etnia.

Tabela 5. Frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos *MTOR* e *PPP3CA* nos receptores de transplante renal

Polimorfismo	Genótipos (%)			Alelos (%)	
<i>MTOR</i> c.4731G>A	GG	GA	AA	G	A
Grupo SRL (77)	20,8 (16)	46,7 (36)	32,5 (25)	44,2	55,8
Grupo TAC (76)	15,8 (12)	44,7 (34)	39,5 (30)	38,2	61,8
	$\chi^2 = 1,08$ (2gl, $p=0,58$)			$\chi^2 = 0,90$ (1gl, $p=0,34$)	
<i>MTOR</i> c.1437T>C	TT	TC	CC	T	C
Grupo SRL (78)	17,9 (14)	47,4 (37)	34,6 (27)	41,7	58,3
Grupo TAC (78)	11,5 (9)	44,9 (35)	43,6 (34)	34,0	66,0
	$\chi^2 = 1,95$ (2gl, $p=0,38$)			$\chi^2 = 1,65$ (1gl, $p=0,20$)	
<i>MTOR</i> c.2997C>T	CC	CT	TT	C	T
Grupo SRL (78)	10,3 (8)	50,0 (39)	39,7 (31)	35,3	64,7
Grupo TAC (77)	7,8 (6)	36,4 (28)	55,8 (43)	25,9	74,1
	$\chi^2 = 4,03$ (2gl, $p=0,13$)			$\chi^2 = 0,01$ (1gl, $p=0,91$)	
<i>PPP3CA</i> c.249G>A	AA	GA	GG	G	A
Grupo SRL (78)	1,3 (1)	10,2 (8)	88,5 (69)	93,6	6,4
Grupo TAC (77)	1,3 (1)	10,4 (8)	88,3 (68)	93,5	6,5
	$\chi^2 = 0,001$ (2gl, $p=1,0$)			$\chi^2 = 0,041$ (1gl, $p=0,8$)	

Nota: Número de indivíduos entre parênteses.

Equilíbrio de Hardy-Weinberg:

SNP c.1437T>C: SRL, $\chi^2=0,05$ ($p=0,83$); TAC, $\chi^2=2,62$ ($p=0,10$)

SNP c.2997C>T: SRL, $\chi^2=0,71$ ($p=0,40$); TAC, $\chi^2=0,23$ ($p=0,63$)

SNP c.4731G>A: SRL, $\chi^2=0,21$ ($p=0,65$); TAC, $\chi^2=0,21$ ($p=0,65$)

SNP c.249G>A: SRL, $\chi^2=1,65$ ($p=0,19$); TAC, $\chi^2=1,61$ ($p=0,20$)

4.4 Relação de polimorfismos *MTOR* e *PPP3CA* com dose e concentração de imunossupressores

Na **Tabela 6**, observa-se a relação do polimorfismo *MTOR* c.4731G>A com a dose diária, concentração sanguínea e concentração corrigida pela dose de tacrolimo e sirolimo durante o estudo. Observando-se os dados obtidos nos três primeiros meses de estudo, não houve diferença na dose de tacrolimo administrada em portadores do alelo G (genótipos GG/GA) em relação aos portadores do genótipo AA ($p>0,05$). No décimo quarto dia, a concentração sanguínea de tacrolimo mostrou-se menor nos portadores do alelo G comparada a dos portadores do genótipo AA ($p=0,049$). Para a concentração/dose de tacrolimo, observa-se que os portadores do alelo G apresentam valores menores, em relação aos com genótipo AA, entre o vigésimo primeiro dia e o segundo mês de estudo ($p<0,05$). Os parâmetros estudados não foram relacionados com o SNP *MTOR* c.4731G>A, após a randomização, no grupo TAC ($p>0,05$).

No grupo SRL, no 6º mês de estudo, observa-se que a dose de sirolimo administrada foi menor nos portadores do genótipo AA em comparação com os portadores do alelo G ($p=0,025$). Os demais parâmetros não foram relacionados com o SNP *MTOR* c.4731G>A, durante o tratamento com sirolimo (**Tabela 6**).

Na **Tabela 7**, encontram-se os dados de relação entre o polimorfismo *MTOR* c.1437T>C e a dose diária de tacrolimo em pacientes submetidos ao transplante renal antes e após a randomização do estudo e da dose e concentração de sirolimo após a randomização.

Os portadores do alelo T (genótipo TT/TC) receberam a partir do 21º dia doses maiores de tacrolimo do que os portadores do genótipo CC. ($p<0,05$) (**Tabela 7**). No sétimo e 14º dias de tratamento, a concentração sanguínea de tacrolimo apresentou-se menor nos portadores do alelo T que nos portadores do genótipo CC ($p<0,05$). A concentração corrigida pela dose foi menor nos portadores do alelo T que os com genótipo CC, entre o décimo quarto dia e o terceiro mês de estudo ($p<0,05$).

Após a randomização, no grupo TAC, a concentração corrigida de tacrolimo apresentou valores menores nos portadores do alelo T em relação aos portadores do genótipo CC no 5º mês ($p=0,046$) (**Tabela 7**).

No grupo SRL, os portadores do alelo T receberam doses maiores de sirolimo do que os com genótipo CC ($p<0,05$). Além disso, a concentração corrigida de sirolimo apresentou-se menor nos portadores do alelo T no 6º mês de avaliação ($p=0,049$) (**Tabela 7**).

Na **Tabela 8** estão descritos os efeitos do polimorfismo *MTOR* c.2997C>T na dose diária de tacrolimo em pacientes submetidos ao transplante renal antes e após a randomização do estudo e da dose e concentração de sirolimo após a randomização. Os portadores do alelo C (genótipos CC/CT) receberam dose de tacrolimo superior aos com genótipo TT, no 2º mês de tratamento ($p=0,019$). A concentração plasmática de tacrolimo mostrou-se menor nos portadores do alelo C em relação aos portadores do genótipo TT no décimo quarto dia de estudo ($p=0,019$). A concentração corrigida de tacrolimo foi menor nos portadores do alelo C que nos portadores do genótipo TT do vigésimo primeiro dia ao terceiro mês de estudo ($p<0,05$).

No grupo TAC não houve diferença entre portadores ou não portadores do alelo raro em relação à dose de tacrolimo recebida, concentração sanguínea e a concentração corrigida de tacrolimo ($p>0,05$) durante os três meses finais do estudo (**Tabela 8**).

No grupo SRL, após a conversão da terapia imunossupressora, a dose de sirolimo foi menor no 5º e 6º meses de tratamento, nos portadores do genótipo CC ($p<0,05$) (**Tabela 8**). Os outros parâmetros não foram influenciados pelo SNP *MTOR* c.2997C>T.

Na **Tabela 9**, observa-se a relação do polimorfismo *PPP3CA* c.249G>A com a dose diária, concentração sanguínea e concentração corrigida pela dose de tacrolimo e sirolimo. Observando-se os dados obtidos nos três primeiros meses de estudo, não houve diferença na dose de TAC administrada em portadores do alelo A (genótipos GA/AA) em relação aos portadores do genótipo GG ($p>0,05$). No terceiro dia e aos 90 dias de estudo a concentração sanguínea de tacrolimo mostrou-se menor nos portadores do alelo A, comparado aos portadores do genótipo GG ($p=0,025$ e $p=0,030$, respectivamente). Quando a concentração sanguínea foi

corrigida pela dose de tacrolimo, observa-se que os portadores do alelo A apresentam valores menores, em relação aos não portadores no 14º dia e 3º mês de tratamento ($p < 0,05$).

No grupo TAC, durante os três últimos meses de estudo, tanto a dose de tacrolimo administrada como a concentração sanguínea e a concentração corrigida de tacrolimo não apresentaram diferenças significativas entre portadores e não portadores do alelo raro ($p > 0,05$) (**Tabela 8**). O mesmo ocorreu no grupo SRL em relação à dose, concentração sanguínea e concentração corrigida de sirolimo ($p > 0,05$).

Tabela 6. Relação do polimorfismo *MTOR* c.4731G>A com a dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal

Tempo	Dose (mg/dia)			Concentração sanguínea (ng/mL)			Concentração/dose (ng/mL.mg)		
Tacrolimo									
Grupo total	GG/GA (98)	AA (55)	p	GG/GA (98)	AA (55)	p	GG/GA (98)	AA (55)	p
3 dias	12,7±3,2	12,5±3,1	0,906*	12,5±21,8	10,2±6,4	0,662*	0,9±1,1	0,8±0,5	0,944*
7 dias	11,7±4,3	11,3±3,6	0,722*	10,4±5,0	11,6±6,4	0,326*	1,1±0,9	1,1±0,8	0,530*
14 dias	10,3±4,6	9,5±3,8	0,499*	9,2±3,1	10,9±4,5	0,049*	1,1±0,6	1,3±0,8	0,093*
21 dias	8,6±4,4	7,4±4,4	0,073*	8,4±3,5	8,8±4,0	0,826*	1,2±0,8	1,6±1,1	0,034*
28 dias	7,4±4,2	6,4±4,0	0,070*	7,7±3,7	8,5±3,4	0,147*	1,3±0,8	1,7±0,9	0,008*
60 dias	5,4±3,0	4,5±2,4	0,076*	6,5±2,4	6,9±2,6	0,602*	1,5±1,0	2,0±1,3	0,034*
90 dias	4,8±2,7	4,1±2,3	0,055*	5,7±2,3	6,2±3,1	0,595*	1,6±1,1	1,9±1,5	0,071*
Tacrolimo									
Grupo TAC	GG/GA (35)	AA (25)		GG/GA (35)	AA (25)		GG/GA (35)	AA (25)	
4º mês	4,6±2,5	3,9±2,1	0,333*	5,9±1,8	6,0±2,3	0,825*	1,6±0,9	2,0±1,5	0,533*
5º mês	4,3±2,2	3,7±1,6	0,339*	5,4±2,0	6,4±3,5	0,201	1,5±0,8	2,0±1,2	0,081
6º mês	4,3±2,2	3,7±1,5	0,387*	5,3±1,8	4,5±1,6	0,103	1,5±0,8	1,5±1,0	0,982
Sirolimo									
Grupo SRL	GG/GA (37)	AA (20)		GG/GA (37)	AA (20)		GG/GA (37)	AA (20)	
4º mês	3,2±0,7	3,0±0,0	0,211*	8,9±3,2	10,2±5,7	0,613*	2,6±1,4	3,4±1,9	0,099
5º mês	3,3±0,9	3,2±2,2	0,156*	7,5±2,4	7,5±2,2	0,940	2,4±1,2	3,0±1,7	0,129
6º mês	3,1±1,1	2,7±0,7	0,025*	7,3±2,1	7,0±2,0	0,630	2,3±1,0	2,7±0,8	0,145

Nota: número de indivíduos entre parênteses. Valores de dose diária, concentração sanguínea e concentração sanguínea pela dose expressos em média ± desvio padrão e comparados por teste *t* ou por *Mann-Whitney Rank Sum Test* (*).

Tabela 7. Relação do polimorfismo *MTOR* c.1437T>C na dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal

Tempo	Dose (mg/dia)			Concentração sanguínea (ng/mL)			Concentração/dose (ng/mL.mg)		
Tacrolimo									
Grupo total	TT/TC (95)	CC (61)	p	TT/TC (95)	CC (61)	p	TT/TC (95)	CC (61)	p
3 dias	12,6±3,1	12,9±3,3	0,361*	11,9±22,0	11,1±7,1	0,422*	0,9±1,1	0,9±0,5	0,352*
7 dias	11,8±4,1	11,6±3,9	0,607*	10,1±5,0	12,2±6,4	0,046*	1,0±0,9	1,1±0,7	0,110*
14 dias	10,4±4,6	9,4±3,8	0,292*	9,1±3,0	11,2±4,5	0,009*	1,0±0,6	1,4±0,8	0,008*
21 dias	8,9±4,7	7,1±3,7	0,019*	8,3±3,6	9,0±3,7	0,200*	1,2±0,9	1,7±1,1	<0,001*
28 dias	7,6±4,4	5,9±3,4	0,007*	7,6±3,2	8,6±4,1	0,136*	1,3±0,8	1,8±0,9	<0,001*
60 dias	5,6±3,1	4,1±2,2	<0,001*	6,5±2,3	6,9±2,9	0,671*	1,5±0,9	2,1±1,3	<0,001*
90 dias	5,0±2,7	3,7±2,2	<0,001*	5,6±2,3	6,4±3,0	0,077*	1,5±1,1	2,1±1,5	<0,001*
Tacrolimo									
Grupo TAC	TT/TC (37)	CC (25)		TT/TC (37)	CC (25)		TT/TC (37)	CC (25)	
4º mês	4,6±2,5	3,7±2,0	0,179*	5,9±1,7	6,0±2,3	0,516*	1,6±0,9	2,0±1,5	0,415*
5º mês	4,4±2,2	3,5±1,6	0,143*	5,5±2,0	6,2±3,5	0,321	1,5±0,7	2,0±1,20	0,046
6º mês	4,4±2,1	3,5±1,5	0,165*	5,3±1,8	4,5±1,5	0,084	1,4±0,8	1,6±1,0	0,803*
Sirolimo									
Grupo SRL	TT/TC (37)	CC (21)		TT/TC (37)	CC (21)		TT/TC (37)	CC (21)	
4º mês	3,2±0,7	2,9±0,2	0,099*	8,8±3,4	10,6±5,4	0,177*	2,9±1,3	3,6±1,8	0,121
5º mês	3,3±0,9	3,1±2,2	0,044*	7,5±2,2	7,6±2,5	0,918	2,5±1,0	3,2±1,6	0,064
6º mês	3,4±1,1	2,6±0,7	0,014*	7,2±2,0	7,2±2,1	0,995	2,3±1,0	2,8±0,9	0,049

Nota: número de indivíduos entre parênteses. Valores de dose diária por peso, concentração sanguínea e concentração sanguínea pela dose expressos em média ± desvio padrão e comparados por teste *t* ou por *Mann-Whitney Rank Sum Test* (*).

Tabela 8. Relação do polimorfismo *MTOR* c.2997C>T na dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal

Tempo	Dose (mg/dia)			Concentração sanguínea (ng/mL)			Concentração/dose (ng/mL.mg)		
Tacrolimo									
Grupo total	CC/CT (81)	TT (74)	p	CC/CT (81)	TT (74)	p	CC/CT (81)	TT (74)	p
3 dias	12,5±2,9	12,9±3,4	0,600*	9,9±6,0	13,5±24,8	0,539*	0,8±0,6	1,0±1,1	0,443*
7 dias	11,6±4,1	11,6±3,7	0,883*	10,2±5,2	11,5±5,7	0,092*	1,1±0,9	1,1±0,7	0,335*
14 dias	10,0±4,2	10,0±4,4	0,904*	9,0±3,1	10,7±4,2	0,019*	1,1±0,7	1,3±0,8	0,178*
21 dias	8,5±0,07	7,9±4,5	0,329*	8,2±3,1	9,0±4,1	0,533*	1,2±0,9	1,5±1,0	0,036*
28 dias	7,4±4,2	6,5±4,0	0,114*	7,6±3,1	8,3±4,1	0,355*	1,3±0,8	1,6±0,9	0,018*
60 dias	5,5±3,0	4,5±2,7	0,019*	6,5±2,2	6,8±2,9	0,861*	1,5±0,9	1,9±1,3	0,036*
90 dias	4,8±2,6	4,2±2,5	0,053*	5,6±2,2	6,2±2,9	0,164*	1,5±1,0	2,0±1,5	0,041*
Tacrolimo									
Grupo TAC	CC/CT (29)	TT (32)		CC/CT (29)	TT (32)		CC/CT (29)	TT (32)	
4º mês	4,2±2,6	4,4±2,5	0,804*	5,9±1,9	5,9±2,1	0,824*	1,7±0,9	1,8±1,4	0,539*
5º mês	4,0±2,0	4,1±2,0	0,697*	5,3±2,0	6,2±3,1	0,172	1,6±0,7	1,8±1,2	0,322
6º mês	4,0±2,0	4,1±1,9	0,599*	5,4±1,9	4,6±1,5	0,083	1,6±0,8	1,4±0,9	0,133*
Sirolimo									
Grupo SRL	CC/CT (24)	TT (34)		CC/CT (24)	TT (34)		CC/CT (24)	TT (34)	
4º mês	3,2±0,7	2,9±0,2	0,087*	9,0±3,4	10,1±5,4	0,736*	2,9±1,3	3,4±1,8	0,467*
5º mês	3,4±1,0	3,1±2,0	0,043*	7,6±2,3	7,5±2,4	0,806	2,5±1,1	3,1±1,6	0,120
6º mês	3,5±1,1	2,7±0,7	0,016*	7,4±2,2	7,0±1,9	0,408	2,4±1,0	2,7±0,8	0,221

Nota: número de indivíduos entre parênteses. Valores de dose diária por peso, concentração sanguínea e concentração sanguínea pela dose expressos em média ± desvio padrão e comparados por teste *t* ou por *Mann-Whitney Rank Sum Test* (*).

Tabela 9. Relação do polimorfismo *PPP3CA* c.249G>A na dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal

Tempo	Dose (mg/dia)			Concentração sanguínea (ng/mL)		Concentração/dose (ng/mL.mg)			
Tacrolimo									
Grupo total	GA/AA (18)	GG (137)	p	GA/AA (18)	GG (137)	p	GA/AA (18)	GG (137)	p
3 dias	11,7±3,1	12,8±3,1	0,192*	7,8±4,4	12,1±18,8	0,025*	0,6±0,3	0,9±1,0	0,120*
7 dias	12,0±4,1	11,6±3,9	0,716*	8,4±3,6	11,2±5,6	0,055*	0,8±0,4	1,1±0,9	0,106*
14 dias	11,9±5,0	9,7±4,2	0,098*	8,6±2,3	9,9±3,8	0,287*	0,8±0,5	1,2±0,7	0,028*
21 dias	10,0±5,4	8,0±4,2	0,134*	9,0±4,6	8,5±3,5	0,748*	1,0±0,5	1,4±1,0	0,216*
28 dias	8,1±3,9	6,8±4,1	0,119*	8,8±4,2	7,8±3,5	0,444*	1,2±0,6	1,5±0,9	0,444*
60 dias	5,3±2,6	5,0±2,9	0,404*	5,5±2,1	6,8±2,6	0,074*	1,2±0,6	1,8±1,2	0,063*
90 dias	5,3±2,6	4,5±2,5	0,116*	4,8±1,4	6,0±2,7	0,030*	1,1±0,6	1,8±1,3	0,012*
Tacrolimo									
Grupo TAC	GA/AA (7)	GG (54)		GA/AA (7)	GG (54)		GA/AA (7)	GG (54)	
4º mês	5,6±4,0	4,1±2,0	0,539	6,2±3,1	5,9±1,8	0,791*	1,9±2,1	1,7±1,0	0,431*
5º mês	5,3±3,5	3,9±1,7	0,490	5,7±5,7	5,8±2,1	0,123*	1,5±1,5	1,7±0,9	0,254*
6º mês	5,3±3,5	3,9±1,6	0,536	4,1±1,2	5,1±1,8	0,144	1,0±0,6	1,5±0,9	0,098*
Sirolimo									
Grupo SRL	GA/AA (4)	GG (54)		GA/AA (4)	GG (54)		GA/AA (4)	GG (54)	
4º mês	3,0±0,0	3,1±0,6	0,750	7,3±2,5	9,6±4,3	0,247*	2,4±0,8	3,0±1,7	0,298*
5º mês	3,2±0,5	3,2±1,5	0,608	8,2±2,6	7,5±2,3	0,635	1,9±1,6	2,7±1,4	0,923*
6º mês	3,2±0,5	3,1±1,1	0,555	7,4±1,2	7,2±2,1	0,853	2,3±0,2	2,5±0,1	0,634

Nota: número de indivíduos entre parênteses. Valores de dose diária por peso, concentração sanguínea e concentração sanguínea pela dose expressos em média ± desvio padrão e comparados por teste *t* ou por *Mann-Whitney Rank Sum Test* (*).

4.5 Relação de polimorfismos *MTOR* e *PPP3CA* com perfil bioquímico e de função renal

A relação do SNP *MTOR* c.4731G>A com parâmetros de função renal e de perfil bioquímico, no grupo TAC, está descrita nas **Tabelas 10 e 11**. Os grupos de genótipos apresentaram redução significativa de ureia e creatinina e aumento de depuração de creatinina ($p<0,001$) (**Tabela 10**). No pré-transplante, a concentração de ureia foi maior nos portadores do genótipo AA em relação aos portadores do alelo G (genótipos GG/GA) ($p=0,039$). No entanto, o genótipo AA foi relacionado com maior redução de ureia ($p=0,013$) e de creatinina ($p=0,009$), no 6º mes de tratamento.

Quanto ao perfil bioquímico, observa-se redução de glicose e aumento de colesterol total e HDL colesterol ($p<0,05$), do pré-transplante ao 6º mês de tratamento com tacrolimo, independente do polimorfismo *MTOR* c.4731G>A (**tabela 11**). Enquanto que o aumento de LDL colesterol foi significativo apenas para os portadores do alelo G ($p<0,001$). As concentrações de triglicerídeos e VLDL colesterol não diferiram entre os genótipos.

Para o grupo SRL, o polimorfismo *MTOR* c.4731G>A não se mostrou relacionado aos parâmetros de função renal (**Tabela 12**). Houve melhora significativa destes parâmetros tanto nos portadores como nos não portadores do alelo G ($p<0,001$). Na **Tabela 13** está descrito a relação desse polimorfismo com os parâmetros bioquímicos no grupo SRL. Não houve associação do polimorfismos com os parâmetros bioquímicos avaliados ($p>0,05$). Houve diminuição significativa dos valores de glicose nos portadores do alelo G, mas não nos portadores do genótipo AA (GG/GA: $p<0,001$ e AA: $p=0,417$).

Tabela 10. Relação do SNP *MTOR* c.4731G>A com parâmetros de função renal no grupo TAC

Parâmetro	Fase	GG/GA (35)	AA (25)	<i>p</i>
Ureia (mg/dL)	Pré-Tx	96±44	120±42	0,039
	6º mês	42±11	43±16	0,825*
	% de variação	-43,8±33,5	-58,6±25,0	0,046*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
Creatinina (mg/dL)	Pré-Tx	7,7±2,5	8,9±2,7	0,096*
	6º mês	1,3±0,3	1,2±0,5	0,183
	% de variação	-81,9±6,1	-84,9±7,4	0,009*
	<i>p'</i>	<0,001**	<0,001	
Depuração de creatinina (mL/min)	Pré-Tx	10,9±3,8	9,6±3,4	0,193
	6º mês	72,5±20,6	71,6±16,4	0,870
	% de variação	618,0±329,0	719,0±317,6	0,276
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum Test* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 11. Relação do SNP *MTOR* c.4731G>A com parâmetros bioquímicos no grupo TAC

Parâmetro	Fase	GG/GA (35)	AA (25)	<i>p</i>
Glicose (mg/dL)	Pré-Tx	109±42	117±33	0,190*
	6º mês	93±24	93±17	0,533*
	% de variação	-10,1±17,5	- 14,2±26,0	0,617*
	<i>p'</i>	0,002**	0,007	
Colesterol Total (mg/dL)	Pré-Tx	159±43	159±42	0,850*
	6º mês	199±42	194±46	0,632
	% de variação	33,2±41,3	27,2±33,4	0,568
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
HDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	42±19	40±10	0,637
	6º mês	47±15	47±27	0,359*
	% de variação	25,2±40,6	26,6±79,2	0,609*
	<i>p'</i>	0,006**	0,022**	
LDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	84±37	85±35	0,940
	6º mês	115±31	108±32	0,460
	% de variação	67,8±74,8	53,6±125,4	0,124*
	<i>p'</i>	<0,001	0,082	
VLDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	32 ±14	32±18	0,914
	6º mês	34±15	30±14	0,460*
	% de variação	11,4±55,8	20,0±68,2	0,568*
	<i>p'</i>	0,886**	0,873	
Triglicérides (mg/dL)	Pré-Tx	196±160	186±141	0,499*
	6º mês	180±94	188±138	0,770*
	% de variação	10,9±62,7	22,5±73,1	0,370*
	<i>p'</i>	0,886**	0,458**	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 12. Relação do SNP *MTOR* c.4731G>A com parâmetros de função renal no grupo SRL

Parâmetro	Fase	GG/GA (37)	AA (20)	p
Ureia (mg/dL)	Pré-Tx	115 ±45	128±52	0,346
	6º mês	37±10	38±12	0,709
	% de variação	-63,0±17,4	-66,7±14,2	0,451
	p'	<0,001	<0,001	
Creatinina (mg/dL)	Pré-Tx	9,5±4,2	9,0±2,9	0,685
	6º mês	1,2±0,3	1,2±0,3	0,347
	% de variação	-84,4±8,2	-85,5±5,8	0,993*
	p'	<0,001	<0,001	
Depuração de creatinina (mL/min)	Pré-Tx	9,8±4,0	9,7±5,2	0,574*
	6º mês	73,7±21,3	69,3±15,2	0,438
	% de variação	797,1±437,1	754,1±428,7	0,697*
	p'	<0,001	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado. O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 13. Relação do SNP *MTOR* c.4731G>A com parâmetros bioquímicos no grupo SRL

Parâmetro	Fase	GG/GA (37)	AA (20)	<i>p</i>
Glicose (mg/dL)	Pré-Tx	124±73	120±76	0,598*
	6º mês	93±34	103±47	0,166*
	% de variação	-11,6±49,8	-3,6±32,7	0,170*
	<i>p'</i>	<0,001**	0,417**	
Colesterol Total (mg/dL)	Pré-Tx	156±38	149±38	0,535
	6º mês	237±44	239±40	0,861
	% de variação	59,3±45,7	73,9±49,7	0,266*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
HDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	44±14	39±11	0,229*
	6º mês	49±10,	45±11	0,096*
	% de variação	15,0±25,1	15,6±20,0	0,932
	<i>p'</i>	0,027	0,018	
LDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	81,5±28,8	81±30	0,942
	6º mês	148±35	151±28	0,829
	% de variação	105,6±106,9	127,7±119,5	0,467*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
VLDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	26±13	29±15	0,394
	6º mês	35±16	42±11	0,118
	% de variação	45,1±96,0	101,4±127,5	0,062*
	<i>p'</i>	0,005	<0,001	
Triglicérides (mg/dL)	Pré-Tx	148±17	146±74	0,673*
	6º mês	189±113	225±81	0,051*
	% de variação	45,8±88,8	96,3±117,8	0,051*
	<i>p'</i>	0,010	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Na **Tabela 14** está descrita a relação do SNP *MTOR* c.1437T>C e os parâmetros de função renal no grupo TAC. Portadores do alelo T (genótipo TT/TC) apresentaram concentrações de ureia menores do que os portadores do genótipo CC, no pré-transplante renal ($p=0,021$). Os portadores do alelo T apresentaram uma menor variação de creatinina entre o pré-transplante e o sexto mês de estudo em relação aos portadores do genótipo CC ($p=0,020$). Observou-se redução de glicose e aumento de colesterol total, LDL e HDL colesterol após o tratamento, independente desse polimorfismo ($p>0,05$) (**Tabela 15**). Enquanto que as concentrações de triglicérides e VLDL colesterol não foram associadas com o tratamento ou com o polimorfismo.

A relação do SNP *MTOR* c.1437T>C com parâmetros de função renal e parâmetros bioquímicos, no grupo SRL, estão representados nas **Tabelas 16 e 17**, respectivamente. A variabilidade dos parâmetros de função renal após o tratamento foi independente desse polimorfismo. No sexto mês de tratamento com sirolimo, a glicemia foi reduzida apenas nos portadores do alelo T ($p<0,001$) (**Tabela 17**). Também foi observado aumento de colesterol total, e HDL, LDL e VLDL colesterol e triglicerídeos ($p<0,05$), sendo que o percentual de aumento foi menor nos portadores do alelo T para colesterol total ($p=0,011$), LDL colesterol ($p=0,026$), VLDL colesterol ($p=0,020$) e triglicérides ($p=0,009$).

Tabela 14. Relação do SNP *MTOR* c.1437T>C com parâmetros de função renal no grupo TAC

Parâmetro	Fase	TT/TC (37)	CC (25)	<i>p</i>
Ureia (mg/dL)	Pré-Tx	96±44	120±40	0,021*
	6º mês	41±11	44±16	0,717*
	% de variação	-45,3±32,9	-57,9±25,6	0,321*
	<i>p'</i>	<0,001**	<0,001	
Creatinina (mg/dL)	Pré-Tx	7,8±2,5	8,7±2,8	0,248*
	6º mês	1,3±0,3	1,1±0,2	0,093
	% de variação	-82,3±6,1	-84,9±7,5	0,020*
	<i>p'</i>	<0,001**	<0,001	
Depuração de creatinina (mL/min)	Pré-Tx	10,9±3,7	9,9±3,5	0,288
	6º mês	72,9±20,5	71,5±16,3	0,798
	% de variação	620,3±325,5	715,2±316,0	0,299
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 15. Relação do SNP *MTOR* c.1437T>C com parâmetros bioquímicos no grupo TAC

Parâmetro	Fase	TT/TC (37)	CC (25)	<i>p</i>
Glicose (mg/dL)	Pré-Tx	112±41	115±33	0,618*
	6º mês	93±24	94±17	0,239*
	% de variação	-12,8±18,9	-11,1±26,0	0,577*
	<i>p'</i>	<0,001**	0,018	
Colesterol Total (mg/dL)	Pré-Tx	159±43	158±41	0,820*
	6º mês	194±43	204±42	0,359
	% de variação	27,8±33,8	34,1±42,0	0,726*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
HDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	42±19	39±9	0,974*
	6º mês	45±15	50±27	0,706*
	% de variação	20,6±38,0	33,6±78,1	0,422*
	<i>p'</i>	0,019**	0,002**	
LDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	86±37	84±34	0,868
	6º mês	111±34	115±28	0,251*
	% de variação	53,6±55,0	69,8±135,4	0,565*
	<i>p'</i>	<0,001	0,020	
VLDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	31±14	33±17	0,647
	6º mês	34±15	32±16	0,501*
	% de variação	16,0±65,1	12,4±55,1	0,777*
	<i>p'</i>	0,850	0,962	
Triglicérides (mg/dL)	Pré-Tx	187±159	198±137	0,666*
	6º mês	179±94	193±142	0,833*
	% de variação	20,2±74,7	9,1±54,8	0,849*
	<i>p'</i>	0,852	0,737	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 16. Relação do SNP *MTOR* c.1437T>C com parâmetros de função renal no grupo SRL

Parâmetro	Fase	TT/TC (37)	CC (21)	<i>p</i>
Ureia (mg/dL)	Pré-Tx	116±45	124±51	0,512
	6º mês	36±9	38±12	0,416
	% de variação	63,6±17,6	65,6±13,5	0,685
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
Creatinina (mg/dL)	Pré-Tx	9,4±4,1	9,14±3,0	0,813
	6º mês	1,2±0,3	1,2±0,4	0,926
	% de variação	-84,6±8,2	-85,3±5,8	0,835*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
Depuração de creatinina (mL/min)	Pré-Tx	9,9±3,9	9,7±5,2	0,416*
	6º mês	74,2±21,3	70,3±16,7	0,479
	% de variação	801,4±440,3	752,4±410,5	0,694
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado. O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 17. Relação do SNP *MTOR* c.1437T>C com parâmetros bioquímicos no grupo SRL

Parâmetro	Fase	TT/TC (37)	CC (21)	<i>p</i>
Glicose (mg/dL)	Pré-Tx	124±73	120±74	0,694*
	6º mês	93±34	102 ±46	0,219*
	% de variação	-11,0±50,2	-5,1±32,3	0,206*
	<i>p'</i>	<0,001**	0,258**	
Colesterol Total (mg/dL)	Pré-Tx	159±33	146±45	0,246
	6º mês	231±40	249±45	0,129
	% de variação	50,0±33,5	90,0±58,2	0,011*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
HDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	44±14	39±11	0,089*
	6º mês	48±10	46±11	0,205*
	% de variação	13,1±23,3	19,7±23,3	0,333
	<i>p'</i>	0,047	0,006	
LDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	85±26	75±34	0,264
	6º mês	146±35	154 ±37	0,449
	% de variação	83,6±65,7	174,3±159,3	0,026*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
VLDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	27±14	28±15	0,993*
	6º mês	36±17	43±12	0,105
	% de variação	35,9±54,0	131,5±158,9	0,020*
	<i>p'</i>	0,003	<0,001	
Triglicérides (mg/dL)	Pré-Tx	147±93	154±98	0,876*
	6º mês	179±85	252±124	0,014*
	% de variação	33,4±53,8	118,6±143,2	0,009*
	<i>p'</i>	0,018	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Nas **Tabelas 18 e 19** estão apresentadas as relações entre o SNP *MTOR* c.2997C>T e os parâmetros de função renal e de perfil bioquímico, respectivamente, no grupo TAC. A variabilidade desses parâmetros após o tratamento não foi influenciada por essa variante, com exceção do HDL colesterol, cujo aumento foi significativo nos portadores de genótipo TT ($p=0,001$), mas não nos portadores do alelo C (genótipos CC/CT) (**Tabela 19**).

No grupo SRL, o polimorfismo *MTOR* c.2997C>T não foi associado com a variabilidade dos parâmetros de função renal ($p>0,05$) (**Tabela 20**). Quanto ao perfil bioquímico neste grupo, os portadores do alelo C apresentaram menor porcentagem de variação de colesterol total e LDL colesterol em relação aos portadores do genótipo TT ($p<0,05$) após o 6º mês de tratamento (**Tabela 21**). O alelo C foi associado com maior concentração de HDL colesterol no pré-transplante ($p=0,037$) e com maior redução de glicemia após o tratamento com sirolimo ($p=0,001$).

Tabela 18. Relação do SNP *MTOR* c.2997C>T com parâmetros de função renal no grupo TAC

Parâmetro	Fase	CC/CT (29)	TT (32)	<i>p</i>
Ureia (mg/dL)	Pré-Tx	101±45	111±44	0,378
	6º mês	42±11	42±14	0,638*
	% de variação	46,1±34,1	-53,5±72,9	0,439*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
Creatinina (mg/dL)	Pré-Tx	7,8±2,6	8,4±2,7	0,348
	6º mês	1,2±0,3	1,2±0,3	0,521
	% de variação	-82,2±6,7	-84,1±6,7	0,184*
	<i>p'</i>	<0,001**	<0,001	
Depuração de creatinina (mL/min)	Pré-Tx	11,3±4,0	9,5±3,2	0,057
	6º mês	75,1±20,0	69,7±17,6	0,284
	% de variação	636,4±347,4	680,2±298,8	0,341*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 19. Relação do SNP *MTOR* c.2997C>T com parâmetros bioquímicos no grupo TAC

Parâmetro	Fase	CC/CT (29)	TT (32)	<i>p</i>
Glicose (mg/dL)	Pré-Tx	113±45	114±31	0,422*
	6º mês	96±26	91±16	0,855*
	% de variação	-10,5±19,8	-14,3±23,7	0,521
	<i>p'</i>	0,007**	0,005**	
Colesterol Total (mg/dL)	Pré-Tx	163±41	156±44	0,533
	6º mês	196±45	198±41	0,657*
	% de variação	25,2±33,9	35,5±40,4	0,340*
	<i>p'</i>	0,002	<0,001	
HDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	43±20	39±11	0,830*
	6º mês	45±15	49±25	0,721*
	% de variação	18,2±50,1	32,2±70,6	0,334*
	<i>p'</i>	0,074**	0,001**	
LDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	88±36	81±35	0,484
	6º mês	114±34	112±30	0,560*
	% de variação	54,5±59,3	67,8±120,0	0,852*
	<i>p'</i>	<0,001	0,003	
VLDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	32±15	32±16	0,997
	6º mês	33±15	31±14	0,793*
	% de variação	9,1±55,1	17,3±65,9	0,708*
	<i>p'</i>	1,000**	0,884	
Triglicérides (mg/dL)	Pré-Tx	198±175	185±127	0,968*
	6º mês	178±99	184±126	1,000*
	% de variação	15,5±70,5	14,4±65,2	0,775*
	<i>p'</i>	0,936**	0,822	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 20. Relação do SNP *MTOR* c.2997C>T com parâmetros de função renal no grupo SRL

Parâmetro	Fase	CC/CT (34)	TT (24)	<i>p</i>
Ureia (mg/dL)	Pré-Tx	116±45	123±51	0,604
	6º mês	36±10	39±11	0,328
	% de variação	64,5±17,0	63,9±15,4	0,896
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
Creatinina (mg/dL)	Pré-Tx	9,4±4,2	9,2±3,0	0,867
	6º mês	1,2±0,3	1,2±0,4	0,936
	% de variação	-84,5±8,5	- 85,4±5,4	0,782*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
Depuração de creatinina (mL/min)	Pré-Tx	9,8±4,0	9,8±4,9	0,998
	6º mês	73,8±20,3	71,4±19,1	0,659
	% de variação	816,1±453,1	739,1±392,6	0,525
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado. O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 21. Relação do SNP *MTOR* c.2997C>T com parâmetros bioquímicos no grupo SRL

Parâmetro	Fase	CC/CT (34)	TT (24)	<i>p</i>
Glicose (mg/dL)	Pré-Tx	125±76	118±70	0,454*
	6º mês	94±35	100±43	0,290*
	% de variação	-10,8±48,5	-6,3±68,8	0,244*
	<i>p'</i>	0,001**	0,163	
Colesterol Total (mg/dL)	Pré-Tx	157±37	150±39	0,483
	6º mês	230±40	248±44	0,112
	% de variação	53,0±57,7	79,4±50,2	0,023*
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
HDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	45±14	38±11	0,037*
	6º mês	49±10	45±10	0,124*
	% de variação	23,1±76,9	20,1±76,7	0,220
	<i>p'</i>	0,081	0,002	
LDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	84±28	78±31	0,459
	6º mês	145±34	156±38	0,268
	% de variação	86,7±26,7	153,7±47,6	0,033
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
VLDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	26±14	30±14	0,293
	6º mês	36±17	42±12	0,166
	% de variação	52,1±4,0	86,9±21,0	0,186
	<i>p'</i>	0,005	<0,001	
Triglicérides (mg/dL)	Pré-Tx	141±96	163±91	0,221*
	6º mês	179±87	242±120	0,028*
	% de variação	48,1±8,0	81,7±9,6	0,125
	<i>p'</i>	0,019	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

A relação do SNP *PPP3CA* c.249G>A com parâmetros de função renal no grupo TAC estão descritos na **Tabela 22**. Não houve diferença significativa nos parâmetros observados entre os portadores ou não portadores do alelo A (genótipos GA/AA). Na **Tabela 23** está representada a relação dos parâmetros bioquímicos com este SNP no grupo TAC. Valores de triglicérides no pré-transplante foram maiores nos portadores do alelo A em relação aos portadores do genótipo GG ($p=0,047$). No 6º mês de tratamento com tacrolimo, observou-se redução da glicemia, aumento do colesterol total, e LDL e HDL colesterol, nos portadores do genótipo GG ($p<0,05$), mas não nos portadores do alelo A.

No grupo SRL, o genótipo GG foi associado com redução da ureia no 6º mês de tratamento ($p<0,001$), enquanto que a redução da creatinina e aumento da depuração de creatinina não foram influenciados pela variante *PPP3CA* c.249G>A (**Tabela 24**). A redução da glicemia e o aumento de colesterol total, triglicérides e HDL, LDL e VLDL colesterol foram também observados nos portadores de genótipo GG, no 6º mês de tratamento ($p<0,05$) (**Tabela 25**).

Tabela 22. Relação do SNP *PPP3CA* c.249G>A com parâmetros de função renal no grupo TAC

Parâmetro	Fase	GG (54)	GA/AA (7)	<i>p</i>
Ureia (mg/dL)	Pré-Tx	104±44	129±40	0,189
	6º mês	43±13	35±7	0,053*
	% de variação	-47,8±31,3	-69,8±8,3	0,067*
	<i>p'</i>	<0,001	0,002	
Creatinina (mg/dL)	Pré-Tx	8,0±2,6	9,1±3,3	0,302
	6º mês	1,2±0,3	1,1±0,1	0,415
	% de variação	-82,8±7,0	-86,5±3,3	0,171
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	
Depuração de creatinina (mL/min)	Pré-Tx	10,5±3,8	9,4±2,3	0,478
	6º mês	71,3±19,3	81,7±12,8	0,205
	% de variação	623,9±336,1	839,3±285,8	0,174
	<i>p'</i>	<0,001	<0,001	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado. O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 23. Relação do SNP *PPP3CA* c.249G>A com parâmetros bioquímicos no grupo TAC

Parâmetro	Fase	GG (54)	GA/AA (7)	p
Glicose (mg/dL)	Pré-Tx	115±38	102±34	0,627*
	6º mês	93±21	91±23	0,489*
	% de variação	- 13,7±20,9	-2,9±29,1	0,257
	p'	<0,001**	0,555	
Colesterol Total (mg/dL)	Pré-Tx	160±43	151±42	0,585*
	6º mês	200±42	180,1±4	0,257*
	% de variação	29,1±42,6	22,2±27,7	0,704
	p'	<0,001	0,089	
HDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	41±16	41±3	0,932
	6º mês	48±22	44±11	0,991*
	% de variação	27,5±66,4	13,2±15,8	0,364*
	p'	0,001**	0,115	
LDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	84±36	88±31	0,803
	6º mês	113±32	109±37	0,674*
	% de variação	65,9±102,4	34,1±48,4	0,445*
	p'	<0,001	0,102	
VLDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	33±16	22±10	0,055*
	6º mês	33±15	27±13	0,234*
	% de variação	15,0±64,7	5,2±20,8	0,888*
	p'	0,928	0,670	
Triglicérides (mg/dL)	Pré-Tx	200±155	109±49	0,047*
	6º mês	188±117	133±67	0,163*
	% de variação	16,0±70,7	5,5±20,5	0,925*
	p'	0,862	0,642	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 24. Relação do SNP *PPP3CA* c.249G>A com parâmetros de função renal no grupo SRL

Parâmetro	Fase	GG (54)	GA/AA (4)	<i>p</i>
Ureia (mg/dL)	Pré-Tx	116±44	148±77	0,197
	6º mês	37±11	32±4	0,327
	% de variação	-63,6±16,1	-72,4±17,0	0,299
	<i>p'</i>	<0,001	0,063	
Creatinina (mg/dL)	Pré-Tx	8,9±3,1	14,5±7,8	0,089*
	6º mês	1,2±0,3	1,1±0,3	0,649
	% de variação	-84,4±7,4	-90,1±6,2	0,157*
	<i>p'</i>	<0,001	0,043	
Depuração de creatinina (mL/min)	Pré-Tx	10,1±4,3	6,3±3,6	0,102*
	6º mês	72,7±20,2	73,5±11,8	0,938
	% de variação	730,9±339,5	1414,8±840,8	0,118*
	<i>p'</i>	<0,001	0,002	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado. O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

Tabela 25. Relação do SNP *PPP3CA* c.249G>A com parâmetros bioquímicos no grupo SRL

Parâmetro	Fase	GG (54)	GA/AA (4)	<i>p</i>
Glicose (mg/dL)	Pré-Tx	123±75	110 ±37	0,901*
	6º mês	97±40	84±13	0,482*
	% de variação	-8,3±45,6	-18,2±24,6	0,987*
	<i>p'</i>	0,001**	0,125**	
Colesterol Total (mg/dL)	Pré-Tx	153±37	168±49	0,449
	6º mês	239±42	204±42	0,160
	% de variação	64,8±47,0	39,7±43,9	0,307
	<i>p'</i>	<0,001	0,258	
HDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	43±14	42±12	0,899*
	6º mês	47±1011	47±6	0,809*
	% de variação	13,2±28,0	10,9±31,1	0,892
	<i>p'</i>	0,002	0,757	
LDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	81±28	94±37	0,377
	6º mês	150±35	123±34	0,200
	% de variação	109,5±115,0	61,5±45,5	0,536*
	<i>p'</i>	<0,001	0,143	
VLDL colesterol (mg/dL)	Pré-Tx	27±14	33±11	0,437
	6º mês	38±16	34±15	0,616
	% de variação	66,0±106,3	42,4±117,5	0,414*
	<i>p'</i>	<0,001	0,748	
Triglicérides (mg/dL)	Pré-Tx	149±97	163±54	0,340*
	6º mês	206±107	167±73	0,537
	% de variação	62,0±99,6	39,8±113,6	0,408*
	<i>p'</i>	<0,001	0,758	

Nota: Número de indivíduos em parênteses. Pré-Tx: pré-transplante; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Valores expressos como média ± DP. Variáveis na horizontal comparadas por teste *t* ou *Mann-Whitney Rank Sum* (*). Variáveis na vertical comparadas por teste *t* pareado ou teste de *Wilcoxon* (**). O sinal (-) indica redução. % de variação comparada entre o pré-tx e 6º mês de estudo.

4.6 Relação dos polimorfismos com a rejeição aguda e a nefropatia crônica do enxerto

Na **Tabela 26** está apresentada a relação entre os polimorfismos estudados e a rejeição aguda comprovada por biópsia (RACB). Ao final do estudo, 47 pacientes apresentaram RACB (TAC:20 e SRL:27). Não houve diferença significativa entre o número de pacientes com rejeição renal aguda comparando-se os grupos SRL e TAC ($p>0,05$). Os portadores dos alelos raros dos quatro polimorfismos estudados apresentaram de maneira geral um maior número de indivíduos sem rejeição em relação aos não portadores destes alelos. No entanto, essa tendência não foi confirmada estatisticamente ($p>0,05$).

Ao final de seis meses de estudo, 54 pacientes apresentaram nefropatia crônica do enxerto (NCE) confirmada por biópsia (TAC:24 e SRL:30). Não houve diferença estatística entre a ocorrência da NCE entre os grupos TAC e SRL ($p>0,05$). Os polimorfismos estudados não foram associados à presença de NCE ($p>0,05$) (**Tabela 27**).

Tabela 26. Relação entre os polimorfismos do *MTOR* e *PPP3CA* e rejeição aguda comprovada por biópsia

Polimorfismos	TAC		SRL	
	RACB	Sem RACB	RACB	Sem RACB
<i>MTOR</i> c.4731G>A				
AA	9,2 (7)	30,3 (23)	$\chi^2 = 0,0443$ (1gl, $p^* = 0,833$)	$\chi^2 = 0,782$ (1gl, $p^* = 0,377$)
GG/GA	17,1 (13)	43,4 (33)	OR: 0,7726 IC: 0,2671 - 2,2344	OR: 1,7679 IC: 0,6601 - 4,7346
<i>MTOR</i> c.1437T>C				
CC	12,8 (10)	30,8 (24)	$\chi^2 = 0,167$ (1gl, $p^* = 0,683$)	$\chi^2 = 1,161$ (1gl, $p^* = 0,281$)
TT/TC	12,8 (10)	43,6 (34)	OR: 1,4167 IC: 0,5106 - 3,9307	OR: 1,92 IC: 0,7285 - 5,06
<i>MTOR</i> c.2997C>T				
TT	15,5 (12)	40,3 (31)	$\chi^2 = 0,0300$ (1gl, $p^* = 0,862$)	$\chi^2 = 0,140$ (1gl, $p^* = 0,708$)
CC/CT	10,4 (8)	33,8 (26)	OR: 1,2581 IC: 0,4467 - 3,543	OR: 1,3474 IC: 0,5222 - 3,4766
<i>PPP3CA</i> c.249G>A				
GG	20,8 (16)	67,5 (52)	($p^{**} = 0,227$)	($p^{**} = 1,000$)
GA/AA	5,2 (4)	6,5 (5)	OR: 0,3606 IC: 0,0859 – 1,5141	OR: 1,0667 IC: 0,2448 – 4,6478

Nota: Número de indivíduos entre parênteses. (*) Calculado por qui-quadrado. (**) Calculado por teste exato de Fisher. OR, odds ratio; IC, intervalo de confiança a 95%; RACB, rejeição aguda comprovada por biópsia.

Tabela 27. Relação entre os polimorfismos do *MTOR* e *PPP3CA* e nefropatia crônica do enxerto

Polimorfismos	TAC		SRL	
	NCE	Sem NCE	NCE	Sem NCE
<i>MTOR</i> c.4731G>A				
AA	13,2 (10)	26,3 (20)	11,7 (9)	20,8 (16)
GG/GA	18,4 (14)	42,1 (32)	27,3 (21)	40,2 (31)
		$\chi^2 = 0,0001$ (1gl, $p^* = 0,989$)		$\chi^2 = 0,0144$ (1gl, $p^* = 0,905$)
		OR: 1,1429 IC: 0,4267 - 3,0612		OR: 0,8304 IC: 0,3095 - 2,2277
<i>MTOR</i> c.1437T>C				
CC	12,8 (10)	30,8 (24)	SRL	
TT/TC	17,9 (14)	38,5 (30)	12,8 (10)	21,8 (17)
		$\chi^2 = 0,0004$ (1gl, $p^* = 0,985$)		$\chi^2 = 0,0032$ (1gl, $p^* = 0,955$)
		OR: 0,8929 IC: 0,3775 - 2,3624		OR: 0,9118 IC: 0,3483 - 2,387
<i>MTOR</i> c.2997C>T				
TT	18,2 (14)	37,7 (29)	18,0 (14)	21,8 (17)
CC/CT	12,9 (10)	31,2 (24)	20,5 (16)	39,7 (31)
		$\chi^2 = 0,00023$ (1gl, $p^* = 0,962$)		$\chi^2 = 0,562$ (1gl, $p^* = 0,453$)
		OR: 1,1586 IC: 0,4369 - 3,0724		OR: 1,5956 IC: 0,6297 - 4,043
<i>PPP3CA</i> c.249G>A				
GG	28,6 (22)	59,7 (46)	32,1 (25)	56,4 (44)
GA+AA	2,6 (2)	9,1 (7)	6,4 (5)	5,1 (4)
		$(p^{**} = 0,712)$		$(p^{**} = 0,294)$
		OR: 1,6739 IC: 0,321 - 8,7298		OR: 0,4545 IC: 0,117 - 1,8495

Nota: Número de indivíduos entre parênteses. Variáveis categóricas comparadas por (*) qui-quadrado e (**) teste exato de Fisher. OR, odds ratio; IC, intervalo de confiança a 95%; NCE, nefropatia crônica do enxerto.

4.7 Análises de Haplótipos

Para avaliar o efeito combinado das variantes do *MTOR*, realizou-se a análise de haplótipos utilizando-se o programa computacional *Haploview* (Barrett, Fry et al., 2005). O estudo de desequilíbrio de ligação mediante o cálculo do coeficiente D' de Lewonstin (Lewontin, 1964) demonstrou que os polimorfismos c.4731G>A, c.2997C>T e c.1437T>C do *MTOR* encontram-se em desequilíbrio de ligação ($D'=0,829$; $r^2=0,608$). No entanto, o bloco haplotípico formado apenas pelos polimorfismos c.2997C>T e c.1437T>C apresentou um desequilíbrio de ligação maior ($D'=0,981$; $r^2=0,690$), sendo, portanto o escolhido para a análise (**Tabela 28**).

Tabela 28. Blocos haplotípicos do *MTOR* e valores do desequilíbrio de ligação

	SNP	nº de referência	Posição cromossômica	D'	R^2
Bloco 1	c.4731G>A	rs1057079	11205058	0,829	0,608
	c.2997C>T	rs1064261	11288758		
	c.1437T>C	rs1135172	11301714		
Bloco 2	c.2997C>T	rs1064261	11288758	0,981	0,690
	c.1437T>C	rs1135172	11301714		

Na **Figura 4** está apresentada a formação dos blocos haplotípicos, bem como os haplótipos encontrados em maior frequência na população estudada.

Figura 4. Análise dos polimorfismos pelo programa *Haploview*. A) bloco haplotípico formado pelos polimorfismos *MTOR* c.4731G>A (1), *MTOR* c.2997C>T (2) e *MTOR* c.1437T>C (3); B) bloco haplotípico formado pelos polimorfismos *MTOR* c.2997C>T (2) e *MTOR* c.1437T>C (3).

Na **Tabela 29** são mostradas as frequências haplotípicas encontradas em relação aos grupos SRL e TAC. Não houve diferença significativa na frequência dos diferentes haplótipos entre os grupos de estudo ($p>0,05$).

Tabela 29. Frequência relativa dos haplótipos *MTOR* nos grupos SRL e TAC

	Haplótipo	SRL	TAC	χ^2	<i>p</i>
Bloco 1	ATC	0,583	0,517	1,357	0,2441
	GCT	0,235	0,309	2,135	0,1439
	GTT	0,079	0,065	0,217	0,6416
	GTC	0,068	0,060	0,063	0,8014
	ACT	0,028	0,035	0,114	0,7352
Bloco 2	TC	0,651	0,578	1,741	0,187
	CT	0,263	0,344	2,37	0,1237
	TT	0,086	0,072	0,208	0,6483

Nota: Frequências obtidas pelo programa *Haploview* v4.2.

Com base no bloco haplotípico gerado pelos polimorfismos c.2997C>T e c.147T>C do *MTOR* (**Figura 4**), os genótipos foram separados em três conjuntos:

- (1) TC: TT₂ + CC₃ (59 indivíduos)
- (2) CT: TC₂/CC₂ + CT₃/TT₃ (80 indivíduos)
- (3) TT: TT₂ + CT₃/TT₃ (15 indivíduos)

Sendo 2 e 3 referentes aos polimorfismos c.2997C>T e c.147T>C respectivamente.

4.7.1 Influência dos haplótipos sobre a resposta farmacológica

Na **Tabela 30**, observa-se a relação dos haplótipos gerados pelos polimorfismos c.2997C>T e c.147T>C do *MTOR* com a dose diária, concentração sanguínea e concentração corrigida pela dose de tacrolimo para todos os pacientes do estudo até o terceiro mês de tratamento e após randomização para os grupos TAC e SRL.

Do 21º dia ao terceiro mês de estudo, os portadores do haplótipo TC receberam doses de tacrolimo menores em relação aos portadores dos haplótipos CT e TT ($p < 0,05$). Os portadores do haplótipo TC apresentaram em geral níveis sanguíneos de tacrolimo mais elevados do que os portadores do haplótipo CT no 14º dia ($p = 0,043$). A concentração sanguínea corrigida pela dose também foi maior nos portadores do haplótipo TC, sendo estatisticamente significativa entre o décimo quarto dia e o terceiro mês de estudo ($p < 0,05$).

Após a randomização, no grupo TAC, os portadores do haplótipo TC mantiveram a tendência de doses mais baixas de tacrolimo em relação aos portadores dos haplótipos CT e TT, sendo a diferença significativa no quarto ($p = 0,042$) e quinto mês ($p = 0,038$) (**Tabela 30**). No entanto, não houve diferença significativa na concentração sanguínea de tacrolimo entre os haplótipos estudados durante este período ($p > 0,05$). A concentração sanguínea corrigida pela dose de tacrolimo foi maior nos portadores do haplótipo TC, no quarto mês de estudo ($p = 0,049$).

No grupo SRL, os portadores do haplótipo TC receberam doses de sirolimo significativamente menores do que os portadores do haplótipo CT no sexto mês de

estudo ($p=0,039$). Não houve diferença significativa na concentração sanguínea de sirolimo, mesmo a corrigida pela dose, entre os haplótipos estudados ($p>0,05$) (**Tabela 30**).

Tabela 30. Relação dos haplótipos do *MTOR* com a dose diária e concentração sanguínea de tacrolimo e sirolimo após o transplante renal

Tempo	Dose (mg/dia)				Concentração (ng/mL)				Concentração/dose (mg/mL.mg)				
Tacrolimo													
Grupo total	TC (59)	CT (80)	TT (15)	p	TC (59)	CT (80)	TT (15)	p	TC (59)	CT (80)	TT (15)	p	
3 dias	12,8±3,3	12,4±2,9	13,3±4,0	0,794	11,3±7,1	9,9±6,0	8,8±4,6	0,539	0,9±0,5	0,8±0,6	0,6±0,2	0,268	
7 dias	11,3±3,5	11,6±4,1	12,9±4,2	0,448	12,0±6,2	10,3±5,3	9,6±3,2	0,154	1,2±0,7	1,1±0,9	0,9±0,6	0,203	
14 dias	9,3±3,8	10,0±4,2	12,7±5,7	0,111	11,0±4,4 ^a	9,0±3,1 ^b	9,4±2,9	0,043	1,4±0,8 ^a	1,1±0,7	0,8±0,4 ^b	0,008	
21 dias	7,0±3,7 ^a	8,4±4,3	11,3±5,8 ^b	0,007	8,9±3,7	8,2±3,1	9,14±5,7	0,557	1,7±1,1 ^a	1,2±0,9 ^b	0,9±0,4 ^b	<0,001	
28 dias	5,8±3,4 ^a	7,4±4,2	8,9±5,2 ^b	0,011	8,5±4,1	7,5±3,0	7,7±4,0	0,450	1,8±0,9 ^a	1,3±0,8 ^b	1,1±0,7 ^b	<0,001	
60 dias	4,1±2,2 ^a	5,5±3,1 ^b	6,2±3,5 ^b	0,002	6,8±2,9	6,5±2,1	6,4±3,1	0,874	2,1±1,4 ^a	1,5±0,9 ^b	1,2±0,7 ^b	0,004	
90 dias	3,8±2,2 ^a	4,9±2,6 ^b	5,9±3,0 ^b	0,003	6,4±3,0	5,6±2,3	5,6±2,3	0,247	2,1±1,5 ^a	1,5±1,0 ^b	1,4±1,4 ^b	<0,001	
Tacrolimo													
Grupo TAC	TC (24)	CT (29)	TT (8)	p	TC (24)	CT (29)	TT (8)	p	TC (24)	CT (29)	TT (8)	p	
4º mês	3,7±2,1	4,2±2,3	6,0±2,8	0,076	5,9±2,4	5,9±1,9	6,0±1,0	0,549	2,0±1,5 ^a	1,7±0,9	1,0±0,2 ^b	0,049	
5º mês	3,6±1,6 ^a	4,0±2,0	6,3±2,2 ^b	0,042	6,3±3,5	5,3±2,0	6,2±1,7	0,396	2,0±1,2	1,6±0,7	1,0±0,4	0,051	
6º mês	3,6±1,5 ^a	4,0±2,0 ^b	5,7±2,2 ^b	0,038	4,5±1,5	5,4±1,9	5,0±1,4	0,173*	1,5±1,0	1,6±0,8	0,9±0,2	0,057	
Sirolimo													
Grupo SRL	TC (20)	CT (34)	TT (4)	p	TC (20)	CT (34)	TT (4)	p	TC (20)	CT (34)	TT (4)	p	
4º mês	2,9±0,2	3,2±0,7	3,0±0,0	0,218	10,8±5,6	9,0±3,4	5,9±0,8	0,066	3,5±2,0	2,8±1,5	2,0±0,3	0,141	
5º mês	3,1±2,2	3,4±1,0	3,0±0,0	0,109	7,5±2,6	7,6±2,3	7,2±2,2	0,955	3,1±1,2	2,3±1,2	2,4±0,7	0,362	
6º mês	2,6±0,8 ^a	3,5±1,1 ^b	3,0±0,0	0,039	7,1±2,1	7,4±2,2	6,4±0,7	0,607	2,8±0,9	2,3±1,0	2,1±0,2	0,178	

Nota: número de indivíduos entre parênteses. Valores de dose diária por peso, concentração sanguínea e concentração sanguínea pela dose expressos em média ± desvio padrão e comparados por Kruskal-Wallis one way ANOVA on Ranks. Letras diferentes na mesma linha representam valores estatisticamente diferentes, indicados por teste de Dunn (p<0,05).

5 DISCUSSÃO

Polimorfismos no *MTOR* e *PPP3CA* têm sido pouco explorados em relação à farmacogenética de imunossupressores. Até o momento, estes genes não haviam sido relacionados à resposta terapêutica dos fármacos tacrolimo e sirolimo.

Este estudo propôs avaliar a relação de polimorfismos c.4731G>A, c.1437T>C e c.2997C>T do *MTOR* e do polimorfismo c.249G>A do *PPP3CA* com parâmetros de resposta a dois regimes imunossupressores contendo tacrolimo e sirolimo, em receptores de transplante renal.

Inicialmente, calculou-se a inclusão de 200 pacientes no estudo. Contudo, devido aos estritos critérios de inclusão e exclusão, foram incluídos 156 pacientes, dos quais 36 foram excluídos antes da randomização. Embora pequena, a população de estudo mostrou-se bastante homogênea, com elevada paridade entre os grupos TAC e SRL, permitindo a comparação destes. A similaridade dos dados demográficos e clínicos entre os grupos TAC e SRL reforça a adequada forma de seleção dos pacientes e pareamento dos grupos. Todavia, há de ressaltar que o reduzido número de pacientes pode acrescentar potenciais falhas na interpretação dos resultados.

As características biodemográficas dos pacientes incluídos no estudo estão de acordo com os dados divulgados mais recentemente pelo Sistema Único de Saúde, sendo a maioria dos receptores de transplante homens, de etnia branca, com idade média entre 45 e 55 anos de idade (SUS, 2008; CHERCHIGLIA, MACHADO *et al.*, 2010).

No estudo não foi possível determinar a causa da DRC em cerca de 40% dos voluntários. No entanto, esse percentual tem sido encontrado em outros estudos brasileiros, sobretudo pela complexidade do diagnóstico da doença renal crônica (OLIVEIRA, ROMÃO *et al.*, 2005). Causas como diabetes e hipertensão arterial destacaram-se como causas primária de DRC neste estudo e em trabalhos epidemiológicos publicados recentemente (CHERCHIGLIA, MACHADO *et al.*, 2010).

A maioria dos transplantes deste estudo foram realizados com doadores vivos e relacionados aos receptores, indo de encontro ao atual perfil de doadores de órgãos no estado de São Paulo. Possíveis explicações para este perfil são a

realização de transplantes em pacientes de outros estados, um maior esforço na busca deste tipo de doador pelas equipes de captação de órgãos do estado de São Paulo (ABTO, 2010) e o elevado percentual de mortes por parada cardiorrespiratória, diminuindo a doação por doadores com morte encefálica (ABTO, 2011). A população de estudo é, portanto, representativa da população atendida no estado de São Paulo.

No presente estudo, 30% dos pacientes transplantados apresentaram pelo menos um evento de rejeição aguda comprovada por biópsia (RACP). Não foi encontrada diferença entre a ocorrência de rejeição aguda entre os pacientes dos grupos TAC ou SRL ($p>0,05$). Ressalta-se que a maior parte das rejeições ocorreu nos três primeiros meses de estudo, de forma que ambos os grupos recebiam o mesmo esquema imunossupressor baseado em tacrolimo. Alguns estudos apresentaram incidências de rejeição aguda menores, entre 16% e 18% (CHHABRA, SKARO *et al.*, 2012; HAN, PARK *et al.*, 2012). No entanto, estudos que aplicaram protocolos com biópsias programadas mostraram uma taxa de rejeição aguda nos três primeiros meses de tratamento com tacrolimo entre 25% a 30% (BOROBIA, ROMERO *et al.*, 2009; HEILMAN, CORTESE *et al.*, 2012; OH, KIM *et al.*, 2012). A elevada incidência de RACP neste estudo está provavelmente relacionada aos melhores mecanismos de predição da rejeição empregados, como os limites rigorosos para o aumento de creatinina que levam os clínicos responsáveis a indicar biópsia, além das biópsias protocolares programadas (MJÖRNSTEDT, SØRENSEN *et al.*, 2012). Sabendo-se da importância da incidência de rejeição aguda como fator prognóstico para a sobrevida do paciente e do enxerto (HARADA, MANDIA-SAMPAIO *et al.*, 2009), e que esse elevado índice encontrado não refletiu no aumento da perda do enxerto ou óbito, mostra-se a eficácia do protocolo de estudo proposto.

Durante os seis meses de estudo, 35% dos pacientes apresentaram nefropatia crônica do enxerto, não havendo diferença na incidência entre os grupos estudados. Estudos mais antigos apontam os inibidores de calcineurina como as principais causas não imunológicas da disfunção crônica do enxerto (NANKIVELL, BORROWS *et al.*, 2003; NANKIVELL, BORROWS *et al.*, 2004). O pequeno tempo de observação neste estudo não permite inferir que pacientes tratados com tacrolimo ou submetidos à conversão para sirolimo estão mais ou menos propensos a NCE. Vale ressaltar que estudos mais recentes indicam que os ICN, utilizados em

esquemas mais modernos tem um papel menor na progressão de alterações histológicas crônicas dos enxertos, mas contribuem para a deterioração da função renal (GANJI E HARRIRIAN, 2012).

Os parâmetros de função renal e bioquímicos avaliados não diferiram entre os grupos no pré-Tx, corroborando a boa randomização dos grupos. No terceiro mês de estudo os grupos mantiveram similaridade no perfil metabólico e função renal, o que já era esperado, visto que estes ainda mantinham o mesmo esquema imunossupressor. Estes resultados contribuíram para a visualização das diferenças entre os tratamentos após a randomização do estudo.

Os pacientes do grupo SRL apresentaram no sexto mês de segmento valores menores de ureia quando comparados com o grupo TAC, indicando uma possível relação do uso sirolimo com a melhora da função renal, como já descrito por estudos anteriores (WALI, MOHANLAL *et al.*, 2007; SCHENA, PASCOE *et al.*, 2009). Ao final do estudo, os pacientes do grupo SRL apresentaram valores de colesterol total e LDL colesterol mais elevados do que o grupo TAC. Também apresentaram um aumento maior de triglicérides entre o pré-Tx e o sexto mês de estudo. Este perfil lipídico mais aterogênico apresentado pelo grupo SRL foi demonstrado já nos primeiros trabalhos sobre a eficácia do sirolimo em transplantados renais, onde hipertriglicemia e hipercolesterolemia destacaram-se como principais efeitos colaterais deste medicamento (GROTH, BÄCKMAN *et al.*, 1999; KAHAN, 2000). Resultados recentes publicados por grupos que propõe a conversão de INC para inibidores da mTOR também tem mostrado a piora no perfil lipídico dos grupos tratados com esta classe de imunossupressores (CLAES, MEIER-KRIESCHE *et al.*, 2012; GUBA, PRATSCHKE *et al.*, 2012).

O surgimento da diabetes em transplantados renais tem sido reconhecido como um evento comum. Os receptores renais estão mais propensos a resistência a insulina, hipertensão arterial e hiperlipidemia que juntamente com a hiperglicemia compõe a síndrome metabólica, que leva a problemas coronarianos (CRUTCHLOW e BLOOM, 2007). No entanto, em nosso estudo, ambos os tratamentos promoveram significativa melhora no perfil glicêmico dos pacientes. Os valores de glicose encontrados no sexto mês (TAC: 93 mg/dL e SRL: 96 mg/dL) são similares aos valores de glicose divulgados pelo estudo *Symphony* (2012) para os grupos tratados com tacrolimo (101 mg/dL) ou sirolimo (98 mg/dL) ao final de um ano de segmento (CLAES, MEIER-KRIESCHE *et al.*, 2012). O impacto de regimes imunossupressores

baseados em tacrolimo ou sirolimo na ocorrência de hiperglicemia após o transplante renal ainda é controversa. Embora o sirolimo apresente toxicidade às células β e os inibidores de calcineurina interfiram na função destas células, prejudicando a expressão do gene da insulina (CRUTCHLOW E BLOOM, 2007), baixas doses destes imunossupressores parecem não afetar de forma significativa os valores de glicemia, sendo a obesidade o principal fator na ocorrência da resistência a insulina em transplantados renais (SAŞAK, SEZER *et al.*, 2011).

A manutenção de níveis sanguíneos terapêuticos dos imunossupressores é um dos fatores determinantes para um transplante renal bem sucedido.

O tacrolimo é uma substância de baixa depuração, podendo levar vários dias para atingir um estágio estacionário. Neste protocolo as doses foram sempre ajustadas para manter a concentração sanguínea na faixa terapêutica entre 5 e 15ng/mL. Em nosso estudo o melhor aproveitamento da droga ocorreu a partir do segundo mês com valores maiores de Co/Do. A dose de sirolimo manteve-se estável nos momentos avaliados. Isso se deve ao protocolo de imunossupressão utilizado, com uma dose de ataque de 5mg na conversão, seguido de manutenção com 3mg por 7 dias, quando então a dose foi ajustada para manter as concentrações sanguíneas entre 5 e 10ng/ml, atingindo o equilíbrio nas primeiras semanas, antes de nossa primeira avaliação.

A frequência encontrada para o alelo A do *PPP3CA* c.249G>A foi de 7% na população de estudo e não diferiu entre os grupos TAC e SRL. Esta frequência foi estatisticamente diferente ($p < 0,05$) das encontradas nas populações africana (19%), norte americana (1%) e asiática (2%). No entanto foram similares às encontradas num conjunto de 26 populações que incluíam asiáticos, americanos, europeus e africanos (5%; $\chi^2 = 1,279$, 1gl, $p = 0,258$).

A frequência encontrada para o alelo G do SNP *MTOR* c.4731G>A em nosso estudo (41%) foi significativamente diferente das frequências encontradas nas populações africana (92%), americana (30%), asiática (18%) e europeia (26%). No entanto, foi estatisticamente semelhante a frequência encontrada num conjunto de 26 populações já citadas anteriormente (39%, $\chi^2 = 0,401$; 1 gl; $p = 0,526$). A frequência do alelo T do SNP *MTOR* c.1437T>C (38%) foi estatisticamente semelhante ao conjunto de populações variadas (34%, $\chi^2 = 1,876$, 1gl, $p = 0,171$) e diferente das populações separadas em blocos homogêneos (africana: 77%, norte americana: 25%, asiática: 12% e europeia 27%). Para o polimorfismo *MTOR*

c.2997C>T, a frequência do alelo C (31%) foi estatisticamente diferente ($p<0,05$) das frequências encontradas nas populações africana (67%), norte americana (20%) e asiática (9%). Foi significativamente similar as frequências encontradas na população europeia (27%, $\chi^2=1,871$, 1 gl, $p=0,171$) e no conjunto misto de populações (30%, $\chi^2=0,101$, 1gl, $p=0,751$). As frequências para comparação aqui utilizadas foram obtidas pelo banco de dados Esembl (<http://www.esembl.org>) (CHEN, CUNNINGHAM *et al.*, 2010), cedidas pelo consórcio *1000 Genomes*, que permite a comparação de frequências com populações variadas (CONSORTIUM, 2010). Estes achados refletem a alta miscigenação na população brasileira e indicam que a extrapolação de dados farmacogenéticos de populações homogêneas não é aplicável à maioria dos brasileiros (SUAREZ-KURTZ, 2009).

Neste trabalho, o polimorfismo *PPP3CA* c.246G>A não foi associado a dose diária de tacrolimo ou sirolimo. Já a concentração sanguínea de tacrolimo foi menor nos portadores do alelo A no terceiro dia e terceiro mês de estudo. No entanto, estes apresentaram no geral valores menores de Co/Do de tacrolimo durante os três primeiros meses de tratamento, sugerindo um pior aproveitamento do medicamento. Ressalta-se que os portadores do alelo A tiveram uma maior variação na dose recebida de tacrolimo e também na concentração sanguínea ao longo do tempo, indicando que este alelo pode estar relacionado a uma maior variabilidade na resposta ao tacrolimo. A grande variabilidade interindividual em imunossuppressores está associada a um risco aumentado de toxicidade e rejeição (WARE e MACPHEE, 2010). No entanto, polimorfismo não foi associado a rejeição renal aguda confirmada por biópsia ou a nefropatia crônica do enxerto.

O SNP *PPP3CA* c.246G>A também foi associado a uma redução não significativa de ureia nos portadores do alelo A do grupo SRL. Porém, o baixo número de indivíduos avaliados e o grande desvio padrão encontrado pode ser um artefato na interpretação deste resultado. A mesma dificuldade apresentou-se para a avaliação dos dados bioquímicos. Os portadores do alelo raro não apresentaram variação significativa nos parâmetros bioquímicos entre o pré-tx e o sexto mês de estudo. No grupo TAC, o alelo raro foi relacionado a menores valores de triglicérides no pré-tx e no grupo SRL uma menor variação de LDL-colesterol.

A despeito dos fracos indícios obtidos neste estudo da relação do SNP *PPP3CA* c.249G>A com a resposta farmacológica ao tacrolimo e sirolimo, não se descarta a possibilidade de melhores resultados em populações maiores. Além

disso, o *PPP3CA* pode estar relacionado a efeitos colaterais da imunossupressão baseada em ICN que não foram aqui explorados. A posição chave deste gene nas vias de sinalização dependentes de cálcio pode ser um fator de impacto na perda óssea após transplante renal relacionada aos INC (SUN, ZHU *et al.*, 2007).

Os polimorfismos do *MTOR* foram relacionados à concentração sanguínea corrigida pela dose de tacrolimo. Os portadores dos alelos raros G, T e C dos polimorfismos c.4731G>A, c.14337T>C e c.2997C>T, respectivamente, apresentaram valores de Co/Do de tacrolimo menores em relação ao não portadores destes alelos. As diferenças significativas ocorreram principalmente nos primeiros três meses de estudo. A concentração sanguínea de tacrolimo foi no geral menor nos portadores dos alelos raros, sendo significativamente menor no décimo quarto dia. Doses maiores de tacrolimo foram associadas aos alelos T do c.14337T>C e C do c.2997C>T. No sexto mês de estudo, os portadores dos alelos raros receberam doses de sirolimo significativamente maiores do que os não portadores. O alelo T do polimorfismo c.1437T>C foi associado a menores valores de Co/Do de sirolimo.

A principal associação demonstrada nestes resultados é a necessidade de doses maiores por parte dos portadores dos alelos raros para alcançar os mesmo níveis sanguíneos dos não portadores. No entanto, os valores sanguíneos alcançados e as doses recebidas pelos diferentes genótipos não estão fora dos padrões terapêuticos.

A fim de ampliar o conhecimento sobre a influência dos polimorfismos c.1437T>C, c.2997C>T e c.4731G>A do *MTOR* e possibilitar o uso destes como marcadores preditivos na escolha da imunossupressão mais adequada, realizou-se o estudo de desequilíbrio de ligação e de haplótipos.

O maior desequilíbrio de ligação foi encontrado entre os polimorfismos c.1437T>C e c.2997C>T, que estão localizados em regiões próximas no gene *MTOR*.

Nos três primeiros meses de estudo, o haplótipo TC formado pelos genótipos do *MTOR* c.2997TT e c.1437CC receberam doses menores de tacrolimo e apresentaram a melhor relação Co/Do. Foi possível observar que após a randomização, o haplótipo TC continuou associado a menores doses de tacrolimo e de sirolimo e manteve a tendência de melhores índices de Co/Do de ambos os fármacos.

As mutações no *MTOR* pode conferir um fenótipo de resistência a imunossupressores inibidores da mTOR como foi demonstrado em linhagens celulares de mamíferos (HUANG, BJORNSTI *et al.*, 2003; PICARD e MARQUET, 2011). No entanto, nenhum estudo de associação entre tais polimorfismos e sirolimo ou everolimo foi publicado até agora.

Os resultados obtidos até o momento sugerem os polimorfismos do *MTOR* como promissores preditores da dose dos imunossupressores tacrolimo e sirolimo. Contudo, fatores importantes na resposta terapêutica não foram foco deste estudo. A concentração sanguínea dos fármacos está associada também com o estado de doença, funções renal e hepáticas, níveis hormonais, interações medicamentosas, dieta, estilo de vida e a farmacocinética do medicamento (PICARD e marquet, 2011).

Diversos estudos tem proposto correlacionar SNPs em genes de enzimas metabolizadoras, transportadoras e de metabolismo de fármacos. Mesmo nestes estudos há divergências no impacto real dos polimorfismos na resposta clínica aos imunossupressores (ROSSO FELIPE, DE SANDES *et al.*, 2009). Estudo recente avaliou genes de 96 SNP em 16 genes de enzima metabolizadoras de fármacos, incluindo genes da família cyp-P450, responsável pela metabolização do tacrolimo. Apenas dois SNPs CYP3A5 (rs776746) e CYP3A4 (rs2740574) tiveram impacto clínico nas doses requeridas para se alcançar valores terapêuticos de tacrolimo (TAVIRA, COTO *et al.*, 2011). Estudo sobre o efeito de polimorfismos na ação do sirolimo são mais raros. Alguns estudos mostraram que portadores do alelo CY3A5*1 apresentam piores índices de Co/Do e precisam de maiores doses para atingir concentrações sanguíneas terapêuticas (THERVET, ANGLICHEAU *et al.*, 2008). No entanto, quando o uso de sirolimo é concomitante com um inibidor de calcinurina o efeito deste polimorfismo parece não ser significativo (MACPHEE, 2012; MOES, PRESS *et al.*, 2012).

Chama a atenção o fato do *MTOR* mostrar ligação com as doses requeridas e Co/Do de tacrolimo, mesmo não estando presente na via direta de ação deste fármaco. Uma possibilidade é que este gene não está atuando diretamente sobre a resposta farmacológica deste imunossupressor, mas está ligado a outro gene, por exemplo genes codificantes de enzimas transportadoras ou metabolizadoras de fármacos que atuam na biodisponibilidade do tacrolimo, sendo então a associação do *MTOR* com este parâmetro apenas um reflexo da atividade de outros genes. Há ainda a possibilidade dos polimorfismos estudados estarem relacionados a

ancestralidade da população. Sabe-se que pacientes afrodescendentes necessitam de doses maiores de TAC para obterem uma boa resposta farmacológica (Felipe, Silva *et al.*, 2002). Uma limitação deste estudo é não estar neste momento utilizando a etnia dos pacientes como parâmetro de avaliação, haja visto que esta foi auto declarada e não confirmada por ensaios de ancestralidade.

Os polimorfismos c.1437T>C e c.4731G>A foram associados a parâmetros de função renal no grupo TAC. O alelo G do SNP c.4731G>A relacionou-se a valores menores de ureia no pré-Tx, menor redução de ureia e creatinina entre o pré-Tx e o sexto mês de estudo. O alelo T do SNP c.1437T>C também foi relacionado a menores valores de ureia no pré-Tx e menor redução de creatinina. A menor redução de ureia e creatinina nesses indivíduos pode indicar a relação destes SNP com a piora tardia da função do enxerto.

Os SNP do *MTOR* foram relacionados há um perfil lipídico menos aterogênico nos paciente do grupo SRL. Os portadores do alelo C do SNP c.2997C>T apresentaram menor aumento de colesterol total e LDL colesterol entre o pré-tx e o sexto mês de estudo, maiores valores de HDL colesterol no pré-tx e menores valores de triglicérides no sexto mês de estudo. Os portadores do alelo T do SNP c.1437T>C apresentaram menor aumento de colesterol total, LDL colesterol, VLDL colesterol e triglicérides. No sexto mês de estudo apresentaram menores valores de triglicérides em relação aos não portadores do alelo. Os portadores do alelo G do SNP c.4731G>A tiveram variação menor de colesterol total, VLDL colesterol e triglicérides. Como discutido anteriormente, os pacientes que fazem terapia baseada em sirolimo estão mais propensos a desenvolverem dislipidemia. Nossos achados indicam que os pacientes portadores dos alelos raros podem se beneficiar mais com tratamento baseado em inibidores da mTOR do que aqueles que apresentam os genótipos polimórficos.

Não foi encontrada relação dos polimorfismos do *MTOR* estudados e a rejeição aguda comprovada por biópsia ou com a nefropatia crônica do enxerto.

Este estudo apresenta novidades importantes na farmacogenética dos imunossupressores tacrolimo e sirolimo. A associação de polimorfismos dos genes *MTOR* e *PPP3CA* com a resposta ao tratamento com tacrolimo e sirolimo, bem como o estudo de haplótipos do gene *MTOR* contribuem para um maior entendimento da influência dos polimorfismos de genes alvo na resposta aos imunossupressores.

6 CONCLUSÕES

As frequências alélicas dos polimorfismos *MTOR* c.4731G>A, c.1437T>C, c.2993C>T e *PPP3CA* c.249G>A deste estudo são diferentes das encontradas em populações homogêneas, mas similares às encontradas no conjunto de diferentes populações.

O polimorfismo *PPP3CA* c.249G>A influencia a concentração sanguínea corrigida pela dose de tacrolimo nos primeiros 3 meses de tratamento. Portadores do alelo raro deste SNP estão sujeitos a apresentar menor concentração sanguínea, mesmo recebendo doses de tacrolimo similares aos não portadores.

O alelo A do SNP *PPP3CA* c.249G>A foi relacionado a uma menor variação de LDL-colesterol em pacientes submetidos a imunossupressão convertida para sirolimo, indicando que pacientes com esta variante genética estão menos expostos a hipercolesterolemia associada a imunoterapia baseada em sirolimo.

Os polimorfismos do *MTOR* c.1427T>C, c.2997C>T e c.4731G>A influenciam a dose e a concentração sanguínea corrigida pela dose de tacrolimo nos primeiros 3 meses de tratamento. Esses polimorfismos também foram relacionados com a dose e concentração corrigida pela dose de sirolimo. Portadores dos alelos raros destes polimorfismos podem ser mais expostos aos efeitos destes imunossupressores.

Os polimorfismos do *MTOR* c.1427T>C, c.2997C>T e c.4731G>A estão associados a um melhor perfil lipídico em pacientes submetidos imunossupressão baseada em sirolimo. Portadores dos alelos raros destes polimorfismos estão menos expostos a dislipidemia associada ao tratamento com sirolimo.

Não foi encontrada relação dos polimorfismos estudados e a rejeição aguda comprovada por biópsia ou com a nefropatia crônica do enxerto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABTO, Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos. **Registro Brasileiro de Transplantes**. São Paulo. XVIII: 21 p. 2012.

_____. Registro Brasileiro de Transplantes. São Paulo, 2010. Disponível em: < http://www.abto.org.br/abto02/portugues/profissionais/rbt/anoXVI_n4_completo/index.aspx >. Acesso em: 20 de junho.

_____. Registro Brasileiro de Transplantes. São Paulo, 2011. Disponível em: < <http://www.abto.org.br/abto02/portugues/profissionais/rbt/mensagemRestrita.aspx?idCategoria=2> >. Acesso em: 20 de junho.

ANGLICHEAU, D.; LEGENDRE, C.; THERVET, E. Pharmacogenetics of tacrolimus and sirolimus in renal transplant patients: from retrospective analyses to prospective studies. **Transplant Proc**, v. 39, n. 7, p. 2142-4, Sep 2007.

ARAKI, K. *et al.* mTOR regulates memory CD8 T-cell differentiation. **Nature**, v. 460, n. 7251, p. 108-12, Jul 2009.

BACZKOWSKA, T.; DURLIK, M. Calcineurin inhibitor sparing immunosuppressive regimens in kidney allograft recipients. **Pol Arch Med Wewn**, v. 119, n. 5, p. 318-25, May 2009.

BARRETT, J. C. *et al.* Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics**, v. 21, n. 2, p. 263-5, Jan 2005.

BOROBIA, A. M. *et al.* Trough tacrolimus concentrations in the first week after kidney transplantation are related to acute rejection. **Ther Drug Monit**, v. 31, n. 4, p. 436-42, Aug 2009.

BROGAN, I. J.; PRAVICA, V.; HUTCHINSON, I. V. Genetic conservation of the immunophilin-binding domains of human calcineurin A1 and A2. **Transpl Immunol**, v. 8, n. 2, p. 139-41, Jun 2000.

BROUARD, S. *et al.* Identification of a peripheral blood transcriptional biomarker panel associated with operational renal allograft tolerance. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 104, n. 39, p. 15448-53, Sep 2007.

CHEN, Y. *et al.* Ensembl variation resources. **BMC Genomics**, v. 11, p. 293, 2010.

CHERCHIGLIA, M. L. *et al.* Perfil epidemiológico dos pacientes em terapia renal substitutiva no Brasil, 2000-2004. **Revista de Saúde Pública**. São Paulo. 44: 639-649 p. 2010.

CHHABRA, D. *et al.* Long-term kidney allograft function and survival in prednisone-free regimens: tacrolimus/mycophenolate mofetil versus tacrolimus/sirolimus. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 7, n. 3, p. 504-12, Mar 2012.

CHI, H. Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions. **Nat Rev Immunol**, v. 12, n. 5, p. 325-38, May 2012.

CHIOCCO, M. J. *et al.* Fine mapping of calcineurin (PPP3CA) gene reveals novel alternative splicing patterns, association of 5'UTR trinucleotide repeat with addiction vulnerability, and differential isoform expression in Alzheimer's disease. **Subst Use Misuse**, v. 45, n. 11, p. 1809-26, Sep 2010.

CLAES, K. *et al.* Effect of different immunosuppressive regimens on the evolution of distinct metabolic parameters: evidence from the Symphony study. **Nephrol Dial Transplant**, v. 27, n. 2, p. 850-7, Feb 2012.

CONSORTIUM, G. P. A map of human genome variation from population-scale sequencing. **Nature**, v. 467, n. 7319, p. 1061-73, Oct 2010.

CRUTCHLOW, M. F.; BLOOM, R. D. Transplant-associated hyperglycemia: a new look at an old problem. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 2, n. 2, p. 343-55, Mar 2007.

D'ALESSANDRO, M. *et al.* Falsely elevated tacrolimus concentrations measured using the ACMA method due to circulating endogenous antibodies in a kidney transplant recipient. **Clin Chim Acta**, Nov 2010.

DEMIRKIRAN, A. *et al.* Impact of immunosuppressive drugs on CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells: does in vitro evidence translate to the clinical setting? **Transplantation**, v. 85, n. 6, p. 783-9, Mar 2008.

EVANS, W.; JOHNSON, J. Pharmacogenomics: the inherited basis for interindividual differences in drug response. **Annu Rev Genomics Hum Genet**, v. 2, p. 9-39, 2001.

EVANS, W.; RELLING, M. Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. **Nature**, v. 429, n. 6990, p. 464-8, May 2004.

FELIPE, C. *et al.* Clinical impact of polymorphisms of transport proteins and enzymes involved in the metabolism of immunosuppressive drugs. **Transplant Proc**, v. 41, n. 5, p. 1441-55, Jun 2009.

_____. The impact of ethnic miscegenation on tacrolimus clinical pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring. **Clin Transplant**, v. 16, n. 4, p. 262-72, Aug 2002.

FENG, B.; STEMMER, P. Interactions of calcineurin A, calcineurin B, and Ca²⁺. **Biochemistry**, v. 38, n. 38, p. 12481-9, Sep 1999.

GANJI, M. R.; HARRIRIAN, A. Chronic allograft dysfunction: major contributing factors. **Iran J Kidney Dis**, v. 6, n. 2, p. 88-93, Mar 2012.

GROTH, C. G. *et al.* Sirolimus (rapamycin)-based therapy in human renal transplantation: similar efficacy and different toxicity compared with cyclosporine. Sirolimus European Renal Transplant Study Group. **Transplantation**, v. 67, n. 7, p. 1036-42, Apr 1999.

GUBA, M. *et al.* Early conversion to a sirolimus-based, calcineurin-inhibitor-free immunosuppression in the SMART trial: observational results at 24 and 36months after transplantation. **Transpl Int**, v. 25, n. 4, p. 416-23, Apr 2012.

GUERINI, D.; KLEE, C. B. Cloning of human calcineurin A: evidence for two isozymes and identification of a polyproline structural domain. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 86, n. 23, p. 9183-7, Dec 1989.

HAN, D. J. *et al.* A 39-month follow-up study to evaluate the safety and efficacy in kidney transplant recipients treated with modified-release tacrolimus (FK506E)-based immunosuppression regimen. **Transplant Proc**, v. 44, n. 1, p. 115-7, Jan 2012.

HARADA, K. M. *et al.* Risk factors associated with graft loss and patient survival after kidney transplantation. **Transplant Proc**, v. 41, n. 9, p. 3667-70, Nov 2009.

HE, Z. *et al.* Polymorphisms in the calcineurin genes are associated with the training responsiveness of cardiac phenotypes in Chinese young adults. **Eur J Appl Physiol**, v. 110, n. 4, p. 761-7, Nov 2010.

HE, Z. H. *et al.* Polymorphisms in the calcineurin genes are associated with the training responsiveness of cardiac phenotypes in Chinese young adults. **Eur J Appl Physiol**, v. 110, n. 4, p. 761-7, Nov 2010.

HEEGER, P. S.; DINAHAHI, R. Transplant immunology for non-immunologist. **Mt Sinai J Med**, v. 79, n. 3, p. 376-87, May 2012.

HEILMAN, R. L. *et al.* Impact of early conversion from tacrolimus to sirolimus on chronic allograft changes in kidney recipients on rapid steroid withdrawal. **Transplantation**, v. 93, n. 1, p. 47-53, Jan 2012.

HUANG, S.; BJORNSTI, M. A.; HOUGHTON, P. J. Rapamycins: mechanism of action and cellular resistance. **Cancer Biol Ther**, v. 2, n. 3, p. 222-32, 2003 May-Jun 2003.

JIANG, H. *et al.* Distinct tissue and cellular distribution of two major isoforms of calcineurin. **Mol Immunol**, v. 34, n. 8-9, p. 663-9, Jun 1997.

JOHNSON, G. C. *et al.* Haplotype tagging for the identification of common disease genes. **Nat Genet**, v. 29, n. 2, p. 233-7, Oct 2001.

KAHAN, B. Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. The Rapamune US Study Group. **Lancet**, v. 356, n. 9225, p. 194-202, Jul 2000.

KATSAKIORI, P. *et al.* Factors affecting the long-term response to tacrolimus in renal transplant patients: pharmacokinetic and pharmacogenetic approach. **Int J Med Sci**, v. 7, n. 2, p. 94-100, 2010.

KISSINGER, C. R. *et al.* Crystal structures of human calcineurin and the human FKBP12-FK506-calcineurin complex. **Nature**, v. 378, n. 6557, p. 641-4, Dec 1995.

KLEE, C.; REN, H.; WANG, X. Regulation of the calmodulin-stimulated protein phosphatase, calcineurin. **J Biol Chem**, v. 273, n. 22, p. 13367-70, May 1998.

LEVY, G. Progress in transplantation. **Ther Drug Monit**, v. 32, n. 3, p. 246-9, Jun 2010.

LEWONTIN, R. C. The Interaction of Selection and Linkage. I. General Considerations; Heterotic Models. **Genetics**, v. 49, n. 1, p. 49-67, Jan 1964.

MACPHEE, I. Use of pharmacogenetics to optimize immunosuppressive therapy. **Ther Drug Monit**, v. 32, n. 3, p. 261-4, Jun 2010.

MACPHEE, I. A. Pharmacogenetic biomarkers: cytochrome P450 3A5. **Clin Chim Acta**, v. 413, n. 17-18, p. 1312-7, Sep 2012.

MJÖRNSTEDT, L. *et al.* Improved Renal Function After Early Conversion From a Calcineurin Inhibitor to Everolimus: a Randomized Trial in Kidney Transplantation. **Am J Transplant**, Jul 2012.

MOES, D. J. *et al.* Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of everolimus in renal transplant patients. **Clin Pharmacokinet**, v. 51, n. 7, p. 467-80, Jul 2012.

MOURAD, M. *et al.* Sirolimus and tacrolimus trough concentrations and dose requirements after kidney transplantation in relation to CYP3A5 and MDR1 polymorphisms and steroids. **Transplantation**, v. 80, n. 7, p. 977-84, Oct 2005.

NANKIVELL, B. *et al.* Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: longitudinal assessment by protocol histology. **Transplantation**, v. 78, n. 4, p. 557-65, Aug 2004.

NANKIVELL, B. J. *et al.* The natural history of chronic allograft nephropathy. **N Engl J Med**, v. 349, n. 24, p. 2326-33, Dec 2003.

NEUHAUS, P.; KLUPP, J.; LANGREHR, J. mTOR inhibitors: an overview. **Liver Transpl**, v. 7, n. 6, p. 473-84, Jun 2001.

OH, C. K. *et al.* Prospective controlled protocol for three months steroid withdrawal with tacrolimus, basiliximab, and mycophenolate mofetil in renal transplant recipients. **J Korean Med Sci**, v. 27, n. 4, p. 337-42, Apr 2012.

OLIVEIRA, M. B.; ROMÃO, J. E.; ZATZ, R. End-stage renal disease in Brazil: epidemiology, prevention, and treatment. **Kidney Int Suppl**, n. 97, p. S82-6, Aug 2005.

PERRINO, B. *et al.* Substrate selectivity and sensitivity to inhibition by FK506 and cyclosporin A of calcineurin heterodimers composed of the alpha or beta catalytic subunit. **Eur J Biochem**, v. 269, n. 14, p. 3540-8, Jul 2002.

PERRY, I.; NEUBERGER, J. Immunosuppression: towards a logical approach in liver transplantation. **Clin Exp Immunol**, v. 139, n. 1, p. 2-10, Jan 2005.

PICARD, N.; MARQUET, P. The influence of pharmacogenetics and cofactors on clinical outcomes in kidney transplantation. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, v. 7, n. 6, p. 731-43, Jun 2011.

PRESS, R. R.; DE FIJTER, J. W.; GUCHELAAR, H. J. Individualizing calcineurin inhibitor therapy in renal transplantation--current limitations and perspectives. **Curr Pharm Des**, v. 16, n. 2, p. 176-86, 2010.

RAO, R. R. *et al.* The mTOR kinase determines effector versus memory CD8+ T cell fate by regulating the expression of transcription factors T-bet and Eomesodermin. **Immunity**, v. 32, n. 1, p. 67-78, Jan 2010.

RODRÍGUEZ, A. *et al.* A conserved docking surface on calcineurin mediates interaction with substrates and immunosuppressants. **Mol Cell**, v. 33, n. 5, p. 616-26, Mar 2009.

ROSSO FELIPE, C. *et al.* Clinical impact of polymorphisms of transport proteins and enzymes involved in the metabolism of immunosuppressive drugs. **Transplant Proc**, v. 41, n. 5, p. 1441-55, Jun 2009.

RUSNAK, F.; MERTZ, P. Calcineurin: form and function. **Physiol Rev**, v. 80, n. 4, p. 1483-521, Oct 2000.

SAMANIEGO, M.; BECKER, B. N.; DJAMALI, A. Drug insight: maintenance immunosuppression in kidney transplant recipients. **Nat Clin Pract Nephrol**, v. 2, n. 12, p. 688-99, Dec 2006.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning a laboratory manual assoc. authors Nina Irwin,... Kaaren A. Janssen.** 3rd ed. Cold Spring Harbor (N.Y.): Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 3 vol. (pagination multiple)

SAUNDERS, R.; METCALFE, M.; NICHOLSON, M. Rapamycin in transplantation: a review of the evidence. **Kidney Int**, v. 59, n. 1, p. 3-16, Jan 2001.

SAŞAK, G. *et al.* Factors associated with insulin resistance after long-term renal transplantation. **Transplant Proc**, v. 43, n. 2, p. 575-7, Mar 2011.

SCHENA, F. *et al.* Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. **Transplantation**, v. 87, n. 2, p. 233-42, Jan 2009.

SEHGAL, S. Sirolimus: its discovery, biological properties, and mechanism of action. **Transplant Proc**, v. 35, n. 3 Suppl, p. 7S-14S, May 2003.

SHRESTHA, B. Strategies for reducing the renal transplant waiting list: a review. **Exp Clin Transplant**, v. 7, n. 3, p. 173-9, Sep 2009.

SINGH, N.; NORI, U.; PESAVENTO, T. Kidney transplantation in the elderly. **Curr Opin Organ Transplant**, v. 14, n. 4, p. 380-5, Aug 2009.

STEPKOWSKI, S. M. Molecular targets for existing and novel immunosuppressive drugs. **Expert Rev Mol Med**, v. 2, n. 4, p. 1-23, Jun 2000.

STRIMPAKOS, A. *et al.* The role of mTOR in the management of solid tumors: an overview. **Cancer Treat Rev**, v. 35, n. 2, p. 148-59, Apr 2009.

SUAREZ-KURTZ, G. Pharmacogenomics and the genetic diversity of the Brazilian population. **Cad Saude Publica**, v. 25, n. 8, p. 1650-1, Aug 2009.

SUN, L. *et al.* Cellular and molecular consequences of calcineurin A alpha gene deletion. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1116, p. 216-26, Nov 2007.

SUS. Indicadores de morbidade e fatores de risco., Brasília, 2008. Disponível em: < <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?idb2009/a01.def> >. Acesso em: 20 de junho.

TAVIRA, B. *et al.* Pharmacogenetics of tacrolimus after renal transplantation: analysis of polymorphisms in genes encoding 16 drug metabolizing enzymes. **Clin Chem Lab Med**, v. 49, n. 5, p. 825-33, May 2011.

THERVET, E. *et al.* Role of pharmacogenetics of immunosuppressive drugs in organ transplantation. **Ther Drug Monit**, v. 30, n. 2, p. 143-50, Apr 2008.

_____. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. **Clin Pharmacol Ther**, v. 87, n. 6, p. 721-6, Jun 2010.

VERVOORT, G.; WILLEMS, H.; WETZELS, J. Assessment of glomerular filtration rate in healthy subjects and normoalbuminuric diabetic patients: validity of a new (MDRD) prediction equation. **Nephrol Dial Transplant**, v. 17, n. 11, p. 1909-13, Nov 2002.

WALI, R. *et al.* Early withdrawal of calcineurin inhibitors and rescue immunosuppression with sirolimus-based therapy in renal transplant recipients with moderate to severe renal dysfunction. **Am J Transplant**, v. 7, n. 6, p. 1572-83, Jun 2007.

WANG, M. G. *et al.* Calcineurin A alpha (PPP3CA), calcineurin A beta (PPP3CB) and calcineurin B (PPP3R1) are located on human chromosomes 4, 10q21-->q22 and 2p16-->p15 respectively. **Cytogenet Cell Genet**, v. 72, n. 2-3, p. 236-41, 1996.

WARE, N.; MACPHEE, I. A. Current progress in pharmacogenetics and individualized immunosuppressive drug dosing in organ transplantation. **Curr Opin Mol Ther**, v. 12, n. 3, p. 270-83, Jun 2010.

WEINSHILBOUM, R. Inheritance and drug response. **N Engl J Med**, v. 348, n. 6, p. 529-37, Feb 2003.

WOLFE, R. *et al.* Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. **N Engl J Med**, v. 341, n. 23, p. 1725-30, Dec 1999.

WU, Y. *et al.* FOXP3 controls regulatory T cell function through cooperation with NFAT. **Cell**, v. 126, n. 2, p. 375-87, Jul 2006. ISSN 0092-8674.

YU, S. F.; WU, L. H.; ZHENG, S. S. Genetic factors for individual administration of immunosuppressants in organ transplantation. **Hepatobiliary Pancreat Dis Int**, v. 5, n. 3, p. 337-44, Aug 2006.

ZAZA, G. *et al.* Pharmacogenomics: a new paradigm to personalize treatments in nephrology patients. **Clin Exp Immunol**, v. 159, n. 3, p. 268-80, Mar 2010.

ZHAO, H.; PFEIFFER, R.; GAIL, M. H. Haplotype analysis in population genetics and association studies. **Pharmacogenomics**, v. 4, n. 2, p. 171-8, Mar 2003.

ZHAO, W.; FAKHOURY, M.; JACQZ-AIGRAIN, E. Developmental pharmacogenetics of immunosuppressants in pediatric organ transplantation. **Ther Drug Monit**, v. 32, n. 6, p. 688-99, Dec 2010.

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo / Hospital São Paulo

<small>UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO</small>	<small>Universidade Federal de São Paulo Escola Paulista de Medicina</small>	<small>Comitê de Ética em Pesquisa Hospital São Paulo</small>
São Paulo, 22 de janeiro de 2010. CEP 0054/08 CONEP		
<p>Ilmo(a). Sr(a). Pesquisador(a) HÉLIO TEDESCO SILVA JÚNIOR Disciplina/Departamento: Nefrologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo</p> <p>Ref: Projeto de pesquisa intitulado: "Estudo randomizado aberto, multicêntrico para avaliar a eficácia e a segurança de um regime imunossupressivo com base em sirolimo introduzido aos 3 meses após transplante renal, em comparação com um regime contínuo com base em tacrolimo em paciente com transplante renal de novo ("Brazilian Initiative Program")".</p> <p>Prezado(a) Pesquisador(a),</p> <p>O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo ANALISOU e APROVOU Emenda 5 (versão de 09/Dez/2009) do projeto de pesquisa acima referenciado.</p> <p>Atenciosamente,</p> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;"> </div> <p>Profa. Dra. Maria Del Carmen Janeiro Perez Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo</p> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;"><small>CEP 0054/08</small></div>		
<hr/> <small>Rua Botucatu, 572 - 1º andar – conj. 14 - CEP 04023-062 - São Paulo / Brasil Tel.: (011) 5571-1062 - 5539.7162</small>		

**ANEXO B - Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas / USP**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Assistência Técnica Acadêmica

Ofício CEP/FCF/93/2009

São Paulo, 4 de agosto de 2009.

Ilma. Sra.
Profa. Dra. Rosário Dominguez Crespo Hirata
FBC

Senhora Professora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 3 de agosto de 2009, APROVOU o sub projeto intitulado "Estudos farmacogenômicos e biomarcadores de rejeição aguda" referente ao projeto "Estudo randomizado aberto, multicêntrico para avaliar a eficácia e a segurança de um regime imunossupressivo com base em sirolimo introduzido aos 3 meses após transplante renal, em comparação com um regime contínuo com base em tacrolimo, em paciente com transplante renal de novo" de responsabilidade do Dr. Helio Tedesco Silva Junior.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Mariza Landgraf
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
FCF/USP

ANEXO C – Ficha do aluno

- Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Documento sem validade oficial**FICHA DO ALUNO**

9136 - 6912825/1 - Patricia de Cassia Salgado

Email: patriciasalgado@usp.br
Data de Nascimento: 03/09/1983
Cédula de Identidade: RG - MG12433633 - MG
Local de Nascimento: Estado de Minas Gerais
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Bacharel em Biotecnologia - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - São Paulo - Brasil - 2008

Curso: Mestrado
Programa: Farmácia (Análises Clínicas)
Área: Análises Clínicas
Data de Matrícula: 04/02/2010
Início da Contagem de Prazo: 04/02/2010
Data Limite: 04/08/2012
Orientador: Prof(a). Dr(a). Rosario Dominguez Crespo Hirata - 04/02/2010 até o presente. E.Mail: rosariohirata@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 21/10/2010
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 17/03/2011
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Ingressou no Mestrado em 04/02/2010
Matrícula de Acompanhamento em 18/07/2012

Aluno matriculado nas normas vigentes a partir de 01/07/2009

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 18/07/2012

Impresso em: 02/08/12 20:53:13

- Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9136 - 6912825/1 - Patricia de Cassia Salgado

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBC5761-5/3	Tópicos Avançados em Bioquímica Clínica	02/03/2010	29/03/2010	60	4	100	A	N	Concluída
BIO5710-4/1	Bases Experimentais no Estudo Funcional de Proteínas (Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo)	02/03/2010	14/05/2010	120	0	0	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBC5793-9/2	Tópicos em Análises Clínicas I	08/03/2010	21/06/2010	30	2	85	A	N	Concluída
BTC5779-1/3	DNA Repetitivo e Doenças (Curso Interunidades: Biotecnologia - Universidade de São Paulo)	17/03/2010	18/05/2010	45	3	80	A	N	Concluída
MCM5741-5/3	Temas Avançados em Fisiologia e Fisiopatologia Renal (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	10/05/2010	04/07/2010	120	8	75	A	N	Concluída
FBC5757-3/1	Tópicos em Análises Clínicas II	17/08/2010	14/12/2010	30	2	85	A	N	Concluída
FBC5709-4/3	Biologia Molecular em Análises Clínicas	20/09/2010	24/10/2010	75	5	92	A	N	Concluída
FBA5728-3/1	Aprimoramento Didático	28/09/2010	26/10/2010	60	4	100	A	N	Concluída
MCM5749-3/4	Temas Avançados em Transplante Renal (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	18/10/2010	21/11/2010	75	5	92	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	33
Estágios:			
Total:	0	25	33

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Conceito a partir de 02/01/1997:
A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 18/07/2012

Impresso em: 02/08/12 20:53:13

ANEXO D - Currículo Lattes do aluno**Patricia de Cássia Salgado**

Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome Patricia de Cássia Salgado
Filiação Antonio Carlos Pinto Salgado e Filomena Alvarina de Jesus Salgado
Nascimento 03/09/1983 - Pouso Alegre/MG - Brasil
Carteira de Identidade MG12433633 SSP - MG - 11/05/1999
CPF 064.091.536-19

Endereço residencial Rua Mons. José Paulino, 717
Centro - Pouso Alegre
37550-000, MG - Brasil
Telefone: 35 34231547

Endereço profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - bloco 17 - Laboratório de Biologia Molecular
Aplicada ao Diagnóstico
Butantã - São Paulo
05508-900, SP - Brasil
Telefone: 11 30913660

Endereço eletrônico

E-mail para contato : patriciasalgado@usp.br
e-mail alternativo : patriciasalgado.usp@gmail.com

Formação acadêmica/titulação

2010 Mestrado em Farmácia (Análises Clínicas).
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
Título: Estudo de polimorfismos de MTOR e PPP3CA em receptores de transplante renal e sua relação com a resposta a imunossuppressores
Orientador: Rosario Dominguez Crespo Hirata

2004 - 2008 Graduação em Biotecnologia.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Título: Potencial alelopático dos extratos aquoso e hidroalcoólicos de *Stryphnodendron obovatum* Benth na germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.)
Orientador: Catarina dos Santos

2009 - 2010 Aprimoramento profissional - Diagnóstico Molecular.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, FCF-USP, Brasil
Título: Biologia molecular aplicada ao diagnóstico
Orientador: Mario Hiroyuki Hirata

Formação complementar

2011 - 2011 Curso de curta duração em Haplótipos versus polimorfismos únicos em estudos.

	Sociedade Brasileira de Genética, SBG, Ribeirao Preto, Brasil
2011 - 2011	Curso de curta duração em Next Generation Sequencing. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, FCF-USP, Brasil
2011 - 2011	Curso de curta duração em El componente genético de enfermidades complexas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, FCF-USP, Brasil
2009 - 2010	Programa de Atualização: Biologia Molecular. Universidade de São Paulo, USP, Sao Paulo, Brasil
2007 - 2007	Estágio - Interação molecular planta-praga. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, Brasília, Brasil
2006 - 2006	Extensão universitária em Aspectos Práticos da Histologia. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em Biossegurança. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em Óleos Essenciais: Obtenção, Análise e Aplicações. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
2005 - 2005	Curso de curta duração em A importância do estudo de plantas medicinais para. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
2005 - 2005	Extensão universitária em Os insetos no Ambiente Humano. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
2004 - 2004	Curso de curta duração em Transferência de embriões. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
2004 - 2004	Curso de curta duração em Biossegurança no Laboratório. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil

Atuação profissional

1. Universidade de São Paulo - USP

Vínculo institucional

2010 - Atual	Vínculo: Aluno de Mestrado , Enquadramento funcional: Aluno de Mestrado , Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva
2009 - 2010	Vínculo: Aluno de Aprimoramento , Enquadramento funcional: Aluno de Aprimoramento , Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva

Atividades

2010 - Atual	Projetos de pesquisa, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas <i>Participação em projetos: Estudo da expressão e polimorfismos dos genes MTOR, PPP3CA e PPP3CB em recipientes de transplante renal submetidos à terapia de imunossupressão</i>
---------------------	--

2. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP

Vínculo institucional

2006 - 2008 Vínculo: Outro , Enquadramento funcional: estagiária

Atividades

2006 - 2008 Projetos de pesquisa, Faculdade de Ciências e Letras de Assis
Participação em projetos:
Estudos de atividade alelopática dos extratos de Stryphnodendron obovatum ,
Avaliação das atividades biológicas de Stryphnodendron obovatum

Projetos

2010 - Atual Estudo da expressão e polimorfismos dos genes MTOR, PPP3CA e PPP3CB em recipientes de transplante renal submetidos à terapia de imunossupressão

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa
 Integrantes: Patricia de Cássia Salgado (Responsável); ;
 Financiador(es):

2006 - 2008 Estudos de atividade alelopática dos extratos de Stryphnodendron obovatum

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa
 Integrantes: Patricia de Cássia Salgado; Kolb, Rosana; Catarina (Responsável); Daniel
 Financiador(es):

2006 - 2008 Avaliação das atividades biológicas de Stryphnodendron obovatum

Descrição: Estão sendo feitos os estudos de atividades antioxidantes, antimicrobiana e moluscicida a partir dos extratos aquosos e orgânicos da S. obovatum.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa
 Integrantes: Patricia de Cássia Salgado; Catarina dos Santos (Responsável); Ruiz, A.; Kolb, Rosana; Marta
 Financiador(es):

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. SALGADO, P. C., RODRIGUES, A. C., FELIPE, C. R., H.T. S. Junior, C. Fajardo, J. O. M. Pestana, D. Zetchaku, G. Spinelli, Oliveira, N., M. H. Hirata, HIRATA, R. D. C.
 Effects of MTOR polymorphisms on tacrolimus blood monitoring in kidney transplant recipients In: 57º Congresso Brasileiro de Genética, 2011, Águas de Lindóia.

Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética. , 2011. p.124 - 124

2. SALGADO, P. C., RODRIGUES, A. C., ALVES, C., Oliveira, N., C. Fajardo, M. H. Hirata, FELIPE, C. R., H.T. S. Junior, J. O. M. Pestana, HIRATA, R. D. C.
 RELAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DO GENE MTOR E A CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE SIROLIMO EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE REANAL In: XII Congresso Brasileiro de Transplantes, 2011, Belém.

XII Congresso Brasileiro de Transplantes da ABTO. , 2011.

3. NISHIKAWA, A. M., RODRIGUES, A. C., SALGADO, P. C., ALVES, C., Oliveira, N., DOI, S. Q., M. H. Hirata, FELIPE, C. R., H.T. S. Junior, J. O. M. Pestana, HIRATA, R. D. C.
 VARIANTES DOS GENES CYP3A4, CYP3A5, CYP2J2 E CYP2C8 INFLUENCIAM A

CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE TACROLIMO EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL
In: XII Congresso Brasileiro de Transplantes, 2011, Belém.

XII Congresso Brasileiro de Transplantes da ABTO. , 2011.

4. HIRATA, R. D. C., RODRIGUES, A. C., FELIPE, C. R., H.T. S. Junior, SALGADO, P. C., B. C. Florencio, C. Alves, E. Y. F. Luo, C. Fajardo, J. O. M. Pestana, D. Zetchaku, G. Spinelli, N. Olive, M. H. Hirata

ABCB1 and CYP3A4/5 variants are associated with blood levels of tacrolimus in renal transplant recipients In: 2010 American Association for Clinical Chemistry Annual Meeting, 2010, Anaheim.

CLINICAL CHEMISTRY. , 2010. v.56.

5. SALGADO, P. C., Ruiz, A. L. T. G., Kolb, R. M., dos Santos, C.

Avaliação da capacidade Antioxidante dos Extratos Hidroalcoólicos e Metanólicos das folhas de *Stryphnodendron obovatum* Benth. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia.

31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. , 2008.

6. NUNES, V. A. V, SALGADO, P. C., MELO, N. C., Kolb, R. M., Ruiz, A. L. T. G., SANTOS, C.

Avaliação da Capacidade Antioxidante dos Extratos Orgânicos e Perfil Fitoquímico das folhas de *Stryphnodendron obovatum* Benth In: XX Simpósio de Planta Medicinais do Brasil X International Congress of Ethnopharmacology, 2008, São Paulo.

XX Simpósio de Planta Medicinais do Brasil X International Congress of Ethnopharmacology. , 2008.

7. Daniel Moreto Silvestre, SALGADO, P. C., Ana Flávia de Oliveira Gregol, Alessandra Cazellato de Medeiros, Marta Cristina Teixeira Duarte, Pedro Oliva Neto, Catarina Santos

Antimicrobial Activity of Extracts Obtained From The Waste Residue of *Agave sisalana* In: 1st Brazilian Conference on Natural Products (1st BCNP) or in the XXVII Annual Meeting on Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology (RESEM), 2007, São Paulo.

1st Brazilian Conference on Natural Products (1st BCNP) or in the XXVII Annual Meeting on Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology (RESEM). , 2007.

8. SALGADO, P. C., RIBEIRO, B. B., DUARTE, M. C. T., FREI, F., OLIVA NETO, P., SANTOS, C.

Avaliação da atividade microbiana e da toxicidade frente à *Artemia salina* dos extratos obtidos a partir do resíduo aquoso da *Agave sisalana*. In: 30º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia.

30º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. , 2007.

9. SALGADO, P. C., FREI, F., OLIVA NETO, P., SANTOS, C.

Atividade alelopática de extratos obtidos a partir de *Agave sisalana* na germinação de sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.) In: I Fórum de Biotecnologia do Vale do Paranapanema, 2006, Assis.

I Fórum de Biotecnologia do Vale do Paranapanema - Novos rumos para o desenvolvimento. , 2006.

10. SALGADO, P. C., CARVALHO, C. E. C., FREI, F., DOREA, R. C. C., SANTOS, C.

Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* de extratos obtidos a partir de *Agave sisalana* In: VII Workshop de Plantas Medicinais de Botucatu, 2006, Botucatu.

VII Workshop de Plantas Medicinais de Botucatu - Da planta ao medicamento. , 2006.

Apresentação de trabalho e palestra

1. SALGADO, P. C., RODRIGUES, A. C., FELIPE, C. R., H.T. S. Junior, C. Fajardo, J. O. M. Pestana, D. Zetchaku, Oliveira, N., M. H. Hirata, HIRATA, R. D. C.

Effects of MTOR polymorphisms on tacrolimus blood monitoring in kidney transplant recipients., 2011. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

2. SALGADO, P. C., HIRATA, R. D. C.

Estudo da expressão e polimorfismos dos genes MTOR, PPP3CA e PPP3CB em receptores de transplante renal submetidos à terapia de imunossupressão., 2011. (Outra, Apresentação de

Trabalho)

3. SALGADO, P. C., RODRIGUES, A. C., ALVES, C., Oliveira, N., C. Fajardo, M. H. Hirata, FELIPE, C. R., H.T. S. Junior, J. O. M. Pestana, HIRATA, R. D. C.

RELAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DO GENE MTOR E A CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE SIROLIMO EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE REANAL., 2011. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

4. SALGADO, P. C., Ruiz, A. L. T. G., SANTOS, C.

Atividade antioxidante dos extratos orgânicos obtidos a partir de *Pyrostegia venusta*, 2008. (Simpósio,Apresentação de Trabalho)

5. NUNES, V. A. V, SALGADO, P. C., MELO, N. C., Kolb, R. M., Ruiz, A. L. T. G., SANTOS, C.

Avaliação da Capacidade Antioxidante dos Extratos Orgânicos e Perfil Fitoquímico das, 2008. (Simpósio,Apresentação de Trabalho)

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. Apresentação de Poster / Painel no(a) **57º Congresso Brasileiro de Genética**, 2011. (Congresso)
Effects of MTOR polymorphisms on tacrolimus blood monitoring in kidney transplant recipients.

2. Apresentação Oral no(a) **III Simpósio de Pós_Graduação em Análises Clínicas**, 2011. (Simpósio)

"Estudo da expressão e polimorfismos dos genes MTOR, PPP3CA e PPP3CB em receptores de transplante renal submetidos à terapia de imunossupressão.

3. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XII Congresso Brasileiro de Transplantes**, 2011. (Congresso)

RELAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DO GENE MTOR E A CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE SIROLIMO EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE REANAL.

4. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XII Congresso Brasileiro de Transplantes**, 2011. (Congresso)

VARIANTES DOS GENES CYP3A4, CYP3A5, CYP2J2 E CYP2C8 INFLUENCIAM A CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE TACROLIMO EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL.

5. **II Simpósio de Pós-Graduação em Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo**, 2010. (Simpósio)

.

6. **II Seminários Avançados em Tecnologia de Microarrays e Next Generation Sequencing-Hospital Israelita Albert Heinstein**, 2010. (Seminário)

.

7. **Treinamento prático de instalação e uso do Instrumento QIAcube**, 2010. (Outra)

.

8. **IX Simpósio de Biossegurança e Descartes de Produtos Químicos Perigosos em Instituições de Ensino e Pesquisa**, 2010. (Simpósio)

.

9. **I Simpósio do Programa de pós-Graduação em Farmácia - área Análises Clínicas**, 2009. (Simpósio)

.

10. **Seminário para Autores**, 2009. (Seminário)
.
11. **Pirosequenciamento uma Nova Abordagem Molecular**, 2009. (Outra)
.
12. **II Seminário do Comitê de Ética em Pesquisa**, 2007. (Seminário)
.
13. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **I Fórum de Biotecnologia do Vale do Paranaíba - Novos rumos para o desenvolvimento**, 2006. (Outra)
Atividade alelopática de extratos obtidos a partir de Agave sisalana na germinação de sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.).
14. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **VII Workshop de Plantas Medicinais de Botucatu**, 2006. (Outra)
Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* de extratos obtidos a partir da Agave sisalana..
15. **I Encontro Paulista sobre Clonagem Animal**, 2006. (Encontro)
.
16. **Potencial do uso da biodiversidade regional em pesquisas de bioprospecção**, 2006. (Outra)
.
17. **O que é APTA**, 2005. (Outra)
.
18. **A importância do estudo de plantas medicinais para o desenvolvimento e utilização de fitoterápicos no Brasil**, 2005. (Outra)
.
19. **VIII Encontro de Biociências e Biotecnologia de Assis**, 2005. (Encontro)
.
20. **Transferência de embriões: o que é e qual a sua relação com outras técnicas de reprodução assistida**, 2004. (Outra)
.

Organização de evento

1. SALGADO, P. C.
X Campanha de Diabetes da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2010. (Outro, Organização de evento)
2. SALGADO, P. C.
13ª Campanha Nacional Gratuita em Diabetes, de Detecção, Orientação, Educação e Prevenção das Complicações, 2010. (Outro, Organização de evento)
3. SALGADO, P. C.
IX Campanha de Diabetes, 2009. (Outro, Organização de evento)
4. SALGADO, P. C.
12ª Campanha Nacional Gratuita em Diabetes, de Detecção, Orientação, Educação e Prevenção das Complicações, 2009. (Outro, Organização de evento)

Totais de produção
Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos.....	10
Apresentações de trabalhos (Congresso).....	2
Apresentações de trabalhos (Simpósio).....	2
Apresentações de trabalhos (Outra).....	1

Eventos

Participações em eventos (congresso).....	3
Participações em eventos (seminário).....	3
Participações em eventos (simpósio).....	4
Participações em eventos (encontro).....	2
Participações em eventos (outra).....	8
Organização de evento (outro).....	4