

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE MEDICINA**

**MARIA VICTÓRIA PINTO QUARESMA SANTOS**

**Análise histológica e imuno-histoquímica da pele de  
transplantados renais submetidos a três esquemas de  
imunossupressão**

**São Paulo**  
**2022**

**MARIA VICTÓRIA PINTO QUARESMA SANTOS**

**Análise histológica e imuno-histoquímica da pele de  
transplantados renais submetidos a três esquemas de  
imunossupressão**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina  
da Universidade de São Paulo para obtenção  
do título de Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia  
Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mirian Nacagami Sotto  
Coorientador: Prof. Dr. Luiz Sergio Fonseca  
de Azevedo

(Versão corrigida conforme Resolução CoPGr6018/11, de 13 de outubro de 2011.  
A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP e na Biblioteca Digital de  
Teses e Dissertações da USP - BDTD)

**São Paulo**  
**2022**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Santos, Maria Victória Pinto Quaresma  
Análise histológica e imuno-histoquímica da pele  
de transplantados renais submetidos a três esquemas  
de imunossupressão / Maria Victória Pinto Quaresma  
Santos. -- São Paulo, 2022.  
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Dermatologia.  
Orientadora: Mirian Nacagami Sotto.  
Coorientador: Luiz Sergio Fonseca de Azevedo.

Descritores: 1.Transplante renal 2.Terapia de  
imunossupressão 3.Neoplasias cutâneas 4.Imuno-  
histoquímica 5.Subpopulações de linfócitos 6.Células  
de Langerhans 7.Vigilância imunológica 8.Inibidores  
mTOR 9.Ácido micofenólico 10.Azatioprina

USP/FM/DBD-372/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

**DEDICATÓRIA**

---

Dedico este trabalho aos meus pais Dora Cássia e Marcelo, que, com o exemplo, inspiraram-me a ser uma mulher forte e ir além do que eu podia ter imaginado.

## **AGRADECIMENTOS**

---

A realização desta tese é uma vitória que compartilho com pessoas imprescindíveis, que estiveram comigo, de diferentes formas, enquanto eu trilhava o caminho da pesquisa. Por isso agradeço:

A Deus, à Nossa Senhora e à minha intercessora Santa Terezinha, por tudo. Meu amor e minha fé eterna.

À minha amada família, por tornar possível a concretização deste sonho, dando-me amor e força para que ele se tornasse possível. Obrigada por estarem presentes em cada passo dessa carreira, hoje e sempre, e pelo total apoio em não me deixar perder de vista o verdadeiro valor de ser humano na luta contínua do dia a dia, que nos cobra, muitas vezes, frieza e plena razão.

À minha orientadora, professora Mirian Nacagami Sotto, que confiou em mim como orientanda e partilhou comigo seus conhecimentos em Dermatologia e Patologia, o meu agradecimento é todo especial. Obrigada por ter acreditado em mim e aceitado o desafio de trabalhar comigo quando eu ainda não integrava o Programa, fazendo-me crescer de modo incomensurável. Muito mais que orientar uma tese, orientou-me como ser humano, pois compartilhamos ideias, insatisfações e momentos de alegria. Muito obrigada por estar em minha vida, professora Mirian!

Ao meu mentor, professor Luiz Sergio de Azevedo, agradeço pela atenciosa coorientação e pela competência científica, que se fizeram fundamentais para o desabrochar deste estudo. Seus ensinamentos contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal, e, por onde passo, faço questão de dizer que fui sua aprendiz. Agradeço as vivências que tive ao seu lado nos ambulatórios, pelas infindas oportunidades de desenvolvimento propiciadas e, principalmente, pelo exemplo de pessoa e profissional, que certamente me guiará na nova etapa da minha vida. Também agradeço pelos conselhos, os quais acatei e tenho guardados comigo. Muito obrigada, querido professor Luiz Sergio!

Aos meus mestres, com quem o exercício do ofício que amo se tornou ainda mais realizador, pois me indicaram a melhor rota a seguir em cada momento e foram verdadeiros espelhos de generosidade e caráter, além de fontes de saber e experiência no dia a dia da Divisão de Dermatologia do HCFMUSP, tornando-o o ambiente favorável ao progresso da ciência que é. Em especial, aos chefes professores Cyro Festa Neto e José Antonio Sanches, meu profundo agradecimento por tudo que fizeram e fazem por mim e pela Dermatologia nacional.

Ao Serviço de Transplante Renal (STR) e Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), que sediaram o desenvolvimento deste trabalho. Em especial, ao chefe professor Elias David-Neto, que me recebeu de forma acolhedora para a realização do estudo – obrigada pelas orientações científicas que se fizeram fundamentais para elaboração primacial do projeto desta pesquisa. Agradeço também à estimada professora Patrícia de Souza, por toda a atenção a mim ofertada.

Aos profissionais que trabalharam comigo nas demais dimensões que envolvem uma tese, minha mais sincera gratidão por ter contado com vocês: queridas Naiura Vieira e Maíra Garcia Saldanha, pela atuação como assistentes de pesquisa; minha amiga Ana María Cabezas A., comunicadora visual do Quito (Equador), pelo design gráfico das ilustrações aqui apresentadas; Francisco Winter dos Santos Figueiredo, pelo processamento bioestatístico dos dados; e minha querida amiga Maruzia Dultra, pelas valiosas contribuições dadas durante todo o processo de revisão do texto.

À estimada professora Neusa Yuriko Sakai Valente, que não mediu esforços para doar seus vastos conhecimentos. Obrigada por segurar minhas pequenas mãos e me guiar até o caminho onde estou hoje. Também de forma especial, estendo meu carinho e gratidão ao amigo e anjo Dr. Gabriel Gontijo, por sempre acreditar no meu futuro como profissional na Dermatologia.



Ao grande homem e profissional sem igual, nosso querido professor Thales de Brito (*in memoriam*), que deixou conosco muitos ensinamentos, lindas lições de vida e nossa eterna saudade. Para sempre será recordado com ternura, reverência e admiração.

Aos meus conselheiros e queridos professores Maria Ângela Bianconcini Trindade e Paulo Ricardo Criado, que me acompanharam nesses anos de muito estudo, empenho e contratempos do curso de doutorado. Obrigada por desejarem sempre o melhor para mim e pelo incentivo que me proporcionaram para que eu pudesse superar cada obstáculo e chegar aqui. Muita gratidão aos senhores.

Às queridas professoras e amigas Claudia Giuli Santi, Celina Wakisaka Maruta e Denise Miyamoto, pelos aprendizados e por terem me recebido de braços abertos na Dermatologia. Agradeço também a receptividade do professor Roberto Takaoka.

Ao Professor Walmar Roncalli Pereira de Oliveira, pelo apoio ao projeto inicial da pesquisa.

Aos amigos e funcionários do STR, que gentilmente colaboraram para o progresso da ciência dermatológica com a doação de amostras cutâneas, participando do estudo como grupo controle: Bruna Araújo de Moura Cabral, Caique Barreto dos Santos, Fabio Batista Firmino, Danielli Quintaneiro Maria de Souza, Maria Izebel Arquelina de Souza, Cleonice Nicacio da Silva, Maria Brito, Antonio Carlos Ribeiro dos Santos, Josemar Rodrigues Bento e Gerson Moraes Carneiro.

Aos técnicos do laboratório de dermatopatologia da Divisão de Clínica Dermatológica do HCFMUSP, e do Laboratório de Dermatologia Tropical do Instituto de Medicina Tropical da FMUSP, pela contribuição por meio dos processamentos histológico e imuno-histoquímico das amostras, respectivamente.

Aos amigos queridos Ana Carolina Dias Gomes, Vanessa Farssura, Beth Leocadia, Ana Paula Lima, Paulo Luzio, Christiane Fogaça, Camila Gomes Fernandes de Souza, Riqui, Antonio Marques e Rosilda dos Santos e aos demais funcionários integrantes da Divisão de Dermatologia do HCFMUSP, pelo acolhimento, amizade e apoio como – , Ruth Eugênio Meneses, Maria Auxiliadora Araujo de Sousa, Amadeu Ferreira, Rosângela Evangelista, Alexandre Vargas, Josilei Nascimento, Rodrigo Nakagawa, Marcelo Alves da Silva e Alaide Amado Alves obrigada a todos por fazerem parte da minha vida e deste marco tão importante. Em especial, a Cris Marits e Sandrinha, que não mediram esforços para me ajudar na execução e assistência nos procedimentos técnicos, tenho uma enorme gratidão por vocês!

Aos meus alunos, com quem compartilhei o saber ao longo dessa caminhada.

À Matilda, companheira inseparável, esta vitória também é sua, minha querida, pelo companheirismo constante.

A todos os meus pacientes, agradeço com o mais profundo respeito. Em especial, aos que compuseram os grupos do estudo, por terem confiado em minha prática médica e científica ao aceitarem participar desta pesquisa.

Ao Fundo de Apoio à Dermatologia do Estado de São Paulo – Sebastião Sampaio (FUNADERSP), pelo apoio financeiro concedido para a execução do projeto.

A tantos outros que compartilharam do meu ideal nessa jornada, minha imensa gratidão. O sonho, agora, é realidade!

**ΕΠΙΓΡΑΦΕ**

---

A vida não é fácil para nenhum de nós.  
Mas é preciso perseverar,  
e sobretudo ter confiança em si mesmo!  
É preciso crer que somos marcados para qualquer coisa  
e que essa coisa será alcançada custe o que custar.

Marie Skłodowska Curie (1962)

**NORMALIZAÇÃO ADOTADA**

---

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Valhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## SUMÁRIO

---

# SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de símbolos

Lista de figuras

Lista de gráficos

Lista de tabelas e quadros

Lista de fluxogramas

Resumo

Summary

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	40
1.1	TRANSPLANTE RENAL, IMUNOSSUPRESSÃO E PELE .....	43
<b>1.1.1</b>	<b>O câncer de pele e o transplante renal</b> .....	45
1.1.1.1	Epidemiologia .....	45
1.1.1.2	Características clínicas .....	46
1.1.1.3	Agressividade do câncer de pele nos receptores de transplante renal .....	48
1.2	INTERAÇÕES ENTRE O SISTEMA IMUNE DA PELE E O CÂNCER .....	48
<b>1.2.1</b>	<b>Princípios básicos de imunovigilância e Princípios básicos da vigilância imunológica e contextualização dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento e progressão do câncer</b> .....	52
1.2.1.1	Imunoedição do câncer: um conceito aprimorado da vigilância imunológica.....	53
1.2.1.2	Subtipos de linfócitos T, células de Langerhans e seus papéis na resposta ao câncer .....	54
1.3	PATOGÊNESE DO CÂNCER DE PELE EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL .....	55
<b>1.3.1</b>	<b>Fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de pele não melanoma</b> .....	56
<b>1.3.2</b>	<b>Papel da imunossupressão farmacológica</b> .....	58
1.3.2.1	Fármacos imunossupressores convencionais: contextualização, mecanismos de ação e efeitos na carcinogênese cutânea .....	60
1.3.2.1.1	Azatioprina .....	62
1.3.2.1.2	Precursosores do MPA .....	66
1.3.2.1.3	Inibidores de mTOR .....	69
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	81
<b>3</b>	<b>MÉTODOS</b> .....	83
3.1	DECLARAÇÃO DE ÉTICA .....	84
3.2	DESENHO DO ESTUDO .....	84
3.3	LOCAL E ÉPOCA DO ESTUDO .....	84
3.4	PARTICIPANTES .....	85
<b>3.4.1</b>	<b>Critérios de inclusão</b> .....	85



<b>3.4.2</b>	<b>Critérios de não inclusão</b> .....	86
<b>3.4.3</b>	<b>Grupo controle</b> .....	86
<b>3.4.4</b>	<b>Descrição amostral</b> .....	87
3.4.4.1	Variáveis de descrição amostral e fonte de dados .....	87
3.5	<b>ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE PELE</b> .....	88
<b>3.5.1</b>	<b>Coleta e preservação das amostras de biópsias de pele</b> .....	88
<b>3.5.2</b>	<b>Preparação dos fragmentos de pele para análises microscópicas</b> .....	88
3.6	<b>AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA</b> .....	89
3.7	<b>AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA</b> .....	90
<b>3.7.1</b>	<b>Demonstração das subpopulações de linfócitos e células de Langerhans</b> .....	90
<b>3.7.2</b>	<b>Análise morfométrica</b> .....	94
3.7.2.1	Quantificação da expressão de células linfocitárias B CD20 <sup>+</sup> , T CD3 <sup>+</sup> , T CD4 <sup>+</sup> e T CD8 <sup>+</sup> .....	94
3.7.2.2	Quantificação da fração de área da epiderme e do epitélio da bainha folicular com expressão do antígeno CD1a (células de Langerhans) .....	94
3.8	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	97
<b>3.8.1</b>	<b>Cálculo do tamanho amostral</b> .....	97
<b>3.8.2</b>	<b>Classificação das variáveis de interesse</b> .....	97
<b>3.8.3</b>	<b>Análise estatística</b> .....	98
<b>3.8.4</b>	<b>Fluxograma dos métodos do estudo</b> .....	99
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	100
4.1	<b>CARACTERIZAÇÃO AMOSTRAL</b> .....	101
<b>4.1.1</b>	<b>Descrição dos dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos grupos</b> .....	101
<b>4.1.2</b>	<b>Comparação dos dados demográficos, clínicos e laboratoriais entre os grupos</b> .....	105
4.2	<b>RESULTADOS DA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA</b> .....	107
<b>4.2.1</b>	<b>Descrição dos dados histopatológicos em pele não fotoexposta e pele fotoexposta</b> .....	107
<b>4.2.2</b>	<b>Comparação dos dados histopatológicos da pele não fotoexposta e da pele fotoexposta</b> .....	114
4.3	<b>RESULTADOS DA AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA</b> .....	114
<b>4.3.1</b>	<b>Análise e quantificação de linfócitos B, subtipos de linfócitos T e células de Langerhans</b> .....	114
4.3.1.1	Comparação dos dados morfométricos de células B CD20 <sup>+</sup> , T CD3 <sup>+</sup> , T CD4 <sup>+</sup> , T CD8 <sup>+</sup> e CD1a <sup>+</sup> .....	125
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	130
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	137
<b>7</b>	<b>ANEXOS</b> .....	139

ANEXO A – Classificação de tipos de pele reativas ao sol (Fitzpatrick, 1988) .....	140
ANEXO B – Características histomorfológicas epidérmicas e dérmicas das peles não fotoexposta e fotoexposta .....	141
ANEXO C – Dados morfométricos de células linfocitárias B CD20 <sup>+</sup> , T CD3 <sup>+</sup> , T CD4 <sup>+</sup> e T CD8 <sup>+</sup> por mm <sup>2</sup> de área dérmica, e fração de área epidérmica e epitélio da bainha folicular com expressão de células CD1a <sup>+</sup> das peles não fotoexposta e fotoexposta .....	144
<b>8 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>146</b>

**Artigo publicado** – “Lymphocyte subsets and Langerhans cells in the skin of kidney transplant recipients under three different immunosuppressive regimens” publicado no periódico *The Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, em 16 jul. 2022. Fator de impacto= 6,166.

### **Apêndices**

Apêndice A – Parecer da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Apêndice B – Protocolo de levantamento de dados clínicos

Apêndice C – Protocolo de levantamento de dados laboratoriais

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

---

<b>4E-BP</b>	Proteína de ligação ao fator iniciador eucariótico 4E
<b>4E-BP1</b>	Proteína-1 de ligação ao fator iniciador eucariótico 4E
<b>6-MP</b>	6-mercaptopurina
<b>6-TGN</b>	Nucleotídeo 6-tioguanina
<b>AIDS</b>	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i> (síndrome da imunodeficiência adquirida)
<b>AKt</b>	Proteína quinase B
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>APC</b>	<i>Antigen presenting cell</i> (célula apresentadora de antígeno)
<b>ATG</b>	<i>Antithymocyte globulin</i> (globulina antitimocítica)
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>AZA</b>	Azatioprina
<b>BSA</b>	<i>Bovine serum albumin</i> (soroalbumina bovina)
<b>CAPPesq</b>	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
<b>CBC</b>	Carcinoma basocelular
<b>CD</b>	<i>Cluster of differentiation</i>
<b>CD1a</b>	Marcador para células de Langerhans
<b>CD3<sup>+</sup></b>	Linfócito T imuno-histoquimicamente positivo para o <i>cluster</i> de diferenciação três. Marcador para linfócitos T totais
<b>CD4<sup>+</sup></b>	Linfócito T imuno-histoquimicamente positivo para o <i>cluster</i> de diferenciação quatro. Marcador para linfócitos T auxiliares
<b>CD8<sup>+</sup></b>	Linfócito T imuno-histoquimicamente positivo para o <i>cluster</i> de diferenciação oito. Marcador para linfócitos T citotóxicos
<b>CD20<sup>+</sup></b>	Imuno-histoquimicamente positivo para o <i>cluster</i> de diferenciação vinte. Marcador para linfócitos B
<b>CDK</b>	Quinase dependente de ciclina
<b>CEC</b>	Carcinoma espinocelular
<b>CKD-EPI</b>	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
<b>CL</b>	Célula de Langerhans

<b>CNI</b>	Calcineurina
<b>Cód.</b>	Código
<b>CPNM</b>	Câncer de pele não melanoma
<b>CsA</b>	Ciclosporina
<b>DAB</b>	Diaminobenzidina
<b>DC</b>	<i>Dendritic cell</i> (célula dendrítica)
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DP</b>	Desvio padrão
<b>DRC</b>	Doença renal crônica
<b>eEF2</b>	Fator de alongamento eucariótico 2
<b>EGFR</b>	Receptor do fator de crescimento epidérmico
<b>eIF-4B</b>	Fator iniciador eucariótico 4B
<b>eIF-4E</b>	Fator iniciador eucariótico 4E
<b>ERO</b>	Espécie reativa de oxigênio
<b><i>et al.</i></b>	e outros
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>EVE</b>	Everolimo
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FKBP12</b>	Imunofilina de ligação ao FK506
<b>FMUSP</b>	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
<b>GβL</b>	Subunidade beta da proteína G
<b>GC</b>	Grupo controle
<b>GTP</b>	Guanosina trifosfato
<b>HCFMUSP</b>	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
<b>HIV</b>	Vírus da imunodeficiência humana
<b>HPV</b>	Papilomavírus humano
<b>IC</b>	Intervalo de confiança
<b>IFN-γ</b>	Interferon-gama
<b>IL-2</b>	Interleucina-2
<b>IL-10</b>	Interleucina-10
<b>IL-12</b>	Interleucina-12

<b>IIQ</b>	Intervalo interquartil
<b>IMPDH</b>	Inosina monofosfato desidrogenase
<b>imTOR</b>	Inibidor de mTOR
<b>iNOS</b>	Óxido nítrico sintase induzível
<b>KDIGO</b>	Kidney Disease: Improving Global Outcomes (Doença Renal: Melhorando os Resultados Globais)
<b>MF</b>	Micofenolato
<b>MHC</b>	Complexo principal de histocompatibilidade
<b>MMF</b>	Micofenolato de mofetila
<b>MMS</b>	Micofenolato sódico
<b>MPA</b>	Ácido micofenólico
<b>mRNA</b>	Ácido ribonucleico mensageiro
<b>mTOR</b>	<i>Mammalian target of rapamycin</i> (alvo da rapamicina em mamíferos)
<b>mTORC1</b>	Complexo mTOR 1; alvo do complexo 1 de rapamicina em mamíferos
<b>mTORC2</b>	Complexo mTOR 2; alvo do complexo 2 de rapamicina em mamíferos
<b>n</b>	Número absoluto
<b>N/A</b>	Não se aplica
<b>NK</b>	Célula <i>natural killer</i>
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>p</b>	Nível de significância estatística
<b>p.</b>	Percentil
<b>p53</b>	Proteína 53
<b>PBS</b>	<i>Phosphate-buffered saline buffer</i> (solução salina tamponada com fosfatos)
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>PI3K</b>	Fosfoinositídeo-3-quinase
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>RTR</b>	Receptor de transplante renal
<b>RUV</b>	Radiação ultravioleta
<b>RUV-A</b>	Radiação ultravioleta tipo A

<b>RUV-B</b>	Radiação ultravioleta tipo B
<b>S6K</b>	Proteína ribossomal S6 quinase
<b>S6K1</b>	Proteína ribossomal S6 quinase beta-1
<b>S6K2</b>	Proteína ribossomal S6 quinase beta-2
<b>SALT</b>	<i>Skin associated lymphoid tissue</i> (tecido linfoide associado à pele)
<b>SIS</b>	<i>Skin immune system</i> (sistema imune da pele)
<b>SRL</b>	Sirolimo
<b>STR</b>	Serviço de Transplante Renal
<b>T CD4</b>	Linfócito T CD4; linfócito T auxiliar
<b>T CD8</b>	Linfócito T CD8; linfócito T citotóxico
<b>TAC</b>	Tacrolimo
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
<b>TCR</b>	<i>T cell receptor</i> (receptor de células T)
<b>TFG</b>	Taxa de filtração glomerular
<b>TFGe</b>	Taxa de filtração glomerular estimada
<b>Th</b>	Linfócitos T <i>helper</i> (linfócitos T auxiliares)
<b>Thf</b>	Linfócitos T auxiliares foliculares
<b>Thr308</b>	Treonina 308
<b>TLR</b>	Receptor <i>Toll-like</i>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral alfa
<b>TNFRSF7</b>	Receptor do fator de necrose tumoral 7
<b>TO</b>	Transplante de órgãos
<b>TOR</b>	<i>Target of rapamycin</i> (alvo da rapamicina)
<b>TR</b>	Transplante renal
<b>TRAIL</b>	Ligante indutor de apoptose relacionado ao fator de necrose tumoral
<b>Treg</b>	Células T-reguladoras
<b>TRPV3</b>	Gene receptor de potencial transitório vaniloide tipo 3
<b>TRS</b>	Terapia renal substitutiva
<b>VCAM-1</b>	Molécula de adesão de células vasculares 1
<b>vs</b>	<i>Versus</i>

## **LISTA DE SÍMBOLOS**

---



<b>%</b>	Porcentagem
<b>µm</b>	Micrômetro
<b>°C</b>	Grau Celsius
<b>m<sup>2</sup></b>	Metro quadrado
<b>máx</b>	Máximo
<b>mg/dl</b>	Miligrama por decilitro
<b>min</b>	Minuto
<b>mín</b>	Mínimo
<b>ml</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>mm<sup>2</sup></b>	Milímetro quadrado
<b>ml/min/m<sup>2</sup></b>	Mililitro por minuto por metro quadrado
<b>®</b>	Marca registrada
<b>&gt;</b>	Maior que
<b>≥</b>	Maior ou igual a
<b>&lt;</b>	Menor que
<b>≤</b>	Menor ou igual a
<b>=</b>	Igualdade (igual a)
<b>-</b>	Subtração, menos ou negativo
<b>+</b>	Mais ou positivo
<b>±</b>	Mais ou menos

## **LISTA DE FIGURAS**

---

<b>Figura 1</b>	Interação das células do sistema imunológico com as células tumorais	50
<b>Figura 2</b>	Imunoedição do câncer sob imunossupressão farmacológica	54
<b>Figura 3</b>	Representação esquemática das vias imunossupressoras de TAC, CsA, RAPA, AZA e MMF	64
<b>Figura 4</b>	Mediadores do alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR)	73
<b>Figura 5</b>	Integração de vários sinais em linfócito por meio do alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR)	75
<b>Figura 6</b>	Representação da atuação combinada entre mTORC1 e mTORC2	79
<b>Figura 7</b>	Exemplificação da morfometria da imunomarcção com anticorpo anti-CD1a na epiderme	96
<b>Figura 8</b>	Exemplificação da morfometria da imunomarcção com anticorpo anti-CD1a no epitélio folicular	96
<b>Figura 9</b>	Diferenças histológicas relativas à análise epidérmica nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	111
<b>Figura 10</b>	Caracterização histopatológica dos aspectos dérmicos encontrados na pele fotoexposta de receptor de transplante renal	113
<b>Figura 11</b>	Linfócitos T totais CD3 <sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	116
<b>Figura 12</b>	Linfócitos T auxiliares CD4 <sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	117
<b>Figura 13</b>	Linfócitos T citotóxicos CD8 <sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	118

<b>Figura 14</b>	Linfócitos B CD20 <sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	120
<b>Figura 15</b>	CLs epidérmicas CD1a <sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	122

## **LISTA DE GRÁFICOS**

---

<b>Gráfico 1</b>	Comparação entre os grupos de RTRs dos valores de creatinina sérica	106
<b>Gráfico 2</b>	Comparação entre os grupos de RTRs dos valores de TFGe	107
<b>Gráfico 3</b>	Distribuição de linfócitos B CD20+ (A e B), linfócitos T CD3+ (C e D), linfócitos T CD4+ (E e F), linfócitos T CD8+ (G e H) e CLs (I e J) nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	126

## **LISTA DE QUADROS E TABELAS**

---

<b>Quadro 1</b>	Anticorpos primários utilizados, procedência, diluição e sistema de revelação	92
<b>Tabela 1</b>	Dados demográficos, clínicos e laboratoriais	104
<b>Tabela 2</b>	Distribuição dos dados histopatológicos em pele não fotoexposta, segundo os grupos	108
<b>Tabela 3</b>	Distribuição dos dados histopatológicos em pele fotoexposta, segundo os grupos	109
<b>Tabela 4</b>	Densidade de células CD20 <sup>+</sup> , CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> e CD1a <sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	124
<b>Tabela 5</b>	Comparação de células imunomarcadas na pele não fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	128
<b>Tabela 6</b>	Comparação de células imunomarcadas na pele fotoexposta dos grupos controle e de RTRs	129



## **LISTA DE FLUXOGRAMAS**

---

<b>Fluxograma 1</b>	Pacientes, materiais e métodos do estudo	99
<b>Fluxograma 2</b>	Indivíduos incluídos no estudo	101

**RESUMO**

---

Santos, MVPQ. *Análise histológica e imuno-histoquímica da pele de transplantados renais submetidos a três esquemas de imunossupressão* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

**INTRODUÇÃO:** Os receptores de transplante renal (RTRs) devem utilizar, durante o período pós-transplante, medicamentos imunossupressores, que previnem ou tratam a rejeição do órgão transplantado. Os regimes convencionais de manutenção consistem em uma combinação de agentes imunossupressores que diferem por mecanismo de ação. A maioria dos esquemas emprega três medicamentos, associando um inibidor de calcineurina (ciclosporina ou tacrolimo), um corticosteroide e um agente antimetabólico (precursores do ácido micofenólico – MPA, ou azatioprina – AZA); modificações nessa terapia podem ser necessárias com esquemas alternativos contendo algum inibidor de mTOR (imTOR). Esses tratamentos ao longo da vida promovem uma resposta imune cronicamente alterada, interferindo nos mecanismos de imunovigilância dos RTRs, o que aumenta a incidência de neoplasias diversas, sobretudo dos cânceres de pele não melanoma (CPNMs), que resultam em morbidade e mortalidade substanciais nos receptores de transplante renal. Porém, até hoje não se obteve um consenso sobre qual tipo de imunossupressor favoreceria mais o aparecimento dessas malignidades e qual seria o papel exato de cada agente na maior influência de tal ocorrência. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar as alterações histológicas e imuno-histoquímicas na pele de RTRs sob três diferentes regimes imunossupressores contendo ou algum imTOR (sirolimo ou everolimo), ou algum MPA (micofenolato mofetil ou sódico), ou AZA, com base na análise da morfologia e expressão de células envolvidas na vigilância imunológica da pele desses pacientes, comparando-os por pares de grupos e considerando os controles como base para o estudo. **MÉTODOS:** Foi realizado um estudo observacional, transversal e comparativo, em que 30 pacientes participantes que foram selecionados no Serviço de Transplante Renal (STR) e divididos em três grupos: imTOR (n=10), MPA (n=10) e AZA (n=10). O grupo controle foi formado por indivíduos imunocompetentes não transplantados que trabalhavam no próprio STR. Foram realizadas duas biópsias de pele íntegra em cada participante, uma em área não fotoexposta e outra em área fotoexposta. As amostras foram avaliadas sem conhecimento prévio do grupo ao qual o indivíduo pertencia, sendo feita, em seguida, a análise histomorfológica e quantitativa dos subtipos de linfócitos T (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>), B (CD20<sup>+</sup>) e células de Langerhans (CLs) (CD1a<sup>+</sup>). **RESULTADOS:** A alteração histológica mais significativa foi a atrofia da pele na camada epidérmica no grupo imTOR. Não foram observadas diferenças no número de linfócitos B. Contudo, foi observada uma diminuição significativa no número de linfócitos T e CLs, tanto na pele não fotoexposta, como na fotoexposta nos grupos AZA e MPA, embora em menor grau neste último grupo. A pele do grupo imTOR não diferiu da pele dos controles em termos do

número de linfócitos B e T e CLs, tanto na pele fotoexposta, como na não fotoexposta. **CONCLUSÕES:** Os RTRs tratados com imTOR tiveram preservados os elementos celulares relacionados aos mecanismos de vigilância imunológica cutânea, bem como tiveram contida a proliferação epidérmica. O uso de AZA por RTRs diminuiu a população de linfócitos T e CLs na pele desses pacientes, fenômeno que também ocorreu em pacientes sob terapia com MPA, só que em menor grau. Esses achados contribuem para a compreensão da influência dos três esquemas de imunossupressão em questão sobre o sistema imune da pele dos RTRs, e dos seus subsequentes efeitos potenciais no processo da carcinogênese.

**Descritores:** Transplante renal; Terapia de imunossupressão; Neoplasias cutâneas; Imuno-histoquímica; Subpopulações de linfócitos; Células de Langerhans; Vigilância imunológica; Inibidores mTOR; Ácido micofenólico; Azatioprina.

## **SUMMARY**

---

Santos, MVPQ. *Histological and immunohistochemical analysis in the skin of kidney transplant recipients under three different immunosuppressive regimens* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

**INTRODUCTION:** Renal transplant recipients (RTRs) should use, during the post-transplant period, immunosuppressant drugs, which prevent or treat the rejection of the transplanted organ. Conventional maintenance regimens consist of a combination of immunosuppressive agents that differ by mechanism of action. Most regimens employ three drugs combining a calcineurin inhibitor (cyclosporine or tacrolimus), a corticosteroid, and an antimetabolic agent (mycophenolic acid precursor – MPA, or azathioprine – AZA); and modifications of this therapy, may be required with alternative regimens containing some mTOR inhibitor (mTORi). These lifelong treatments promote a chronically altered immune response, interfering with the immune surveillance mechanisms of RTRs, which increases the incidence of various neoplasms, especially non-melanoma skin cancers (NMSCs), which result in substantial morbidity and mortality in these transplant recipients. To date, no consensus has been established on which type of immunosuppressant is most conducive to the appearance of these NMSCs and what exact role each agent would play in their appearance. In this context, the aim of this present investigation was to evaluate the histological and immunohistochemical alterations in the skin of the RTRs under three different immunosuppressive regimens containing some mTORi (sirolimus or everolimus); some MPA (mycophenolate mofetil or sodium), as well as AZA, based on the morphology and the expression analysis of cells involved in the immune surveillance of the skin of these patients, comparing them by pairs of groups, and considering the controls as the baseline for the study. **METHODS:** We conducted an observational, cross-sectional, comparative study with a sample size consisting of 30 patient participants who were selected from the Renal Transplant Service (RTS) and divided into three groups: mTORi (n=10), MPA (n=10), and AZA (n=10). The control group consisted of immunocompetent non-transplanted subjects who worked in the RTS themselves. Each participant underwent two biopsies of intact skin, one in a sun-protected and another in a sun-exposed areas. The specimens were analyzed without previous information on the group the individual belonged to; then histomorphology as well as quantitative analyses were performed to determine the subtypes of the T lymphocytes (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, and CD8<sup>+</sup>), B (CD20<sup>+</sup>), and Langerhans cells (LCs) (CD1a<sup>+</sup>). **RESULTS:** The most significant histological change was skin atrophy in the epidermal layer in the mTORi group. No differences were observed in the number of B lymphocytes. However, a significant decrease in the number of T lymphocytes and LCs was observed in both sun-protected and sun-exposed skin in the AZA and MPA groups, although to a lesser degree in the latter group. The skin of the mTORi group did not differ from that of the control group in terms of the number of B and T

lymphocytes and LCs. **CONCLUSIONS:** The RTRs who received mTORi therapy had preserved the cell elements relating to the mechanisms of immune surveillance of the skin and contained epidermal cell proliferation. The use of AZA by the RTRs reduced the T lymphocytes and CLs populations in their skin, and this also occurred in RTRs receiving therapy by MPA, although to a lesser degree. The findings add to understanding about the influence of these various types of immunosuppressive schemes on the skin immune system in RTRs, and their subsequent potential effects on the process of carcinogenesis.

**Descriptors:** Kidney transplantation; Immunosuppression therapy; Skin neoplasms; Immunohistochemistry; Lymphocyte subsets; Langerhans cells; Immunologic surveillance; mTOR inhibitors; Mycophenolic acid; Azathioprine.



# 1 INTRODUÇÃO

---

## 1 INTRODUÇÃO

A transplantação de órgãos teve um avanço extraordinário nas últimas décadas com a utilização de melhores regimes imunossupressores, contribuindo significativamente para redução das taxas de rejeição do enxerto. <sup>(1)</sup> No transplante humano, raramente os indivíduos receptores do órgão transplantado apresentam tolerância espontânea ao enxerto na ausência de imunossupressores. <sup>(2)</sup> As estratégias utilizadas para reduzir a imunogenicidade envolvem a minimização das diferenças alo gênicas entre doador e receptor, com a seleção de doadores e, principalmente, com o uso de fármacos que bloqueiam a ação das células do sistema imune. <sup>(3)</sup>

Segundo a historiografia, o transplante renal (TR) é reconhecido como um grande avanço na medicina moderna, sendo o precursor dos demais transplantes de órgãos (TOs). O que era uma opção de tratamento experimental, arriscado e muito limitado há cerca de 60 anos, atualmente é uma prática clínica de rotina em mais de 80 países. <sup>(4)</sup> <sup>(5)</sup> <sup>(6)</sup> No Brasil, o TR representa cerca de 70% do total dos TOs. <sup>(7)</sup> Segundo dados da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO), o Brasil é hoje o segundo país que mais realiza transplantes renais no ocidente. <sup>(8)</sup> O número de TOs realizados aumentou na última década, passando de 4.656 procedimentos realizados em 2010 para 6.283 em 2019, um aumento de 26%. Contudo, essa quantidade ainda está muito aquém da necessária, que é de cerca de 12 mil procedimentos ao ano. <sup>(9)</sup>

Os próximos anos devem confirmar a tendência de aumento no número de indivíduos com diagnóstico de doença renal crônica (DRC), necessitando de terapia renal substitutiva (TRS). <sup>(10)</sup> <sup>(11)</sup> <sup>(12)</sup> <sup>(13)</sup> A DRC é definida como anormalidades da estrutura ou função renal, presentes por período igual ou superior a 3 meses, com implicações para a saúde. Todos os indivíduos com taxa de filtração glomerular (TFG) menor que 60ml/min/1,73m<sup>2</sup> durante 3 meses ou mais são classificados como doentes renais crônicos, independente da presença ou ausência de dano renal. Essa doença também é classificada com base na causa, na categoria da TFG e na categoria albuminúrica. Entre os pacientes com DRC, os estágios da doença

devem ser atribuídos com base no nível de função renal, independentemente do diagnóstico. <sup>(14) (15)</sup>

No que tange à avaliação de função renal, aceita-se a TFG (em ml/min/1,73 m<sup>2</sup>), que é um componente da função de excreção, como o melhor índice para avaliação funcional. A disfunção renal é indicada por uma TFG decrescente, sendo classificada em cinco estágios: G1 (> 89), G2 (60-89), G3a (45-60), G3b (30-44), G4 (15-29) e G5 (< 15). Este último estágio 5 é conhecido como insuficiência renal terminal e necessita de TRS, que engloba diálise peritoneal, hemodiálise e cirurgia de transplante de rim. <sup>(16) (17) (18) (19) (20)</sup>

O TR é, indubitavelmente, o tratamento de escolha para a maioria dos pacientes com DRC em estágio terminal que não apresentem contraindicações para o procedimento, <sup>(16) (17) (19)</sup> oferecendo melhor qualidade de vida <sup>(21) (22)</sup> e maior sobrevida que a diálise. <sup>(22) (23) (24) (25) (26)</sup> Apesar desse êxito terapêutico, a resposta imunológica contra um rim transplantado é uma barreira potencial ao sucesso da cirurgia e o conhecimento de como suprimir essa resposta permanece sendo alvo principal das pesquisas nessa área. <sup>(27) (28) (29)</sup>

A reação imunológica ao tecido do doador inicia pelo reconhecimento de aloantígenos, quando linfócitos T reconhecem antígenos não próprios no enxerto, por meio de seu receptor de membrana, chamado receptor de célula T (TCR, do inglês, *T cell receptor*). Esse reconhecimento pode ser feito por apresentação direta ou indireta de aloantígenos, e é mediado por uma variedade de leucócitos, incluindo macrófagos, plasmócitos e linfócitos T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup>. Tais células se envolvem em uma cascata de eventos, na qual citocinas pró-inflamatórias e reguladoras desempenham um papel importante, que culminará na expansão clonal de células efectoras com atividade citotóxica. Quando a reação inflamatória não é modificada por agentes imunossupressores, esse tipo de resposta resulta em lesão e destruição do enxerto renal. <sup>(17) (30)</sup> Além das interações celulares, mediadas por células T, os mecanismos de rejeição também envolvem diversas alterações humorais, conhecidas como rejeição mediada por anticorpos. O processo de rejeição ao rim transplantado envolve reações inflamatórias repetidas e constitui a principal causa de disfunção do enxerto no pós-transplante recente e tardio. <sup>(20) (28)</sup>

<sup>(31)</sup> Nesse contexto, surge a necessidade do uso de agentes imunossupressores,

os quais têm como objetivo bloquear esse processo de rejeição ao órgão ou tecido transplantado, com aumento da sobrevida do enxerto e do paciente. <sup>(29) (32)</sup>

Torna-se imperativo, portanto, que, após o TR, os medicamentos imunossupressores sejam utilizados para prevenir as rejeições aguda e crônica. Tal imunossupressão visa inibir o reconhecimento imunológico e a ativação da resposta alogênica celular e humoral, e é dividida em duas fases: fase de indução e fase de manutenção. <sup>(33) (34) (35)</sup> A expressão terapia de indução ou inicial se refere ao tratamento imunossupressor utilizado no período transoperatório e até uma semana; já a terapia de manutenção se refere ao esquema imunossupressor utilizado posterior a tal período. <sup>(18) (35)</sup>

Os protocolos de imunossupressão, no Brasil, geralmente incluem a indução com anticorpo antirreceptor de interleucina-2 (basiliximabe) ou globulina antitimocítica (ATG, do inglês, *antithymocyte globulin*). Já na imunossupressão de manutenção do pós-transplante, a maioria dos centros de TOs utiliza a combinação de três classes terapêuticas: um inibidor de calcineurina (CNI), como tacrolimo (TAC) ou ciclosporina (CsA), sendo o TAC o medicamento mais prescrito; um corticosteroide (prednisona); e um terceiro fármaco imunossupressor, que pode incluir algum agente antiproliferativo (como um precursor do ácido micofenólico [MPA], como micofenolato de mofetila [MMF] ou micofenolato sódico [MMS], ou como a azatioprina [AZA]), ou alternativamente algum inibidor da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR, do inglês, *mammalian target of rapamycin*), como sirolimo (SRL) ou everolimo (EVE). <sup>(6) (35)</sup> A escolha por algum agente antiproliferativo ou por um inibidor de mTOR (imTOR) depende da percepção em relação às características do doador, do grau de sensibilização do receptor e do risco de doença por citomegalovírus, entre outros fatores. <sup>(6)</sup> Por fim, após a escolha do esquema de imunossupressão inicial, mudanças posteriores, como minimizações e conversões, apenas são preconizadas quando motivadas por eventos adversos ou relacionados à falência de eficácia ou de segurança. <sup>(35) (36)</sup>

## 1.1 TRANSPLANTE RENAL, IMUNOSSUPRESSÃO E PELE

O uso da medicação imunossupressora traz diversos efeitos secundários, entre eles cutâneos. <sup>(37) (38) (39)</sup> A pele ainda se torna um espelho para as mudanças sistêmicas, uma vez que reflete tanto a melhoria do estado urêmico, quanto o surgimento de alterações cutâneas devido ao uso de imunossupressores. <sup>(40)</sup> Essas alterações ocupam lugar de destaque dentre os efeitos secundários de tais medicamentos, seja por sua elevada incidência, seja por alguma morbidade e possível mortalidade, como sucede com as neoplasias malignas, as mais frequentemente observadas nos receptores de transplante renais (RTRs), dentre as quais se destacam os cânceres de pele não melanoma (CPNMs). <sup>(37) (41) (42) (43)</sup> <sup>(44)</sup>

É importante pontuar que os RTRs têm um risco aumentado para desenvolver câncer de pele em áreas de pele fotoexpostas, como ocorre também com os indivíduos imunocompetentes, mas a terapia imunossupressora tem influência exacerbada na ocorrência desse cenário. Existem dois mecanismos diferentes pelos quais os medicamentos podem contribuir para o desenvolvimento do câncer de pele. Eles incluem o comprometimento da imunovigilância sistêmica e um efeito oncogênico direto. <sup>(45) (46) (47)</sup> Outro fator agravante é a exposição à radiação ultravioleta (RUV), pois, além de interagir com certos fármacos aumentando a fotossensibilidade da pele, <sup>(48) (49)</sup> causa mutações gênicas <sup>(50)</sup> e exerce grande imunossupressão local ou sistêmica. <sup>(51)</sup>

Além disso, estudos pregressos demonstraram que os RTRs apresentam diminuição numérica de subtipos linfocitários (CD4 e CD8) e das células de Langerhans (CLs) na pele normal não exposta e exposta ao sol, antes mesmo de apresentarem complicações neoplásicas cutâneas. Tais alterações foram mais preeminentes nas áreas de pele fotoexposta. <sup>(52) (53)</sup> A relação entre a maior depleção dessas células efetoras do sistema imune consequente à fotoexposição e o aparecimento de CPNMs corrobora a noção de que populações de linfócitos T e CLs são componentes importantes na vigilância contra tumores na pele. <sup>(54) (55)</sup>

Recentemente, muito se tem discutido acerca de que o risco de desenvolver CPNMs em RTRs varia com a escolha do tratamento imunossupressor. De fato, os efeitos dos imunossupressores mais utilizados na prática do transplante diferem substancialmente na pele, sendo que alguns podem promover diretamente o

crescimento de tumores e outros até afetam as respostas antitumorigênicas. <sup>(48) (56) (57) (58) (59) (60)</sup> Embora alguns imunossuppressores sejam capazes de induzir uma maior incidência de CPNMs na pele exposta à luz solar em RTRs, até hoje não se obteve um consenso de qual tratamento imunossupressor favoreceria mais o aparecimento dessas lesões neoplásicas ou até mesmo qual deles exerceria efeitos antitumorais.

Diante do panorama apresentado, o aumento do número de transplantes e a sobrevida mais longa dos receptores de TOs indicam que os dermatologistas cuidarão cada vez mais de pacientes desse grupo.

### **1.1.1 O câncer de pele e o transplante renal**

A pele é o órgão no qual mais comumente se desenvolvem neoplasias malignas em RTRs. Nesse grupo de pacientes, as malignidades mais frequentes no período pós-transplante são os CPNMs, <sup>(42) (44) (61)</sup> sendo responsáveis por cerca de 90% de todos os cânceres de pele em RTRs. <sup>(62) (63) (64) (65)</sup>

Devido ao delicado contexto clínico do TR, no qual a imunossupressão desempenha um papel central, os CPNMs apresentam epidemiologia e patogênese diferentes em comparação à população em geral. Com uma incidência muito maior em RTRs, os CPNMs geram morbidade e mortalidade substanciais em tais pacientes devido à sua recorrência comum e maior potencial metastático. <sup>(45) (66) (67)</sup> Dentre os CPNMs, o carcinoma espinocelular (CEC) é o tipo mais comumente encontrado, sobrepujando o carcinoma basocelular (CBC). <sup>(42) (68) (69)</sup>

Em consonância com os dados mencionados, conclui-se que todos os RTRs devem ter a vigilância do câncer de pele e receber educação aprimorada para medidas de proteção solar.

#### **1.1.1.1 Epidemiologia**

As taxas de incidência de CPNMs aumentam continuamente com o tempo após o transplante. Análises dos dados de reivindicações do Medicare e do banco de dados da Organ Procurement and Transplant Network/United Network of Organ

Sharing mostraram que a incidência de CPNMs em RTRs cronicamente imunossuprimidos aumenta de 2,25% em 1 ano para 4,95% em 2 anos e 7,43% em 3 anos, e depois aumenta para 10-27% e 40-60% após 10 e 20 anos de imunossupressão, respectivamente. <sup>(70)</sup>

Em grandes séries, verifica-se que os RTRs apresentam um aumento estimado de 65 a 250 vezes na incidência de CEC e um aumento de 10 vezes na incidência de CBC ao se comparar com populações imunocompetentes. <sup>(41) (64) (71) (72)</sup> O CEC é o câncer de pele mais comum em receptores de transplantes e em tais pacientes a proporção CEC/CBC é de 3-4: 1, embora o inverso seja observado na população em geral. Essa reversão epidemiológica aumenta com a maior exposição solar e duração do pós-transplante. <sup>(45) (46) (66) (73) (74)</sup> Os CECs, em geral, surgem depois de um intervalo médio de 8 a 10 anos pós-transplante. <sup>(46)</sup> Já o CBC em RTRs se desenvolve em média após 6 a 7 anos da realização do transplante. <sup>(75)</sup>

Outra variável é a localização geográfica onde os RTRs residem, devido ao grau de exposição solar, já que esta também é conhecidamente relacionada ao desenvolvimento do câncer de pele. Pacientes que vivem em países de alta exposição solar, como a Austrália, têm riscos de câncer de pele de 45% e 70%, após o TR em 11 e 20 anos, respectivamente, e aqueles que vivem em países de exposição solar limitada, como a Holanda, têm riscos pós-transplante, em 10 e 20 anos, de 10% e 40%, respectivamente. <sup>(62) (71) (76)</sup> Como consequência disso, a incidência cumulativa de CPNMs em RTRs na Austrália aumenta de 7% após 1 ano de terapia imunossupressora <sup>(62)</sup> para 82% após 20 anos. <sup>(43)</sup> Entre os RTRs holandeses, a incidência de CPNMs em 1 ano é de 0,2% e a incidência de longo prazo é de 40%. <sup>(62) (66) (71)</sup>

#### 1.1.1.2 Características clínicas

A aparência clínica dos CECs é variável. Inicialmente, as lesões são assintomáticas e podem aparecer como pápulas ou placas eritematosas que tendem a evoluir para nódulos, de superfície queratótica, podendo exibir erosão e/ou ulceração em geral recobertas por crostas aderentes e, eventualmente, ainda

ser dolorosos e/ ou pruriginosos. <sup>(46)</sup> <sup>(69)</sup> As lesões tendem a ser firmes à palpação, e se localizam, principalmente, em áreas expostas ao sol. <sup>(75)</sup>

Os CECs em RTRs são comumente associados a múltiplas lesões queratóticas, que consistem em lesões verrucosas, discretamente salientes, de coloração acastanhada ou eritematosa, com superfície áspera ao tato, às vezes com descamação. A aparência clínica dessas lesões pode enganar, pois aquelas que parecem verrugas virais podem ser encontradas, no exame histológico, como sendo um CEC, doença de Bowen ou queratoacantoma, o que mostra a necessidade do exame histopatológico. Foi demonstrado que a maior quantidade dessas lesões queratóticas na pele de RTRs está associada a um risco aumentado de CEC; exemplo disso é que, nos pacientes com mais de 50 lesões queratóticas, o risco de CEC é 12 vezes mais elevado que nos indivíduos que não as têm. <sup>(46)</sup> <sup>(77)</sup>

A apresentação clínica do CBC, por sua vez, é menos variada que a do CEC. As regiões do corpo expostas à RUV, particularmente a cabeça e o pescoço, são locais de predileção, sendo menos comum a ocorrência no tronco e nas extremidades. Existem inúmeras variantes clínicas do CBC, <sup>(78)</sup> mas as características desses tumores em RTRs não diferem significativamente daquelas em indivíduos imunocompetentes. O CBC nódulo-ulcerativo é o tipo mais comum, tanto em RTRs, como na população em geral. No início, apresenta-se clinicamente como uma pápula eritematosa, perlada, que cresce progressivamente a nódulo, com posterior ulceração central, recoberta por crosta que, quando retirada, gera sangramento. A lesão é distintiva, com as bordas cilíndricas, translúcidas, exibindo superfície perlácea e, por vezes, finas telangiectasias. A variante superficial do CBC se apresenta como lesão única ou lesões múltiplas eritêmato-escamosas, levemente infiltrada, emoldurada por bordas irregulares e finas. O CBC superficial incide mais no tronco. O tipo esclerosante, também denominado esclerodermiforme pela semelhança com esclerodermia, caracteriza-se por placa branco-amarelada, esclero-atrótica, dura, lisa, com bordas mal definidas, às vezes com telangiectasias, de evolução lenta e raramente evolui com ulceração. Os diferentes tipos de CBCs podem demonstrar pigmentação melânica variável, sendo um diagnóstico diferencial com melanoma em alguns casos. <sup>(75)</sup> <sup>(79)</sup>



### 1.1.1.3 Agressividade do câncer de pele nos receptores de transplante renal

Além de mais incidentes, os CPNMs também são mais agressivos em RTRs que em pessoas imunocompetentes, <sup>(80) (81) (82)</sup> sobretudo os CECs. <sup>(74) (83)</sup> Esses tumores costumam crescer rapidamente e recorrem localmente em 13,4% dos casos, <sup>(65)</sup> geralmente durante os primeiros 6 meses após a excisão. A taxa de metástase é de até 10% em comparação com 0,25% na população geral. <sup>(51) (84) (85)</sup> Esse comportamento agressivo causa considerável morbidade e potencial mortalidade. <sup>(43) (66) (67) (82) (86)</sup>

Um prognóstico desfavorável está associado à presença de tumores múltiplos, <sup>(62) (66) (80) (87)</sup> localização cefálica, <sup>(66) (80) (87) (88)</sup> presença de tumores extracutâneos <sup>(87)</sup> e idade avançada. <sup>(80)</sup>

## 1.2 INTERAÇÕES ENTRE O SISTEMA IMUNE DA PELE E O CÂNCER

Como a maior e mais exposta interface do corpo humano com o meio ambiente, a pele tem um papel central na defesa do hospedeiro. Antes da descoberta relativamente recente das defesas imunológicas da pele, a interface cutânea era vista como uma barreira passiva entre o hospedeiro e o ambiente hostil. Nas últimas décadas, no entanto, tornou-se evidente que os aspectos mecânicos da defesa epidérmica são reforçados por um sistema versátil e robusto de vigilância imunológica. <sup>(89) (90)</sup> O papel crucial desta na manutenção da homeostase é expresso pelo aumento acentuado na frequência e na gravidade de doenças malignas e infecções cutâneas quando a função imunológica é limitada, como por exemplo, em pacientes que recebem terapia imunossupressora após transplante de órgãos. <sup>(90) (91)</sup>

Embora os primeiros estudos destacassem os tipos de células individuais na pele, foram os conceitos de vanguarda do tecido linfóide associado à pele (SALT, do inglês, *skin associated lymphoid tissue*), descrito pela primeira vez por Streilein em 1983 <sup>(92)</sup> e, mais tarde, do “sistema imune da pele” (SIS, do inglês, *skin immune system*) <sup>(93)</sup> que forneceram uma interpretação moderna e um paradigma geral para pesquisadores interessados em imunologia cutânea. O conceito preambular de

SALT introduziu a ideia de circuitos distintos de células imunes que trafegam continuamente de maneira direcionada entre a pele, os linfonodos de drenagem e a circulação, proporcionando, assim, uma vigilância imunológica ideal. <sup>(94)</sup>

Anatomicamente, a pele é composta por duas camadas. A epiderme é constituída por células epiteliais especializadas, conhecidas como queratinócitos, células dendríticas (CDs) especializadas, que são as CLs, e ocasionais linfócitos T CD8<sup>+</sup>. A derme, localizada abaixo da epiderme, é formada por tecido conjuntivo e contém uma gama diversificada de células imunes especializadas, incluindo CDs dérmicas apresentadoras de antígenos, células T, células B e células *natural killer* (NK), bem como mastócitos, monócitos e macrófagos. <sup>(92) (94) (95) (96)</sup> A contribuição desses diferentes componentes celulares para as respostas imunes da pele tem sido amplamente investigada nos últimos anos. <sup>(95) (96) (97) (98) (99)</sup> Tais esforços resultaram em uma melhor compreensão do sistema imunológico cutâneo, levando a avanços significativos no tratamento de alguns tumores de pele.

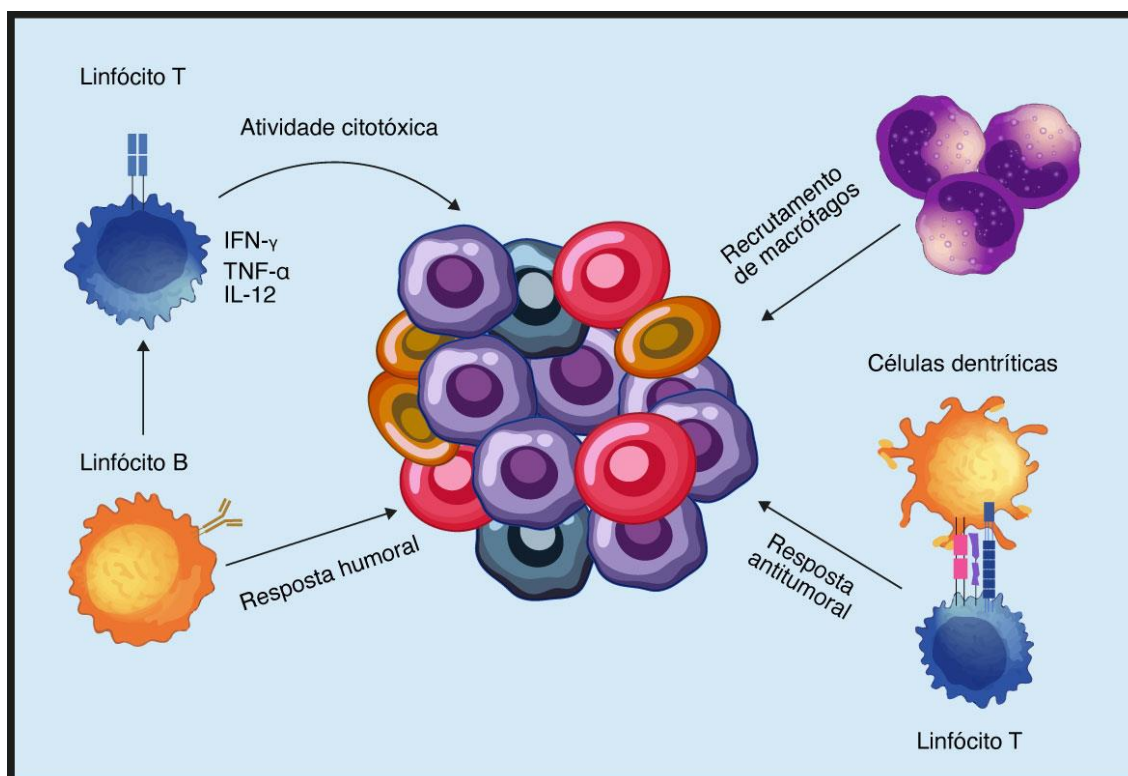
O sistema imunológico da pele, em condições fisiológicas, tem a capacidade de reconhecer e destruir neoantígenos de células neoplásicas, atuando por meio das imunidades inata e adaptativa. A formação de neoantígenos decorre do processo de mutação celular, por meio do qual danos não reparados nas sequências de DNA celular promovem mutações que levam à alteração das funções celulares e à carcinogênese. <sup>(100) (101) (102) (103) (104)</sup>

A imunidade inata é a primeira linha de defesa contra os patógenos, sendo caracterizada pela ausência de memória imunológica e composta pela resposta de granulócitos, monócitos, macrófagos, células dendríticas e *natural killer*. Já a resposta imune adaptativa se divide em resposta mediada por células e resposta mediada por anticorpos, tendo os linfócitos como suas células efetoras. <sup>(101) (104) (105)</sup>

A imunidade celular é exercida pelos linfócitos T com seus subtipos T auxiliares (CD3<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup>) e T citotóxicos (CD3<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>). Os linfócitos T auxiliares (Th, do inglês, *helper T*), por sua vez, apresentam subtipos de acordo com o padrão de produção de citocinas, tais como: Th1, que modula a imunidade celular, e Th2, que estimula a imunidade humoral. <sup>(105) (106)</sup>

Enquanto os linfócitos B podem reconhecer antígenos diretamente com seus anticorpos, os linfócitos T somente reconhecem antígenos que lhe são

apresentados pelas células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês, *antigen presenting cells*), como as CDs dérmicas e CLs epidérmicas, por meio dos antígenos maiores de histocompatibilidade de classe I e II <sup>(101) (104) (105) (107)</sup> (Figura 1).



FONTE: Adaptado de Silva EVS et al., 2021.

**Figura 1** – Interação das células do sistema imunológico com as células tumorais. Em geral, os tumores apresentam células heterogêneas, propiciando que estas escapem da imunovigilância. A imunidade antitumoral citotóxica é exercida pelos linfócitos T e a resposta humoral, pelos linfócitos B. Aliados a tais ações, ocorrem a apresentação de antígenos antitumorais pelas células dendríticas e o recrutamento de macrófagos para células tumorais fagocitárias. IFN- $\gamma$ : interferon-gama; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; IL-12: interleucina-12

É conhecido que os RTRs possuem um risco aumentado para carcinogênese cutânea, especialmente os CECs. <sup>(108)</sup> Esses tumores se originam a partir de mutações em queratinócitos epidérmicos, que se expandem pelos tecidos por meio de clones neoplásicos. A expansão clonal tumoral é estimulada por diferentes agentes denominados promotores, os quais podem ser exógenos, como a RUV, ou endógenos, como a supressão imunológica. <sup>(100) (104)</sup>

Dentre as células imunes, as APCs, como as CLs localizadas sobretudo nos estratos superiores da epiderme, desempenham papel central na indução da imunidade adaptativa.<sup>(109)</sup> No tecido cutâneo, as CLs reconhecem os neoantígenos neoplásicos, apresentando-os aos linfócitos T *naive* localizados nos nódulos linfáticos regionais.<sup>(104) (110) (111) (112)</sup> Assim, esses neoantígenos tumorais apresentados pelas CLs por meio do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) promovem a ativação das células T *naive* em células T efetoras, bem como a polarização de diferentes respostas de células T.

As células T desempenham um importante papel no controle imunológico neoplásico. Nesse sentido, o padrão de resposta dos linfócitos T *helper* é determinante para a prevenção do desenvolvimento de malignidade cutânea e de metástases, sendo o padrão Th1 o principal responsável pelo controle da progressão tumoral por meio da lise das células tumorais por linfócitos T citolíticos (resposta citotóxica), e o padrão Th2 geralmente associado ao desenvolvimento neoplásico.<sup>(104) (111) (112) (113)</sup>

A resposta humoral das células B efetoras tem sido aventada como um componente de controle neoplásico. As células B também podem funcionar como APCs, pois expressam MHC II, moléculas coestimuladoras, incluindo CD40 e CD80/86, e citocinas, como interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), que são necessárias para a ativação das células T CD4<sup>+</sup>. Conjectura-se que essas células B atuam por meio da produção de imunoglobulinas e citocinas que contribuem para a polarização das respostas dos linfócitos T, assim como para a quimiotaxia e ativação de mecanismos pró-inflamatórios, que levarão à falha da carcinogênese.<sup>(104) (112)</sup> Descobertas recentes revelaram funções cruciais de defesa das células B no microambiente do tumor cutâneo no melanoma.<sup>(114)</sup> Além disso, um estudo recente mostrou números reduzidos de células B infiltrantes dentro de CECs cutâneos na margem invasiva, bem como na pele circundante sem malignidade de RTRs sob terapia de imunossupressão, em comparação com controles imunocompetentes.<sup>(115)</sup> Portanto, o comprometimento das células B do sistema imune da pele, pode contribuir para um risco aumentado de desenvolvimento de câncer de pele em populações imunossuprimidas, embora isso ainda permaneça incerto.

### **1.2.1 Princípios básicos da vigilância imunológica e contextualização dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento e progressão do câncer**

Apesar do conceito de vigilância imunológica ter sido consolidado, em meados do século passado, como a capacidade do sistema imune em reconhecer e eliminar tumores clinicamente aparentes,<sup>(116) (117)</sup> foi a partir da década de 1990 que pesquisas deram suporte a tal conceito.<sup>(118) (119)</sup>

A importância dos linfócitos na vigilância imunológica foi demonstrada por meio de estudos com modelos animais que não expressam RAG-2, uma proteína envolvida no rearranjo de receptores linfocíticos. Esses animais, portanto, não possuem células B, T ou NK, formando tumores epiteliais espontâneos em maior grau que animais geneticamente semelhantes, porém normais para a expressão de RAG-2.<sup>(120)</sup>

Evidências adicionais que apoiam a ideia de que a imunovigilância tem um papel na supressão do câncer humano são fornecidas pela descoberta de que as imunodeficiências predisõem os pacientes ao desenvolvimento do câncer. De fato, os receptores de transplantes imunossuprimidos têm risco aumentado de desenvolver certos tipos de câncer, incluindo cânceres sem etiologia viral conhecida, como o melanoma.<sup>(121) (122) (123)</sup>

Além dos dados epidemiológicos de suporte descritos acima, há evidências acumuladas que mostram uma correlação positiva entre a presença de linfócitos em um tumor e o aumento da sobrevida do paciente. Algumas das evidências mais convincentes vêm do estudo de melanomas cutâneos, em que a presença de células T infiltrativas nos tumores estabelecidos pode ser utilizada como marcador de prognóstico, estando relacionado a menor invasão metastática do tumor e maior sobrevida do paciente.<sup>(124) (125) (126)</sup>

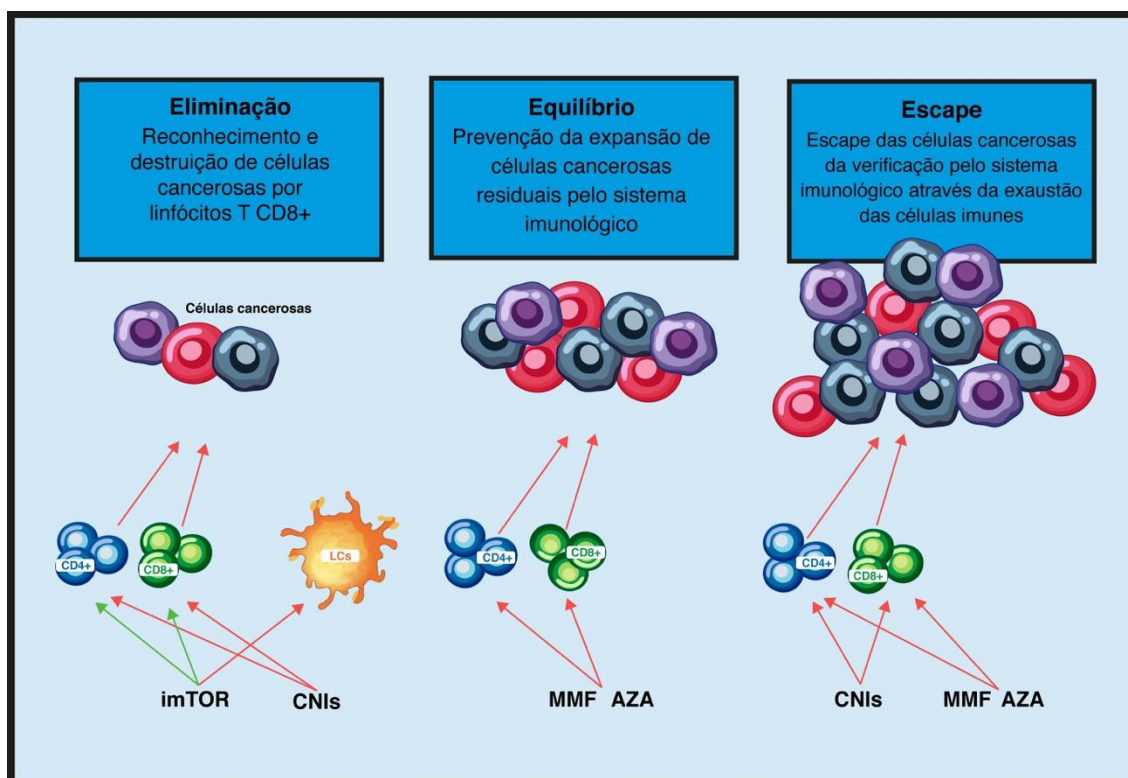
Em suma, a grande quantidade de dados recentes obtidos por muitos grupos independentes ratifica os princípios básicos do conceito de imunovigilância do câncer como originalmente previsto por Thomas (1959)<sup>(116)</sup> e Burnet (1970)<sup>(117)</sup> – ou seja, que o sistema imunológico não manipulado é capaz de reconhecer e eliminar tumores primários e que os linfócitos e as citocinas que eles produzem são importantes nesse processo.<sup>(116) (117) (126) (127)</sup>

### 1.2.1.1 Imunoedição do câncer: um conceito aprimorado da vigilância imunológica

Apesar das inúmeras evidências a favor do papel fundamental do sistema imunológico no combate à formação tumoral, o surgimento de câncer ocorre também em indivíduos com a resposta imune preservada. Isso porque, ao aprofundar os estudos na interface imunidade/neoplasia, descobriu-se que o sistema imune não atua somente na eliminação de células tumorais, mas também pode agir selecionando ou “editando” os tumores emergentes. <sup>(128)</sup> Esse conceito refinado da vigilância imunológica foi chamado de edição imunológica ou imunoedição. Ao reconhecerem essa nova teoria, Dunn et al. (2004) <sup>(129)</sup> propõem que a imunoedição seja composta por três fases: eliminação ou imunovigilância do câncer (proteção), equilíbrio (persistência) e escape (progressão) (Figura 2).

A fase de eliminação abrange o conceito e os mecanismos da imunovigilância, ou seja, o sistema imune se mobiliza à detecção e eliminação de células tumorais antes da proliferação. Este mecanismo depende da interação dos sistemas imune inato e adaptativo. Independente do mecanismo de reconhecimento inato, as vias efetoras são mediadas pela via do IFN- $\gamma$ . As CDs apresentadoras de antígenos tumorais drenam para um linfonodo e estimulam a proliferação de células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> tumor-específicas. Por fim, as células da imunidade adaptativa são atraídas para o local da neoplasia onde reconhecem e destroem as células tumorais que expressam os antígenos específicos. <sup>(129) (130) (131)</sup>

A segunda fase de equilíbrio ocorre quando as células cancerosas residuais permanecem, mas são impedidas de se expandir pelo sistema imunológico. Assim que o crescimento do tumor escapa ao controle do sistema imunológico – por exaustão deste sistema, imunossupressão ou desenvolvimento de variantes de células tumorais –, a terceira fase de escape começa e leva à progressão contínua do tumor. <sup>(132) (133)</sup> Com esses mecanismos de escape, as células cancerosas podem diminuir a atividade das células T. Essas células não recebem mais um sinal para atacar as células tumorais e permanecem inativas. <sup>(133) (134)</sup>



FONTE: Adaptado de Plasmeijer EI et al., 2019.

**Figura 2** – Imunoedição do câncer sob imunossupressão farmacológica. As fases de eliminação, equilíbrio e escape são afetadas de forma específica pelos agentes imunossupressores. AZA: azatioprina; CD4<sup>+</sup>: células linfocitárias T CD4<sup>+</sup>; CD8<sup>+</sup>: células linfocitárias T CD8<sup>+</sup>; CNIs: inibidores de calcineurina; LCs: células de Langerhans; MMF: micofenolato de mofetila; imTOR: inibidores do alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR)

### 1.2.1.2 Subtipos de linfócitos T, células de Langerhans e seus papéis na resposta ao câncer

Quando ativados, os linfócitos T CD8<sup>+</sup> podem adquirir capacidade citotóxica, tornando-se efetivamente células T citotóxicas. A essas células é atribuído grande potencial antitumoral, uma vez que elas podem induzir, diretamente, a morte das células cancerosas.<sup>(135)</sup> Outro mecanismo de ação dos linfócitos T citotóxicos que também se mostra importante no combate ao câncer é a produção de IFN- $\gamma$ , uma proteína capaz de proteger o hospedeiro contra o crescimento de células tumorais transplantadas, impedindo o desenvolvimento de tumores quimicamente induzidos e aqueles espontâneos.<sup>(136) (137) (138) (139)</sup>

Já o papel dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> no controle do câncer é muito menos conhecido. Sabe-se que esses linfócitos são necessários para a correta ativação

dos linfócitos T citotóxicos, <sup>(140)</sup> mas sua contribuição para a resposta antitumoral, muito provavelmente, vai além dos mecanismos ligados à ativação de uma resposta citotóxica. <sup>(139)</sup> <sup>(141)</sup> Os linfócitos T CD4<sup>+</sup> são, em geral, os responsáveis por coordenar a resposta imunológica em sua atividade como linfócitos T auxiliares. <sup>(142)</sup> Eles também são capazes de se diferenciar em subtipos com funções efetoras distintas e que podem ser caracterizados pela expressão diferencial tanto de fatores de transcrição, quanto de receptores de quimiocinas. <sup>(143)</sup> <sup>(144)</sup>

Quando se considera os linfócitos T CD4 “efetores”, três diferentes subtipos de linfócitos Th podem ser destacados: linfócitos Th1, linfócitos Th2 e linfócitos Th17. Além deles, diversos outros subtipos de linfócitos Th já foram descritos, como os Th22, Th9 e os linfócitos Th foliculares (Thf), todos esses capazes de exercer papéis distintos na resposta contra o câncer. <sup>(139)</sup> <sup>(145)</sup>

As CLs, principais APCs da pele, capturam os antígenos e realizam o seu processamento. Essas células migram para os nódulos linfáticos regionais, onde ocorre a apresentação antigênica aos linfócitos T. A interação das CLs com os linfócitos T também pode ocorrer na própria epiderme, atuando no mecanismo de defesa contra os neoantígenos de células tumorais. Esses mecanismos de defesa acontecem quando a capacidade imunológica está intacta e preservada. <sup>(53)</sup> <sup>(113)</sup> <sup>(146)</sup>

### 1.3 PATOGÊNESE DO CÂNCER DE PELE EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL

Com o advento de terapias imunossupressoras altamente eficazes, os RTRs experimentaram melhorias significativas nas taxas de sobrevivência. <sup>(66)</sup> <sup>(127)</sup> <sup>(147)</sup> <sup>(148)</sup> Por outro lado, devido à necessidade de imunossupressão ao longo da vida, esses pacientes apresentam um sistema imune deficitário, no qual os mecanismos de defesa antitumoral se encontram debilitados, acarretando risco aumentado para vários tipos de câncer, dentre os quais os CPNMs são os mais comuns. <sup>(62)</sup> <sup>(149)</sup> <sup>(148)</sup> <sup>(150)</sup> A comunidade médico-científica tem apresentado uma preocupação crescente com o aumento progressivo dos CPNMs, sobretudo do CEC, uma vez que este emergiu como a principal doença maligna no pós-transplante. <sup>(151)</sup>



Outrora, ainda permanecia incógnito se o aumento do risco para o desenvolvimento de CEC era devido à doença renal em estágio terminal ou a fatores de risco individuais pré-existentes, como idade, exposição à RUV, etnia, e fototipo de pele. Porém, a importância do sistema imunológico na patogênese dos CPNMs, particularmente dos CECs, foi reconhecida com base no aumento da incidência dessas malignidades em receptores de TOs e nos mecanismos de imunomodulação mediada pela RUV. <sup>(51)</sup>

Exemplo disso é que estudos demonstraram que o tratamento imunossupressor em RTRs, associado à RUV proveniente da exposição solar, acarreta diminuição das CLs e de subtipos linfocitários (CD4 e CD8) na pele, ocasionando deficiência na resposta imune. <sup>(52) (53) (55) (152) (153) (154) (155)</sup> O maior número de CECs em indivíduos de tal grupo pode ser associado a esses fatores, o que é reforçado pela observação e evolução dos pacientes ao longo do tempo de pós-transplante. Infere-se, portanto, que a diminuição das CLs e subpopulações linfocitárias induz falha na vigilância imunológica, dando oportunidade para o desenvolvimento desses cânceres. <sup>(54) (55) (53) (156)</sup>

### **1.3.1 Fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de pele não melanoma**

Os fatores que colocam a população geral em risco para os CPNMs também estão associados a maior risco em RTRs. Estes incluem idade avançada; pele clara (fototipos baixos, I – III de Fitzpatrick), <sup>(157) (158)</sup> história de câncer de pele prévio <sup>(159)</sup> <sup>(160)</sup> e ceratoses actínicas. <sup>(45) (161) (162) (163) (164)</sup>

A idade desempenha um papel importante no aumento da carcinogênese cutânea, por isso os receptores de transplante de órgão mais idosos são mais predispostos ao desenvolvimento de lesões neoplásicas, provavelmente devido à taxa cumulativa de exposição solar anterior ao transplante. <sup>(45) (63) (162) (165) (166) (167)</sup> <sup>(168)</sup>

Os riscos adicionais para o desenvolvimento de CPNMs na população transplantada incluem duração do tratamento imunossupressor, <sup>(45) (162) (163) (164) (168)</sup> <sup>(169)</sup> intensidade da imunossupressão com a combinação de vários agentes

imunossupressores, <sup>(64)</sup> idade aumentada no momento do TO <sup>(170)</sup> <sup>(171)</sup> e depleção de células CD4 no sangue. <sup>(172)</sup> Além disso, uma história de infecção pelo papilomavírus humano (HPV) também constitui um fator de risco para CPNMs no pós-transplante. <sup>(163)</sup> <sup>(173)</sup> <sup>(174)</sup>

A RUV é, indubitavelmente, o principal carcinógeno ambiental relacionado ao desenvolvimento de CPNMs na população em geral e em RTRs e, segundo Madeleine et al., <sup>(175)</sup> existem argumentos clínicos e epidemiológicos que sustentam essa associação: a maioria ocorre em locais de pele fotoexposta, em indivíduos de pele clara e naqueles com história de exposição crônica ao sol e/ou episódios de queimaduras solares na infância. <sup>(77)</sup> <sup>(176)</sup> <sup>(177)</sup> Portanto, a exposição cumulativa ao sol tem sido implicada no surgimento desses cânceres. <sup>(45)</sup> <sup>(159)</sup> <sup>(162)</sup> <sup>(163)</sup> <sup>(164)</sup> <sup>(178)</sup>

Assim como ocorre na população em geral, a exposição à luz solar é um fator de risco chave para o desenvolvimento de câncer de pele em RTRs, com a RUV servindo tanto como fator iniciador, quanto promotor de carcinogênese, devido à sua capacidade de induzir mutações em genes-alvo críticos e ativar vias de transdução de sinal mediadas por quinases e fatores de transcrição que induzem a progressão e a proliferação do ciclo celular. <sup>(179)</sup> <sup>(180)</sup> Ademais, a RUV causa mutações genéticas nos queratinócitos epidérmicos, que afetam a regulação do ciclo celular, e ainda pode exercer efeitos adicionais no sistema imunológico, induzindo imunossupressão local e sistêmica. Por meio da liberação de interleucina-10 (IL-10) e outros mediadores solúveis, uma mudança de padrão Th1 para Th2 de resposta imune celular é induzida a partir de queratinócitos irradiados pela RUV. <sup>(164)</sup> <sup>(181)</sup>

Outra preocupação constante é que a RUV suprime a resposta imune, inibe a expressão e a atividade das APCs, e compromete o reconhecimento de antígenos das células neoplásicas pelo hospedeiro imunocomprometido, como nos RTRs. <sup>(37)</sup> <sup>(182)</sup> <sup>(183)</sup> Assim, a RUV induz mutações em genes pivotais para o controle do ciclo celular, como o supressor tumoral TP53, e inibe a capacidade de atuar com células mutadas por meio de imunossupressão local e sistêmica. O papel central da RUV se manifesta clinicamente como uma predominância de CECs cutâneos em locais de exposição solar prolongada. Assim, a incidência de câncer de pele pós-transplante varia geograficamente, ocorrendo com maior frequência e com menor

atraso após o transplante em áreas de baixas latitudes geográficas associadas a maior exposição ao sol e em pacientes com histórico de alta exposição ao sol ao longo da vida. <sup>(164) (184) (185)</sup>

Por fim, o papel específico de certos fármacos imunossupressores no desenvolvimento de CECs tem sido objeto de muitos estudos nos últimos anos. O risco atribuído ao potencial carcinogênico direto e o mecanismo de ação conferido a um determinado agente imunossupressor ainda permanecem incertos, sendo um problema desafiador para os RTRs e seus médicos assistentes. Contudo, presume-se que o comprometimento da imunovigilância contribui sobremaneira para a maior incidência dessas neoplasias. Com base nesse viés, é fundamental rever o papel individual das células efectoras da resposta imune da pele contra tumores, objetivando compreender melhor o impacto dos diferentes agentes imunossupressores nos imbricados mecanismos da vigilância imunológica e/ou seus efeitos diretos na tumorigênese cutânea de RTRs.

### **1.3.2 Papel da imunossupressão farmacológica**

A imunossupressão é uma redução na capacidade do sistema imunológico de responder efetivamente a antígenos estranhos, incluindo os antígenos de superfície em células tumorais. Ela pode resultar da morte de células efectoras imunes ou do bloqueio de vias intracelulares essenciais para o reconhecimento do antígeno ou de outros elementos da resposta imune. <sup>(186)</sup>

A imunossupressão terapêutica, geralmente por combinação de vários fármacos, é usada para manter a integridade funcional e anatômica de tecidos estranhos enxertados em outro indivíduo, como um transplante de rim. Um enxerto de qualquer indivíduo, exceto do próprio ou de um gêmeo monozigótico (idêntico), provocará uma reação imune contra os tecidos enxertados, cuja intensidade varia com o grau de diferença antigênica entre o enxerto e o hospedeiro. Na ausência de imunossupressão adequada, o hospedeiro destruirá o enxerto. Órgãos inteiros podem ser transplantados com manutenção da função, propiciando uma vida normal desde que níveis apropriados de imunossupressão sejam mantidos. <sup>(186) (187)</sup>  
<sup>(188)</sup> Embora a terapia imunossupressora seja necessária para prevenir a rejeição

do transplante, esses tratamentos ao longo da vida podem facilitar a carcinogênese. Acredita-se que os medicamentos imunossupressores criam um microambiente propício, que facilita o crescimento irrestrito de células iniciadas pelo câncer. <sup>(51)</sup>

A associação entre o uso as terapias de imunossupressão no pós-transplante e o aumento do risco de câncer de pele está bem estabelecida. <sup>(41) (43) (64) (71) (72) (189)</sup> A título de exemplo, em um grande estudo de coorte envolvendo cerca de 29 mil RTRs, com mais de 273 mil pessoas-ano de acompanhamento, a incidência de câncer foi significativamente aumentada em 25 sítios anatômicos. <sup>(189)</sup> No entanto, quando esses fatores foram ajustados comparando a incidência de câncer em todos os três estágios do transplante (isto é, antes, durante e depois), observou-se que a incidência de câncer aumentou substancialmente após o transplante de órgãos, sugerindo a relevância do papel dos imunossupressores no surgimento desses cânceres de pele. <sup>(189)</sup>

Ademais, a influência da imunossupressão na carcinogênese cutânea é ainda apoiada pela observação de que o aumento da incidência de câncer e do tipo de neoplasia segue um padrão semelhante em outras populações imunocomprometidas como HIV/AIDS e leucemia/linfoma. <sup>(190) (191) (192) (193)</sup>

No tocante ao tipo de câncer de pele mais comum entre a população transplantada, indubitavelmente o CEC é o mais prevalente. Cabe ainda referenciar que, em vez de diferenças no estilo de vida ou fatores de risco de câncer do hospedeiro, o comprometimento da vigilância imunológica provavelmente contribui sobremaneira para o aumento do risco de CEC em RTRs. <sup>(193) (194)</sup>

Argumenta-se favoravelmente quanto à importância do sistema imune na patogênese dos CPNMs, os desfechos de regressão desses cânceres em RTRs que interromperam o uso de imunossupressores. <sup>(195)</sup> Isso sugere que o sistema imunológico do hospedeiro pode reforçar a latência do tumor a longo prazo ou até mesmo destruir células tumorais pouco imunogênicas, uma vez que a competência tenha sido restaurada. <sup>(51)</sup>

Em virtude dos fatos mencionados, vale ratificar que a associação entre imunossupressão e aumento do risco de CPNM em RTRs é irrefutável. Contudo, o potencial de risco conferido por fármacos específicos e seus mecanismos de ação ainda continua sendo uma área ativa de pesquisa.

Embora possa ser intuitivo supor que os medicamentos imunossupressores terão o mesmo efeito supressor contra a imunidade tumoral, pesquisas recentes sugerem que esse pode não ser o caso. <sup>(196)</sup> Sob essa análise, convém ressaltar que as ações de cada agente imunossupressor usado na prática do transplante diferem substancialmente na pele. Logo, apesar da influência direta dos fármacos imunossupressores no crescimento e na sobrevivência de células tumorais ser, tradicionalmente, referendada na literatura, pesquisas recentes sugerem que há diferenças significantes na função das células T conforme o tipo tratamento. <sup>(51) (193)</sup> Portanto, urge que se discuta o comportamento das células efectoras na resposta imune da pele em RTRs, para que, no futuro, se possa propor medidas de estratificar os riscos diferenciais de CPNMs associados aos diferentes fármacos imunossupressores.

#### 1.3.2.1 Fármacos imunossupressores convencionais: contextualização, mecanismos de ação e efeitos na carcinogênese cutânea

Atualmente, busca-se um imunossupressor capaz de induzir uma boa patência do enxerto com efeitos colaterais mínimos. A terapia de manutenção da imunossupressão usual contempla três classes terapêuticas: um corticosteroide, um CNI e um agente antiproliferativo, podendo ser a AZA ou algum precursor do MPA, ambos amplamente classificados como fármacos antimetabólitos. <sup>(60)</sup> Alternativamente, os protocolos permitem a substituição desta última classe por um imTOR, como SIR ou EVE. <sup>(35) (36)</sup> Cada um desses agentes tem mecanismos diferentes pelos quais suprimem as respostas imunes, havendo evidências crescentes de que o risco aumentado de desenvolver CPNMs em RTRs varia de acordo com o imunossupressor. <sup>(193)</sup>

A compreensão prévia da atuação imunossupressora de tais fármacos podem ser útil para elucidar os potenciais efeitos pró e antioncogênicos das diferentes classes de imunossupressores utilizadas nos regimes de manutenção do pós-transplante renal. Nesse sentido, existem diversas explicações para o motivo pelo qual o CEC cutâneo ocorre com mais frequência nessa população farmacologicamente imunossuprimida, incluindo a redução nos mecanismos de

reparo do DNA <sup>(196)</sup> <sup>(197)</sup> e o aumento das propriedades invasivas do tumor. <sup>(196)</sup> <sup>(198)</sup> Contudo, o mecanismo mais discutido é o efeito aparentemente óbvio de suprimir a capacidade do sistema imunológico de reconhecer e eliminar células cancerosas transformadas à medida que elas se desenvolvem, isto é, uma imunovigilância comprometida. Embora possa ser intuitivo supor que os medicamentos imunossupressores terão o mesmo efeito supressor contra a imunidade tumoral, pesquisas recentes sugerem que esse pode não ser o caso. <sup>(196)</sup>

Sob essa análise, é necessário salientar que as ações de cada imunossupressor usado na prática do transplante diferem substancialmente na pele. Embora alguns imunossupressores sejam capazes de induzir uma maior incidência de CPNM na pele exposta ao sol em RTR, até hoje não se obteve um consenso de qual tratamento imunossupressor favoreceria mais o aparecimento dessas lesões neoplásicas. Os imTORs demonstraram efeitos antitumorais. <sup>(57)</sup> <sup>(59)</sup> Tal fato se reflete, notavelmente, nas evidências de que pacientes que recebem esses fármacos desenvolvem menos CPNMs que os pacientes que recebem CNIs. <sup>(193)</sup> <sup>(199)</sup>

As diferenças no risco de desenvolvimento de CPNMs também podem estar associadas aos antimetabólitos AZA e MPA. Os efeitos pró-oncogênicos da AZA são historicamente reconhecidos pelas evidências suficientes desde os primeiros anos da transplantação de órgãos, enquanto os efeitos oncogênicos dos precursores do MPA ainda não estão claramente definidos. Em um estudo de base populacional realizado em coortes suecas de transplante de órgãos, a AZA foi fortemente associada ao aumento do risco de CEC cutâneo no pós-transplante. <sup>(86)</sup> <sup>(193)</sup> Além disso, um outro estudo demonstrou que pacientes tratados com AZA apresentaram tumores de cabeça e pescoço significativamente mais agressivos que pacientes que receberam outras medicações imunossupressoras. <sup>(193)</sup> <sup>(200)</sup>

De modo geral, a comparação do risco de desenvolver CPNMs entre os diferentes fármacos imunossupressores sugere que os imTORs e os precursores do MPA apresentam o menor risco, enquanto a AZA e os CNIs apresentam o maior risco.

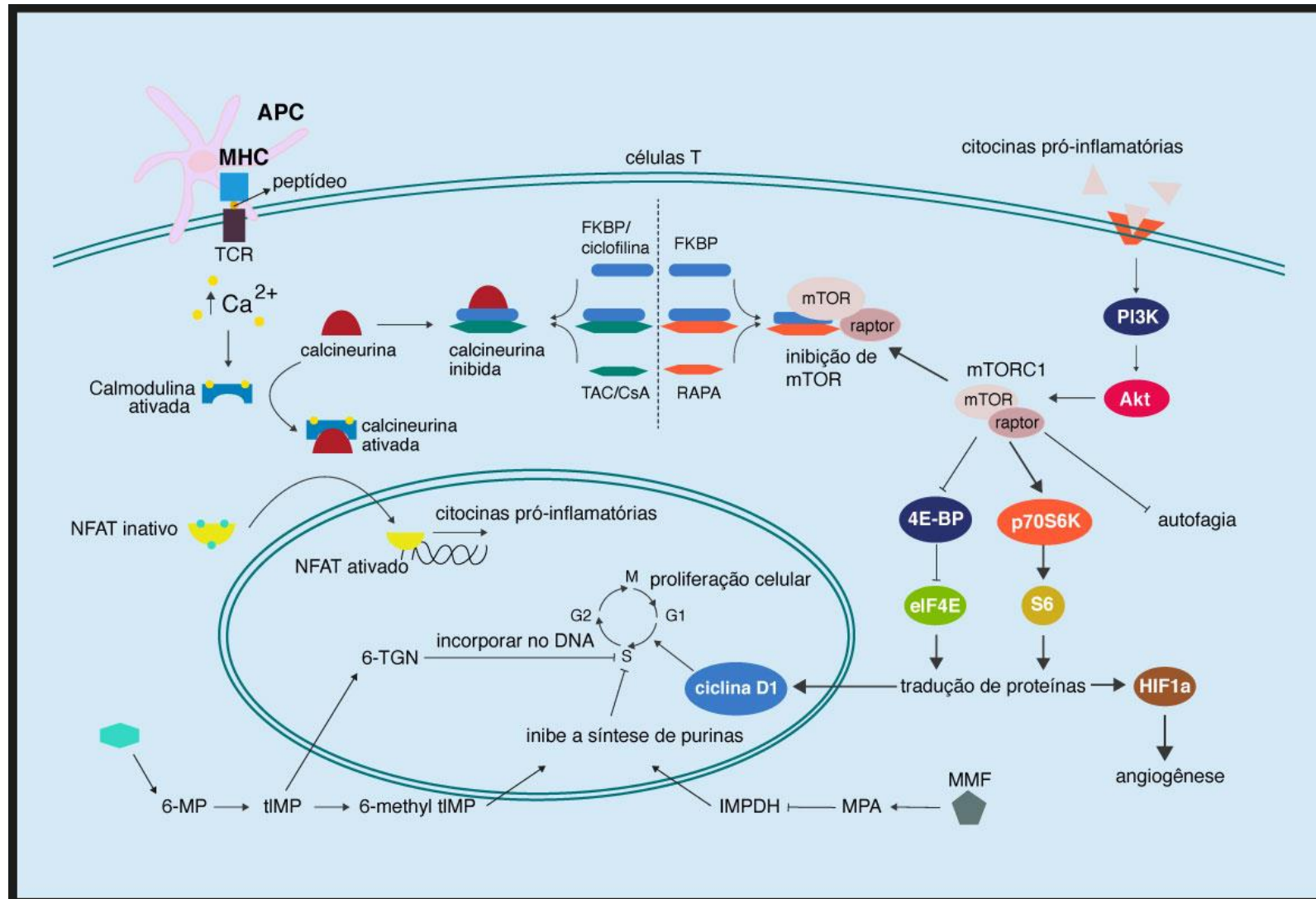
A seguir, encontram-se detalhados os três esquemas de imunossupressão enfocados neste estudo.

### 1.3.2.1.1 Azatioprina

- a) contextualização: os fármacos de tiopurinas, tais como AZA e 6-mercaptopurina (6-MP), estão disponíveis na prática clínica há mais de meio século.<sup>(201)</sup> Em 1959, o 6-MP, que já estava em uso clínico para o tratamento da leucemia linfocítica aguda, teve seu pró-fármaco, a AZA, avaliada como medicamento de potencial imunossupressor em transplantes renais.<sup>(202)</sup> Com sucesso em modelos animais, a AZA foi usada com corticosteroides para o primeiro transplante renal falecido com êxito clínico, em 5 de abril de 1962.<sup>(203)</sup> Essa combinação de AZA com os corticosteroides permaneceu como principal esquema imunossupressor de manutenção até o começo dos anos 1980. Porém, a AZA está sendo cada vez mais substituída pela nova geração de imunossupressores, como os precursores do MPA (MMF/MMS), e os imTORs (SRL/EVE). Ao longo das últimas décadas, a proporção de novos RTRs que iniciaram imunossupressão com AZA diminuiu consideravelmente,<sup>(201)</sup> sendo o maior risco de CEC em RTRs com AZA que naqueles tratados com MPA um fato preponderante para a ocorrência desse cenário;<sup>(204)</sup>
- b) mecanismos de ação: a AZA é um análogo de purina que é incorporado ao DNA celular, onde inibe a síntese de nucleotídeos de purina e interfere na síntese e no metabolismo de RNA.<sup>(127) (193) (205) (206) (207)</sup> Em células de crescimento rápido, como os linfócitos, que não possuem mecanismos de recuperação de nucleotídeos, a síntese de ácido nucleico é prejudicada pela AZA, levando a um bloqueio da proliferação celular (Figura 3). Além desse fato, a AZA também é conhecida por anular a atividade das células T CD4<sup>+</sup>, inibindo o sinal de ativação GTPase Rac1 mediado pela coestimulação de CD28 e convertendo-o em um sinal apoptótico.<sup>(193) (208)</sup> A AZA também pode inibir a seletividade da expressão de genes inflamatórios em células T ativadas, como ligante indutor de apoptose relacionado ao fator de necrose tumoral (TRAIL), membro da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral 7 (TNFRSF7) e  $\alpha$ 4-integrina.<sup>(193) (209)</sup> Sabe-se,

ainda, que a ação imunossupressora da AZA é ampla e não seletiva, sendo capaz de exercer um efeito antiproliferativo e disfuncional em populações de linfócitos T e B, <sup>(210)</sup> além de reduzir o número de células dendríticas epidérmicas, tais como as CLs, na pele em RTRs; <sup>(211)</sup>





FONTE: Adaptado de Jung JW et al., 2016.

**Figura 3** – Representação esquemática das vias imunossupressoras de TAC, CsA, RAPA, AZA e MMF. Quadrante superior esquerdo: A ativação de células T após o envolvimento do receptor de células T (TCR) com um peptídeo cognato em uma APC causa um aumento nos níveis intracelulares de íons de cálcio, que se ligam à calmodulina. A calmodulina ativada se liga à calcineurina, o que permite que a calcineurina desfosforile o NFAT. O NFAT então se transloca para o núcleo, resultando na transcrição de citocinas pró-inflamatórias. Os CNIs, TAC e CsA funcionam se ligando às imunofilinas, proteína de ligação à FK506 (FKBP) e ciclofilina, respectivamente. O complexo imunofilina: fármaco se liga e inativa a calcineurina, impedindo a transcrição de citocinas pró-inflamatórias. Quadrante superior direito: Assim como o TAC, a RAPA também funciona formando um complexo com o FKBP; porém, esse complexo FKBP-RAPA inibe mTOR, em vez de calcineurina. O mTOR está amplamente envolvido no controle de processos metabólicos em resposta a estímulos ambientais, como citocinas pró-inflamatórias, fatores de crescimento e nutrientes. A inibição de mTOR impede a tradução de proteínas essenciais necessárias na ativação de células T e na diferenciação de linfócitos *naïve* em subtipos efetores, promove a autofagia e previne a angiogênese. Quadrante inferior direito: o MPA, convertido do pró-fármaco éster MMF, inibe a IMPDH, promove a autofagia e previne a angiogênese. Quadrante inferior esquerdo: Da mesma forma, os metabólitos da AZA também inibem a síntese de novo de GTP, além de se incorporarem ao DNA como pseudobases tioguanina, eventualmente levando à apoptose. 4E-BP: proteína de ligação do fator de iniciação eucariótico; 6-MP: 6-mercaptopurina; 6-TGN: nucleotídeo 6-TG; AKt: proteína quinase B; APC: células apresentadoras de antígeno; Ca<sup>2+</sup>: íon divalente de cálcio; CsA: ciclosporina A; eIF4E: fator de iniciação de tradução eucariótico 4E; FKBP: proteína de ligação à FK506; G1: *gap* 1 do ciclo celular; G2: *gap* 2 do ciclo celular; HIF1a: fator- $\alpha$  induzível por hipóxia; IMPDH: inosina monofosfato desidrogenase; M: fase de mitose do ciclo celular; MHC: complexo principal de histocompatibilidade; NFAT: fator nuclear de células T ativadas (*nuclear factor of activated T cells*); P70S6K: proteína ribossômica S6 quinase; PI3K: quinase fosfatidilinositol-3; S: fase de síntese do ciclo celular; S6: proteína ribossômica S6; RAPA: rapamicina/sirolimo; TCR: receptor de células T; TAC: tacrolimo; tIMP: monofosfato de tioinosina

- c) efeitos pró-carcinogênicos: a AZA pode promover diretamente o câncer por meio de vários mecanismos. Um dos primeiros mecanismos propostos consiste em um sinergismo com a RUV na carcinogênese. Em um estudo experimental, na carcinogênese induzida pela RUV em camundongos, a AZA encurtou o período de surgimento do câncer e aumentou o número de neoplasias cutâneas, mesmo em comparação com a CsA. <sup>(56)</sup> Além disso, O'Donovan et al. <sup>(48)</sup> demonstraram, em 2005, que a AZA aumenta o efeito da RUV tipo A (RUV-A) na geração de estresse oxidativo e atividade mutagênica por danos oxidativos ao DNA celular por espécies reativas de oxigênio (EROs), que estão ligadas à carcinogênese humana. Sabe-se, ainda, que a AZA leva ao acúmulo do seu metabólito, o nucleotídeo 6-tioguanina (6-TGN), na cadeia de DNA, transformando-a em um cromóforo que absorve luz no espectro da RUV-

A e, assim, é capaz de funcionar como fonte de fotoprodutos oxidativos como a guanina-6-sulfato e de EROs com efeito pró-mutagênico. <sup>(48)</sup> <sup>(212)</sup> Pode ser identificado, também, um mecanismo de dano indireto através da inibição dos mecanismos de reparação nos queratinócitos da epiderme e consequente persistência dos fotoprodutos oriundos da RUV tipo B (RUV-B). Esses fotoprodutos podem estar na base de várias neoplasias cutâneas pela capacidade de induzir mutações, como a que ocorre no gene supressor tumoral que codifica a proteína 53 (p53), com subsequente desregulação do ciclo celular, alteração de vias de transdução de sinal, diminuição das defesas antioxidantes e amplificação dos efeitos imunossupressores da RUV. Em áreas de pele normal adjacente aos carcinomas, focos de células epidérmicas que expressam p53 mutante foram descritos como mais prevalentes em RTRs sob uso de AZA que em pacientes imunocompetentes. <sup>(46)</sup> <sup>(213)</sup>

#### 1.3.2.1.2 Precusores do MPA

a) contextualização: originalmente isolado como um produto de fermentação de *Penicillium stoloniferum*, o micofenolato foi usado pela primeira vez como um ácido orgânico fraco e chamado de ácido micofenólico por Alsberg e Black, em 1913. <sup>(214)</sup> Posteriormente, foi demonstrado que o MPA tem ação antibacteriana, <sup>(215)</sup> antifúngica, <sup>(216)</sup> antiviral <sup>(217)</sup> e propriedades imunossupressoras. <sup>(218)</sup> <sup>(219)</sup> Em 1970, tal substância foi usada clinicamente como um imunossupressor para prevenir a rejeição de transplantes de órgãos. No entanto, devido ao seu potencial carcinogênico e perfil de efeitos colaterais, incluindo aumento do risco de infecções virais latentes e tolerabilidade limitada por distúrbios gastrointestinais, o MPA caiu em desuso como uma opção de terapia imunossupressora. Investigações subsequentes levaram ao desenvolvimento do MMF, o éster 2-morfolinoetil semissintético de MPA. Essa nova formulação mostrou maior biodisponibilidade, tolerabilidade e eficácia. <sup>(220)</sup> <sup>(221)</sup> O MMF recebeu a aprovação da instituição estadunidense Food and Drug Administration (FDA) para a prevenção

da rejeição aguda de aloenxertos renais em 1995, quando foi introduzido no mercado daquele país e no mercado brasileiro, em 1998. <sup>(222)</sup> <sup>(223)</sup> Ulteriormente, se tornou reconhecido como uma opção de tratamento eficaz para doenças de pele imunomediadas. <sup>(221)</sup> Vale destacar que efeitos adversos no trato gastrointestinal são, frequentemente, observados em RTRs sob uso de MMF. Com o intuito de minimizá-los e de melhorar o resultado clínico relacionado ao MPA, foi desenvolvida a formulação de MMS, que possui um revestimento gastrorresistente, dissociando-se apenas no intestino; <sup>(223)</sup> <sup>(224)</sup> <sup>(225)</sup> <sup>(226)</sup>

- b) mecanismos de ação: o MPA é um inibidor reversível, seletivo e não competitivo da inosina monofosfato desidrogenase (IMPDH), tendo como alvo a síntese de nucleotídeos (Figura 3). A IMPDH, por sua vez, é uma enzima importante na síntese *de novo* de purina, que atua como catalisadora na produção da guanosina trifosfato (GTP) *de novo* <sup>(227)</sup> e por isso se faz necessária à proliferação de linfócitos. <sup>(228)</sup> <sup>(229)</sup> A adenosina e a guanosina são bases purínicas que podem ser sintetizadas por duas vias diferentes: a via de resgate da hipoxantina-guanina fosforribosil transferase e a síntese *de novo* de purina. <sup>(221)</sup> <sup>(229)</sup> <sup>(230)</sup> Ao contrário de outras linhagens celulares que podem usar vias de resgate, as células T e B dependem quase inteiramente da biossíntese *de novo* de purina para se proliferar; <sup>(230)</sup> portanto, bloquear a IMPDH inibe muitas funções dos linfócitos, sem afetar significativamente outras células. <sup>(221)</sup> <sup>(228)</sup> <sup>(230)</sup> <sup>(231)</sup> Dessa forma, o MPA causa efeito citostático nos linfócitos e redução na formação de anticorpos, migração e adesão celular. <sup>(228)</sup> <sup>(229)</sup> <sup>(230)</sup> O MMF, como um pró-fármaco éster do MPA, aumenta a biodisponibilidade deste, prolongando seu metabolismo. A maior afinidade do MPA pela isoforma tipo II de IMPDH, uma enzima com suprarregulação significativa em células altamente proliferativas, é vista em linfócitos ativados e células neoplásicas, <sup>(232)</sup> o que permite efeitos citostáticos preferenciais para esses tipos celulares. <sup>(193)</sup> Quando em ação, o MPA esgota os nucleotídeos da guanosina ao inibir a IMPDH, <sup>(221)</sup> já que esta é necessária para a síntese de purinas, por meio da conversão do monofosfato de inosina em monofosfato de xantina. O

monofosfato de xantina é um metabólito intermediário que se torna o nucleotídeo purina GTP, então necessário para a síntese de RNA, DNA e proteínas. Portanto, o MPA esgota a produção *de novo* de nucleotídeos de guanossina, tendo efeitos particularmente potentes nos linfócitos, que carecem criticamente das vias de recuperação de purinas, contando apenas com a síntese *de novo* destas. A adição de guanossina ou desoxiguanossina demonstrou reverter os efeitos citostáticos que o MPA tem sobre os linfócitos, fornecendo produtos da via inibida. <sup>(233)</sup> Convém ainda pontuar que outros três mecanismos também podem contribuir para a eficácia do MPA na prevenção da rejeição de aloenxertos e em outras aplicabilidades clínicas. Primeiro, o MPA pode induzir apoptose de linfócitos T ativados, o que pode eliminar clones de células que respondem à estimulação antigênica. Em segundo lugar, ao esgotar os nucleotídeos de guanossina, o MPA suprime a glicosilação e a expressão de moléculas de adesão de linfócitos como a molécula de adesão de células vasculares 1 (VCAM-1), E-selectina e P-selectina, diminuindo o recrutamento de linfócitos e monócitos para os sítios de inflamação. <sup>(234)</sup> Terceiro, ao esgotar os nucleotídeos de guanossina, o MPA também esgota a tetrahydrobiopterina, um cofator para a forma induzível da sintase do óxido nítrico (iNOS). O MPA, portanto, suprime a produção de óxido nítrico (NO) pela iNOS e o consequente dano tecidual mediado pelo peroxinitrito, um potente oxidante biologicamente relevante na toxicidade celular. <sup>(235)</sup> Em suma, o valor do MPA como agente imunossupressor eficaz e tolerável reside no seu mecanismo de ação, ao inibir de forma não competitiva a IMPDH, interferindo na biossíntese de GTP de novo. <sup>(227)</sup> Por conseguinte, o MPA bloqueia a conversão de inosina-5-fosfato e xantina-5-fosfato em guanossina-5-fosfato, que é um precursor necessário para a síntese de DNA e RNA. Infere-se, portanto, que o MPA afeta preferencialmente os tipos de células que dependem predominantemente da biossíntese de purina de novo, em vez da via de regaste para replicação. As populações de células na primeira categoria incluem linfócitos T e B, que não só carecem das vias de recuperação, mas também possuem uma isoforma

IMPDH à qual o MPA tem uma afinidade particular, no que reside a vantagem seletiva oferecida por tal fármaco. Além disso, o MPA também foi relatado para inibir a produção de anticorpos, geração de células T citotóxicas, proliferação de fibroblastos, células endoteliais e células musculares lisas arteriais; <sup>(233)</sup> <sup>(236)</sup>

- c) efeitos pró e anticarcinogênicos: o risco de câncer com MMF foi examinado em dois grandes estudos de registro de transplantes que relataram que o uso desse fármaco estava associado a um risco significativamente menor de desenvolver malignidade em comparação com regimes de imunossupressão não baseados em MMF. <sup>(193)</sup> <sup>(237)</sup> <sup>(238)</sup> *In vitro*, foi demonstrado que concentrações clinicamente relevantes de MMF dificultam diretamente o crescimento de adenocarcinoma e melanoma, e inibem a angiogênese. <sup>(239)</sup> No entanto, quando essas células tumorais foram transplantadas *in vivo* para camundongos, o efeito do MMF no crescimento tumoral e na angiogênese foi fraco ou indetectável. <sup>(239)</sup> Os autores atribuíram essa inconsistência à biodisponibilidade do MMF, que atingiu apenas concentrações intermitentes de supressão tumoral no sangue dos camundongos e sugeriram que tal medicamento só pode ser eficaz contra tumores se usado em doses superiores àquelas de um cenário típico de transplante para prevenir rejeição do aloenxerto. Esses resultados destacam uma consideração importante ao estender os efeitos de fármacos pró-carcinogênicos e anticarcinogênicos gerados *in vitro* em configurações *in vivo*. <sup>(193)</sup>

#### 1.3.2.1.3 Inibidores de mTOR

- a) contextualização: nas últimas décadas, pesquisadores realizaram importantes descobertas no âmbito da transdução de sinais, que levaram à identificação de moléculas-chave envolvidas nas vias de sinalização que regulam a apoptose, a proliferação e a sobrevivência celular. Como resultado, novos alvos terapêuticos foram levantados, apresentando progressivamente características mais seletivas e

eficazes. Os imTORs, como SRL e EVE, são exemplos dessas terapias. <sup>(240)</sup> Em 1975, uma amostra de solo coletada na região de Vai Atare de Rapa Nui (Ilha de Páscoa), no Oceano Pacífico, continha uma cepa bacteriana de *Streptomyces hygroscopicus* produzindo um composto com potente atividade antifúngica. <sup>(241)</sup> O antibiótico purificado, nomeado de rapamicina em homenagem ao local onde foi descoberto, foi caracterizado como uma lactona macrolídica lipofílica. Além da atividade antifúngica, descobriu-se que a rapamicina possui qualidades imunossupressoras de destaque. <sup>(242) (243) (244)</sup> A investigação intensiva do mecanismo de ação da rapamicina levou à descoberta de uma via evolutivamente conservada, que integra sinais provenientes de fatores de crescimento, nutrientes e estado energético. Essa via regula o metabolismo, o crescimento e a proliferação em células normais, e desempenha um papel central na sobrevivência celular. <sup>(244) (245) (246) (247)</sup> O núcleo dessa via corresponde ao alvo da rapamicina (TOR, do inglês, *target of rapamycin*), e este foi descrito apenas na década de 1990, na levedura *Saccharomyces cerevisiae*, abrangendo um complexo enzimático envolvido na homeostase fisiológica e no crescimento celular. <sup>(248) (249) (250) (251)</sup> Após a introdução dos imTORs no transplante de órgãos, diversos estudos objetivaram demonstrar seu duplo papel como imunossupressores e fármacos antitumorais. Para tanto, experimentos *in vivo* foram realizados em doses que proporcionam imunossupressão eficaz. O primeiro estudo de fase I com a rapamicina (também chamada de sirolimo – SRL) no transplante renal foi publicado em 1996, com pacientes estáveis recebendo prednisona e CsA. <sup>(252)</sup> Estudos seguintes corroboraram a eficácia desse fármaco para prevenção de rejeição aguda no transplante renal. <sup>(253) (254)</sup> Em setembro de 1999, o protótipo dos imTORs (rapamicina/SRL) finalmente recebeu aprovação da FDA, nos EUA, para comercialização como agente imunossupressor a fim de prevenir a rejeição aguda em RTRs. <sup>(255)</sup> Entretanto, a baixa solubilidade aquosa e a instabilidade química impediram a sua utilização em doses elevadas, o que estimulou o desenvolvimento de novos agentes análogos da rapamicina ou *rapalogs*.

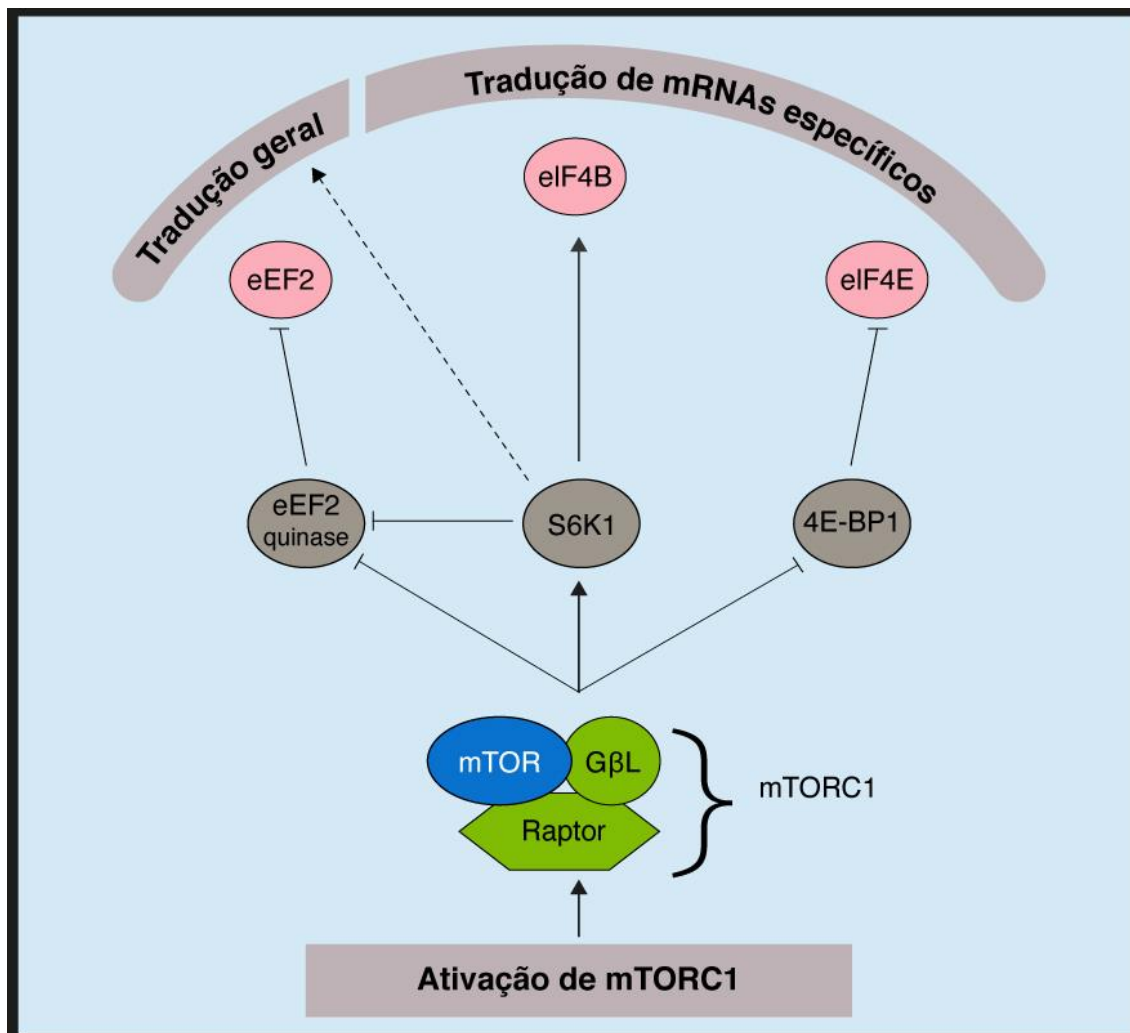
<sup>(256)</sup> O EVE é um análogo sintético da rapamicina reconhecido em 1997, tendo atividade sinérgica à CsA com potencial de uso no transplante renal. <sup>(257)</sup> <sup>(258)</sup> Ulteriormente, alguns estudos *in vivo* sobre a farmacodinâmica desse fármaco e o efeito sobre a proliferação linfocitária foram publicados. <sup>(259)</sup> <sup>(260)</sup> Um estudo de fase I ressaltava que a menor meia-vida do EVE em relação ao SRL poderia oferecer um perfil diferente de eventos adversos. <sup>(261)</sup> <sup>(262)</sup> O EVE tem sido uma alternativa aos regimes imunossupressores de manutenção no pós-transplante renal. <sup>(35)</sup> Uma revisão sistemática sobre o uso dos imTORs em terapia inicial no transplante renal avaliou 27 estudos com SRL e cinco com EVE, tendo concluído não haver diferença significativa na sobrevida dos pacientes, na perda do enxerto ou no risco de malignidade com qualquer comparação. <sup>(263)</sup> O crescente uso do TAC, na década de 1990, e a sua subsequente combinação com o agente antiproliferativo MMF reduziram as taxas de rejeição aguda no primeiro ano pós-transplante de 80% para cerca de 15%. <sup>(264)</sup> No entanto, a exposição no longo prazo aos CNIs tem sido apontada como uma das causas de deterioração da função do enxerto, estando diretamente associada à presença de nefrotoxicidade e a outros eventos adversos. <sup>(265)</sup> Como tentativa de prevenção da nefrotoxicidade, os medicamentos imTORs representam uma alternativa e são, por vezes, utilizados em combinação com os CNIs ou em substituição aos mesmos nos regimes imunossupressores. <sup>(266)</sup> <sup>(267)</sup> O uso dos *rapalogs* é indicado em pacientes receptores de transplante renal, em parte pelo seu efeito imunossupressor seletivo. Isso é atribuído ao mecanismo de ação da rapamicina por meio da sua ligação específica a uma proteína denominada imunofilina e posterior formação de um complexo imunossupressor. O emprego desse medicamento é indicado especialmente em pacientes com risco imunológico baixo a moderado. <sup>(268)</sup> Vários estudos foram publicados ao longo das duas últimas décadas quanto à eficácia dos imTORs no pós-transplante renal. <sup>(269)</sup> <sup>(270)</sup> Nesse período, foram encontradas evidências sobre o uso dos imTORs e sua ação de controle da tumorigênese, revelando-se como fármacos de uso potencial no tratamento/profilaxia secundária de doenças malignas em



RTRs. <sup>(262)</sup> <sup>(271)</sup> <sup>(272)</sup> <sup>(273)</sup> Desse modo, a desregulação de sua atividade, bem como de seus efeitos subsequentes, pode estar associada ao surgimento de uma variedade de doenças, incluindo cânceres de pele. <sup>(274)</sup> <sup>(275)</sup> O entendimento do mecanismo de ação da rapamicina e congêneres (EVE) requer o conhecimento da via de sinalização intracelular envolvendo os complexos mTOR;

- b) via mTOR: ativação dos receptores de membrana por vários fatores de crescimento envolve a transmissão de um sinal, por meio do citoplasma, para o núcleo. A modulação de sinal é dependente da ativação de determinados genes e a transmissão é realizada por meio da fosforilação de proteínas, denominadas quinases. <sup>(276)</sup> As proteínas quinases funcionam como enzimas que catalisam a fosforilação de proteínas por meio da transferência de um grupo adenosina trifosfato (ATP) ou GTP, para resíduos de tirosina, treonina e serina. A fosforilação desses resíduos é responsável por estímulos extracelulares e intracelulares, fornecendo um mecanismo altamente eficiente para o controle da atividade das proteínas. <sup>(277)</sup> O mTOR é uma proteína quinase presente em todos os eucariotos, que fosforila o sítio serina/treonina e está no centro de uma rede de sinalização cada vez mais complexa, que desempenha um papel central na síntese de proteínas celulares envolvidas no crescimento e proliferação celular, diferenciação, progressão do ciclo celular, angiogênese, degradação de proteínas e apoptose. <sup>(278)</sup> <sup>(279)</sup> A biogênese ribossomal é a atividade dentro do ribossomo da célula e sua ativação está vinculada à sinalização do mTOR e a outros sinais extracelulares. É importante destacar que a quantidade de conteúdo ribossomal determina a capacidade de síntese proteica da célula. <sup>(280)</sup> O mTOR existe em pelo menos dois complexos de sinalização de proteína composicional e funcionalmente distintos: o complexo mTOR 1 (mTORC1), sensível à rapamicina, e o complexo mTOR 2 (mTORC2), resistente à rapamicina. O mTORC1 consiste em mTOR, Raptor e mLST8, e participa de importantes vias de sinalização. Ele controla a síntese de proteínas e a biogênese do ribossomo por fosforilação direta das proteínas de ligação ao fator iniciador eucariótico

4E (4E-BPs) e proteína ribossomal S6 quinase (S6K), respectivamente (180) (281) (244) (Figura 4);

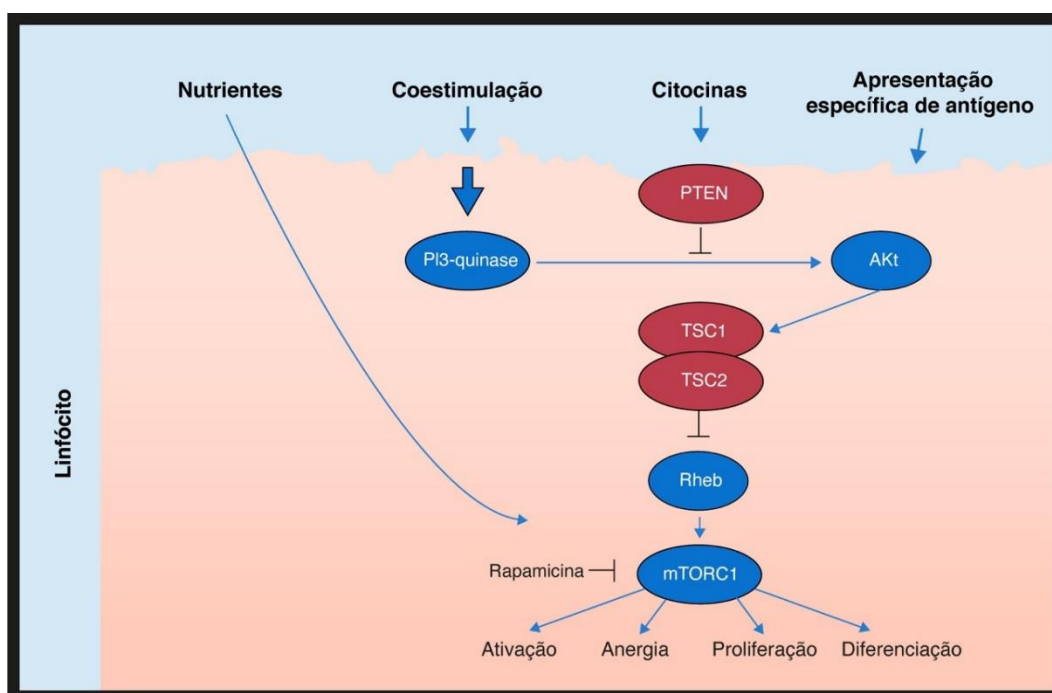


FONTE: Adaptado de Drakos E et al., 2008.

**Figura 4** – Mediadores do alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR). 4E-BP1, S6K1 e eEF2 quinase estão entre os mediadores cruciais do mTOR que orquestram a resposta da maquinaria de tradução a vários sinais, como fatores de crescimento. A ativação de mTORC1 aumenta a biogênese do ribossomo por meio de muitas etapas intermediárias, que geralmente promovem a taxa de tradução. 4E-BP1: proteína-1 de ligação a 4E; eEF2: fator de alongamento eucariótico 2; eEF2 quinase: fator de alongamento eucariótico 2 quinase; eIF-4B: fator iniciador eucariótico 4B; eIF-4E: fator iniciador eucariótico 4E; GβL: tipo de subunidade beta da proteína G; mTOR: alvo da rapamicina em mamíferos; mTORC1: alvo do complexo 1 de rapamicina em mamíferos; S6K1: proteína ribossomal S6 quinase beta-1.

c) mecanismos de ação: os imTORs exercem sua atividade por meio de uma interação de alta afinidade com uma proteína do receptor intracelular, a imunofilina de ligação ao FK506 (FKBP12). Subsequentemente, o conjunto formado com a FKBP12 se liga diretamente ao complexo mTORC1, inibindo sua capacidade de sinalização. Essa interação faz com que ocorra inibição da via fosfoinositídeo-3-quinase (PI3K) /proteína quinase B (Akt), conduzindo à desfosforilação e inativação da S6K1 e do 4E-BP1 (ver Figura 3). O rompimento da função S6K1 e 4E-BP1, como consequência da inibição do mTORC1, interfere na tradução dos ácidos ribonucleicos mensageiros (mRNAs) que codificam as proteínas pivotais envolvidas na regulação do ciclo celular, glicólise e na adaptação a baixas condições de oxigênio (hipóxia).<sup>(282)</sup> O ciclo celular nos mamíferos é dividido em 4 fases: G1, S, G2 e M (mitose). A fase G1 é a etapa em que são reunidos os fatores de crescimento necessários para a replicação do DNA para a fase S. A progressão por meio do ciclo celular requer a ativação das quinases dependentes de ciclina (CDKs), as quais formam holoenzimas com as suas subunidades, as ciclinas. A atividade dos complexos ciclina/CDKs depende do estado de fosforilação das CDKs e do nível de expressão das ciclinas.<sup>(282)</sup> Os imTORs bloqueiam a ciclina dependente do complexo E, resultando em uma fase G1 arrastada do ciclo celular. Como resultado, esses agentes induzem à apoptose, à inibição da migração, à invasão celular e à redução do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Em adição, esses agentes diminuem a proliferação de células T e a produção de anticorpos.<sup>(283)</sup><sup>(284)</sup> Os imTORs têm sido usados por mais de uma década como agentes imunossupressores para prevenir a rejeição de transplantes de órgãos. Os primeiros estudos mecanicistas sobre a rapamicina apontaram para uma explicação bastante simples para o efeito imunossupressor, em que a via mTOR foi considerada essencial para o sinal de proliferação celular e as propriedades citostáticas desses fármacos são atribuídas à inibição do mTOR, que prejudica a produção de interleucina-2 (IL-2) e, portanto, a proliferação de células T secundária aos diferentes estímulos

antigênicos e/ou de citocinas. <sup>(59) (196) (282) (285) (286) (287)</sup> Esse efeito imunossupressor contrasta, em geral, com os CNIs, que atuam impedindo a ativação inicial das células T. <sup>(196) (288)</sup> Embora a compreensão mecanicista geral da atividade supressora básica de CNIs ainda seja geralmente aceita, novos dados sugerem que o efeito supressor da inibição de mTOR em células imunes é muito complexo e provavelmente não se baseia principalmente na inibição da proliferação de células T. <sup>(196)</sup> Evidências recentes indicam que o mTOR desempenha um papel central na diferenciação de subconjuntos de células T e controla aspectos do desenvolvimento de células B e APCs. De fato, o mTOR é um regulador crítico da resposta imune porque atua como um nó central para detectar a disponibilidade de nutrientes, sinalização de citocinas/fatores de crescimento e fatores coestimulatórios (Figura 5). Além disso, o mTOR está em uma posição de sinalização intracelular única para integrar todos esses fatores, a fim de que as células possam equilibrar de forma eficaz e adequada os sinais do microambiente em constante mudança, como aqueles induzidos por microbiológicos (por exemplo, bacterianos e virais) ou alogênicos (por exemplo, transplante de órgãos e tumor); <sup>(196)</sup>



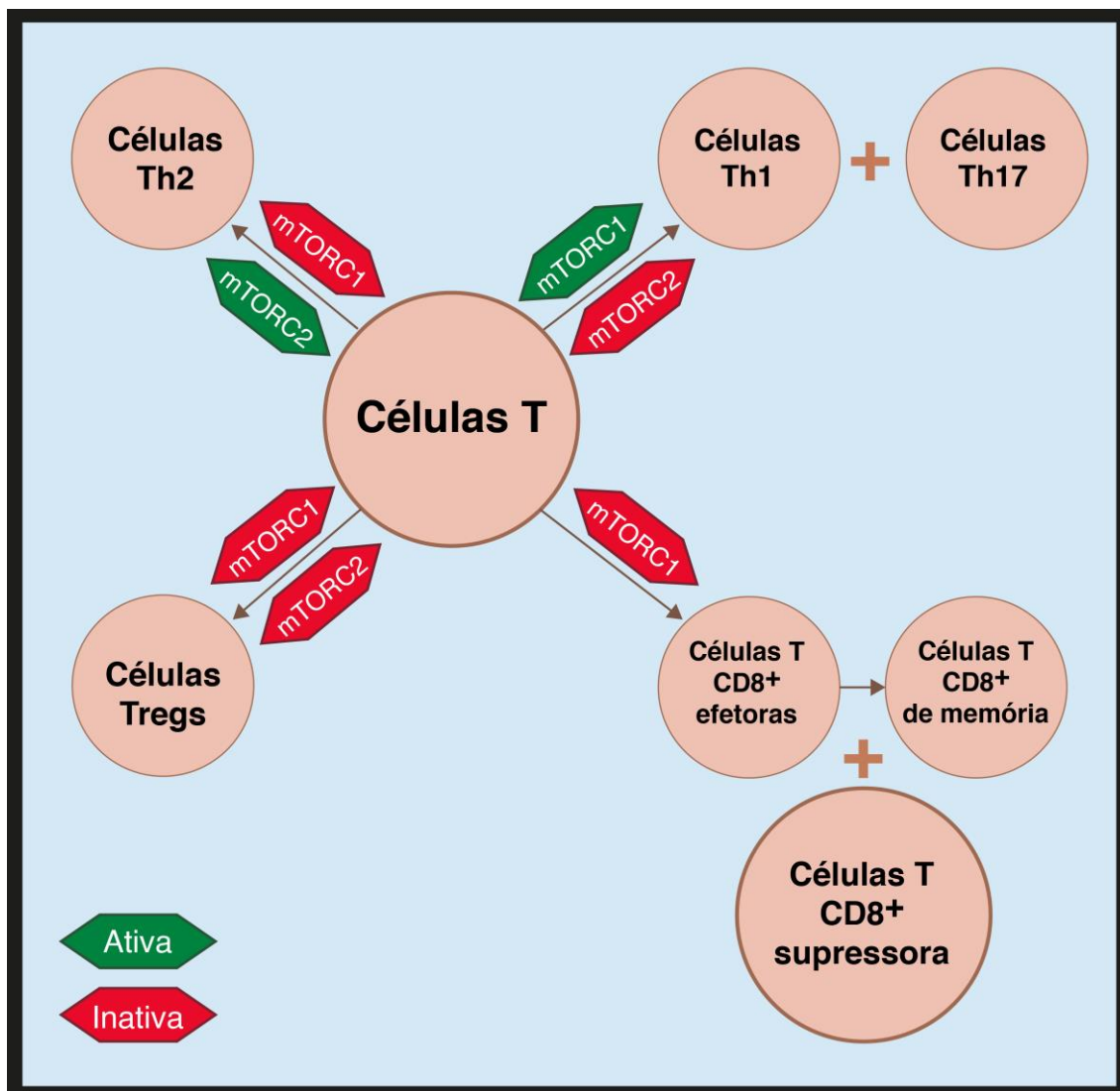
FONTE: Adaptado de Geissler EK, 2013.

**Figura 5** – Integração de vários sinais em linfócito por meio do alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR). AKt: proteína quinase B; mTORC1: alvo do complexo 1 de rapamicina em mamíferos; PI3-quinase: quinase fosfatidilinositol-3; PTEN: fosfatase e homólogo de tensina; Rheb: homólogo de Ras enriquecido no cérebro; TSC: esclerose tuberosa.

d) efeitos anticarcinogênicos: além de ser o núcleo de vias de sinalização ativadas em resposta a nutrientes e fatores de crescimento, o mTOR é um sensor do equilíbrio energético e do estresse oxidativo. <sup>(289)</sup> Seu envolvimento no câncer decorre do fato de que o mTOR exerce um efeito crítico na sinalização celular, que comumente está desregulada em tal patologia. A iniciação da tradução já está bem implicada na tumorigênese. Nesse caso, o mTOR aumenta a iniciação da tradução, em parte pela fosforilação de dois alvos principais, as proteínas de ligação ao eIF4E (4E-BPs) e as quinases de proteína ribossomal S6 (S6K1 e S6K2), que cooperam para regular as taxas de iniciação da tradução. <sup>(290)</sup> A PI3K faz parte de um grupo de enzimas envolvidas em funções celulares e apresentam um papel chave na regulação de funções efetoras, incluindo o crescimento, a proliferação, a sobrevivência e o transporte celular. <sup>(291)</sup> <sup>(292)</sup> Tal enzima catalisa a fosforilação de fosfoinositol de membrana e a ativação da AKt via fosforilação da treonina 308 (Thr308). <sup>(291)</sup> Com a inibição da AKt, macrófagos e células dendríticas ativadas por receptores *Toll-like* (TLR) apresentam o fenótipo de células deficientes em PI3K estimuladas por TLR, sugerindo uma ativação sequencial. <sup>(293)</sup> Um dos maiores alvos celulares da AKt é a proteína mTOR, como ilustrado nas Figuras 3 e 5. Embora o mecanismo de ação da rapamicina como agente anticancerígeno não tenha sido completamente elucidado, convém ressaltar que ela se liga ao FKBP12 e o complexo rapamicina-FKBP12 se liga ao mTORC1 para prevenir a fosforilação dos efetores do mTORC1 4E-BP1 e S6K1. Portanto, a inibição da via mTOR impede a síntese proteica e a proliferação celular, parando as células na fase G1 do ciclo celular. <sup>(294)</sup> Estudos recentes revelam que os pacientes tratados com os imTORs têm uma redução na tumorigênese cutânea para um valor estimado de 50% ou mais em comparação com CNIs. <sup>(199)</sup> <sup>(295)</sup> <sup>(296)</sup> Essa redução atribuída aos imTORs

tem sido principalmente associada à inibição do crescimento das células endoteliais e da progressão da neovascularização do tumor, ambos por meio da diminuição na síntese e sinalização do VEGF. Em adição, os imTORs também bloqueiam a ativação da SK6 induzida pela RUV, resultando na redução da proliferação epidérmica. A exposição à RUV é considerada um importante fator iniciador da carcinogênese cutânea. <sup>(57)</sup> <sup>(180)</sup> <sup>(271)</sup> <sup>(286)</sup> A influência dos fármacos imunossupressores na carcinogênese cutânea induzida pela RUV foi avaliada em animais. Os tumores cutâneos desenvolvidos em animais tratados com dois fármacos CNIs (CsA e TAC) foram maiores quando comparados aos tratados com imTORs. <sup>(297)</sup> Em outro estudo envolvendo receptores de transplantes, o uso de imTOR também demonstrou reduzir a vascularização e a espessura de CEC cutâneo. <sup>(298)</sup> Outro fator de risco que tem sido relacionado a essa patologia em RTRs é a infecção pelo HPV. A oncoproteína E6 produzida pelo HPV, que é importante para a amplificação do seu genoma viral, é sintetizada por meio da ativação da via mTOR. Desse modo, especula-se que o imTOR poderia contribuir para a redução da incidência das neoplasias cutâneas associados à infecção pelo HPV por meio de mecanismos antivirais. <sup>(299)</sup> Vale considerar, ainda, que a diferenciação das populações de células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> tem um grande impacto no desenvolvimento de qualquer resposta imune aos processos tumorais. <sup>(113)</sup> Dados recentes demonstram um papel importante para o mTOR na determinação do padrão de diferenciação de células T, sugerindo que o tratamento com rapamicina aumenta as respostas das células T CD8<sup>+</sup> de memória contra tumores. <sup>(196)</sup> <sup>(300)</sup> <sup>(301)</sup> <sup>(302)</sup> <sup>(303)</sup> Além disso, estudos experimentais recentes sugerem que o bloqueio de mTORC1 com rapamicina ou eliminando componentes essenciais do mTORC1, desenvolve uma dominância de células T polarizadas para o perfil Th2, enquanto a eliminação do mTORC2 polariza a resposta imune em direção ao desenvolvimento de células Th1 e Th17. <sup>(196)</sup> <sup>(304)</sup> Outro fato a ser mencionado é que o bloqueio de ambos os complexos mTOR leva à geração de uma expansão celular T-reguladora (Treg) <sup>(196)</sup> <sup>(305)</sup> (Figura 6). Verifica-se

ainda o papel importante da via mTOR no desenvolvimento de células imunes, relacionando-o à diferenciação e à função das APCs. Em particular, a inibição da via mTOR tem um efeito potente na maturação das CDs. A diferenciação em CDs convencionais e células T CD8<sup>+</sup> parece depender do mTOR. De fato, camundongos com atividade mTOR não inibida desenvolvem um compartimento CDs altamente expandido, <sup>(196) (306)</sup> sugerindo que o mTOR desempenha um papel crítico na manutenção da homeostase da APC *in vivo*. <sup>(196)</sup> O que antes se pensava ser uma explicação simples (efeito antiproliferativo) de como os imTORS reduzem a reação imune aos aloenxertos de órgãos está agora se desenvolvendo como uma explicação muito complexa. Embora várias explicações mecanicistas não imunológicas para os efeitos antitumorais dos imTORS tenham sido descritas, <sup>(196) (286)</sup> a promoção de respostas imunes ao câncer está inesperadamente ficando mais em foco. Em termos de proteção de aloenxertos da rejeição, os imTORS são atraentes do ponto de vista teórico, pois podem ser ótimos para manter um estado de regulação específica do doador por meio da promoção de células Treg. <sup>(196) (307)</sup> Além disso, a promoção de respostas de células T CD8<sup>+</sup> de memória contra células tumorais também pode diminuir o problema do câncer em receptores de transplante. <sup>(196)</sup> Desse modo, apesar das primeiras evidências sugerirem que os imTORS têm o potencial de promover uma resposta imune contra um microrganismo infeccioso ou entidade tumoral, e de, paradoxalmente, inibir a imunidade contra um aloenxerto de órgão, mais pesquisas são necessárias para desvendar os mecanismos operatórios e, finalmente, explorar todo o potencial dos imTORS no cenário de transplante de órgãos. <sup>(196)</sup>



FONTE: Adaptado de Geissler EK, 2013.

**Figura 6** – Representação da atuação combinada entre mTORC1 e mTORC2. O bloqueio seletivo do mTORC1 e mTORC2 leva ao desenvolvimento diferencial de subpopulações de células T. mTORC1: alvo do complexo 1 de rapamicina em mamíferos; mTORC2: alvo do complexo 2 de rapamicina em mamíferos; Tregs: células T-reguladoras

Em virtude do que foi mencionado sobre as classes de imunossuppressores previstas pelo “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Imunossupressão no Transplante Renal”,<sup>(35)</sup> constata-se que as ações de cada agente usado na prática do TR diferem substancialmente na pele. Como predito, embora alguns imunossuppressores sejam capazes de induzir uma maior incidência de CPNM na pele exposta ao sol em RTRs, até hoje não se obteve um consenso de qual tratamento imunossupressor favoreceria mais o aparecimento dessas lesões neoplásicas.



Apesar de estudos pregressos já terem demonstrado diminuição numérica de células efetoras da resposta imune contra tumores cutâneos em RTRs, <sup>(52)</sup> <sup>(53)</sup> até o momento atual, não há estudos que analisem o comportamento dessas células na pele desses pacientes sob diferentes regimes de imunossupressão. Portanto, um maior entendimento sobre o comportamento das células envolvidas na imunovigilância da pele de RTRs pode ser fundamental para explicitar a fisiopatogenia das propriedades tumorigênicas de uma série de imunossupressores.

**2 OBJETIVOS**

---

## **2 OBJETIVOS**

Analisar comparativamente as alterações histopatológicas e a expressão imuno-histoquímica dos marcadores de linfócitos B (CD20), T totais (CD3), T auxiliares (CD4), T citotóxicos (CD8) e CLs (CD1a) na pele não fotoexposta e na pele fotoexposta de receptores de transplante renal em uso de três diferentes esquemas de drogas imunossupressoras (imTOR, MPA e AZA), e de indivíduos imunocompetentes não transplantados.

## **3 MÉTODOS**

---

### 3 MÉTODOS

#### 3.1 DECLARAÇÃO DE ÉTICA

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), em 20/09/2016, sob número do parecer 1.685.977 (Apêndice A).<sup>\*</sup> Um consentimento informado por escrito foi obtido de todos os indivíduos que concordaram em participar deste estudo. Todos os procedimentos envolveram seres humanos e estavam em conformidade com os padrões éticos dos comitês nacionais e institucionais relevantes sobre experimentação em seres humanos e com a Declaração de Helsinque de 1975, revisada em 2008. A realização desse protocolo de pesquisa não interferiu em nenhuma conduta ou prescrição médica. Os dados dos indivíduos que se recusaram a participar do estudo por qualquer motivo não foram usados para análise na pesquisa.

#### 3.2 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional de corte transversal, analítico, com grupos de comparação. Os fatores em estudo foram os achados histopatológicos e imuno-histoquímicos.

#### 3.3 LOCAL E ÉPOCA ESTUDO

O estudo foi realizado no Serviço de Transplante Renal (STR) e nos laboratórios de dermatopatologia da Divisão de Clínica Dermatológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e de Dermatologia Tropical do Instituto de Medicina Tropical da FMUSP, no período de janeiro de 2017 a janeiro de 2021.

---

<sup>\*</sup> Conforme consta no parecer da Cappesq/HCFMUSP, o título inicial desta pesquisa era “Uso dos inibidores da mTOR e alterações cutâneas em transplantados renais: avaliação clínica, histológica e imuno-histoquímica”.

### 3.4 PARTICIPANTES

Os participantes que compreenderam a casuística foram selecionados a partir da população de receptores de transplante renal que estavam em acompanhamento no STR. Os prontuários clínicos de todos os receptores de transplante renal foram analisados para realização de uma pré-seleção dos pacientes para inclusão no estudo. Foram identificados todos os receptores de transplante renal com enxerto funcionante que estavam sob tratamento imunossupressor de manutenção triplo.

A seleção definitiva dos pacientes foi feita pela autora no ambulatório do STR, de forma sequencial ao atendimento. Os pacientes que preencheram os critérios de elegibilidade foram convidados e explicitamente informados de que a participação na pesquisa não interferiria em nenhuma conduta ou prescrição médica. Eles receberam orientações sobre os propósitos e procedimentos do estudo, e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) de forma voluntária.

Todos os pacientes foram submetidos a biópsias de pele, após terem dado o consentimento e a autorização para a coleta dos fragmentos teciduais, seu armazenamento e utilização no estudo.

#### 3.4.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com idade maior ou igual a 18 anos, submetidos ao transplante renal, estando sob esquemas imunossupressores estáveis contendo imTOR, MPA ou AZA, por um período mínimo de 12 meses e máximo de 72 meses. Todos também estavam em uso de tacrolimo e prednisona. A terapia de indução foi realizada com ATG ou basiliximabe. Estavam com função renal estável com TFG maior ou igual a 45 (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>), correspondendo a estágio  $\leq$  G3a, de acordo com a classificação do Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO).<sup>(18)</sup> Tal dado é importante porque a insuficiência renal influencia fatores imunológicos e, assim, poderia atuar como um potencial viés sobre o desfecho estudado. Os

pacientes apresentavam fototipos II, III, IV ou V, segundo a classificação de Fitzpatrick (1988) <sup>(308)</sup> (ver Anexo A).

Os pacientes foram divididos em três grupos:

- a) grupo 1 ou grupo imTOR: pacientes submetidos ao esquema de imunossupressão com inibidores de mTOR (EVE ou SRL);
- b) grupo 2 ou grupo MPA: pacientes submetidos ao esquema de imunossupressão com precursores do ácido micofenólico (MMF ou MMS);
- c) grupo 3 ou grupo AZA: pacientes submetidos ao esquema de imunossupressão com azatioprina.

#### **3.4.2 Critérios de não inclusão**

Não foram incluídos os pacientes com transplantes de múltiplos órgãos ou transplante prévio de qualquer órgão distinto de rim e com fototipos de pele I e VI, segundo a classificação de Fitzpatrick. A não inclusão dos indivíduos de fototipos extremos ocorreu pois poderiam atuar como viés. Não foram incluídos os indivíduos com eventos neoplásicos prévios e/ou atuais, com imunodeficiências não relacionadas ao transplante renal, com uso de outros imunossupressores além dos indicados neste estudo, e com tempo após o transplante menor que 1 ano e maior que 6 anos.

#### **3.4.3 Grupo controle**

Para comparação, foram incluídos indivíduos imunocompetentes não transplantados como controles (ou Grupo Controle – GC). Todos exerciam a profissão no próprio STR. Este grupo foi composto por indivíduos com idade maior ou igual a 18 anos, de ambos os sexos e que não apresentavam história de doença dermatológica. Foram seguidos os critérios de não inclusão concernentes à idade inferior a 18 anos, aos fototipos de pele I e VI segundo a classificação de Fitzpatrick, à ausência de eventos neoplásicos prévios e/ou atuais, e a quaisquer imunodeficiências, seja primária ou secundária. Da mesma forma que os RTRs integrantes dos demais grupos, eles receberam orientações

sobre os propósitos e procedimentos do estudo. Todos assinaram consentimento por escrito.

### **3.4.4 Descrição amostral**

#### **3.4.4.1 Variáveis de descrição amostral e fonte de dados**

As variáveis de descrição amostral foram definidas em variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais.

Para todos os indivíduos do estudo, foram investigadas as variáveis relativas:

- a) ao sexo;
- b) à idade (mensurada em anos completos);
- c) ao fototipo de pele, que variou de II a V como indicado na classificação de Fitzpatrick.

Para os receptores de transplante renal, foram avaliadas as variáveis clínicas relacionadas:

- a) ao tipo de terapia de indução (ATG ou basiliximabe);
- b) ao tipo de imunossupressor de manutenção (EVE, SRL, MMS, MMF ou AZA);
- c) ao tempo de imunossupressão de manutenção (mensurada em meses completos).

Foram registrados também os resultados de exames laboratoriais para confirmação da função renal estável estabelecida clinicamente. Todos os exames investigados fazem parte da rotina do atendimento ambulatorial no STR.

As variáveis laboratoriais foram:

- a) dosagem de creatinina sérica realizada nos últimos 3 meses (resultados expressos em mg/dl);
- b) TFG estimada pela fórmula de CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration).

Para os participantes não transplantados que não dispunham dos referidos parâmetros laboratoriais, procedeu-se à coleta de amostra de sangue venoso



periférico, sendo uma alíquota empregada para dosagem de creatinina sérica no período da manhã, sem exigência de jejum.

Um instrumento para coleta de dados foi criado para auxiliar na obtenção e na organização das informações requeridas quanto às variáveis de descrição amostral deste estudo no prontuário eletrônico do STR. Nesse sistema, foi disponibilizado à pesquisadora uma ficha de avaliação padronizada, preparada especificamente para este trabalho (Apêndices B e C).

A coleta de dados foi realizada pela pesquisadora executante, auxiliada por dois assistentes de pesquisa (técnicos em informática da Instituição).

### 3.5 ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE PELE

Os procedimentos técnicos aplicados incluíram técnicas histológicas voltadas para a avaliação histopatológica e imuno-histoquímica dos tecidos (fragmentos de pele). Entre os procedimentos realizados, estão a coleta do material, fixação, processamento, inclusão, microtomia e coloração.

#### 3.5.1 Coleta e preservação das amostras de biópsias de pele

Foram realizadas duas biópsias de pele íntegra em cada paciente, sendo uma na face interna do braço (área não exposta à radiação solar) e outra no dorso da mão ipsilateral (área exposta à luz solar).

Os procedimentos foram feitos pela autora no ambulatório do STR, utilizando-se anestesia local infiltrativa com lidocaína a 2%, sem vasoconstritor. Para a retirada dos fragmentos de pele, empregou-se *punch* de 4 mm de diâmetro. Imediatamente após a retirada do material, as amostras de pele foram colocadas em frascos com solução fixadora de formol a 10% tamponado com sais de fosfato.

Todas as amostras foram enviadas, no mesmo dia da coleta, para o processamento histológico no laboratório de dermatopatologia da Divisão de Clínica Dermatológica do HCFMUSP.

#### 3.5.2 Preparação dos fragmentos de pele para análises microscópicas

Os espécimes foram processados por técnicas histológicas de rotina e incluídos em parafina. A partir de cada bloco de parafina, foram feitos cortes histológicos sequenciais de 4 µm de espessura, montados em lâminas de vidro e corados pela hematoxilina-eosina para estudo histopatológico, ou montados em lâminas de vidro tratadas com solução adesiva de 3-aminopropil-trietoxisilano (Sigma Chemical Co., cód. A3648, Saint Louis, EUA) a 2% em acetona, para a realização da técnica imuno-histoquímica.

### 3.6 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

A análise histopatológica foi feita pela autora sem conhecimento prévio do grupo ao qual o indivíduo pertencia.

As variáveis histopatológicas avaliadas neste estudo foram:

- a) estrato córneo da epiderme, classificando-o quanto ao tipo morfológico em três categorias:
  - em cesta;
  - lamelar;
  - compacto.
- b) estrato granuloso da epiderme, sendo definido pelo aspecto morfológico nos sítios cutâneos de pele não glabra segundo a espessura <sup>(309)</sup> em três categorias:
  - normal ou de espessura habitual (presença de uma a três camadas celulares);
  - hipergranulose, quando há espessamento desse estrato (número de camadas superior a três);
  - agranulose, quando da ausência dessa camada.
- c) número de camadas celulares do estrato espinhoso nos cones epiteliais (três cones/biópsia) e nos segmentos da epiderme entre cones epiteliais (três segmentos/biópsia), sendo anotadas as médias aritméticas/biópsia;
- d) grau de elastose solar, definido como a intensidade do material elastótico de coloração pálida ou basofílica presente na derme como:

- discreto (fibrilar);
  - moderado (fibrilar e amorfa);
  - intenso (amorfa);
  - ausente (sem a presença desse material na derme).
- e) infiltrado inflamatório linfocitário, categorizado pela intensidade de células presentes em torno das estruturas vasculares superficiais e/ou profundas na derme em:
- discreto;
  - moderado;
  - intenso;
  - ausente.

### 3.7 AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA

#### 3.7.1 Demonstração das subpopulações de linfócitos e células de Langerhans

Para a demonstração da expressão dos marcadores de linfócitos B (CD20), T totais (CD3), T auxiliares (CD4), T citotóxicos (CD8) e células de Langerhans (CD1a), foi utilizada a técnica de imuno-histoquímica.

Cortes histológicos seriados de 4 µm de espessura do material embebido em parafina, dispostos em lâminas de vidro conforme descrito anteriormente, foram submetidos à técnica imuno-histoquímica no Laboratório de Dermatologia Tropical do Instituto de Medicina Tropical da FMUSP.

Sequencialmente, os cortes histológicos foram desparafinizados em dois banhos de xilol de 20 e 10 minutos (min), respectivamente, à temperatura ambiente. A seguir, os espécimes foram hidratados com bateria decrescente de etanol (100%, 95% e 70%) e lavagem com água corrente por 5 min.

O bloqueio de peroxidase endógena foi feito em câmara escura com três incubações em peróxido de hidrogênio 3% por 10 min cada.

Posteriormente, as lâminas foram lavadas com água corrente durante 5 min e submetidas a tratamento em calor úmido para exposição dos sítios antigênicos, utilizando banho-maria a 95°C, sendo imersas na solução *Target Retrieval*

*Solution* pH 9,0 (DakoCytomation, cód. S2367, Carpinteria, EUA), por 20 min (Quadro 1).

**Quadro 1 – Anticorpos primários utilizados, procedência, diluição e sistema de revelação**

<b>Anticorpo</b>	<b>Clone</b>	<b>Código</b>	<b>Marca</b>	<b>Diluição</b>	<b>Recuperação antigênica</b>	<b>Sistema de detecção</b>
<i>Monoclonal Mouse Anti-Human CD20cy</i>	L26	M755	Dako	1:400	Banho-maria 95°C 20' (S2367)	<i>Reveal</i>
<i>Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3</i>	Policlonal	IR503	Dako	Pronto para uso	Banho-maria 95°C 20' (S2367)	<i>Reveal</i>
<i>Monoclonal Rabbit Anti-Human CD4</i>	SP 35	104R-16	Cell marque	1:50	Banho-maria 95°C 20' (S2367)	<i>Reveal</i>
<i>Monoclonal Mouse Anti-Human CD8</i>	C8/144B	IR623	Dako	Pronto para uso	Banho-maria 95°C 20' (S2367)	<i>Novolink</i>
<i>Monoclonal Mouse Anti-Human CD1a</i>	010	M3571	Dako	1:200	Banho-maria 95°C 20' (S2367)	<i>Novolink</i>

As lâminas foram lavadas com água corrente e água destilada por 5 min cada e submersas em solução salina tamponada com fosfatos (PBS) pH 7,4.

A seguir, foi feito o bloqueio de proteínas inespecíficas do tecido com incubação em solução de leite desnatado (Molico, Nestlé®) a 10% durante 30 min à temperatura ambiente.

As lâminas foram incubadas com os anticorpos primários (Quadro 1) diluídos em soroalbumina bovina (BSA) fração V 1%, acrescida de azida sódica 0,1% em PBS pH 7,4, “overnight a 4°C.

Após o procedimento de lavagem das lâminas por duas vezes com PBS pH 7,4 durante 5 min cada, procedeu-se à incubação com o anticorpo pós-primário (*Novolink Max Polymer Detection System*, cód. K0690, Leica Microsystems, Newcastle, Reino Unido), em câmara úmida durante 30 min à temperatura ambiente. De maneira semelhante, as lâminas selecionadas para a metodologia do *kit* de polímeros do sistema *Reveal – Biotin-Free Polyvalent DAB* (Spring Bioscience, cód. SPD125, São Francisco, EUA) foram incubadas com o reagente *complement* (disponível no *kit*), ambos por 30 min a 37°C.

A seguir, as lâminas foram lavadas em PBS pH 7,4, por duas vezes, durante 5 min cada e incubadas com o *polymer* (*Novolink Max Polymer Detection System*), em câmara úmida durante 30 min à temperatura ambiente. As demais lâminas foram incubadas com o outro reagente *HRP conjugate* do sistema *Reveal*, por 30 min a 37°C.

Em seguida, os sítios de ligações foram revelados com solução cromógena de diaminobenzidina (DAB, disponível no *kit*) 0,03% acrescida de 1,2 ml de peróxido de hidrogênio 3%.

As lâminas foram lavadas com água corrente por 5 min e contracoradas com hematoxilina de Carazzi por 20 segundos. A seguir, foram lavadas com água corrente e secas à temperatura ambiente.

A montagem das lâminas foi feita com resina *Permount* (FISHER Scientific, cód. SP15-100, Nova Jersey, EUA).

Fragmentos histológicos de amígdala foram utilizados como controles positivos das reações para os subtipos de linfócitos e de biópsia de pele normal para CD1a. O controle negativo de cada reação foi obtido por meio da omissão

dos anticorpos primários que eram substituídos por solução de 1% de BSA em PBS pH 7,4.

### 3.7.2 Análise morfológica

#### 3.7.2.1 Quantificação da expressão de células linfocitárias B CD20<sup>+</sup>, T CD3<sup>+</sup>, T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup>

A quantificação de células linfocitárias B CD20<sup>+</sup>, T CD3<sup>+</sup>, T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup> foi obtida a partir da contagem do número de células dérmicas imunomarcadas. Para isso, utilizou-se um microscópio óptico binocular da marca Zeiss®, com ocular de 10x e objetiva de 40x, obtendo-se, dessa forma, um campo microscópico cujo diâmetro é de 0,45 mm, correspondendo à área de 1,59 mm<sup>2</sup>. Para cada um dos fragmentos, foram analisadas as áreas de pelo menos seis campos (três junto aos vasos do plexo dérmico superficial e três do plano mais profundo da derme). Desse modo, obteve-se a média do número de células imunomarcadas por unidade de área de derme em mm<sup>2</sup>.

#### 3.7.2.2 Quantificação da fração de área da epiderme e do epitélio da bainha folicular com expressão do antígeno CD1a (células de Langerhans)

A quantificação de CLs na epiderme e na bainha epitelial dos folículos pilosos foi feita pela fração de área imunomarcada pelo anticorpo anti-CD1a, uma vez que essas células exibem dendritos que se anastomosam entre os queratinócitos, sendo difícil sua individualização. <sup>(310)</sup>

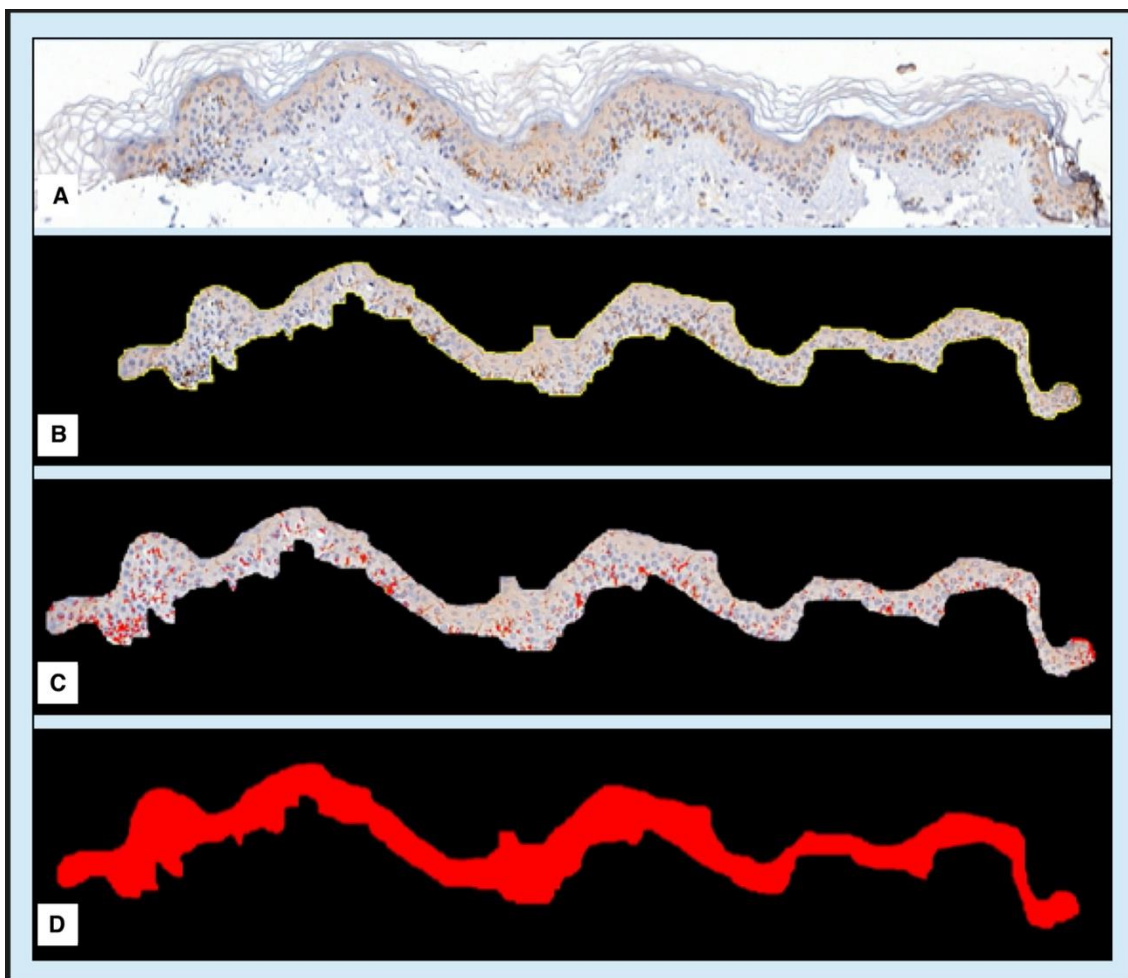
A análise morfológica foi efetuada por meio de um sistema de análise de imagens por computador obtidas a partir do escaneamento das lâminas processadas pela técnica imuno-histoquímica no equipamento *Pannoramic 250 Flash* (3DHISTECH – número de série P250-010806, Budapeste, Hungria), com a resolução óptica de 1,63 *pixel/μm*. A magnificação da objetiva *PlanApochromat* utilizada foi de 40x e o tipo da câmera acoplada foi a CIS VCC-FC60FR19CL.

A seguir, foram obtidas imagens microscópicas com aumento digital de 10x, com auxílio do programa *CaseViewer* versão 2.4 (3DHISTECH Ltd.,

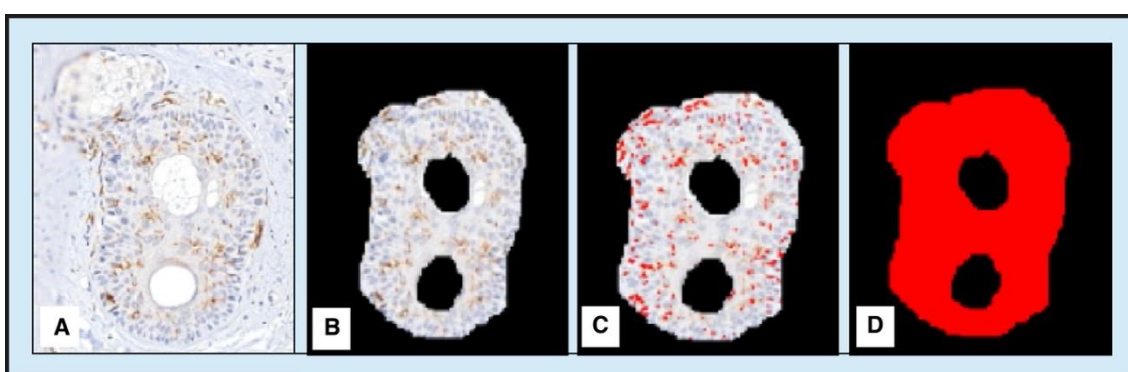
Budapeste, Hungria). Utilizando o programa *ImageJ* versão 1.50i (NIH, Maryland, EUA), foram selecionadas somente a epiderme e a bainha interna dos folículos pilosos para quantificar sua área total em mm<sup>2</sup>. Em seguida, foi mensurada a área imunomarcada, reconhecida semiautomaticamente por sua coloração marrom, que indica a positividade da reação.

As exemplificações das etapas da morfometria para a análise da epiderme e do epitélio folicular estão descritas nas Figuras 7 e 8, respectivamente. A partir dos valores da fração de área (%) obtidos de todos os campos microscópicos analisados de cada amostra/indivíduo, foi calculada a média aritmética que representa a média da fração de área da epiderme e do epitélio folicular com expressão positiva para CD1a. Os campos microscópicos com dobras, artefatos ou destruição tecidual importante foram excluídos da análise. Além disso, não foi selecionada a camada basal da epiderme que exhibe pigmento melânico, que também é marrom.





**Figura 7** – Exemplificação da morfometria da imunomarcção com anticorpo anti-CD1a na epiderme. A, Fotomicrografia da camada epidérmica do fragmento de pele. B, Seleção da área da epiderme. C, Seleção das áreas imunomarcadas. D, Seleção da área total da epiderme (em vermelho)



**Figura 8** – Exemplificação da morfometria da imunomarcção com anticorpo anti-CD1a no epitélio folicular. A, Fotomicrografia de um folículo piloso do fragmento de pele. B, Seleção do epitélio folicular. C, Seleção das áreas imunomarcadas. D, Seleção da área total do epitélio folicular (em vermelho)

## 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 3.8.1 Cálculo do tamanho amostral

Para determinação do número de indivíduos participantes (n), foi realizado o cálculo amostral, utilizando nível de significância de 5% e poder de 80%. Considerou-se os resultados do CD4 como principal marcador linfocitário da pele exposta, de acordo com os estudos de Galvão et al. <sup>(52)</sup> em 1998: média de 2,30 para grupo de RTRs tratado com AZA e de 4,64 para o grupo controle de não transplantados, com desvio padrão de 2,0. A amostra calculada foi de 10 indivíduos em cada grupo.

Sendo assim, para compor os quatro grupos estudados, foram incluídos 30 receptores de transplante renal (n=30) e 10 voluntários saudáveis, não transplantados.

O programa utilizado foi o *Stata*® (StataCorp, LC) versão 11.0.

Os processos adotados para seleção da casuística e materiais e métodos utilizados neste estudo se encontram resumidos no Fluxograma 1.

### 3.8.2 Classificação das variáveis de interesse

As variáveis de interesse deste estudo foram divididas entre variáveis qualitativas (ou categóricas) e variáveis quantitativas (ou numéricas), conforme elencado a seguir:

a) *variáveis categóricas de interesse:*

- variáveis demográficas (sexo e fototipo de pele);
- variáveis clínicas (terapia de indução e tratamento imunossupressor de manutenção);
- variáveis do estudo histopatológico (morfologia do estrato córneo, morfologia do estrato granuloso, grau de elastose solar e intensidade do infiltrado inflamatório linfocitário perivascular na derme).

b) *variáveis numéricas de interesse:*

- variável demográfica (idade);
- variável clínica (tempo de imunossupressão de manutenção);

- variáveis laboratoriais (creatinina sérica e TFG<sub>e</sub>);
- variáveis do estudo histopatológico (número de camadas celulares nos cones e segmentos da epiderme entre os cones);
- variáveis do estudo imuno-histoquímico (dados morfométricos dos imunomarcadores CD20, CD3, CD4, CD8 e CD1a).

### 3.8.3 Análise estatística

Inicialmente, os dados foram analisados por meio de estatística descritiva. Para descrever as variáveis categóricas, utilizou-se, respectivamente, por frequências absolutas (n) e relativas (%). Para as variáveis quantitativas, utilizou-se médias e desvios padrão (DP), e medianas e intervalos interquartis (IIQ). A análise da aderência das variáveis quantitativas à distribuição normal foi avaliada pelo teste de *Shapiro-Wilk*. As variáveis quantitativas que apresentaram distribuição normal foram apresentadas em médias aritméticas e DP, e as que não apresentaram distribuição normal foram apresentadas em medianas e IIQ.

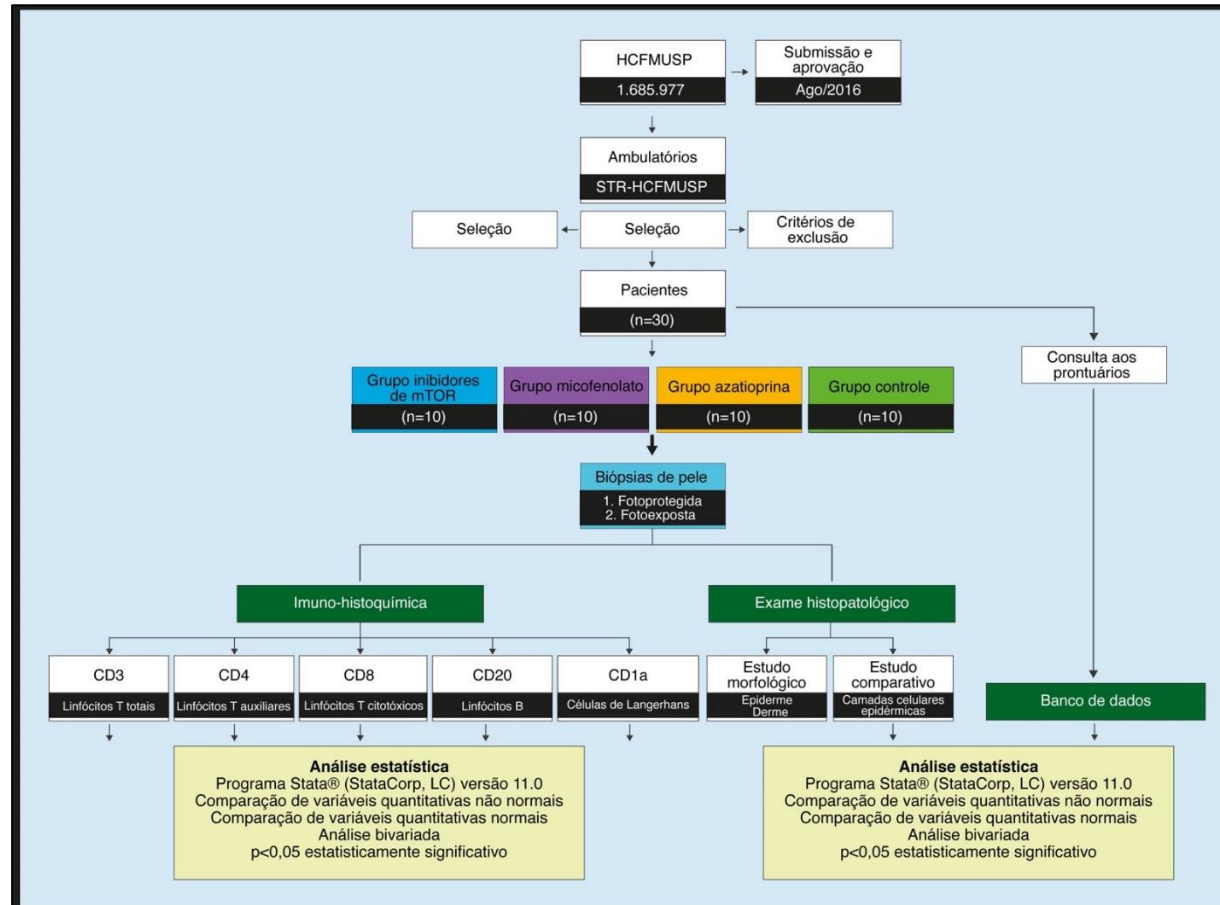
A comparação entre grupos foi realizada por meio da estimação das diferenças médias ou medianas, e respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%), de acordo com a aderência das variáveis à distribuição normal. Para as variáveis quantitativas que apresentaram distribuição normal (*Shapiro-Wilk*,  $p \geq 0,05$ ), utilizou-se a análise de variância (ANOVA) com pós-estimação de *Bonferroni* para múltiplas comparações. Por outro lado, para as variáveis quantitativas que não apresentaram distribuição normal (*Shapiro-Wilk*,  $p < 0,05$ ), utilizou-se teste de *Dunn* com correção de *Bonferroni* para múltiplas comparações.

Na comparação entre os dados histopatológicos quantitativos da pele não exposta e da pele exposta à luz solar, utilizou-se o teste *t* de *Student* para análise das variáveis quantitativas que apresentaram distribuição normal, ou o teste de *Mann-Whitney*, quando as variáveis não apresentaram distribuição normal. Para avaliar a relação entre os resultados histopatológicos qualitativos entre os grupos, utilizou-se teste de *Fisher*.

Para todas as análises realizadas, considerou-se o nível de significância de 5%. O programa utilizado foi o *Stata*® (StataCorp, LC) versão 11.0.

### 3.8.4 Fluxograma dos métodos do estudo

Os processos adotados para seleção da casuística e materiais e métodos utilizados neste estudo se encontram resumidos a seguir, no Fluxograma 1.



**Fluxograma 1** – Pacientes, materiais e métodos do estudo. CAPPesq – Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa; STR-HCFMUSP– Serviço de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

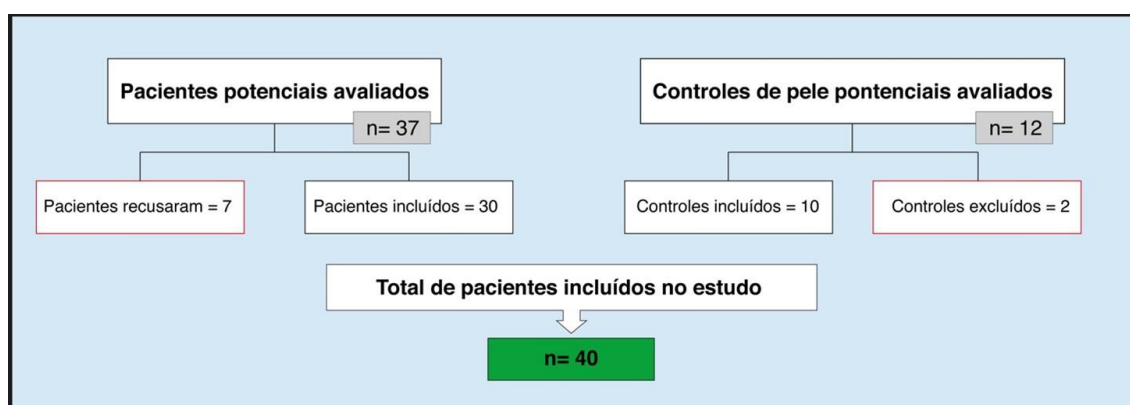
## **4 RESULTADOS**

---

## 4 RESULTADOS

Do período de janeiro de 2017 a janeiro de 2021, foram recrutados pacientes e controles dos ambulatórios no STR. Trinta e sete pacientes receptores de transplante renal foram abordados para a participação no estudo por preencherem os requisitos necessários. Desses, 30 concordaram em participar, dando seu consentimento livre e esclarecido, e sete se recusaram a tomar parte do estudo. Doze voluntários sadios foram recrutados como controles, mas dois não foram incluídos: um por apresentar imunodeficiência secundária a tratamento e outro por apresentar evento neoplásico prévio.

Desse modo, foram incluídos no estudo 40 pacientes, sendo 30 receptores de transplante renal e 10 indivíduos sadios não transplantados, conforme ilustrado no Fluxograma 2 a seguir.



**Fluxograma 2** – Indivíduos incluídos no estudo

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO AMOSTRAL

#### 4.1.1 Descrição dos dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos grupos

Os 30 receptores de transplante renal foram divididos em três grupos, a saber.

Grupo imTOR: quatro do sexo feminino (40%) e seis do sexo masculino (60%), com média etária igual a  $55,5 \pm 19,2$  anos (mín 27 e máx 68). Foram

encontrados três indivíduos do fototipo II (30%), três do fototipo III (30%), dois do fototipo IV (20%) e dois do fototipo V (20%). Três pacientes receberam tratamento de indução com ATG (30%) e sete com basiliximabe (70%). Oito pacientes foram mantidos com everolimo (80%) e dois com sirolimo (20%). O tempo médio da imunossupressão de manutenção (em meses) foi igual a  $42,7 \pm 13,26$  (mín 22 e máx 57). A creatinina sérica média foi de  $1,39 \pm 0,26$  mg/dl, e o valor de TFG (expresso como valor da mediana) foi de 48,6 (46,98; 53,35) ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Grupo MPA: cinco do sexo feminino (50%) e cinco do sexo masculino (50%), com média etária igual a  $49,5 \pm 11,9$  anos (mín 35 e máx 70). Foram encontrados dois indivíduos do fototipo II (20%), três do fototipo III (30%), dois do fototipo IV (20%) e três do fototipo V (30%). Cinco pacientes receberam ATG (50%) e cinco basiliximabe (50%). Oito pacientes foram mantidos com MMS (80%) e dois com MMF (20%) O tempo médio da imunossupressão de manutenção (em meses) foi igual a  $47,7 \pm 9,34$  (mín 34 e máx 60). A creatinina sérica média foi de  $1,06 \pm 0,26$  mg/dl, e o valor de TFG (expresso como valor da mediana) foi de 71,9 (60,74; 81,87) ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Grupo AZA: seis do sexo feminino (60%) e quatro do sexo masculino (40%), com média etária igual a  $49,6 \pm 17,07$  anos (mín 26 e máx 75). Foram encontrados dois indivíduos do fototipo II (20%), três do fototipo III (30%), dois do fototipo IV (20%) e três do fototipo V (30%). Quatro pacientes receberam ATG (40%) e seis basiliximabe (60%). Todos os pacientes foram mantidos com azatioprina (100%). O tempo médio da imunossupressão de manutenção (em meses) foi igual a  $42,1 \pm 14,18$  (mín 22 e máx 66). A creatinina sérica média foi de  $1,25 \pm 0,32$  mg/dl, e o valor de TFG (expresso como valor da mediana) foi de 50,4 (57,29; 91,36) ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Grupo Controle: o conjunto dos 10 indivíduos não transplantados apresentou como configuração serem cinco do sexo feminino (50%) e cinco do sexo masculino (50%), com média etária igual a  $44,7 \pm 14,6$  anos. Dois indivíduos do fototipo II (20%), três do fototipo III (30%), três do fototipo IV (30%) e dois do fototipo V (20%). A creatinina sérica média foi de  $0,86 \pm 0,18$  mg/dl, e o valor de TFG (expresso como valor da mediana) foi de 106,8 (70,4; 111,65) ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

As características demográficas, clínicas e laboratoriais dos indivíduos conforme os grupos analisados estão resumidas na Tabela 1.



Tabela 1 – Dados demográficos, clínicos e laboratoriais

Variáveis	Controle	imTOR	MPA	AZA	p
<b>Tamanho da amostra (n)</b>	10	10	10	10	–
<b>Idade (média, DP)</b>	44,7 (14,6)	55,5 (19,2)	49,5 (11,9)	49,6 (17,07)	0,517*
<b>Sexo n (%)</b>					
Feminino	5 (50,0)	4 (40,0)	5 (50,0)	6 (60,0)	0,971**
Masculino	5 (50,0)	6 (60,0)	5 (50,0)	4 (40,0)	
<b>Fototipo n (%)</b>					
II	2 (20,0)	3 (30,0)	2 (20,0)	2 (20,0)	0,999**
III	3 (30,0)	3 (30,0)	3 (30,0)	3 (30,0)	
IV	3 (30,0)	2 (20,0)	2 (20,0)	2 (20,0)	
V	2 (20,0)	2 (20,0)	3 (30,0)	3 (30,0)	
<b>Tempo de Imunossupressão (média, DP)</b>	–	42,7 (13,26)	47,7 (9,34)	42,1 (14,18)	0,550*
<b>Indução n (%)</b>	–				
ATG	–	3 (30,0)	5 (50,0)	4 (40,0)	0,893**
Basiliximabe	–	7 (70,0)	5 (50,0)	6 (60,0)	
<b>Creatinina (média, DP) ****</b>	0,86 (0,18)	1,39 (0,26)	1,06 (0,26)	1,25 (0,32)	<0,001*
<b>TFGe (mediana, p.25; p.75)</b>	106,8 (70,4;111,65)	48,6 (46,98;53,35)	71,9 (60,74; 81,87)	50,4 (57,29;91,36)	<0,001***

NOTA: Os dados são apresentados como n, número absoluto com porcentagens (%), média (desvio padrão) e mediana (p.25; p.75: percentis 25 e 75, respectivamente). ATG: *antithymocyte globulin*; AZA: grupo azatioprina; DP: desvio padrão; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; n: frequência absoluta observada; p: nível de significância estatística; Sinal convencional utilizado: – Não se aplica dado numérico; TFGe: taxa de filtração glomerular estimada.

\* ANOVA.

\*\* Teste de qui-quadrado com correção de Yates.

\*\*\* Teste de *Kruskal-Wallis*.

\*\*\*\* Apenas os grupos imTOR, MPA e AZA foram incluídos na análise estatística, pois os indivíduos do grupo controle têm os dois rins nativos funcionalmente normais e foram excluídos da análise.

#### 4.1.2 Comparação dos dados demográficos, clínicos e laboratoriais entre os grupos

No intento de constatar a semelhança das características entre os grupos de receptores de transplante renal, assim como a obediência aos critérios de inclusão e aos de não inclusão, procedeu-se à análise estatística comparativa dos parâmetros demográficos, clínicos e laboratoriais (Tabela 1).

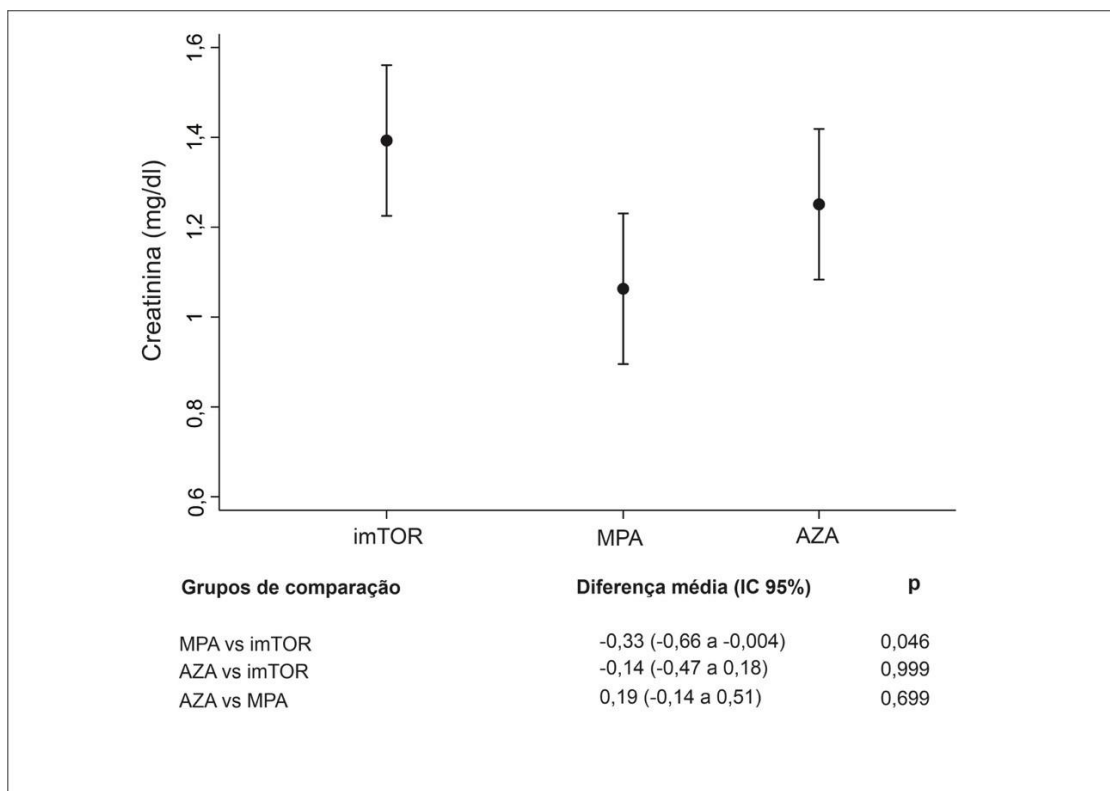
Verificou-se que os três grupos não foram diferentes em relação à idade ( $p=0,517$ ), ao sexo ( $p=0,971$ ) e aos fototipos de pele ( $p=0,999$ ).

Os RTR dos grupos imTOR, MPA e AZA foram semelhantes em relação à terapia de indução ( $p=0,893$ ). Não houve diferença com relação ao tempo de uso dos três medicamentos imunossuppressores estudados (imTOR, MPA e AZA) ( $p=0,550$ ) (Tabela 1). Entre os 10 pacientes que foram selecionados para compor o grupo imTOR, o tempo de uso do imTOR (EVE ou SRL) variou de 22 a 57 meses (média de  $42,7 \pm 13,26$  meses); nos RTRs do grupo MPA, o tempo de exposição variou de 34 a 60 meses (média de  $47,7 \pm 9,34$  meses) e, por fim, no grupo AZA, o tempo de uso da azatioprina variou de 22 a 66 meses (média de  $42,1 \pm 14,18$  meses).

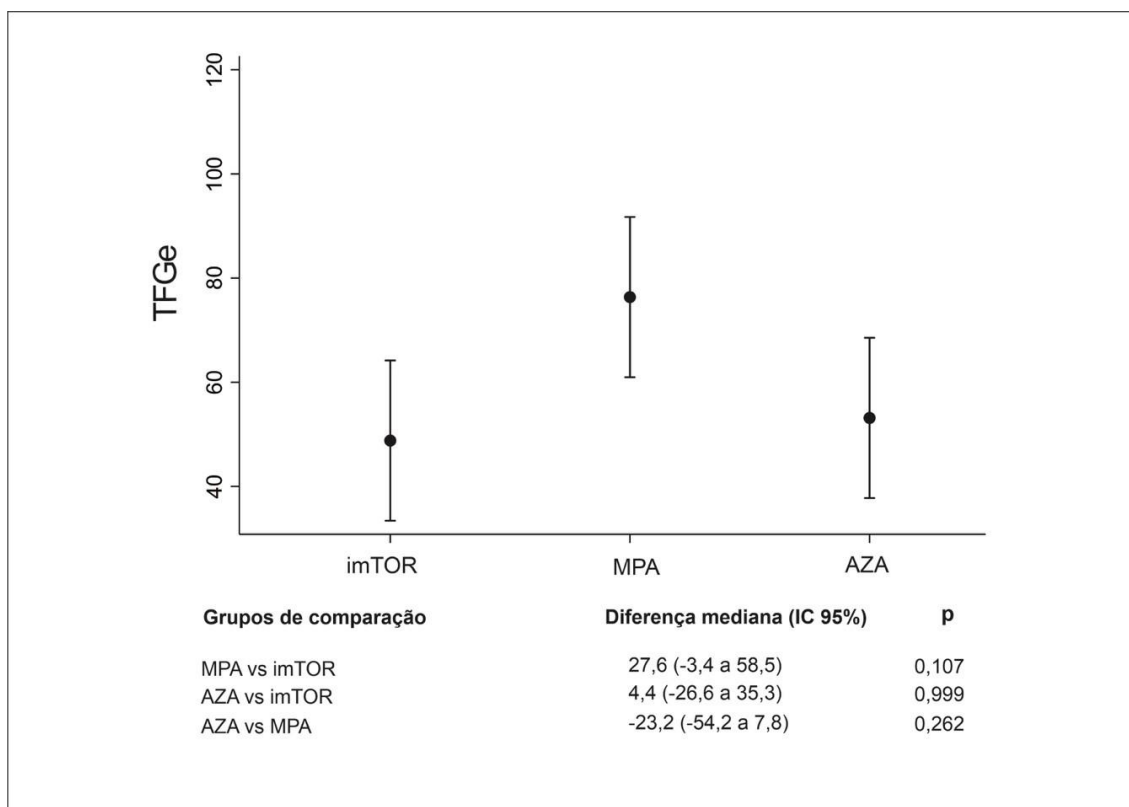
O valor médio da creatinina sérica foi maior nos RTRs do grupo imTOR ( $1,39 \pm 0,26$  mg/dl) quando comparados com os grupos AZA ( $1,25 \pm 0,32$  mg/dl) e MPA ( $1,06 \pm 0,26$  mg/dl). Nos RTRs desse último grupo, foi possível observar que as medianas dos valores de TFG foram superiores aos demais grupos de receptores de transplante renal.

Para as comparações dos resultados de função renal entre os possíveis pares de comparação, apenas os grupos imTOR, MPA e AZA foram incluídos na análise estatística, já que os indivíduos do grupo controle têm os dois rins nativos funcionalmente normais. Esses dados estão expostos nos Gráficos 1 e 2, sendo possível observar em quais grupos de comparação existem ou não diferenças significantes nos valores de creatinina sérica e TFG estimada (TFGe). Conforme o Gráfico 1, identificou-se que há diferença significativa nos valores médios de creatinina sérica apenas entre os grupos imTOR e MPA ( $p=0,046$ ). Contudo, os resultados da comparação dos valores das medianas de TFG entre os grupos de RTRs não apresentaram diferenças estatísticas significantes (ver Gráfico 2).

**Gráfico 1 – Comparação entre os grupos de RTRs dos valores de creatinina sérica**



NOTA: O teste ANOVA com correção de *Bonferroni* foi utilizado para fazer comparações aos pares. Apenas os grupos imTOR, MPA e AZA foram incluídos na análise estatística, pois os indivíduos do grupo controle têm os dois rins nativos funcionalmente normais e foram excluídos da análise. ANOVA: análise de variância; AZA: grupo azatioprina; IC 95%: intervalo de confiança de 95%; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; p: nível de significância estatística; RTRs: receptores de transplante renal; vs: *versus*.

**Gráfico 2 – Comparação entre os grupos de RTRs dos valores de TFGe**

NOTA: O teste de *Dunn* com correção de *Bonferroni* foi utilizado para fazer comparações aos pares. Apenas os grupos imTOR, MPA e AZA foram incluídos na análise estatística, pois os indivíduos do grupo controle têm os dois rins nativos funcionalmente normais e foram excluídos da análise. ANOVA: análise de variância; AZA: grupo azatioprina; IC 95%: intervalo de confiança de 95%; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; p: nível de significância estatística; RTRs: receptores de transplante renal; TFG: taxa de filtração glomerular; vs: *versus*.

## 4.2 RESULTADOS DA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

O estudo morfológico histopatológico dos cortes de pele corados com hematoxilina-eosina evidenciou alterações leves na epiderme e na derme. Os dados histopatológicos relativos a cada um dos indivíduos estão pormenorizados no Anexo B.

### 4.2.1 Descrição dos dados histopatológicos em pele não fotoexposta e pele fotoexposta

Os resultados da avaliação histopatológica dos cortes de pele não fotoexposta e de pele fotoexposta dos 40 indivíduos alocados em seus respectivos grupos estão apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 – Distribuição dos dados histopatológicos em pele não fotoexposta, segundo os grupos

Variáveis	TOTAL	Controle	imTOR	MPA	AZA	p
<b>Número de camadas</b>						
Entre cones	5,3	5,10	4,40	6,30	5,40	<0,001*
(média, IC 95%)	(5,02; 5,58)	(4,94; 5,26)	(4,15; 4,65)	(5,72; 6,88)	(4,98; 5,82)	
Nos cones	7,64	7,37	5,97	8,97	8,27	<0,001*
(média, IC 95%)	(7,22; 8,07)	(6,82; 7,91)	(5,55; 6,38)	(8,39; 9,54)	(7,75; 8,78)	
<b>Córnea n (%)</b>						
Compacta	–	–	–	–	–	>0,999**
Em cesta	31 (77,5)	8 (80,0)	8 (80,0)	8 (80,0)	7 (70,0)	
Lamelar	9 (22,5)	2 (20,0)	2 (20,0)	2 (20,0)	3 (30,0)	
<b>Granulosa n (%)</b>						
Agranulose	–	–	–	–	–	–
Espessura habitual	40 (100,0)	10 (100,0)	10 (100,0)	10 (100,0)	10 (100,0)	
Hipergranulose	–	–	–	–	–	
<b>Elastose n (%)</b>						
Ausente	13 (32,5)	4 (40,0)	3 (30,0)	3 (30,0)	3 (30,0)	>0,999**
Discreta	27 (67,5)	6 (60,0)	7 (70,0)	7 (70,0)	7 (70,0)	
Moderada	–	–	–	–	–	
Intensa	–	–	–	–	–	
<b>Infiltrado inflamatório linfocitário perivascular n (%)</b>						
Ausente	14 (35,0)	3 (30,0)	3 (30,0)	4 (40,0)	4 (40,0)	>0,999**
Discreto	25 (62,5)	6 (60,0)	7 (70,0)	6 (60,0)	6 (60,0)	
Moderado	1 (2,5)	1 (10,0)	–	–	–	
Intenso	–	–	–	–	–	

NOTA: Os dados são apresentados como n, número absoluto com porcentagens (%) e médias. AZA: grupo azatioprina; DP: desvio padrão; IC 95%: intervalo de confiança de 95%; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; n: frequência absoluta observada; p: nível de significância estatística; Sinal convencional utilizado: – Não se aplica dado numérico.

\* ANOVA.

\*\* Teste de Fisher.

Tabela 3 – Distribuição dos dados histopatológicos em pele fotoexposta, segundo os grupos

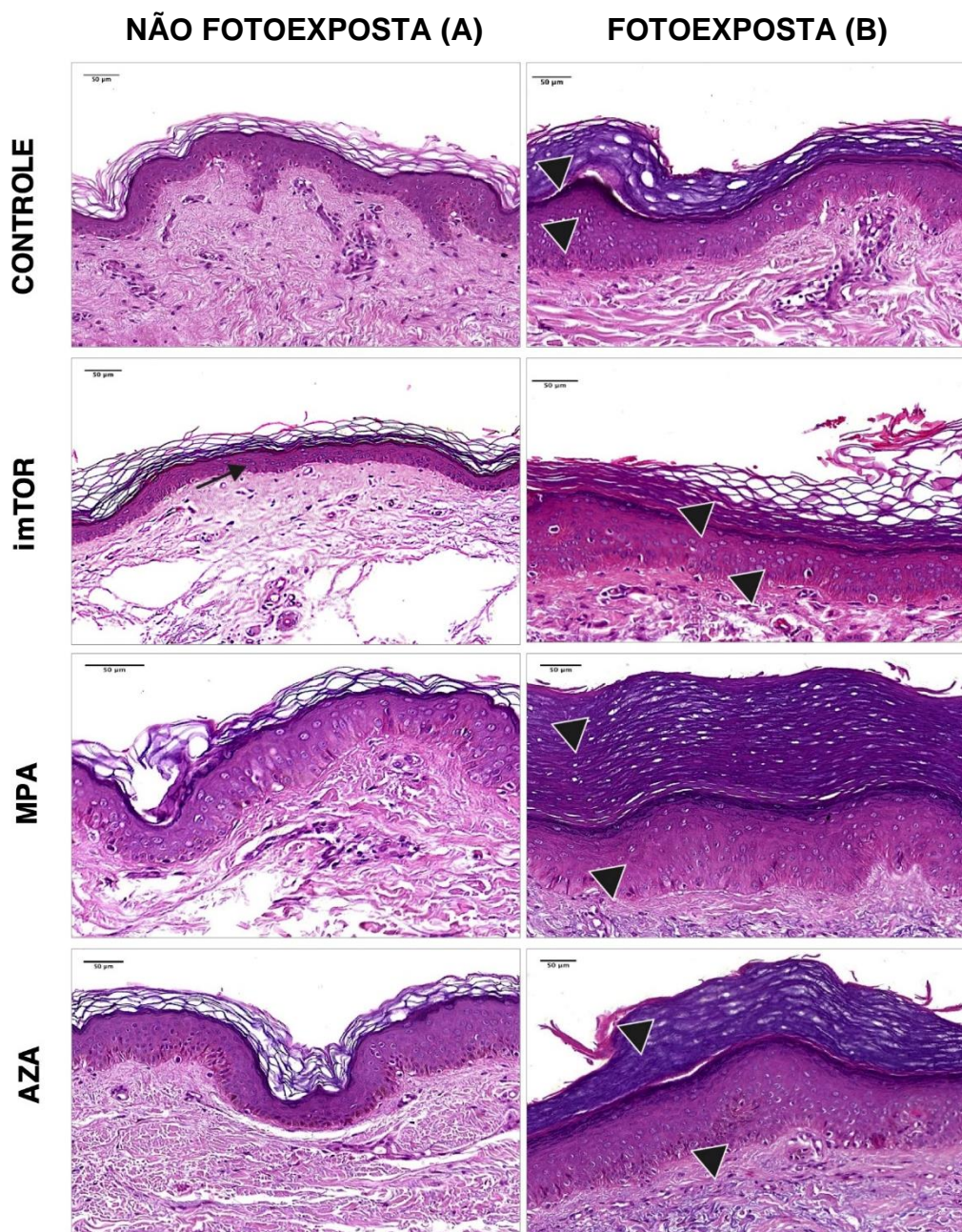
Variáveis	TOTAL	Controle	imTOR	MPA	AZA	p
<b>Número de camadas</b>						
Entre cones (média, IC 95%)	7,27 (6,81; 7,74)	7,23 (6,64; 7,83)	5,39 (4,87; 5,92)	8,66 (8,10; 9,23)	7,79 (7,10; 8,50)	<0,001*
Nos cones (média, IC 95%)	10,02 (9,37; 10,66)	9,63 (8,30; 10,97)	7,83 (6,92; 8,74)	11,40 (10,97; 11,83)	11,20 (9,92; 12,48)	
<b>Córnea n (%)</b>						
Compacta	30 (75,0)	8 (80,0)	6 (60,0)	9 (90,0)	7 (70,0)	0,720**
Em cesta	3 (7,5)	–	2 (20,0)	–	1 (10,0)	
Lamelar	7 (17,5)	2 (20,0)	2 (20,0)	1 (10,0)	2 (20,0)	
<b>Granulosa n (%)</b>						
Agranulose	–	–	–	–	–	0,105**
Espessura habitual	27 (67,5)	8 (80,0)	9 (90,0)	4 (40,0)	6 (60,0)	
Hipergranulose	13 (32,5)	2 (20,0)	1 (10,0)	6 (60,0)	4 (40,0)	
<b>Elastose n (%)</b>						
Ausente	–	–	–	–	–	0,963**
Discreta	–	–	–	–	–	
Moderada	12 (30,0)	3 (30,0)	3 (30,0)	4 (40,0)	2 (20,0)	
Intensa	28 (70,0)	7 (70,0)	7 (70,0)	6 (60,0)	8 (80,0)	
<b>Infiltrado inflamatório linfocitário perivascular n (%)</b>						
Ausente	25 (62,5)	5 (50,0)	6 (60,0)	6 (60,0)	8 (80,0)	0,662**
Discreto	15 (37,5)	5 (50,0)	4 (40,0)	4 (40,0)	2 (20,0)	
Moderado	–	–	–	–	–	
Intenso	–	–	–	–	–	

NOTA: Os dados são apresentados como média e respectivos intervalos de confiança de 95%. AZA: grupo azatioprina; DP: desvio padrão; IC 95%: intervalo de confiança de 95%; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; n: frequência absoluta observada; p: nível de significância estatística; Sinal convencional utilizado: – Não se aplica dado numérico.

\* ANOVA.

\*\* Teste de Fisher.

A análise histopatológica dos fragmentos de pele não fotoexposta revelou estrato córneo com aspectos morfológicos “em cesta” (31/40, 77,5%) e lamelar (9/40, 22,5%). Em contrapartida, a análise dos fragmentos de pele fotoexposta demonstrou estrato córneo espesso e mormente compacto em 30 casos (30/40, 75%). Esses achados foram vistos com igualdade na pele não fotoexposta dos quatro grupos (Figura 9) (ver Tabelas 2 e 3).



**Figura 9** – Diferenças histológicas relativas à análise epidérmica das peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs. Diferenças histológicas quanto à análise morfológica do estrato córneo e espessura da epiderme: o grupo imTOR revela número reduzido de camadas celulares epidérmicas (setas), tanto na pele não fotoexposta (A), como na fotoexposta (B). Em regra, as amostras de pele fotoexposta exibem epiderme mais espessa com hiperqueratose e aumento do número de camadas celulares nos cones epiteliais e nos segmentos epidérmicos entre os cones, sendo esses aspectos mais acentuados nos grupos MPA (cabeças da seta) e AZA. H&E (Aumento digital 40x; Barra de escala 50 µm). AZA – grupo azatioprina; imTOR – grupo inibidores de mTOR; MPA – grupo ácido micofenólico

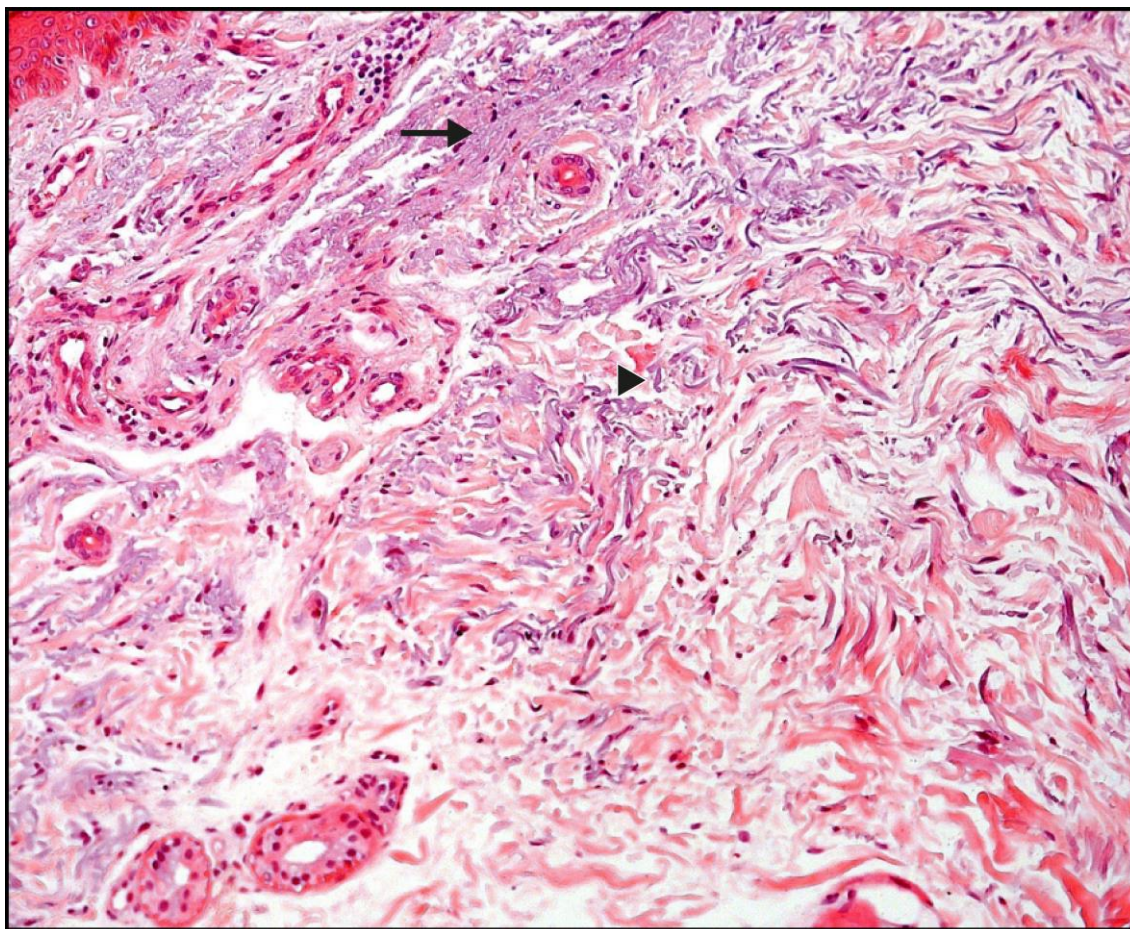
O estrato granuloso da epiderme se apresentou com sua espessura habitual na pele não exposta ao sol dos indivíduos de todos os grupos (40/40,



100%) (Tabela 2). Por outro lado, a epiderme dos fragmentos de pele da região exposta à luz solar demonstrou hiperplasia do estrato granuloso da epiderme (hipergranulose) em 13 indivíduos, o que corresponde a 32,5% dos sujeitos dessa amostra (13/40), sendo seis deles do grupo MPA (6/10, 60%), quatro do grupo AZA (4/10, 40%), dois do grupo controle (2/10, 20%) e um do grupo imTOR (1/10, 10%) (Tabela 3).

No que concerne ao número de camadas celulares da epiderme entre cones epiteliais e nos cones epiteliais nos fragmentos de pele não exposta à luz solar, os valores médios encontrados foram, respectivamente: no grupo MAP, 6,30 e 8,97; no grupo AZA, 5,40 e 8,27; no grupo controle, 5,10 e 7,37; e no grupo imTOR, 4,40 e 5,97 (Tabela 2). Em relação aos resultados dessa mesma quantificação nos fragmentos de pele exposta, verificou-se: no grupo MPA, 8,66 e 11,40; no grupo AZA, 7,79 e 11,20; no grupo controle, 7,23 e 9,63; e no grupo imTOR, 5,39 e 7,83 (Tabela 3).

Em relação às alterações dérmicas, o achado mais expressivo foi a elastose solar da pele fotoexposta (Figura 10). Todos os espécimes de pele de área exposta se mostraram com elastose solar mais pronunciada na derme superficial. Verificou-se na pele fotoexposta intensa alteração elastótica com presença de material basofílico amorfo profuso na derme superficial de 28 indivíduos (28/40, 70%), e em 12 se observou alteração elastótica moderada caracterizada pela presença de material basofílico fibrilar e algumas áreas amorfas na derme superficial (12/40, 30%) (Tabela 3). Nos fragmentos de pele não fotoexposta, observou-se discreta alteração elastótica com ínfima basofilia fibrilar na derme papilar em 27 indivíduos (27/40, 67,5%) e ausência de elastose dérmica em 13 (13/40, 32,5) (Tabela 2).



**Figura 10** – Caracterização histopatológica dos aspectos dérmicos encontrados na pele fotoexposta de receptor de transplante renal. A elastose solar é caracterizada por áreas basofílicas amorfas (seta) e fibrilar (cabeça da seta) do tecido conjuntivo dérmico, onde as fibras elásticas perdem a suas características usuais. H&E (Aumento original 200x)

Quanto ao infiltrado inflamatório, na derme os linfócitos perivascularares se mostraram discretos, ou mesmo ausentes, tanto na pele fotoexposta, como na pele não exposta à luz solar dos RTRs e controles (Figura 9).

A avaliação histopatológica da pele não fotoexposta revelou infiltrado linfocitário em torno dos vasos dérmicos superficiais de intensidade moderada em um indivíduo (1/40, 2,5%) do grupo controle, e discreta em 25 indivíduos (25/40, 62,5%). Desses últimos, sete eram do grupo imTOR (7/10, 70%), seis do grupo MPA (6/10, 60%), seis do grupo AZA (6/10, 60%) e seis do grupo controle (6/10, 60%) (Tabela 2). Na análise dos fragmentos de pele exposta à luz solar, observou-se discreto infiltrado linfocitário perivascular superficial dérmico em 15 indivíduos (15/40, 37,5%). Desses, cinco eram do grupo controle (5/10, 50%),

quatro do grupo imTOR (4/10, 40%), quatro do grupo MPA (4/10, 40%) e dois do grupo AZA (2/10, 20%) (Tabela 3).

#### **4.2.2 Comparação dos dados histopatológicos da pele não fotoexposta e da pele fotoexposta**

A comparação entre os grupos, segundo características histopatológicas da pele não fotoexposta e da fotoexposta, está representada nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Conforme as Tabelas 2 e 3, verificou-se diferenças de médias do número de camadas celulares nos cones ( $p < 0,001$ ) e nos segmentos da epiderme entre os cones ( $p < 0,001$ ) de pele não exposta e exposta à luz solar entre os quatro grupos. Consoante aos dados apresentados nessas tabelas, observa-se que os pacientes dos grupos MPA e AZA figuram os maiores valores médios do número de camadas celulares nos cones e nos segmentos epidérmicos entre os cones. Esses achados foram observados tanto na pele fotoexposta, como na pele não fotoexposta dos indivíduos do grupo MPA.

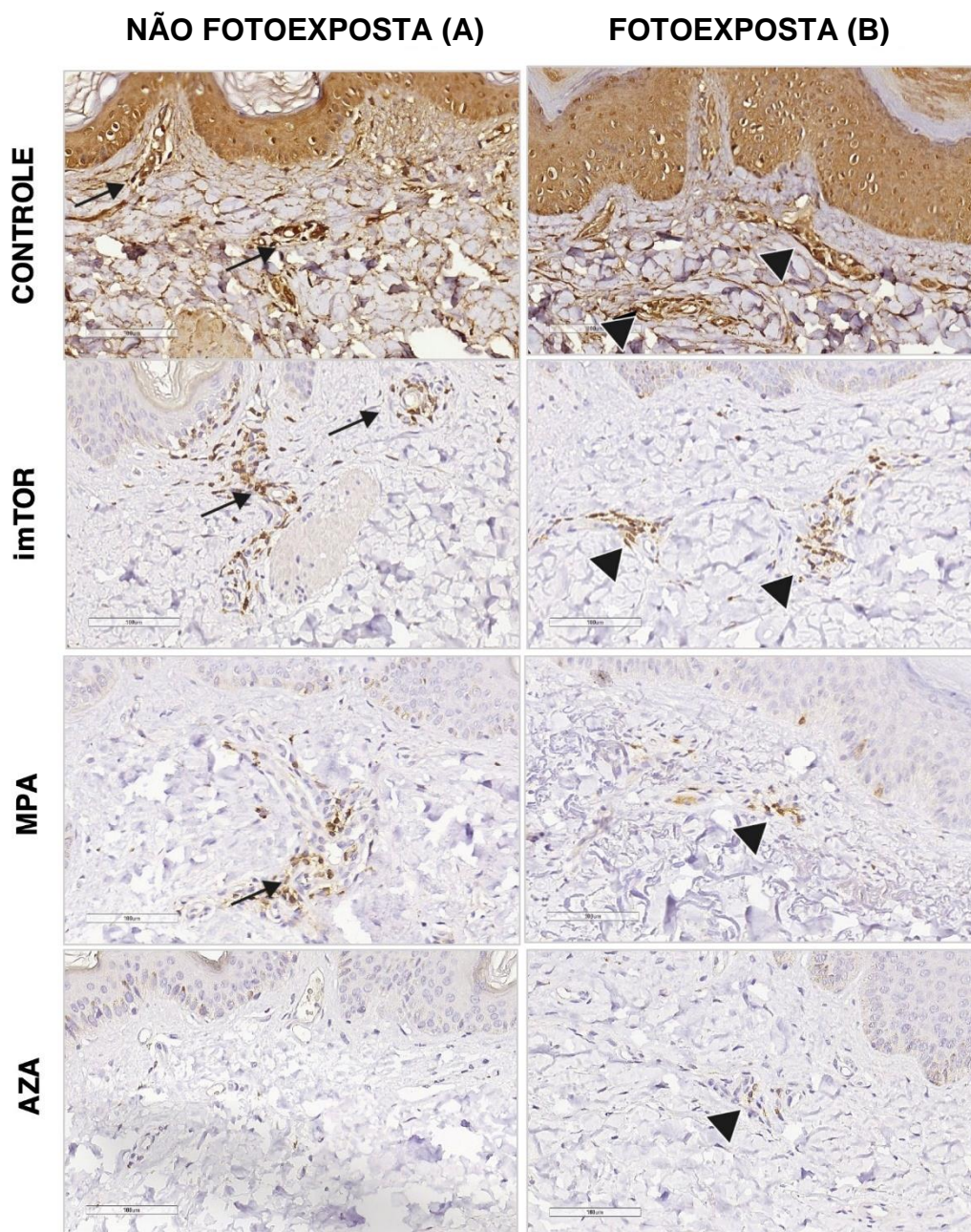
As demais variáveis analisadas não apresentaram diferenças estatísticas significantes na comparação entre os grupos, nem na pele não fotoexposta (Tabela 2), nem na pele fotoexposta (Tabela 3). A Figura 9 contempla os aspectos microscópicos epidérmicos e dérmicos da pele de área não exposta e exposta à luz solar dos quatro grupos.

### **4.3 RESULTADOS DA AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA**

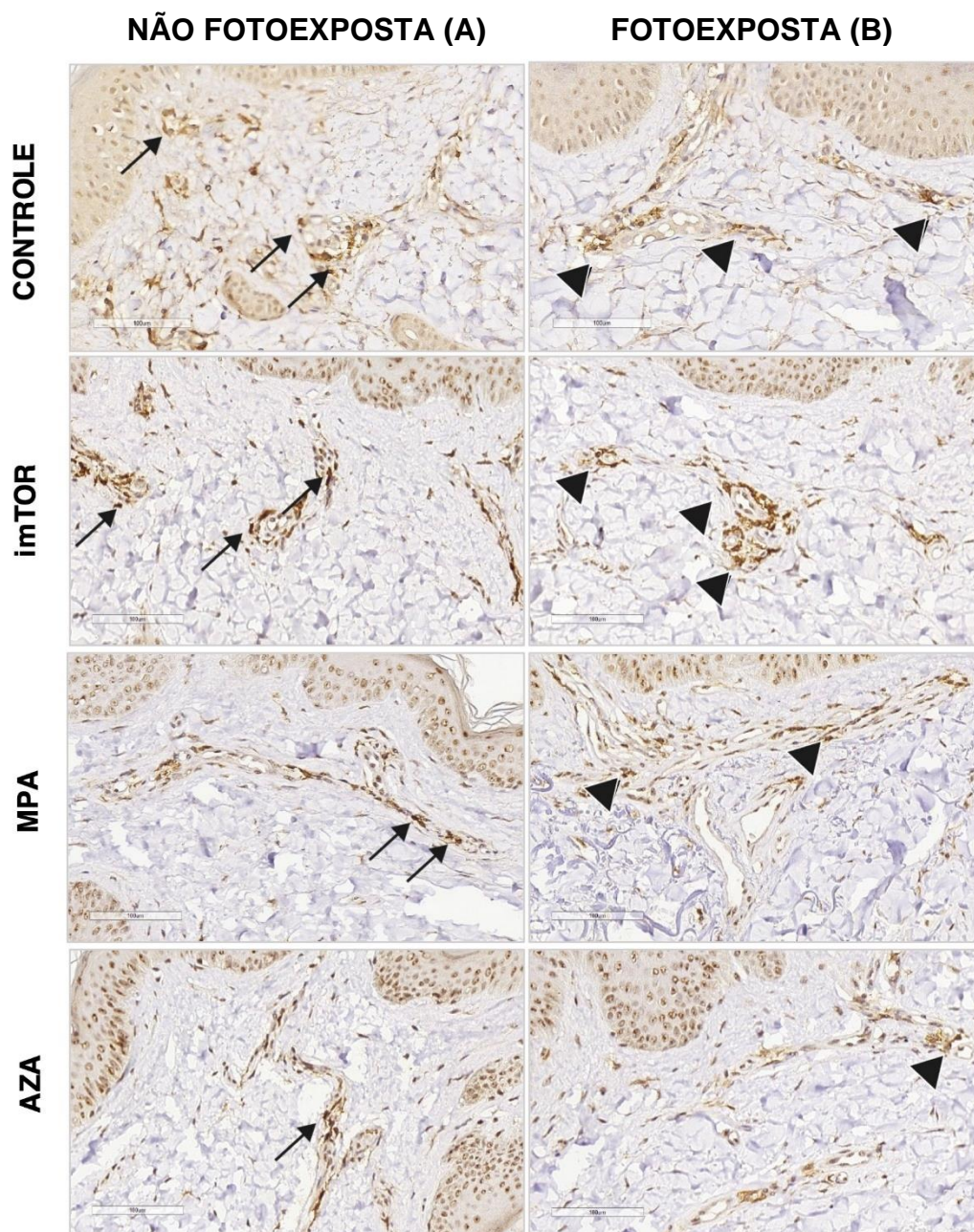
#### **4.3.1 Análise e quantificação de linfócitos B, subtipos de linfócitos T e células de Langerhans**

Os linfócitos T CD3<sup>+</sup>, T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup> apresentaram marcação positiva de suas membranas celulares por coloração castanho-dourada pelo cromógeno utilizado. Todos os linfócitos T imunomarcados eram escassos ao redor dos vasos dérmicos. Esse aspecto foi mais evidente nas amostras de pele fotoexposta (Figuras 11, 12 e 13).

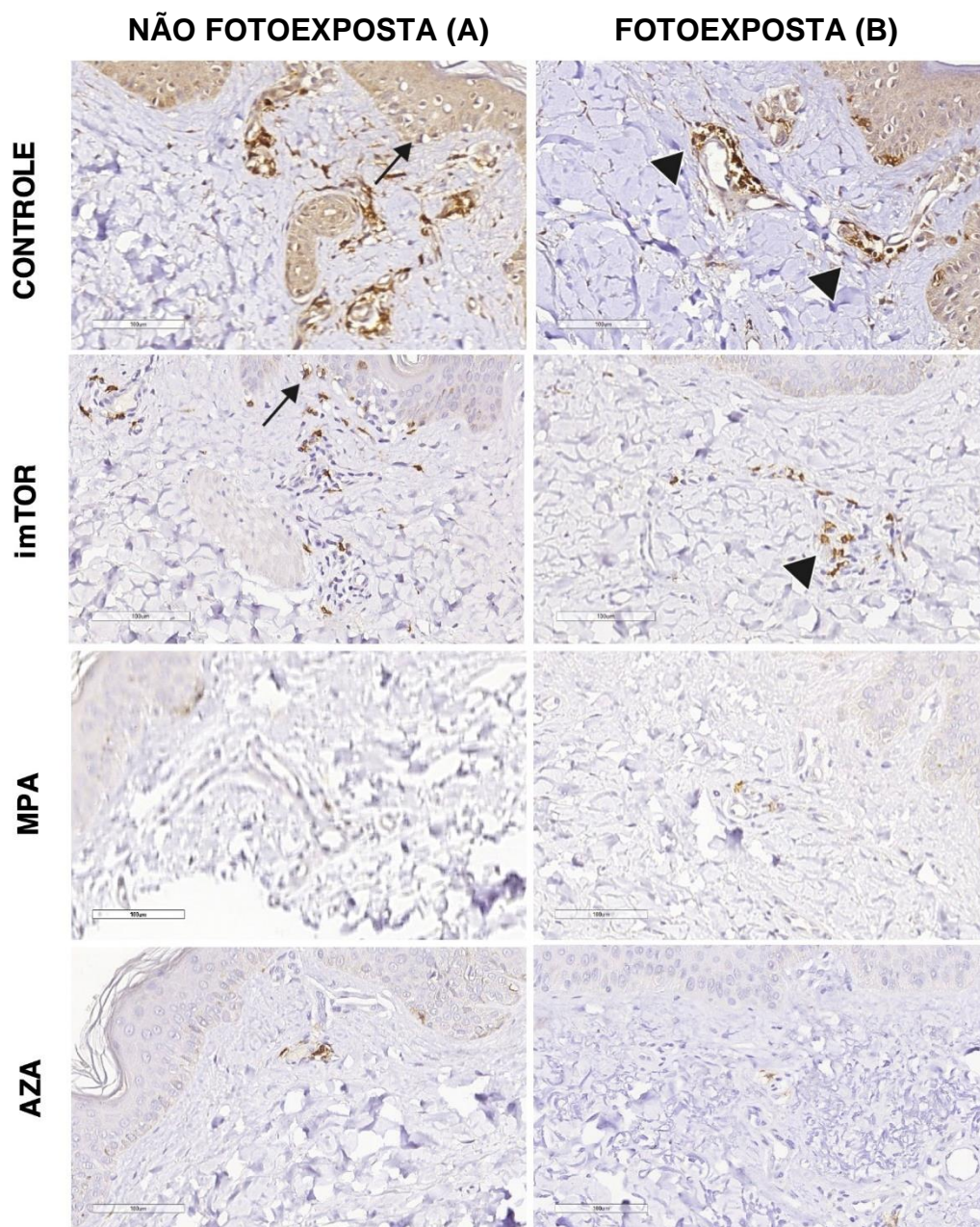
Não houve células positivas para os anticorpos anti-CD3, anti-CD4 e anti-CD8 na epiderme dos RTRs dos grupos MPA e AZA, embora alguns linfócitos T CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> tenham sido observados entre os queratinócitos das camadas basal e espinhosa inferior do grupo controle e de alguns espécimes de RTRs do grupo imTOR (Figuras 11 e 13).



**Figura 11** – Linfócitos T totais CD3<sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs. Os linfócitos T são imunomarcados pelo anticorpo anti-CD3 localizado ao redor dos vasos superficiais da derme da pele não fotoexposta (A), com maior densidade de células imunomarcadas nos controles, imTOR e MPA (setas). (B) Na pele fotoexposta, é possível observar que há um número exíguo de células T CD3<sup>+</sup> ao redor de vasos dérmicos superficiais do grupo AZA, comparado aos demais grupos (cabeça da seta). Técnica imuno-histoquímica usando diaminobenzidina (Aumento digital 20x; Barra de escala 100 µm). AZA: grupo azatioprina; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; RTRs: receptores de transplante renal



**Figura 12** – Linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs. Os linfócitos T auxiliares são imunomarcados pelo anticorpo anti-CD4 localizado ao redor dos vasos superficiais da derme da pele não fotoexposta (A), com maior densidade de células imunomarcadas nos controles e imTOR (setas). (B) Na pele fotoexposta, é possível observar menor densidade de células T CD4<sup>+</sup> ao redor de vasos dérmicos superficiais, especialmente no grupo AZA (cabeça da seta). Técnica imuno-histoquímica usando diaminobenzidina (Aumento digital 20x; Barra de escala 100 µm). AZA: grupo azatioprina; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; RTRs: receptores de transplante renal

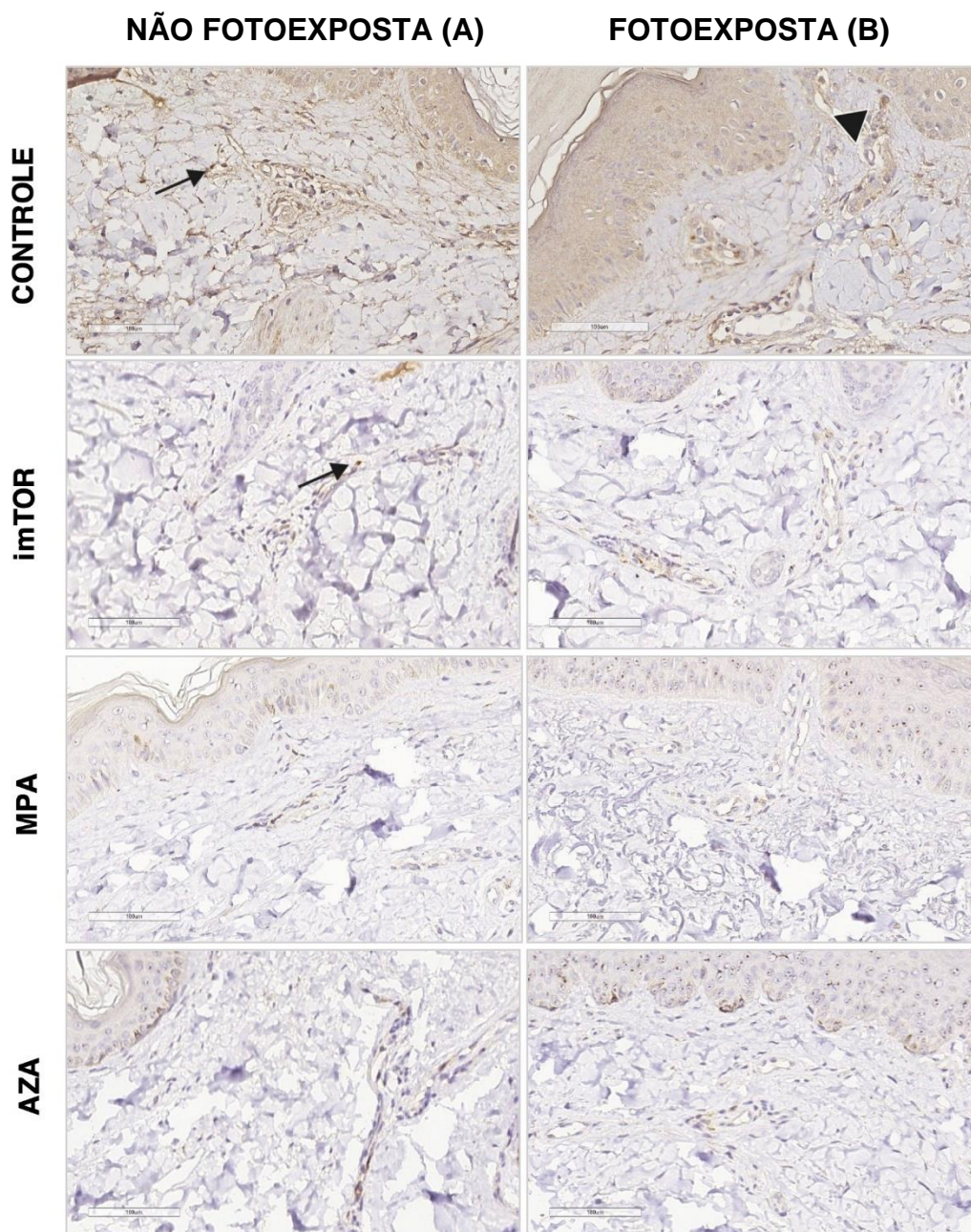


**Figura 13** – Linfócitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs. Os LTCs são imunomarcados pelo anticorpo anti-CD8 localizado ao redor dos vasos superficiais da derme e focalmente entre os queratinócitos basais da epiderme da pele não fotoexposta (A), sendo esta última disposição encontrada apenas nos grupos controle e imTOR (seta). (B) Na pele fotoexposta, observam-se poucos LTCs ao redor de vasos da derme superficial dos grupos controle e imTOR (cabeça da seta), sendo exíguos no grupo MPA e ausentes no grupo AZA. Técnica imuno-histoquímica usando diaminobenzidina (Aumento digital 20x; Barra de escala 100 µm). AZA: grupo azatioprina; imTOR: grupo inibidores de mTOR; LTCs: linfócitos T citotóxicos; MPA: grupo ácido micofenólico; RTRs: receptores de transplante renal

Os linfócitos B CD20<sup>+</sup> se mostraram extremamente escassos, ou até mesmo ausentes, ao redor dos vasos dérmicos superficiais na pele não

fotoexposta dos grupos de RTRs e controle. Na pele fotoexposta de alguns espécimes, foi possível observar uma quantidade ínfima de linfócitos B imunomarcados pelo anticorpo anti-CD20 ao redor dos vasos dérmicos superficiais, particularmente dos controles e RTRs do grupo imTOR (Figura 14).

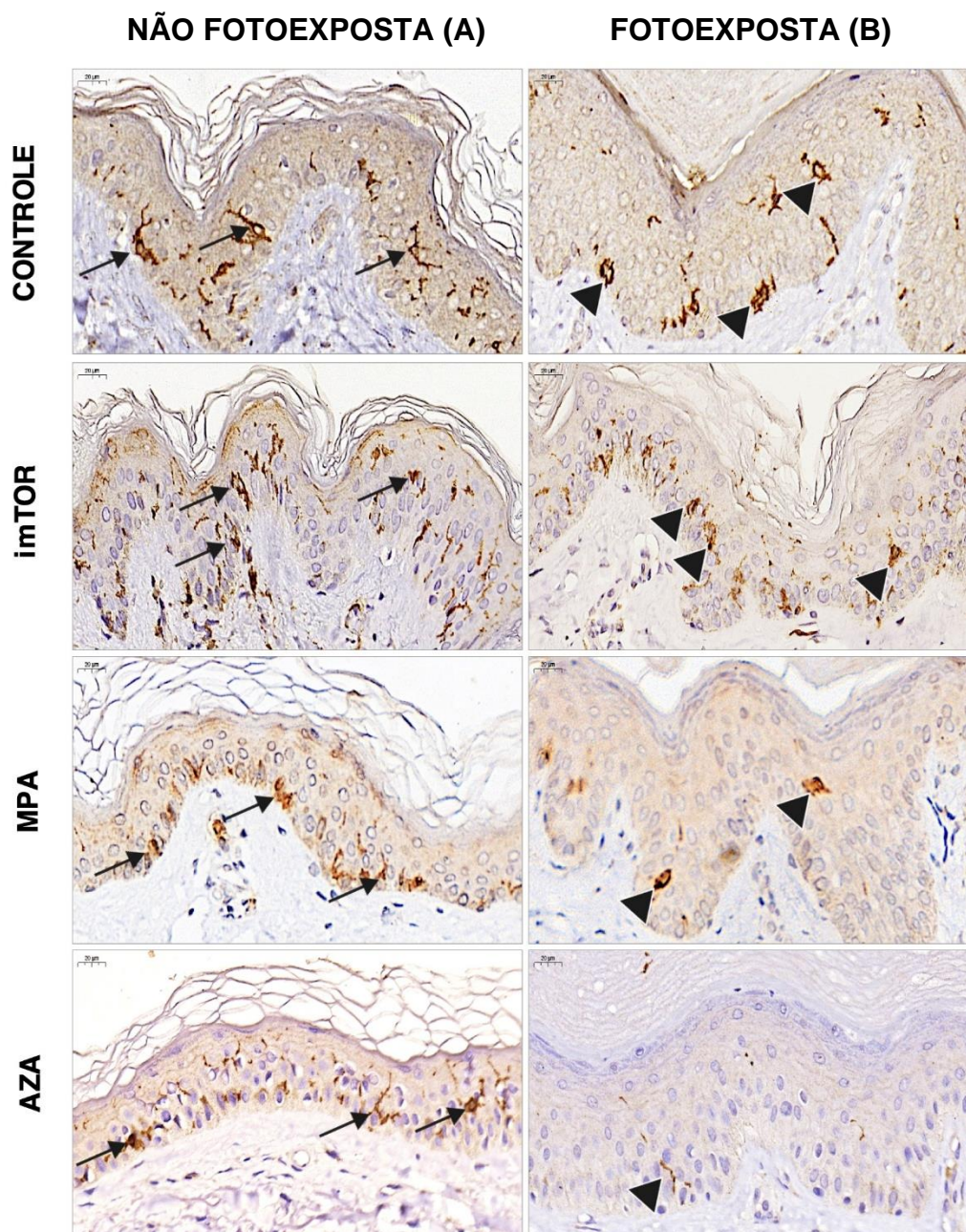




**Figura 14** – Linfócitos B CD20<sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs. Os linfócitos B imunomarcados pelo anticorpo anti-CD20 são escassos e localizados ao redor dos vasos superficiais da derme na pele não fotoexposta (A), sendo encontrados apenas nas amostras dos grupos controle e imTOR (seta). (B) Na pele fotoexposta, observam-se ínfimos linfócitos B ao redor de vasos da derme superficial do grupo controle (cabeça da seta), com ausência dessas células nos grupos MPA e AZA. Técnica imuno-histoquímica usando diaminobenzidina (Aumento digital 20x; Barra de escala 100 µm). AZA: grupo azatioprina; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; RTRs: receptores de transplante renal

Foi detectada positividade para o anticorpo anti-CD1a em padrão membrana nas CLs. Essas células se apresentaram mais preeminentes na camada espinhosa da epiderme e bainha epitelial de folículos pilosos, com

prolongamentos citoplasmáticos longos e delgados, formando uma fina malha contínua por entre os queratinócitos (Figura 15A). Esse aspecto foi observado nos fragmentos de pele não exposta à luz solar dos grupos de receptores de transplante renal e controles. No entanto, nos fragmentos de pele fotoexposta, as CLs se mostraram mais esparsas, com processos dendríticos curtos e ínfimos entre os queratinócitos da epiderme em todos os grupos avaliados. Esse aspecto foi mais preeminente na pele fotoexposta do grupo AZA (Figura 15B).



**Figura 15** – CLs epidérmicas CD1a<sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs. As CLs são imunomarcadas pelo anticorpo anti-CD1a exibido entre os queratinócitos da camada espinhosa da epiderme da pele não fotoexposta (A) com morfologia dendrítica (setas), exceto aqueles do grupo AZA, que eram esparsos e tinham dendritos encurtados (pontas da seta). (B) Na pele fotoexposta, as CLs são escassas e dispersas entre os queratinócitos (pontas da seta). Esse aspecto morfológico é mais preeminente nos grupos MPA e AZA. Técnica imuno-histoquímica usando diaminobenzidina (Aumento digital 40x; Barra de escala 20 µm). AZA: grupo azatioprina; CLs: células de Langerhans; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; RTRs: receptores de transplante renal

Os resultados individuais da análise quantitativa de linfócitos B CD20<sup>+</sup>, T CD3<sup>+</sup>, T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup> por mm<sup>2</sup> de área dérmica em peles não fotoexposta e

fotoexposta dos pacientes e controles estão discriminados no Anexo C. A fração de área epidérmica e epitélio da bainha folicular com expressão das CLs CD1a<sup>+</sup> para cada um dos espécimes de pele também está demonstrada no Anexo C.

Na Tabela 4, estão descritos os valores da média, mediana e variação da distribuição dos tipos de células imunomarcadas (B CD20<sup>+</sup>, T CD3<sup>+</sup>, T CD4<sup>+</sup>, T CD8<sup>+</sup> e T CD1a<sup>+</sup>) na pele não fotoexposta e na pele fotoexposta dos grupos estudados.

Verificou-se que os RTRs dos grupos MPA e AZA mostraram menor densidade das células imunocompetentes da pele, especialmente as subpopulações de linfócitos T. Essa alteração ocorreu tanto na pele não fotoexposta, como na pele fotoexposta, e foi vista de forma preeminente nos RTRs do grupo AZA.

**Tabela 4 – Densidade de células CD20<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> e CD1a<sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs**

Grupos	Tipos celulares				
	CD20 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD1a <sup>+</sup>
<i>Pele não fotoexposta</i>	<i>mediana (IC 95%)</i>	<i>mediana (IC 95%)</i>	<i>média (IC 95%)</i>	<i>média (IC 95%)</i>	<i>mediana (IC 95%)</i>
Controle	0,1 [0,03; 0,3]	7,8 [7,1; 8,2]	4,8 [4,2; 5,4]	2,9 [2,4; 3,5]	6,3 [3,8; 9,8]
imTOR	0,1 [0,03; 0,4]	7,5 [6,6; 8,8]	4,8 [4,3; 5,4]	2,9 [2,6; 3,2]	6,9 [2,9; 12,2]
MPA	0,0 [0,0; 0,2]	4,8 [2,6; 5,6]	2,9 [2,2; 3,6]	1,4 [1,0; 1,8]	3,0 [1,3; 9,7]
AZA	0,05 [0,0; 0,1]	3,0 [2,5; 4,1]	2,0 [1,6; 2,5]	1,0 [0,6; 1,4]	4,4 [2,0; 7,1]
p	0,034*	<0,001*	<0,001**	<0,001**	0,008*
<i>Pele fotoexposta</i>	<i>mediana (IC 95%)</i>	<i>média (IC 95%)</i>	<i>média (IC 95%)</i>	<i>média (IC 95%)</i>	<i>média (IC 95%)</i>
Controle	0,0 [0,0; 0,17]	4,5 [3,9; 5,1]	3,0 [2,5; 3,5]	1,6 [1,1; 2,1]	3,5 [1,8; 4,9]
imTOR	0,0 [0,0; 0,21]	5,0 [4,3; 5,6]	3,1 [2,6; 3,6]	1,9 [1,6; 2,2]	2,8 [1,3; 4,3]
MPA	0,0 [0,0; 0,10]	2,5 [1,7; 3,3]	1,8 [1,3; 2,4]	0,6 [0,3; 0,9]	2,5 [0,7; 4,2]
AZA	0,0 [0,0; 0,0]	1,7 [1,0; 2,4]	1,2 [0,7; 1,7]	0,4 [0,1; 0,7]	1,9 [0,8; 3,0]
p	0,278*	<0,001**	<0,001**	<0,001**	<0,001**

NOTA: Os dados são apresentados como média ou mediana, e respectivos intervalos de confiança de 95%. AZA: grupo azatioprina; IC 95%: intervalo de confiança de 95%; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; p: nível de significância estatística. Resumo comparativo da tabela:

AZA = MPA = imTOR = Controle (para CD20<sup>+</sup>)  
 AZA = MPA < imTOR = Controle (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>)  
 MPA = imTOR = Controle (CD1a<sup>+</sup>)  
 AZA < imTOR = Controle (CD1a<sup>+</sup>)  
 AZA = MPA (CD1a<sup>+</sup>)

\* Teste de *Kruskal-Wallis*.

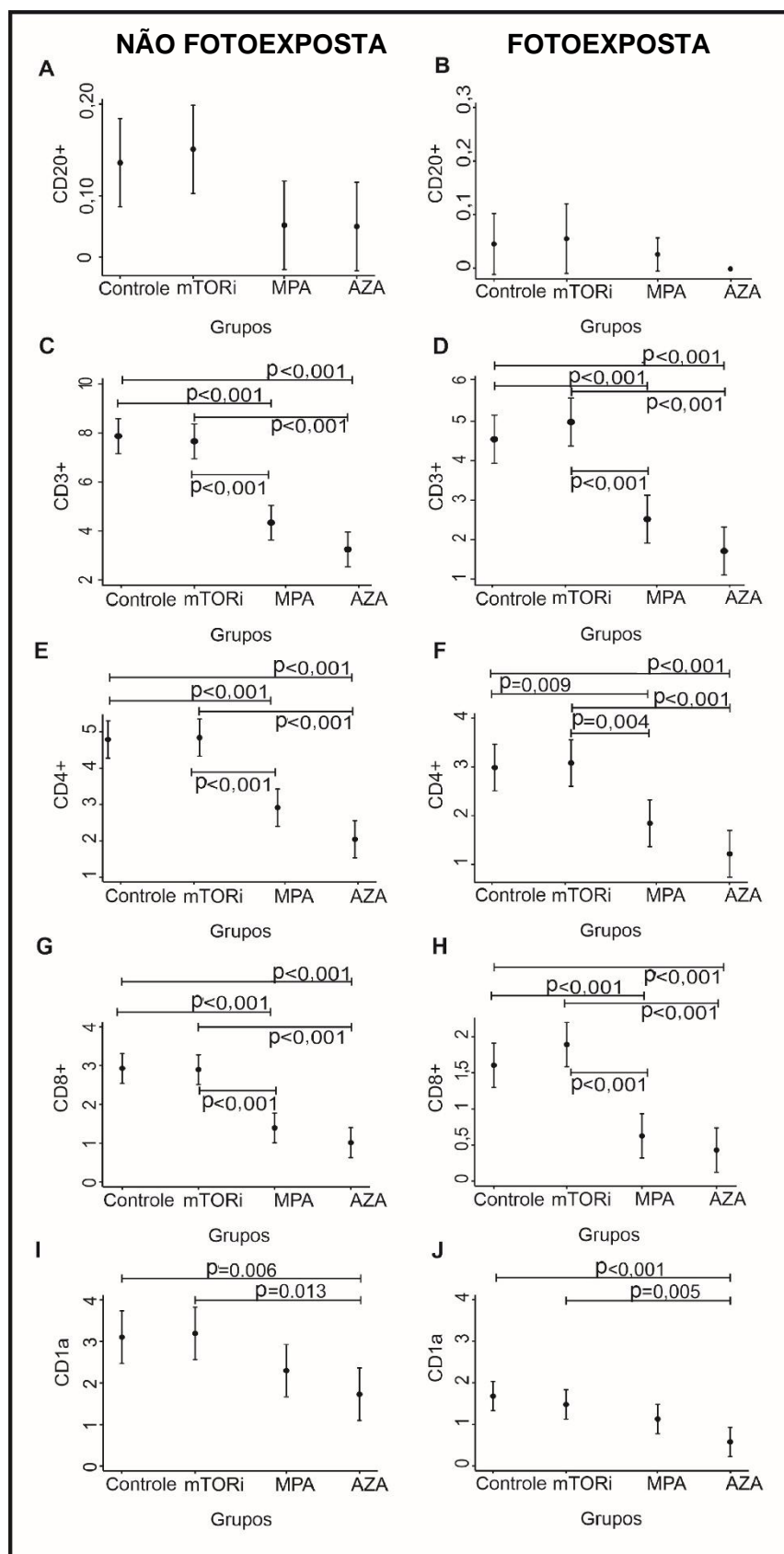
\*\* ANOVA

#### 4.3.1.1 Comparação dos dados morfométricos de células B CD20<sup>+</sup>, T CD3<sup>+</sup>, T CD4<sup>+</sup>, T CD8<sup>+</sup> e CD1a<sup>+</sup>

As comparações dos dados morfométricos entre os grupos estudados nos dois tipos de amostra de pele foram analisadas (Gráfico 3; Tabelas 5 e 6), a partir do que se constatou:

- a) conforme mostrado na Tabela 4, houve diferença significativa no número de células B CD20<sup>+</sup> na pele não fotoexposta dos grupos estudados ( $p=0,034$ , teste de *Kruskal-Wallis*). Os menores valores de células B CD20<sup>+</sup> foram verificados na pele não fotoexposta dos RTRs dos grupos AZA e MPA quando comparados ao grupo controle. No entanto, em uma análise mais detalhada para comparações intergrupos, essa diferença não foi estatisticamente significativa ( $p>0,05$ , teste *post-hoc* de *Dunn* com correção de *Bonferroni*) (Gráfico 3A, Tabela 5);
- b) houve uma redução significativa na população de linfócitos T CD3<sup>+</sup> nos grupos MPA e AZA nas peles não fotoexposta e fotoexposta em comparação com o controle ( $p<0,001$ ) (Gráficos 3C e 3D, Tabelas 5 e 6);
- c) houve uma redução significativa na população de células T CD4<sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos MPA e AZA em comparação com o grupo controle ( $p=0,009$  e  $p<0,001$ , respectivamente) (Gráficos 3E e 3F, Tabelas 5 e 6);
- d) houve uma redução significativa na população de células T CD8<sup>+</sup> nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos MPA e AZA em comparação com o grupo controle ( $p<0,001$ ) (Gráficos 3G e 3H, Tabelas 5 e 6);
- e) a pele dos RTRs do grupo AZA apresentou menor expressão epidérmica de moléculas CD1a (CLs) em área não fotoexposta ( $p=0,006$ ; Gráfico 3I; Tabela 5) e fotoexposta do que o grupo controle ( $p<0,001$ ) (Gráfico 3J, Tabela 6);
- f) os números de linfócitos B, linfócitos T (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>) e CLs no grupo imTOR não diferiram dos do grupo controle nas peles não fotoexposta e fotoexposta (Tabelas 5 e 6).

**Gráfico 3 – Distribuição de linfócitos B CD20<sup>+</sup> (A e B), linfócitos T CD3<sup>+</sup> (C e D), linfócitos T CD4<sup>+</sup> (E e F), linfócitos T CD8<sup>+</sup> (G e H) e CLs (I e J) nas peles não fotoexposta e fotoexposta dos grupos controle e de RTRs**



NOTA: O teste de *post-hoc* de *Dunn* com correção de *Bonferroni* foi utilizado para fazer comparações aos pares de grupos dos resultados de células imunomarcadas obtidos nas amostras de pele não fotoexposta (A, C, E, G e I) e pele fotoexposta (B, D, F, H e J). AZA: grupo azatioprina; CLs: células de Langerhans; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; p: nível de significância estatística; RTRs: receptores de transplante renal.



Tabela 5 – Comparação de células imunomarcadas na pele não fotoexposta dos grupos controle e de RTRs

Grupos	Tipos de células na pele não fotoexposta									
	CD20 <sup>+</sup>		CD3 <sup>+</sup>		CD4 <sup>+</sup>		CD8 <sup>+</sup>		CD1a <sup>+</sup>	
	Dif. Média (IC 95%)	p*	Dif. Média (IC 95%)	p*	Dif. Média (IC 95% CI)	p**	Dif. Média (IC 95%)	p**	Dif. Média (IC 95%)	p*
<b>imTOR vs Controle</b>	0,02 (-0,11; 0,16)	0,999	-0,21 (-1,59; 1,17)	0,999	-0,05 (-0,94; 1,05)	0,999	-0,03 (-0,78; 0,72)	0,999	0,09 (-1,13; 1,31)	0,999
<b>MPA vs Controle</b>	-0,10 (-0,24; 0,03)	0,100	-3,53 (-4,91; -2,15)	<0,001	-1,87 (-2,87; -0,88)	<0,001	-1,53 (-2,27; -0,78)	<0,001	-0,80 (-2,02; 0,42)	0,421
<b>AZA vs Controle</b>	-0,10 (-0,24; 0,03)	0,178	-4,62 (-6,00; -3,24)	<0,001	-2,74 (-3,74; -1,74)	<0,001	-1,91 (-2,65; -1,16)	<0,001	-1,37 (-2,59; -0,14)	0,006
<b>MPA vs imTOR</b>	-0,12 (-0,26; 0,01)	0,073	-3,32 (-4,71; -1,94)	<0,001	-1,92 (-2,92; -0,93)	<0,001	-1,50 (-2,24; -0,75)	<0,001	-0,89 (-2,11; 0,33)	0,629
<b>AZA vs imTOR</b>	-0,12 (-0,26; 0,01)	0,134	-4,41 (-5,79; -3,03)	<0,001	-2,80 (-3,79; -1,79)	<0,001	-1,87 (-2,62; -1,13)	<0,001	-1,46 (-2,68; -0,23)	0,013
<b>AZA vs MPA</b>	-0,002 (-0,14; 0,13)	0,999	-1,08 (-2,46; 0,29)	0,206	-0,87 (-1,86; 0,13)	0,122	-0,37 (-1,12; 0,36)	0,992	-0,57 (-1,79; 0,65)	0,342

NOTA: Os dados são apresentados como a diferença de médias (IC 95%). AZA: grupo azatioprina; Dif. Média: diferença de médias; IC 95%: intervalo de confiança de 95%; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; p: nível de significância estatística.

\* Teste de *Dunn*.

\*\* Regressão linear.

Tabela 6 – Comparação de células imunomarcadas na pele fotoexposta dos grupos controle e de RTRs

Grupos	Tipos de células na pele fotoexposta									
	CD20 <sup>+</sup>		CD3 <sup>+</sup>		CD4 <sup>+</sup>		CD8 <sup>+</sup>		CD1a <sup>+</sup>	
	Dif. Média (IC 95%)	p*	Dif. Média (IC 95%)	p**	Dif. Média (IC 95%)	p**	Dif. Média (IC 95%)	p**	Dif. Média (IC 95%)	p**
<b>imTOR vs Controle</b>	0,01 (-0,07; 0,10)	0,999	0,44 (-0,74; 1,62)	0,999	0,93 (-0,83; 1,02)	0,999	0,28 (-0,31; 0,88)	0,999	-0,21 (-0,89; 0,47)	0,999
<b>MPA vs Controle</b>	-0,02 (-0,11; 0,06)	0,999	-2,02 (-3,20; -0,84)	<0,001	-1,14 (-2,07; -0,21)	0,009	-0,97 (-1,57; -0,38)	<0,001	-0,56 (-1,24; 0,12)	0,175
<b>AZA vs Controle</b>	-0,05 (-0,14; 0,04)	0,320	-2,82 (-4,01; -1,64)	<0,001	-1,77 (-2,70; -0,84)	<0,001	-1,17 (-1,77; -0,58)	<0,001	-1,11 (-1,79; -0,42)	<0,001
<b>MPA vs imTOR</b>	-0,03 (-0,12; 0,06)	0,999	-2,46 (-3,64; -1,28)	<0,001	-1,23 (-2,17; -0,30)	0,004	-1,26 (-1,85; -0,67)	<0,001	-0,35 (-1,03; 0,33)	0,982
<b>AZA vs imTOR</b>	-0,06 (-0,15; 0,02)	0,250	-3,27 (-4,45; -2,08)	<0,001	-1,86 (-2,79; -0,93)	<0,001	-1,46 (-2,05; -0,86)	<0,001	-0,90 (-1,58; -0,21)	0,005
<b>AZA vs MPA</b>	-0,03 (-0,11; 0,06)	0,505	-0,80 (-1,98; 0,37)	0,393	-0,62 (-1,55; 0,30)	0,404	-0,20 (-0,79; 0,39)	0,999	-0,55 (-1,23; 0,13)	0,190

NOTA: Os dados são apresentados como a diferença de médias (IC 95%). AZA: grupo azatioprina; Dif. Média: diferença de médias; IC 95%: intervalo de confiança de 95%; imTOR: grupo inibidores de mTOR; MPA: grupo ácido micofenólico; p: nível de significância estatística.

\* Teste de *Dunn*.

\*\* Regressão linear.

## **5 DISCUSSÃO**

---

## 5 DISCUSSÃO

Esta pesquisa realizada como estudo observacional, transversal e comparativo, em amostras de pele íntegra de áreas não fotoexposta e fotoexposta de 30 RTRs submetidos a três diferentes regimes de imunossupressão (grupos imTOR, MPA e AZA), e de 10 indivíduos imunocompetentes não transplantados (grupo controle), mostrou que existem importantes correspondências histomorfológicas entre o grupo imTOR e o grupo controle, apontando, de forma inédita, que a terapia com imTOR teve efeito secundário potencialmente redutor da carcinogênese cutânea em RTRs, quando se tratou do esquema de imunossupressão desses pacientes.

Em relação aos dados demográficos, os grupos de estudo foram homogêneos, sem diferenças significantes de sexo, idade ou fototipo de pele.

Do ponto de vista dos dados clínicos, as características dos RTRs relacionadas ao tipo de indução e duração do esquema imunossupressor foram semelhantes nos pacientes dos grupos imTOR, MPA e AZA. Portanto, embora o modo de recrutamento desses indivíduos para o estudo possa ter levado a um potencial viés, não foram encontradas diferenças no tempo de exposição aos três medicamentos, permitindo, assim, uma comparação justa entre os grupos.

Laboratorialmente, os dados resultantes da análise comparativa da função renal dos grupos (realizada apenas entre os RTRs) apontaram que o valor médio da creatinina sérica foi maior no grupo imTOR que nos grupos AZA e MPA, enquanto a TFGe foi maior no grupo MPA que nos grupos imTOR e AZA, porém não foi possível fornecer uma explicação confiável para esses achados.

Quanto aos dados histopatológicos, alguns achados morfológicos foram vistos com igualdade na epiderme de pele não fotoexposta dos quatro grupos, revelando alterações cutâneas leves que parecem não estar atreladas à fotoexposição nem à terapia imunossupressora. Por outro lado, notoriamente, a atrofia epidérmica associada à terapia com imTOR foi a alteração histopatológica mais insigne deste estudo. Caracterizada pela diminuição da espessura da epiderme devido à redução do número de camadas compostas por queratinócitos, ela foi vista tanto na pele não fotoexposta, como na pele fotoexposta do grupo imTOR, quando comparada com a espessura dos demais

grupos. Esse controle da proliferação epidérmica representa menos risco de ocorrência de mutações carcinogênicas, configurando a atrofia epidérmica observada no grupo imTOR como potencial efeito para prevenção da carcinogênese em RTRs. Além disso, verificou-se que a terapia com imTOR não resultou em alteração nas populações de CLs, linfócitos B e T da pele, como se observou na terapia com AZA. Tal manutenção de células pivotais envolvidas nos mecanismos de imunovigilância associados à terapia com imTOR também pode ser considerada como efeito cutâneo potencial anticarcinogênico nesses pacientes, embora clinicamente efeitos colaterais como diarreia, náuseas e vômitos devam ser levados em conta.

O achado de atrofia epidérmica da pele não fotoexposta do grupo imTOR corroborou um estudo recente<sup>(311)</sup> cujos dados revelam que a perda de sinalização de mTORC1 na epiderme reduz a proliferação de células progenitoras da camada basal, levando a uma epiderme atrófica durante o desenvolvimento embrionário. Além disso, deve-se considerar que a via mTOR também está envolvida na ação do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), que é um ativador potente de muitas quinases, incluindo a serina/treonina quinase mTOR. Na síndrome de Olmsted, há um recente relato de uso de imTOR para reverter os aspectos de hiperplasia da epiderme. Essa síndrome é causada por mutações no gene receptor de potencial transitório vaniloide tipo 3 (TRPV3). Nos queratinócitos, o TRPV3 forma um complexo de sinalização com o EGFR que leva à amplificação deste último e à ativação de muitas quinases adiante, incluindo a mTOR.<sup>(312)</sup>

Nos espécimes de pele fotoexposta de todos os grupos do estudo, quando comparados com os de pele não fotoexposta, observou-se hiperplasia epidérmica resultante da maior proliferação dos queratinócitos, o que ratifica ser esse tipo de alteração patológica na pele mediada pela RUV-B, como já estabelecido. Tal alteração foi mais preeminente na pele fotoexposta dos grupos MPA e AZA. Os dados deste estudo relacionados à maior espessura do estrato espinhoso da epiderme em área de pele fotoexposta não é um achado inusitado, estando esse efeito reacional à exposição solar já bem descrito. Em estudo de 2005,<sup>(313)</sup> foi mostrado que a estimulação da epiderme pela RUV-B promove a hiperproliferação das células da camada basal nos cones e nos segmentos da

epiderme entre os cones, com aumento do número de camadas celulares. Apesar dessa hiperproliferação epidérmica a princípio parecer a existência de um fenômeno adaptativo de proteção,<sup>(314)</sup> a proliferação celular como resultado da progressão do ciclo celular é o processo chave que leva à expansão clonal de células iniciadas na promoção do tumor, e há evidências emergentes que implicam a sinalização de mTORC1 na promoção de neoplasia epitelial.<sup>(180)</sup>

Sendo assim, a maior proliferação epidérmica vista na pele fotoexposta dos grupos MPA, AZA e controle, quando comparados ao grupo imTOR, não exclui o papel da sinalização da via mTOR ativada pela RUV na proliferação celular e das cascatas de sinalização pró-sobrevivência dos queratinócitos epidérmicos da pele desses pacientes. Tais resultados foram consonantes com os dados de estudo experimental<sup>(180)</sup> sobre o impacto da RUV-B em cultura de células e *in vivo* em animais tratados com imTOR (rapamicina) na inibição da ativação da proteína quinase ribossomal 6S (S6K), que atenua a progressão do ciclo celular e bloqueia a resposta de proliferação da epiderme.

Acerca dos dados de imuno-histoquímica, verificou-se que a imunossupressão com imTOR não induziu alterações nos elementos do sistema imune da pele, como observado na terapia com AZA. Nesse sentido, observou-se que o perfil celular cutâneo do grupo imTOR correspondeu ao do grupo controle quanto às subpopulações de linfócitos, tanto na pele não fotoexposta, como na pele fotoexposta. À luz de evidências já descritas,<sup>(172)</sup> um dos fatores associados ao desenvolvimento de neoplasias cutâneas em RTRs submetidos a longo período de imunossupressão é o baixo nível de linfócitos T CD4<sup>+</sup> no sangue periférico. O papel desses linfócitos T *helper* é salutar na resposta antitumoral ao produzirem citocinas essenciais para a lise das células tumorais, configurando uma resposta citotóxica do padrão Th1.<sup>(28) (104) (111) (112)</sup> Logo, é possível que a não depleção dessas células T CD4<sup>+</sup> na pele também possa representar um mecanismo adicional de combate à carcinogênese.

Observou-se, ainda, que a densidade de linfócitos T CD8<sup>+</sup> foi maior em RTRs do grupo imTOR e menor naqueles do grupo AZA. Tais resultados confirmaram a importância dessas células no processo de lise tumoral,<sup>(28)(315)</sup> já que a incidência de tumores no primeiro grupo é menor que no segundo. Com alta capacidade citotóxica ao serem ativadas, as células T CD8<sup>+</sup> atuam

diretamente na morte celular e, indiretamente, por meio da produção de IFN- $\gamma$ , mecanismos dos quais advém seu potencial anticarcinogênico. <sup>(135) (136) (137) (138) (139)</sup>

Também o grupo imTOR apresentou maior expressão de células epidérmicas CD1a<sup>+</sup> (CLs), comparativamente aos demais RTRs, exibindo valores próximos aos encontrados no grupo controle. Esse achado corroborou dados de um estudo recente<sup>(316)</sup> que mostra, por meio da técnica de imunohistoquímica utilizando anticorpo anti-CD1a, a preservação das CLs epidérmicas associada ao uso tópico de imTOR, de forma similar aos controles não tratados. O mecanismo de defesa promovido por essas células ocorre por meio da apresentação de antígenos nos nódulos linfáticos regionais ou na própria epiderme, quando a imunidade está preservada. <sup>(53) (113) (146)</sup> Logo, as CLs são elementos chave para as respostas imunes adaptativas contra antígenos tumorais específicos que são apresentados particularmente por meio do MHC de classes I e II, iniciando uma resposta adaptativa em células T antígeno-específicas por meio de ligação cognata e coestimulação apropriada. Isso determina a natureza inicial e a força de uma resposta imune, conduzindo uma resposta inflamatória que facilita a eliminação do tumor, ao promover a ativação das células T *naïve* em células T efetoras, bem como a polarização das respostas de células T em diferentes padrões de resposta, sobretudo o padrão Th1. <sup>(104) (111) (112)</sup>

Outro achado diz respeito à quantificação numérica de células B CD20<sup>+</sup>, cujos valores, tanto na pele não fotoexposta, quanto na pele fotoexposta, foram correspondentes nos grupos imTOR e controle, e reduzidos nos grupos MPA e AZA. No entanto, essa aparente diferença entre os quatro grupos não teve significância estatística. Apesar desses resultados, um estudo recente <sup>(112)</sup> mostrou números reduzidos de células B infiltrantes dentro de tumores de CEC cutâneos na margem invasiva, bem como na pele não maligna circundante de RTRs, em comparação com controles imunocompetentes. Portanto, o comprometimento cutâneo de células B pode contribuir para um risco aumentado de desenvolvimento de câncer de pele em RTRs, embora isso permaneça incerto. É possível que essas células atuem no combate à carcinogênese por

meio da via humoral, ao gerar polarização das respostas dos linfócitos T, quimiotaxia e ativação de mecanismos pró-inflamatórios. <sup>(104) (112)</sup>

Conforme exemplificado a partir dos achados deste estudo, a imunovigilância do câncer é definida como processos de monitoramento, detecção e eliminação de células tumorais no organismo antes que essas originem massas neoplásicas. <sup>(131) (317) (318)</sup> Essas ações dependem da interação dos sistemas imunes inato e adaptativo, e constituem um processo contínuo, que precisa ser repetido cada vez que células tumorais apresentam novos antígenos. <sup>(129) (131)</sup> Como os medicamentos imunossupressores acarretam uma deficiência da resposta imune, conseqüentemente interferem na imunovigilância do câncer, aumentando o risco de desenvolvimento de neoplasias malignas. <sup>(42) (43)(319)</sup> Assim, é compreensível que os RTRs, então mantidos sob imunossupressão, apresentem declínio das funções imunológicas e, por conseguinte, as neoplasias prevaleçam nesses pacientes, sobretudo as cutâneas do tipo CEC <sup>(151)</sup>, resultando em morbidade e mortalidade significantes. <sup>(320)</sup>

Estudos anteriores já demonstraram que os RTRs apresentam tal diminuição numérica de células efetoras da resposta imune específica contra tumores, como os subtipos linfocitários T (CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>) e de CLs. <sup>(52) (53)</sup> Porém, até o momento atual, a exiguidade de dados sobre o comportamento dessas células na pele de RTRs submetidos a diferentes esquemas de imunossupressão justificou a realização desta investigação.

Os resultados de destaque são os relacionados à terapia com imTOR, que contrariaram a literatura sobre o uso crônico de imunossupressores usuais em RTRs, no que concerne aos efeitos carcinogênicos desses medicamentos. <sup>(64)(321)</sup> A análise comparativa evidenciou que os regimes imunossupressores baseados em imTOR preservaram a constituição imunológica da pele, funcionando, portanto, de modo mais favorável que aqueles com MPA e AZA. Isso porque a terapia com imTOR promoveu a conservação dos elementos celulares de defesa da pele e o controle da proliferação epidérmica. Tais efeitos podem ser considerados mecanismos relacionados à redução da tumorigênese cutânea, o que tornaria o imTOR o tratamento imunossupressor de escolha para a manutenção da imunossupressão pós-transplante nos RTRs, se comparada ao uso de MPA e AZA, sobretudo nos pacientes que apresentem risco



aumentado para desenvolver cânceres de pele relacionados à fotoexposição, como os CPNMs. Por outro lado, não há dados suficientes para definir se o melhor seria substituir MPA ou AZA por imTOR em pacientes com câncer de pele estabelecido ou se seria mais vantajoso acrescentar a medicação ao esquema em uso. No caso da AZA, especificamente, por ela ser reconhecida como carcinogênica, é possível que seja melhor sua suspensão e substituição por imTOR.

Como limitação deste estudo, foi detectado um possível fator causador de enviesamento no modo de recrutamento dos RTRs, pois, usualmente, a terapia de eleição dos receptores de transplante renal que recebem alta hospitalar é com algum MPA; a troca por AZA ou algum imTOR só é realizada em caso de efeito colateral ou intolerância. Logo, pode-se inferir que os pacientes do grupo MPA poderiam ter um tempo de uso maior que aqueles sob terapia com imTOR ou AZA.

Como perspectiva para estudos futuros, esta pesquisa aponta para a necessidade de um maior entendimento sobre o comportamento funcional das células efectoras do sistema imune da pele envolvidas na imunovigilância cutânea de RTRs, a fim de explicitar mecanismos adicionais atrelados às propriedades carcinogênicas de uma série de imunossuppressores.

## **6 CONCLUSÕES**

---

## 6 CONCLUSÕES

As análises histológica e imuno-histoquímica realizadas comparativamente na pele de RTRs em uso dos esquemas de imunossupressão imTOR, MPA e AZA, em relação ao grupo controle, demonstraram que o primeiro imunossupressor foi superior em relação aos demais, no que concerne à manutenção de alguns mecanismos de controle que podem estar atrelados à carcinogênese cutânea, já que apenas o imTOR conteve a proliferação da epiderme e propiciou a preservação de células efectoras do sistema imune da pele.

Um dos achados histopatológicos insigne deste trabalho revelou a atrofia epidérmica da pele dos RTRs tratados com imTOR, achado este presente tanto na pele fotoexposta, como na pele não fotoexposta desses pacientes, tendo sido a alteração morfológica mais singular do estudo.

A constituição da pele dos RTRs sob terapia com imTOR não diferiu daquela apresentada pelo grupo controle no que diz respeito ao número de linfócitos B e T, bem como de CLs, preservando, assim, esses componentes celulares efetores da resposta imune na imunovigilância tumoral.

Uma redução significativa no número de linfócitos T e CLs foi observada tanto na pele não fotoexposta, quanto na pele fotoexposta dos RTRs sob tratamento com AZA e MPA, embora vista em menor grau no último grupo.

Já em relação ao número de linfócitos B, não se observou alteração significativa na pele dos pacientes sob terapia com AZA e MPA, tal qual encontrado naqueles sob terapia com imTOR e no grupo controle.

**7 ANEXOS**

---

**ANEXO A – Classificação de tipos de pele reativas ao sol (Fitzpatrick, 1988)**

<b>Fototipo</b>	<b>Característica</b>	<b>Sensibilidade ao sol</b>
I – Branca	Queima com facilidade, nunca bronzeia	Muito sensível
II – Branca	Queima com facilidade, bronzeia muito pouco	Sensível
III – Morena Clara	Queima moderadamente, bronzeia moderadamente	Normal
IV – Morena Moderada	Queima pouco, bronzeia com facilidade	Normal
V – Morena Escura	Queima raramente, bronzeia bastante	Pouco sensível
VI – Negra	Nunca se queima, totalmente pigmentada	Insensível

**ANEXO B – Características histomorfológicas epidérmicas e dérmicas das peles não fotoexposta e fotoexposta**

N	Id	Imunossupresor	Pele	Biópsia	Variáveis Epidérmicas				Variáveis Dérmicas	
					Córnea	Granulosa <sup>(1)</sup>	Entre cones <sup>(2)</sup>	Cones <sup>(3)</sup>	Elastose	Infiltrado inflamatório linfocitário perivascular
imTOR-1	CHAS	EVE	Não exposta	MV-02 A	Cesta	Normal	4,7	7,0	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-02 B	Lamelar	Normal	5,3	8,8	Moderada	Ausente
imTOR-2	ELS	EVE	Não exposta	MV-06 A	Cesta	Normal	5,0	6,0	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-06 B	Compacta	Hipergranulose	7,0	11,0	Moderada	Ausente
imTOR-3	IT	EVE	Não exposta	MV-10 A	Lamelar	Normal	4,3	6,7	Discreta	Discreto
			Exposta	MV-10 B	Cesta	Normal	5,3	7,7	Intensa	Discreto
imTOR-4	MNU	EVE	Não exposta	MV-16 A	Cesta	Normal	4,3	5,0	Discreta	Ausente
			Exposta	MV-16 B	Compacta	Normal	5,7	8,3	Intensa	Ausente
imTOR-5	NLO	EVE	Não exposta	MV-18 A	Lamelar	Normal	4,0	5,7	Discreta	Discreto
			Exposta	MV-18 B	Lamelar	Normal	4,7	7,0	Intensa	Discreto
imTOR-6	NB	EVE	Não exposta	MV-28 A	Cesta	Normal	4,0	6,3	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-28 B	Cesta	Normal	5,0	7,3	Moderada	Discreto
imTOR-7	AP	EVE	Não exposta	MV-29 A	Cesta	Normal	4,0	5,7	Discreta	Discreto
			Exposta	MV-29 B	Compacta	Normal	5,7	7,3	Intensa	Ausente
imTOR-8	ECSS	SIR	Não exposta	MV-32 A	Cesta	Normal	4,7	5,7	Discreta	Discreto
			Exposta	MV-32 B	Compacta	Normal	4,7	7,3	Intensa	Ausente
imTOR-9	EAC	EVE	Não exposta	MV-35 A	Cesta	Normal	4,7	5,7	Discreta	Ausente
			Exposta	MV-35 B	Compacta	Normal	6,0	7,0	Intensa	Ausente
imTOR-10	JRSN	EVE	Não exposta	MV-40 A	Cesta	Normal	4,3	6,0	Discreta	Ausente
			Exposta	MV-40 B	Compacta	Normal	4,7	6,7	Intensa	Ausente
MPA-1	ESL	MMS	Não exposta	MV-01A	Cesta	Normal	6,3	8,7	Ausente	Ausente
			Exposta	MV-01B	Lamelar	Normal	7,7	10,3	Moderada	Ausente
MPA-2	PSP	MMS	Não exposta	MV-04 A	Cesta	Normal	6,7	9,7	Discreta	Discreto
			Exposta	MV-04 B	Compacta	Hipergranulose	10,0	12,7	Intensa	Ausente
MPA-3	LSGL	MMF	Não exposta	MV-09 A	Cesta	Normal	7,3	10,0	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-09 B	Compacta	Normal	9,0	11,3	Intensa	Discreto
MPA-4	SPA	MMS	Não exposta	MV-05 A	Lamelar	Normal	7,0	9,0	Discreta	Ausente
			Exposta	MV-05 B	Compacta	Normal	9,7	11,7	Moderada	Ausente
MPA-5	SBS	MMF	Não exposta	MV-14 A	Cesta	Normal	6,0	8,0	Discreta	Ausente
			Exposta	MV-14 B	Compacta	Hipergranulose	9,0	11,7	Moderada	Ausente
MPA-6	MCM	MMS	Não exposta	MV-15 A	Lamelar	Normal	4,7	8,3	Discreta	Discreto

MPA-7	JRC	MMS	Exposta	MV-15 B	Compacta	Hipergranulose	9,0	11,7	Intensa	Discreto
			Não exposta	MV-26 A	Cesta	Normal	5,7	8,0	Discreta	Discreto
MPA-8	ESSC	MMS	Exposta	MV-26 B	Compacta	Hipergranulose	8,0	11,3	Moderada	Discreto
			Não exposta	MV-30 A	Cesta	Normal	7,0	9,7	Discreta	Ausente
MPA-9	SECL	MMS	Exposta	MV-30 B	Compacta	Hipergranulose	8,0	11,0	Intensa	Ausente
			Não exposta	MV-33 A	Cesta	Normal	5,7	8,3	Discreta	Discreto
MPA -10	AP	MMS	Exposta	MV-33 B	Compacta	Normal	8,3	11,3	Intensa	Discreto
			Não exposta	MV-34 A	Cesta	Normal	6,7	10,0	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-34 B	Compacta	Hipergranulose	8,0	11,0	Intensa	Ausente
AZA-1	HMO	AZA	Não exposta	MV-42 A	Lamelar	Normal	6,0	9,0	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-42 B	Lamelar	Normal	7,7	11,0	Intensa	Ausente
AZA-2	FJBS	AZA	Não exposta	MV-08 A	Cesta	Normal	5,7	9,0	Discreta	Discreto
			Exposta	MV-08 B	Compacta	Hipergranulose	8,7	13,7	Intensa	Discreto
AZA-3	ARSS	AZA	Não exposta	MV-12 A	Lamelar	Normal	5,0	7,7	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-12 B	Compacta	Hipergranulose	7,7	13,0	Intensa	Ausente
AZA-4	PSDEL	AZA	Não exposta	MV-17 A	Lamelar	Normal	5,0	8,7	Discreta	Ausente
			Exposta	MV-17 B	Compacta	Normal	7,0	9,7	Intensa	Ausente
AZA-5	JAA	AZA	Não exposta	MV-25 A	Lamelar	Normal	5,0	7,7	Discreta	Discreto
			Exposta	MV-25 B	Compacta	Hipergranulose	7,0	11,7	Intensa	Discreto
AZA-6	VPC	AZA	Não exposta	MV-36 A	Cesta	Normal	5,0	7,0	Discreta	Ausente
			Exposta	MV-36 B	Compacta	Hipergranulose	9,3	12,7	Intensa	Ausente
AZA-7	MCAS	AZA	Não exposta	MV-37 A	Cesta	Normal	6,7	9,0	Discreta	Ausente
			Exposta	MV-37 B	Compacta	Hipergranulose	9,3	12,7	Intensa	Ausente
AZA-8	CVSS	AZA	Não exposta	MV-38 A	Cesta	Normal	5,0	8,3	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-38 B	Compacta	Normal	7,0	9,0	Moderada	Ausente
AZA-9	RTF	AZA	Não exposta	MV-39 A	Cesta	Normal	5,7	8,7	Discreta	Ausente
			Exposta	MV-39 B	Lamelar	Normal	7,7	10,0	Intensa	Ausente
AZA-10	JVS	AZA	Não exposta	MV-41 A	Cesta	Normal	5,0	7,7	Discreta	Discreto
			Exposta	MV-41 B	Lamelar	Normal	6,7	8,7	Intensa	Ausente
GC-1	MVQ	N/A	Não exposta	MV-03 A	Cesta	Normal	5,0	7,3	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-03 B	Compacta	Normal	6,0	8,3	Moderada	Discreto
GC-2	BAMC	N/A	Não exposta	MV-11 A	Cesta	Normal	5,3	8,0	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-11 B	Compacta	Normal	7,3	8,7	Moderada	Discreto
GC-3	CBS	N/A	Não exposta	MV-13 A	Lamelar	Normal	5,0	8,7	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-13 B	Compacta	Normal	7,7	10,0	Moderada	Discreto
GC-4	FBF	N/A	Não exposta	MV-19 A	Cesta	Normal	5,0	6,7	Discreta	Discreto
			Exposta	MV-19 B	Lamelar	Normal	6,3	8,7	Intensa	Ausente
GC-5	DQM	N/A	Não exposta	MV-20 A	Lamelar	Normal	5,0	8,3	Discreta	Moderado

GC-6	MIA	N/A	Exposta	MV-20 B	Compacta	Normal	7,0	9,3	Intensa	Discreto
			Não exposta	MV-21 A	Cesta	Normal	4,7	6,3	Discreta	Ausente
GC-7	CNS	N/A	Exposta	MV-21 B	Lamelar	Normal	6,7	8,0	Intensa	Ausente
			Não exposta	MV-22 A	Cesta	Normal	5,3	6,7	Discreta	Discreto
GC-8	ACR	N/A	Exposta	MV-22 B	Compacta	Hipergranulose	8,7	13,0	Intensa	Discreto
			Não exposta	MV-23 A	Cesta	Normal	5,0	7,3	Discreta	Ausente
GC-9	JR	N/A	Exposta	MV-23 B	Compacta	Normal	7,3	9,0	Intensa	Ausente
			Não exposta	MV-24 A	Cesta	Normal	5,3	7,0	Discreta	Ausente
GC-10	GMC	N/A	Exposta	MV-24 B	Compacta	Hipergranulose	8,3	13,0	Intensa	Ausente
			Não exposta	MV-27 A	Cesta	Normal	5,3	7,3	Ausente	Discreto
			Exposta	MV-27 B	Compacta	Normal	7,0	8,3	Intensa	Ausente

NOTA: AZA – grupo azatioprina; EVE – everolimo; GC – grupo controle; Id – identificação; imTOR – grupo inibidores de mTOR; MPA – grupo ácido micofenólico; MMF – micofenolato de mofetila; MMS – micofenolato sódico; N/A – não se aplica; SIR – sirolimo.

<sup>(1)</sup> A espessura dos estratos granulosos em áreas de pele não glabra considerada como normal compreende o número de 1 a 3 camadas, sendo hipergranulose definida pelo número igual ou maior a 4 camadas celulares.

<sup>(2)</sup> Média dos valores numéricos obtidos por contagem do número de camadas celulares do estrato espinhoso entre cones epiteliais em três segmentos do fragmento de uma mesma biópsia.

<sup>(3)</sup> Média dos valores numéricos obtidos por contagem do número de camadas celulares do estrato espinhoso nos cones epiteliais em três segmentos do fragmento de uma mesma biópsia.



**ANEXO C – Dados morfométricos de células linfocitárias B CD20<sup>+</sup>, T CD3<sup>+</sup>, T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup> por mm<sup>2</sup> de área dérmica, e fração de área epidérmica e epitélio da bainha folicular com expressão de células CD1a<sup>+</sup> das peles não fotoexposta e fotoexposta**

N	Id	Imunossupressor	Pele	Biópsia	Células Imunomarcadas				
					CD20 <sup>+</sup> (mm <sup>2</sup> )	CD3 <sup>+</sup> (mm <sup>2</sup> )	CD4 <sup>+</sup> (mm <sup>2</sup> )	CD8 <sup>+</sup> (mm <sup>2</sup> )	CD1a <sup>+</sup> ( <sup>1</sup> )
imTOR-1	CHAS	EVE	Não exposta	MV-02 A	0,4	7,0	4,6	2,8	3,9
			Exposta	MV-02 B	0,2	5,1	3,1	2,0	1,1
imTOR-2	ELS	EVE	Não exposta	MV-06 A	0,4	6,5	4,5	2,1	9,5
			Exposta	MV-06 B	0,2	3,9	1,9	2,0	1,6
imTOR-3	IT	EVE	Não exposta	MV-10 A	0,1	6,7	4,0	2,5	1,2
			Exposta	MV-10 B	0,0	4,5	2,6	1,8	0,7
imTOR-4	MNU	EVE	Não exposta	MV-16 A	0,3	6,1	3,7	2,8	2,4
			Exposta	MV-16 B	0,2	3,0	2,0	1,4	1,5
imTOR-5	NLO	EVE	Não exposta	MV-18 A	0	7,0	4,3	3,3	12,5
			Exposta	MV-18 B	0	6,0	3,5	2,6	4,6
imTOR-6	NB	EVE	Não exposta	MV-28 A	0,1	8,1	5,2	2,5	13,1
			Exposta	MV-28 B	0	5,7	3,8	1,7	5,5
imTOR-7	AP	EVE	Não exposta	MV-29 A	0,2	8,9	6,1	2,8	8,7
			Exposta	MV-29 B	0	5,7	4,2	1,5	7,1
imTOR-8	ECSS	SIR	Não exposta	MV-32 A	0,1	8,3	5,0	3,3	4,8
			Exposta	MV-32 B	0	5,2	3,5	1,8	2,1
imTOR-9	EAC	EVE	Não exposta	MV-35 A	0,1	9,1	5,5	3,7	11,7
			Exposta	MV-35 B	0	5,0	3,1	1,9	2,0
imTOR-10	JRSN	EVE	Não exposta	MV-40 A	0	8,6	5,6	3,1	4,9
			Exposta	MV-40 B	0	5,7	3,1	2,4	1,8
MPA-1	ESL	MMS	Não exposta	MV-01A	0	3,1	2,3	0,9	3,2
			Exposta	MV-01B	0	1,8	1,4	0,3	2,9
MPA-2	PSP	MMS	Não exposta	MV-04 A	0	5,7	4,7	0,9	2,3
			Exposta	MV-04 B	0	2,6	1,8	0,2	0,2
MPA-3	LSGL	MMF	Não exposta	MV-09 A	0	5,0	3,6	1,6	1,1
			Exposta	MV-09 B	0	2,3	2,1	0,4	0,8
MPA-4	SPA	MMS	Não exposta	MV-05 A	0,2	5,6	3,6	1,9	8,4
			Exposta	MV-05 B	0,1	3,6	2,5	1,1	3,5
MPA-5	SBS	MMF	Não exposta	MV-14 A	0	2,4	1,8	0,5	3,2
			Exposta	MV-14 B	0	1,1	0,7	0,2	0,7
MPA-6	MCM	MMS	Não exposta	MV-15 A	0	2,4	1,6	0,8	1,8
			Exposta	MV-15 B	0	1,2	0,8	0,3	0,6
MPA-7	JRC	MMS	Não exposta	MV-26 A	0,2	3,1	2,0	1,2	10,3
			Exposta	MV-26 B	0,1	2,0	1,6	0,5	7,8
MPA-8	ESSC	MMS	Não exposta	MV-30 A	0	4,5	2,7	1,8	1,1
			Exposta	MV-30 B	0	2,8	1,7	1,2	0,9
MPA-9	SECL	MMS	Não exposta	MV-33 A	0,1	6,0	3,5	2,5	15,7
			Exposta	MV-33 B	0,1	4,3	3,4	1,1	4,7
MPA-10	AP	MMS	Não exposta	MV-34 A	0	5,2	3,5	1,8	2,8
			Exposta	MV-34 B	0	3,6	2,5	1,1	2,4
AZA-1	HMO	AZA	Não exposta	MV-42 A	0	2,5	1,4	1,2	1,9
			Exposta	MV-42 B	0	0,9	0,7	0,1	0,7
AZA-2	FJBS	AZA	Não exposta	MV-08 A	0,1	2,5	1,2	0,2	2,2
			Exposta	MV-08 B	0	1,1	0,9	0	0,4
AZA-3	ARSS	AZA	Não exposta	MV-12 A	0,1	2,3	1,5	0,7	7,4
			Exposta	MV-12 B	0,0	0,4	0,4	0,0	5,5
AZA-4	PSDEL	AZA	Não exposta	MV-17 A	0,1	2,6	2,0	0,5	5,5
			Exposta	MV-17 B	0	0,8	0,5	0,2	2,1
AZA-5	JAA	AZA	Não exposta	MV-25 A	0,1	4,3	2,3	1,8	13,1
			Exposta	MV-25 B	0,0	1,3	0,5	0,4	2,9
AZA-6	VPC	AZA	Não exposta	MV-36 A	0	3,4	2,6	0,7	1,9

AZA-7	MCAS	AZA	Exposta	MV-36 B	0	2,5	2,1	0,4	0,3
			Não exposta	MV-37 A	0	2,5	1,8	0,7	2,8
AZA-8	CVSS	AZA	Exposta	MV-37 B	0	1,8	1,5	0,3	1,9
			Não exposta	MV-38 A	0,1	3,8	2,6	1,2	5,1
AZA-9	RTF	AZA	Exposta	MV-38 B	0	2,9	2,3	0,6	1,9
			Não exposta	MV-39 A	0	4,5	2,9	1,6	3,8
AZA-10	JVS	AZA	Exposta	MV-39 B	0	3,0	1,9	1,2	1,4
			Não exposta	MV-41 A	0	3,8	2,2	1,6	6,4
GC-1	MVQ	N/A	Exposta	MV-41 B	0	2,3	1,3	1,1	2,2
			Não exposta	MV-03 A	0,3	7,1	4,7	2,3	2,6
GC-2	BAMC	N/A	Exposta	MV-03 B	0,1	3,6	2,4	1,3	0,6
			Não exposta	MV-11 A	0,2	8,0	4,3	3,4	8,4
GC-3	CBS	N/A	Exposta	MV-11 B	0	4,5	2,8	1,9	0,7
			Não exposta	MV-13 A	0,3	7,8	6,0	1,9	3,8
GC-4	FBF	N/A	Exposta	MV-13 B	0,2	5,0	4,0	1,1	3,8
			Não exposta	MV-19 A	0,1	7,1	4,3	2,7	11,1
GC-5	DQM	N/A	Exposta	MV-19 B	0,0	3,9	2,6	1,3	5,5
			Não exposta	MV-20 A	0,1	7,9	4,7	3,0	10,5
GC-6	MIA	N/A	Exposta	MV-20 B	0	4,3	3,0	1,2	6,0
			Não exposta	MV-21 A	0	10,4	6,3	4,1	7,0
GC-7	CNS	N/A	Exposta	MV-21 B	0	6,5	4,0	2,6	4,8
			Não exposta	MV-22 A	0,3	8,2	4,2	4,0	7,0
GC-8	ACR	N/A	Exposta	MV-22 B	0,2	4,9	2,2	2,8	4,1
			Não exposta	MV-23 A	0	8,3	5,1	2,1	3,8
GC-9	JR	N/A	Exposta	MV-23 B	0	4,6	4,0	1,1	1,7
			Não exposta	MV-24 A	0,1	7,0	4,4	2,4	4,1
GC-10	GMC	N/A	Exposta	MV-24 B	0	3,8	2,7	1,0	1,0
			Não exposta	MV-27 A	0,1	6,7	3,9	3,4	5,6
			Exposta	MV-27 B	0	4,3	2,1	1,9	5,3

NOTA: AZA – grupo azatioprina; EVE – everolimo; GC – grupo controle; Id – identificação; imTOR – grupo inibidores de mTOR; MPA – ácido micofenólico; MMF – micofenolato de mofetila; MMS – micofenolato sódico; N/A – não se aplica; SIR – sirolimo.

<sup>(1)</sup> Fração de área epidérmica e epitélio da bainha folicular CD1a\*.

## **8 REFERÊNCIAS**

---

## 8 REFERÊNCIAS

1. Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RW, Fung JJ, Bustami RT, Barr ML, et al. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994-2004. *Am J Transplant.* 2006;6(5 Pt 2):1111-31.
2. Brouard S, Mansfield E, Braud C, Li L, Giral M, Hsieh S, et al. Identification of a peripheral blood transcriptional biomarker panel associated with operational renal allograft tolerance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(39):15448-53.
3. Demirkiran A, Hendrikx TK, Baan CC, Van der Laan LJ. Impact of immunosuppressive drugs on CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells: does in vitro evidence translate to the clinical setting? *Transplantation.* 2008;85(6):783-9.
4. Merrill JP, Murray JE, Harrison JH, Guild WR. Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins. *J Am Med Assoc.* 1956;160(4):277-82.
5. Garcia GG, Harden P, Chapman J. O papel global do transplante renal. *J Bras Nefrol.* 2012;34(1):1-7.
6. Cristelli MP, Ferreira GF, Medina-Pestana J. Global Perspective on Kidney Transplantation: Brazil. *Kidney360.* 2021;2(12):2016-18.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Brasil é o terceiro maior transplantador de rim do mundo. Notícias [Internet]. 11 mar. 2022 [citado 27 mai. 2022]; [c4p.]. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2022/03/brasil-e-o-terceiro-maior-transplantador-de-rim-do-mundo#:~:text=No%20Brasil%2C%20o%20transplante%20de,os%20maiores%20transplantadores%20de%20rim>
8. Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO). Dimensionamento dos Transplantes no Brasil e em cada Estado (2014-2021). *Registro Brasileiro de Transplantes.* 2021;27(4):[online].
9. Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO). Dimensionamento dos Transplantes no Brasil e em cada Estado (2012-2019). *Registro Brasileiro de Transplantes.* 2019;25(4):[online].
10. Bastos MG, Bregman R, Kirstajn GM. Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. *RAMB.* 2010;56(2):248-53.
11. Ponticelli C. Present and future of immunosuppressive therapy in kidney transplantation. *Transplant Proc.* 2011;43(6):2439-40.
12. Ferguson TW, Tangri N, Rigatto C, Komenda P. Cost-effective treatment modalities for reducing morbidity associated with chronic kidney disease. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2015;15(2):243-52.
13. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, et al. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016;11(7):e0158765.
14. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int (Suppl).* 2013;3:1-150.

15. Webster AC, Nagler EV, Morton RL, Masson P. Chronic Kidney Disease. *Lancet*. 2017;389(10075):1238-52.
16. National Kidney Foundation (NKF). K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis*. 2002;39(2 Suppl 1):S1-266.
17. Barros E, Manfro RC, Thomé FC, Gonçalves LF. *Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento*. 3a ed. Porto Alegre: Artmed; 2006.
18. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2009;9(Suppl 3):S1-155.
19. Fink HA, Ishani A, Taylor BC, Greer NL, MacDonald R, Rossini D, et al. Screening for, monitoring, and treatment of chronic kidney disease stages 1 to 3: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force and for an American College of Physicians Clinical Practice Guideline. *Ann Intern Med*. 2012;156(8):570-81.
20. Mota AP, Vilaça SS, das Mercês FL, Pinheiro MB, Teixeira-Carvalho A, Silveira AC, et al. Cytokines signatures in short and long-term stable renal transplanted patients. *Cytokine*. 2013;62(2):302-9.
21. Hricik DE, Halbert RJ, Barr ML, Helderman JH, Matas AJ, Pirsch JD, et al. Life satisfaction in renal transplant recipients: preliminary results from the Transplant Learning Center. *Am J Kidney Dis*. 2001;38(3):580-7.
22. Tonelli M, Wiebe N, Knoll G, Bello A, Browne S, Jadhav D, et al. Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant*. 2011;11(10):2093-109.
23. Port FK, Wolfe RA, Mauger EA, Berling DP, Jiang K. Comparison of survival probabilities for dialysis patients vs cadaveric renal transplant recipients. *J Am Med Assoc*. 1993;270(11):1339-43.
24. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, 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*. 1999;341(23):1725-30.
25. Ojo AO, Hanson JA, Meier-Kriesche HU, Okechukwu CN, Wolfe RA, Leichtman AB, et al. Survival in recipients of marginal cadaveric donor kidneys compared with other recipients and wait-listed transplant candidates. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(3):589-97.
26. Merion RM, Ashby VB, Wolfe RA, Distant DA, Hulbert-Shearon TE, Metzger RA, et al. Deceased-donor characteristics and the survival benefit of kidney transplantation. *J Am Med Assoc*. 2005;294(21):2726-33.
27. Auchincloss H, Sultan H. Antigen processing and presentation in transplantation. *Curr Opin Immunol*. 1996;8(5):681-7.
28. Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia básica: funções e distúrbios do sistema imunológico*. 2a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.
29. Botelho SM. *Avaliação das moléculas HLA-G e PD-L1 em pacientes submetidos a transplante renal em Goiânia - GO*. [tese online]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina; 2020.

30. Ponticelli C. The mechanisms of acute transplant rejection revisited. *J Nephrol.* 2012;25(02):150-8.
31. Sementilli A, David DR, Malheiros D, Visona I, Pegas KL, Franco M, et al. Patologia do transplante renal: achados morfológicos principais e como laudar as biópsias. *J Bras Patol Med Lab.* 2008;44(4):293-304.
32. Sá H, Leal R, Rosa MS. Renal transplant immunology in the last 20 years: a revolution towards graft and patient survival improvement. *Int Rev Immunol.* 2017;36(3):182-203.
33. Denton MD, Magee CC, Sayegh MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet.* 1999;353(9158):1083-91.
34. Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med.* 2010;363(15):1451-62.
35. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde/ Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos em Saúde. Portaria Conjunta n. 1 de 05 de janeiro de 2021. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Imunossupressão em Transplante Renal. *Diário Oficial da União*, Brasília (DF). 2021 11 jan.;Seção 1:50.
36. Opelz G, Döhler B. Effect on kidney graft survival of reducing or discontinuing maintenance immunosuppression after the first year posttransplant. *Transplantation.* 2008;86(3):371-6.
37. Correia C, Sereijo M, Domingues JC, Couto JC, Martins R, Alves R, et al. Patologia cutânea em transplantados renais [Skin pathology in kidney transplant recipients]. *Acta Med Port.* 1992;5(7):359-64.
38. Moloney FJ, de Freitas D, Conlon PJ, Murphy GM. Renal transplantation, immunosuppression and the skin: an update. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2005;21(1):1-8.
39. Tzadok R, Isman G, Baruch R, Goykhman Y, Ovdar E, Lubezky N, et al. Cutaneous malignancies after kidney and simultaneous pancreas-kidney transplantations. *Transplant Proc.* 2021;53(7):2369-76.
40. Gerhardt CM, Gussão BC, Matos JP, Lugon JR, Pinto JM. Alterações dermatológicas nos pacientes em hemodiálise e em transplantados. *J Bras Nefrol.* 2011;33(2):268-75.
41. Birkeland SA, Storm HH, Lamm LU, Barlow L, Blohmé I, Forsberg B, et al. Cancer risk after renal transplantation in the Nordic countries, 1964-1986. *Int J Cancer.* 1995;60(2):183-9.
42. Penn I. Cancers in renal transplant recipients. *Adv Ren Replace Ther.* 2000a;7(2):147-56.
43. Ramsay HM, Fryer AA, Hawley CM, Smith AG, Harden PN. Non-melanoma skin cancer risk in the Queensland renal transplant population. *Br J Dermatol.* 2002;147(5):950-6.
44. Sanches MM, Travassos AR, Soares-de-Almeida L. A relação entre a imunodepressão e o desenvolvimento de cancro cutâneo [The relationship between immunodepression and the development of skin cancer]. *Acta Med Port.* 2017;30(1):69-72.
45. Berg D, Otley CC. Skin cancer in organ transplant recipients: epidemiology, pathogenesis, and management. *J Am Acad Dermatol.* 2002;47(1):1-17.

46. Ulrich C, Kanitakis J, Stockfleth E, Euvrard S. Skin cancer in organ transplant recipients – where do we stand today? *Am J Transplant.* 2008;8(11):2192-8.
47. Harwood CA, Toland AE, Proby CM, Euvrard S, Hofbauer GF, Tommasino M, et al. The pathogenesis of cutaneous squamous cell carcinoma in organ transplant recipients. *Br J Dermatol.* 2017;177(5):1217-24.
48. O'Donovan P, Perrett CM, Zhang X, Montaner B, Xu YZ, Harwood CA, et al. Azathioprine and UVA light generate mutagenic oxidative DNA damage. *Science.* 2005;309(5742):1871-4.
49. Attard NR, Karran P. UVA photosensitization of thiopurines and skin cancer in organ transplant recipients. *Photochem Photobiol Sci.* 2012;11(1):62-8.
50. Brem R, Karran P. Multiple forms of DNA damage caused by UVA photoactivation of DNA 6-thioguanine. *Photochem Photobiol.* 2012;88(1):5-13.
51. Rangwala S, Tsai KY. Roles of the immune system in skin cancer. *Br J Dermatol.* 2011;165(5):953-65.
52. Galvão MM, Sotto MN, Kihara SM, Rivitti EA, Sabbaga E. Lymphocyte subsets and Langerhans cells in sun-protected and sun-exposed skin of immunosuppressed renal allograft recipients. *J Am Acad Dermatol.* 1998;38(1):38-44.
53. Carneiro RV, Sotto MN, Azevedo LS, Ianhez LE, Rivitti EA. Acitretin and skin cancer in kidney transplanted patients. Clinical and histological evaluation and immunohistochemical analysis of lymphocytes, natural killer cells and Langerhans' cells in sun exposed and sun protected skin. *Clin Transplant.* 2005;19(1):115-21.
54. Azizi E, Bucana C, Goldberg L, Kripke ML. Perturbation of epidermal Langerhans' cells in basal cell carcinomas. *Am J Dermatopathol.* 1987;9(6):465-73.
55. Murphy GF, Katz S, Kligman AM. Topical tretinoin replenishes CD1a positive epidermal Langerhans cells in chronically photodamaged human skin. *J Cutan Pathol.* 1998;25(1):30-4.
56. Kelly GE, Meikle W, Sheil AG. Effects of immunosuppressive therapy on the induction of skin tumors by ultraviolet irradiation in hairless mice. *Transplantation.* 1987;44(3):429-34.
57. Guba M, Guba C, Jauch KW, Geissler EK. Pro- and anti-cancer effects of immunosuppressive agents used in organ transplantation. *Transplantation.* 2004;77(12):1777-82.
58. Yarosh DB, Pena AV, Nay SL, Canning MT, Brown DA. Calcineurin inhibitors decrease DNA repair and apoptosis in human keratinocytes following ultraviolet B irradiation. *J Invest Dermatol.* 2005;125(5):1020-5.
59. Voskamp P, Bodmann CA, Koehl GE, Rebel HG, Van Olderen MG, Gaumann A, et al. Dietary immunosuppressants do not enhance UV-induced skin carcinogenesis, and reveal discordance between p53-mutant early clones and carcinomas. *Cancer Prev Res (Phila).* 2013;6(2):129-38.

60. Savoia P, Ranghino A, Fava P. Characterization and management of cutaneous side effects related to the immunosuppressive treatment in solid organ recipients. *Curr Drug Targets*. 2017;18(4):436-46.
61. Vajdic CM, Van Leeuwen MT. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *Int J Cancer*. 2009;125(8):1747-54.
62. Bouwes-Bavinck JN, Hardie DR, Green A, Cutmore S, MacNaught A, O'Sullivan B, et al. The risk of skin cancer in renal transplant recipients in Queensland, Australia: a follow-up study. *Transplantation*. 1996;61(5):715-21.
63. Webb MC, Compton F, Andrews PA, Koffman CG. Skin tumours posttransplantation: a retrospective analysis of 28 years' experience at a single centre. *Transplant Proc*. 1997;29(1-2):828-30.
64. Jensen P, Hansen S, Møller B, Leivestad T, Pfeffer P, Geiran O, et al. Skin cancer in kidney and heart transplant recipients and different long-term immunosuppressive therapy regimens. *J Am Acad Dermatol*. 1999;40(2 Pt 1):177-86.
65. Winkelhorst JT, Brokelman WJ, Tiggeler RG, Wobbles T. Incidence and clinical course of de-novo malignancies in renal allograft recipients. *Eur J Surg Oncol*. 2001;27(4):409-13.
66. Euvrard S, Kanihakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med*. 2003;348(17):1681-91.
67. Shao EX, Betz-Stablein B, Khosrotehrani K, Campbell S, Isbel N, Green AC. Keratinocyte cancer mortality in kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2021 maio:[Epub ahead of print].
68. Gupta AK, Cardella CJ, Haberman HF. Cutaneous malignant neoplasms in patients with renal transplants. *Arch Dermatol*. 1986;122(11):1288-93.
69. Ponticelli C, Cucchiari D, Bencini P. Skin cancer in kidney transplant recipients. *J Nephrol*. 2014;27(4):385-94.
70. Otley CC, Cherikh WS, Salasche SJ, McBride MA, Christenson LJ, Kauffman HM. Skin cancer in organ transplant recipients: effects of pretransplant end-organ disease. *J Am Acad Dermatol*. 2005;53(5):783-90.
71. Hartevelt MM, Bavinck JN, Kootte AM, Vermeer BJ, Vandembroucke JP. Incidence of skin cancer after renal transplantation in The Netherlands. *Transplantation*. 1990;49(3):506-09.
72. Lindelöf B, Sigurgeirsson B, Gäbel H, Stern RS. Incidence of skin cancer in 5356 patients following organ transplantation. *Br J Dermatol*. 2000;143(3):513-9.
73. Ulrich C, Schmook T, Sachse MM, Sterry W, Stockfleth E. Comparative epidemiology and pathogenic factors for non-melanoma skin cancer in organ transplant patients. *Dermatol Surg*. 2004;30(4 Pt 2):622-7.
74. Zavos G, Karidis NP, Tsourouflis G, Bokos J, Diles K, Sotirchos G, et al. Nonmelanoma skin cancer after renal transplantation: a single-center experience in 1736 transplantations. *Int J Dermatol*. 2011;50(12):1496-500.



75. Stoff B, Salisbury C, Parker D, O'Reilly Zwald F. Dermatopathology of skin cancer in solid organ transplant recipients. *Transplant Rev (Orlando)*. 2010;24(4):172-89.
76. Bordea C, Wojnarowska F, Millard PR, Doll H, Welsh K, Morris PJ. Skin cancers in renal-transplant recipients occur more frequently than previously recognized in a temperate climate. *Transplantation*. 2004;77(4):574-9.
77. Bouwes-Bavinck JN, Euvrard S, Naldi L, Nindl I, Proby CM, Neale R, et al. Keratotic skin lesions and other risk factors are associated with skin cancer in organ-transplant recipients: a case-control study in The Netherlands, United Kingdom, Germany, France, and Italy. *J Invest Dermatol*. 2007;127(7):1647-56.
78. Kempf W, Mertz KD, Hofbauer GF, Tinguely M. Skin cancer in organ transplant recipients. *Pathobiology*. 2013;80(6):302-9.
79. Sampaio SA, Rivitti EA. Tumores epiteliais malignos. In: Sampaio SA, Rivitti EA. *Dermatologia*. São Paulo: Artes Médicas; 1998. p. 839-42.
80. Euvrard S, Kanitakis J, Pouteil-Noble C, Disant F, Dureau G, Finaz de Villaine J, et al. Aggressive squamous cell carcinomas in organ transplant recipients. *Transplant Proc*. 1995a;27(2):1767-8.
81. Veness MJ, Quinn DI, Ong CS, Keogh AM, Macdonald PS, Cooper SG, et al. Aggressive cutaneous malignancies following cardiothoracic transplantation: the Australian experience. *Cancer*. 1999;85(8):1758-64.
82. Lott DG, Manz R, Koch C, Lorenz RR. Aggressive behavior of nonmelanotic skin cancers in solid organ transplant recipients. *Transplantation*. 2010;90(6):683-7.
83. Lanz J, Bouwes-Bavinck JN, Westhuis M, Quint KD, Harwood CA, Nasir S, et al. Aggressive squamous cell carcinoma in organ transplant recipients. *JAMA Dermatol*. 2019;155(1):66-71.
84. Martinez JC, Otley CC, Stasko T, Euvrard S, Brown C, Schanbacher CF, et al. Transplant-Skin Cancer Collaborative. Defining the clinical course of metastatic skin cancer in organ transplant recipients: a multicenter collaborative study. *Arch Dermatol*. 2003;139(3):301-6.
85. Wells JL, Shirai K. Systemic therapy for squamous cell carcinoma of the skin in organ transplant recipients. *Am J Clin Oncol*. 2012;35(5):498-503.
86. Ingvar A, Smedby KE, Lindelöf B, Fernberg P, Bellocco R, Tufveson G, et al. Immunosuppressive treatment after solid organ transplantation and risk of post-transplant cutaneous squamous cell carcinoma. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(8):2764-71.
87. Adamson R, Obispo E, Dychter S, Dembitsky W, Moreno-Cabral R, Jaski B, et al. High incidence and clinical course of aggressive skin cancer in heart transplant patients: a single-center study. *Transplant Proc*. 1998;30(4):1124-6.
88. Pollard JD, Hanasono MM, Mikulec AA, Le QT, Terris DJ. Head and neck cancer in cardiothoracic transplant recipients. *Laryngoscope*. 2000;110(8):1257-61.

89. Robert C, Kupper TS. Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance. *N Engl J Med*. 1999;341(24):1817-28.
90. Kupper TS, Fuhlbrigge RC. Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences. *Nat Rev Immunol*. 2004;4(3):211-22.
91. Lugo-Janer G, Sánchez JL, Santiago-Delpin E. Prevalence and clinical spectrum of skin diseases in kidney transplant recipients. *J Am Acad Dermatol*. 1991;24(3):410-4.
92. Streilein JW. Skin-associated lymphoid tissues (SALT): origins and functions. *J Invest Dermatol*. 1983;80(Suppl):12s-16s.
93. Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system: its cellular constituents and their interactions. *Immunol Today*. 1986;7(7-8):235-40.
94. Nestle F, Di Meglio P, Qin JZ, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(10):679-91.
95. Pasparakis M, Haase I, Nestle FO. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(5):289-301.
96. Egbuniwe IU, Karagiannis SN, Nestle FO, Lacy KE. Revisiting the role of B cells in skin immune surveillance. *Trends Immunol*. 2015;36(2):102-11.
97. Clark RA. Skin-resident T cells: the ups and downs of on site immunity. *J Invest Dermatol*. 2010;130(2):362-70.
98. Chu CC, Di Meglio P, Nestle FO. Harnessing dendritic cells in inflammatory skin diseases. *Semin Immunol*. 2011;23(1):28-41.
99. Gebhardt T, Mueller SN, Heath WR, Carbone FR. Peripheral tissue surveillance and residency by memory T cells. *Trends Immunol*. 2013;34(1):27-32.
100. Barber BR. Immune status and immunotherapy in advanced cutaneous squamous cell carcinoma – What are our next steps? *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019;145(4):361-2.
101. Habib LA, Wolkow N, Freitag SK, Yoon MK. Advances in immunotherapy and periocular malignancy. *Semin Ophthalmol*. 2019;34(4):327-33.
102. Paulson KG, Lahman MC, Chapuis AG, Brownell I. Immunotherapy for skin cancer. *Int Immunol*. 2019;31(7): p. 465-75.
103. Hall ET, Fernandez-Lopez E, Silk AW, Dummer R, Bhatia S. Immunologic characteristics of nonmelanoma skin cancers: implications for immunotherapy. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2020;40:1-10.
104. Weber MB, Ferreira IG, Ferreira LO, Silva AB, Cernea SS. Carcinoma espinocelular avançado e imunoterápicos: novas perspectivas terapêuticas. *Surg Cosmet Dermatol*. 2021;13:e20210023.
105. Diniz LM, Figueiredo BC. The newborn's immune system. *Rev Med Minas Gerais*. 2014;24(2):227-33.
106. Holt PG, Jones CA. The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy*. 2000;55:588-697.
107. Jacob CM, Pastorino AC. Desenvolvimento do sistema imunológico. In: Jacob CM, Pastorino AC, editors. *Alergia e imunologia para o pediatra*. São Paulo: Manole; 2010. p. 3-17.

108. Montagnino G, Lorca E, Tarantin A, Bencini P, Aroldi A, Cesana B, et al. Cancer incidence in 854 kidney transplant recipients from a single institution: comparison with normal population and with patients under dialytic treatment. *Clin Transplant*. 1996;10(5):461-9.
109. Honda T, Egawa G, Kabashima K. Antigen presentation and adaptive immune responses in skin. *Int Immunol*. 2019;31(7):423-9.
110. Fujita H, Suárez-Farías M, Mitsui H, Gonzalez J, Bluth MJ, Zhang S, et al. Langerhans cells from human cutaneous squamous cell carcinoma induce strong type 1 immunity. *J Invest Dermatol*. 2012;132(6):1645-55.
111. Yanofsky VR, Mitsui H, Felsen D, Carucci JA. Understanding dendritic cells and their role in cutaneous carcinoma and cancer immunotherapy. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:624123.
112. Bottomley MJ, Thomson J, Harwood C, Leigh I. The role of the immune system in cutaneous squamous cell carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2019;20(8):2009.
113. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Immunology of tumors and transplantation: immune responses to cancer cells and normal foreign cells. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, editors. *Basic immunology: functions and disorders of the immune system*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2019. p. 196.
114. Karagiannis P, Gilbert AE, Josephs DH, Ali N, Dodev T, Saul L, et al. IgG4 subclass antibodies impair antitumor immunity in melanoma. *J Clin Invest*. 2013;123(4):1457-74.
115. Strobel SB, Safferling K, Lahrmann B, Hoffmann JH, Enk AH, Hadaschik EN, et al. Altered density, composition and microanatomical distribution of infiltrating immune cells in cutaneous squamous cell carcinoma of organ transplant recipients. *Br J Dermatol*. 2018;179(2):405-12.
116. Thomas L. Discussion. In: Lawrence HS, editor. *Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States*. New York: Hoeber-Harper; 1959. p. 529-32.
117. Burnet FM. The concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res*. 1970;13:1-27.
118. Dighe AS, Richards E, Old LJ, Schreiber RD. Enhanced in vivo growth and resistance to rejection of tumor cells expressing dominant negative IFN- $\gamma$  receptors. *Immunity*. 1994;1:447-56.
119. Kaplan DH, Shankaran V, Dighe AS, Stockert E, Aguet M, Old LJ, et al. Demonstration of an interferon  $\gamma$ -dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice. *Proc Natl Acad Sci*. 1998;95(13):7556-6.
120. Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, White JM, Swanson PE, Old LJ, et al. IFN $\gamma$  and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature*. 2001;410(6832):1107-11.
121. Penn I. Post-transplant malignancy: the role of immunosuppression. *Drug Saf*. 2000b;23(2):101-13.
122. Hollenbeak CS, Todd MM, Billingsley EM, Harper G, Dyer AM, Lengerich EJ. Increased incidence of melanoma in renal transplantation recipients. *Cancer*. 2005;104(9):1962-7.

123. Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(10):715-27.
124. Clark WH, Elder DE, Guerry D4, Braitman LE, Trock BJ, Schultz D, et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst*. 1989;81(24):1893-904.
125. Clemente CG, Mihm MJ, Bufalino R, Zurrida S, Collini P, Cascinelli N. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer*. 1996;77(7):1303-10.
126. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*. 2002;3(11):991-8.
127. Gutierrez-Dalmau A, Campistol JM. Immunosuppressive therapy and malignancy in organ transplant recipients: a systematic review. *Drugs*. 2007;67(8):1167-98.
128. Onuchic AC, Chammas R. Câncer e o microambiente tumoral. *Rev Med (São Paulo)*. 2010;89(1):21-31.
129. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:329-60.
130. Torrezini T, Athanazio AD. Imunovigilância e imunoedição de neoplasias: implicações clínicas e potencial terapêutico. *Rev Bras Cancerol*. 2008;54(1):63-77.
131. Silva EV, Nascente EP, Pacheco M, Carlos M, Alves EF, De Moura VM. Elucidating tumor immunosurveillance and immunoediting: a comprehensive review. *Ciênc Anim Bras*. 2021;22:e-68544.
132. Dunn GP, Koebel CM, Schreiber RD. Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(11):836-48.
133. Plasmeijer EI, Sachse MM, Gebhardt C, Geusau A, Bouwes-Bavinck JN. Cutaneous squamous cell carcinoma (cSCC) and immunosurveillance - the impact of immunosuppression on frequency of cSCC. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(Suppl 8):33-7.
134. Vesely MD, Schreiber RD. Cancer immunoediting: antigens, mechanisms, and implications to cancer immunotherapy. *Ann N Y Acad Sci*. 2013;1284(1):1-5.
135. Maher J, Davies ET. Targeting cytotoxic T lymphocytes for cancer immunotherapy. *Br J Cancer*. 2004;91(5):817-21.
136. Barth Júnior RJ, Mulé JJ, Spiess PJ, Rosenberg SA. Interferon gamma and tumor necrosis factor have a role in tumor regressions mediated by murine CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes. *J Exp Med*. 1991;173(3):647-58.
137. Qin Z, Schwartzkopff J, Pradera F, Kammertoens T, Seliger B, Pircher H, et al. A critical requirement of interferon gamma-mediated angiostasis for tumor rejection by CD8+ T cells. *Cancer Res*. 2003;63(14): p. 4095-100.
138. Hunter KW, Amin R, Deasy S, Ha NH, Wakefield L. Genetic insights into the morass of metastatic heterogeneity. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(4):211-23.

139. Pinho MP. *Análise do repertório de linfócitos T em pacientes com câncer: desvendando a resposta imune antitumoral em humanos*. [tese online]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas; 2019.
140. Church SE, Jensen SM, Antony PA, Restifo NP, Fox BA. Tumor-specific CD4+ T cells maintain effector and memory tumor-specific CD8+ T cells. *Eur J Immunol*. 2014;44(1):69-79.
141. Gerloni M, Zanetti M. CD4 T cells in tumor immunity. *Springer Semin Immunopathol*. 2005;27(1):37-48.
142. Steinman RM. The control of immunity and tolerance by dendritic cell. *Pathol Biol (Paris)*. 2003;51(2):59-60.
143. Zielinski CE, Corti D, Mele F, Pinto D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Dissecting the human immunologic memory for pathogens. *Immunol Rev*. 2011;240(1):40-51.
144. Pinho MP, Patente TA, Flatow EA, Sallusto F, Barbuto JA. Frequency determination of breast tumor-reactive CD4 and CD8 T cells in humans: unveiling the antitumor immune response. *Oncoimmunology*. 2019;8(8):1607674.b.
145. Liudahl SM, Coussens LM. To help or to harm: dynamic roles of CD4+ T Helper Cells in solid tumor microenvironments. In: Hayat MA, editor. *Immunology v. 1*. Cambridge: Academic Press; 2018. p. 97-116.
146. Rook AH, Jaworsky C, Nguyen T, Grossman RA, Wolfe JT, Witmer WK, et al. Beneficial effect of low dose systemic retinoid in combination with topical tretinoin for the treatment and prophylaxis of premalignant and malignant skin lesions in renal transplant recipients. *Transplantation*. 1995;59(5):714-9.
147. Morris PJ. Transplantation: a medical miracle of the 20th century. *N Engl J Med*. 2004;351(26):2678-80.
148. Mittal A, Colegio OR. Skin cancers in organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2017;17(10):2509-30.
149. Hiesse C, Rieu P, Kriaa F, Larue JR, Goupy C, Neyrat N, et al. Malignancy after renal transplantation: analysis of incidence and risk factors in 1700 patients followed during a 25-year period. *Transplant Proc*. 1997;29(1-2):831-3.
150. Cheung CY, Tang SC. An update on cancer after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34(6):914-20.
151. Cheng JY, Li FY, Ko CJ, Colegio OR. Cutaneous squamous cell carcinomas in solid organ transplant recipients compared with immunocompetent patients. *JAMA Dermatol*. 2018;154(1):60-6.
152. Bergfelt AL. Langerhans cells, immunomodulation and skin lesions. A quantitative, morphological and clinical study. *Acta Dermatol Venereol Suppl (Stockh)*. 1993;180:1-37.
153. Sontheimer RD, Bergstresser PR, Gailunas PJ, Helderman JH, Gilliam JN. Perturbation of epidermal Langerhans cells in immunosuppressed human renal allograft recipients. *Transplantation*. 1984;37(2):168-74.

154. Gibson GE, O'Grady A, Kay EW, Leader M, Murphy GM. Langerhans cells in benign, premalignant and malignant skin lesions of renal transplant recipients and the effect of retinoid therapy. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 1998;10(2):130-6.
155. Schwarz A, Noordegraaf M, Maeda A, Torii K, Clausen BE, Schwarz T. Langerhans cells are required for UVR-induced immunosuppression. *J Invest Dermatol.* 2010;130(5):1419-27.
156. Thiers BH, Maize JC, Spicer SS, Cantor AB. The effect of aging and chronic sun exposure on human Langerhans' cell population. *J Invest Dermatol.* 1984;82(3):223-6.
157. Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolf K, Freedberg IM, Austen KF. *Dermatology in general medicine v.1.* 4th ed. New York: McGraw-Hill; 1993.
158. Grabbe S, Granstein RD. Mechanisms of ultraviolet radiation carcinogenesis. *Chem Immunol.* 1994;58:291-313.
159. Penn I. Tumors after renal and cardiac transplantation. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1993b;7(2):431-45.
160. Penn I. Malignancies that occur in organ allograft recipients. *Curr Opin Organ Transplant.* 1998;3:73-7.
161. Taylor AE, Shuster S. Skin cancer after renal transplantation: the causal role of azathioprine. *Acta Derm Venereol.* 1992;72(2):115-9.
162. Ramsay HM, Fryer AA, Reece S, Smith AG, Harden PN. Clinical risk factors associated with nonmelanoma skin cancer in renal transplant recipients. *Am J Kidney Dis.* 2000;36(1):167-76.
163. Stasko T, Brown MD, Carucci JA, Euvrard S, Johnson TM, Sengelmann RD, et al. Guidelines for the management of squamous cell carcinoma in organ transplant recipients. *Dermatol Surg.* 2004;30(4 Pt 2):642-50.
164. Kovach BT, Stasko T. Skin cancer after transplantation. *Transplant Rev (Orlando).* 2009;23(3):178-89.
165. Roeger LS, Sheil AG, Disney AP, Mathew TH, Amiss N. Risk factors associated with the development of squamous cell carcinomas in immunosuppressed renal transplant recipients. *Clin Transplant.* 1992;6:202-11.
166. Penn I. The effect of immunosuppression on pre-existing cancers. *Transplantation.* 1993a;55(4):742-7.
167. Dyll-Smith D, Ross JB. Cutaneous malignancies in renal transplant recipients from Nova Scotia, Canada. *Australas J Dermatol.* 1995;36(2):79-82.
168. Danpanich E, Kasiske BL. Risk factors for cancer in renal transplant recipients. *Transplantation.* 1999;68(12):1859-64.
169. Dantal J, Hourmant M, Cantarovich D, Giral M, Blancho G, Dreno B, et al. Effect of long-term immunosuppression in kidney-graft recipients on cancer incidence: randomised comparison of two cyclosporin regimens. *Lancet.* 1998;351(9103):623-8.
170. Euvrard S, Kanitakis J, Pouteil-Nobl C, Dureau G, Touraine JL, Faure M, et al. Comparative epidemiologic study of premalignant and malignant

- epithelial cutaneous lesions developing after kidney and heart transplantation. *J Am Acad Dermatol.* 1995b;33(2 Pt 1):222-9.
171. Fortina AB, Piaserico S, Caforio AL, Abeni D, Alaibac M, Angelini A, et al. Immunosuppressive Level and Other Risk Factors for Basal Cell Carcinoma and Squamous Cell Carcinoma in Heart Transplant Recipients. *Arch Dermatol.* 2004;140(9):1079-85.
  172. Ducloux D, Carron PL, Rebibou JM, Aubin F, Fournier V, Bresson-Vautrin C, et al. CD4 lymphocytopenia as a risk factor for skin cancers in renal transplant recipients. *Transplantation.* 1998;65(9):1270-2.
  173. Shamanin V, Zur Hausen H, Lavergne D, Proby CM, Leigh IM, Neumann C, et al. Human papillomavirus infections in nonmelanoma skin cancers from renal transplant recipients and nonimmunosuppressed patients. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88(12):802-11.
  174. Leigh IM, Buchanan JA, Harwood CA, Cerio R, Storey A. Role of human papillomaviruses in cutaneous and oral manifestations of immunosuppression. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1999;21(Suppl 1):S49-57.
  175. Madeleine MM, Patel NS, Plasmeijer EI, Engels EA, Bouwes-Bavinck JN, Toland AE, et al. Epidemiology of keratinocyte carcinomas after organ transplantation. *Br J Dermatol.* 2017;177(5):1208-16.
  176. Harwood CA, Mesher D, McGregor JM, Mitchell L, Leedham-Green M, Raftery M, et al. A surveillance model for skin cancer in organ transplant recipients: a 22-year prospective study in an ethnically diverse population. *Am J Transplant.* 2013;13(1):119-29.
  177. Harwood CA, McGregor J, Proby CM. Skin cancer in the immunocompromised patient. In: Griffiths C, Barker J, Bleiker T, Chalmers R, Creamer D, editors. *Rook's Textbook of Dermatology v. 12.* Hoboken: Wiley; 2016.
  178. Ferrándiz C, Fuente MJ, Ribera M, Bielsa I, Fernández MT, Lauzurica R, et al. Epidermal dysplasia and neoplasia in kidney transplant recipients. *J Am Acad Dermatol.* 1995;33(4):590-6.
  179. Ananthaswamy HN, Pierceall WE. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation carcinogenesis. *Photochem Photobiol.* 1990;52(6):1119-36.
  180. Carr TD, DiGiovanni J, Lynch CJ, Shantz LM. Inhibition of mTOR suppresses UVB-induced keratinocyte proliferation and survival. *Cancer Prev Res (Phila).* 2012;5(12):1394-404.
  181. Rivas JM, Ullrich SE. Systemic suppression of delayed-type hypersensitivity by supernatants from UV-irradiated keratinocytes. An essential role for keratinocyte-derived IL-10. *J Immunol.* 1992;149(12):3865-71.
  182. Kripke ML. Ultraviolet radiation and immunology: something new under the sun--presidential address. *Cancer Res.* 1994;54(23):6102-5.
  183. Odom R. Managing actinic keratoses with retinoids. *J Am Acad Dermatol.* 1998;39(2 Pt 3):S74-8.

184. Liddington M, Richardson AJ, Higgins RM, Endre ZH, Venning VA, Murie JA, et al. Skin cancer in renal transplant recipients. *Br J Surg.* 1989;76(10):1002-5.
185. Bouwes-Bavinck JN, De Boer A, Vermeer BJ, Hartevelt MM, van der Woude FJ, Claas FH, et al. Sunlight, keratotic skin lesions and skin cancer in renal transplant recipients. *Br J Dermatol.* 1993;129(3):242-9.
186. Rice JM. Immunosuppression. In: Baan RA, Stewart BW, Straif K, editors. *Tumour site concordance and mechanisms of carcinogenesis.* Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2019.
187. Kinlen LJ. Immunologic factors, including AIDS. In: Schottenfeld D, Fraumeni JFJ, editors. *Cancer epidemiology and prevention.* Oxford: Oxford University Press; 1996. p. 532-45.
188. Yu SH, Bordeaux JS, Baron ED. The immune system and skin cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2014;810:182-91.
189. Vajdic CM, McDonald SP, McCredie MR, Van Leeuwen MT, Stewart JH, Law M, et al. Cancer incidence before and after kidney transplantation. *J Am Med Assoc.* 2006;296(23):2823-31.
190. Agnew KL, Ruchlemer R, Catovsky D, Matutes E, Bunker CB. Cutaneous findings in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Dermatol.* 2004;150(6):1129-35.
191. Jensen AO, Olesen AB, Dethlefsen C, Sørensen HT, Karagas MR. Chronic diseases requiring hospitalization and risk of non-melanoma skin cancers – a population based study from Denmark. *J Invest Dermatol.* 2008;128(4):926-31.
192. Silverberg MJ, Leyden W, Warton EM, Quesenberry Junior CP, Engels EA, Asgari MM. HIV infection status, immunodeficiency, and the incidence of non-melanoma skin cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(3):350-60.
193. Jung JW, Overgaard NH, Burke MT, Isbel N, Frazer IH, Simpson F, et al. Does the nature of residual immune function explain the differential risk of non-melanoma skin cancer development in immunosuppressed organ transplant recipients?. *Int J Cancer.* 2016;138(2):281-92.
194. Grulich AE, Van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet.* 2007;370(9581):59-67.
195. Otley CC, Coldiron BM, Stasko T, Goldman GD. Decreased skin cancer after cessation of therapy with transplant-associated immunosuppressants. *Arch Dermatol.* 2001;137(4):459-63.
196. Geissler EK. The influence of mTOR inhibitors on immunity and the relationship to post-transplant malignancy. *Transplant Res.* 2013;2(Suppl 1):S2.
197. Herman M, Weinstein T, Korzets A, Chagnac A, Ori Y, Zevin D, et al. Effect of cyclosporin A on DNA repair and cancer incidence in kidney transplant recipients. *J Lab Clin Med.* 2001;137(1):14-20.
198. Hojo M, Morimoto T, Maluccio M, Asano T, Morimoto K, Lagman M, et al. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. *Nature.* 1999;397(6719):530-4.



199. Mathew T, Kreis H, Friend P. Two-year incidence of malignancy in sirolimus-treated renal transplant recipients: results from five multicenter studies. *Clin Transplant*. 2004;18(4):446-9.
200. Rabinovics N, Mizrahi A, Hadar T, Ad-El D, Feinmesser R, Guttman D, et al. Cancer of the head and neck region in solid organ transplant recipients. *Head Neck*. 2014;36(2):181-6.
201. Karran P, Attard N. Thiopurines in current medical practice: molecular mechanisms and contributions to therapy-related cancer. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(1):24-36.
202. Burchenal JH, Murphy ML, Ellison RR, Sykes MP, Tan TC, Leone LA, et al. Clinical evaluation of a new metabolite, 6-mercaptopurine, in the treatment of leukaemia and allied diseases. *Blood*. 1953;8(11):965-99.
203. Murray J, Merrill JP, Harrison JH, Wilson RE, Dammin GJ. Prolonged survival of human-kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. *N Engl J Med*. 1963;268(24):1315-23.
204. Wisgerhof HC, Edelbroek JR, de Fijter JW, Haasnoot GW, Claas FH, Willemze R, et al. Subsequent squamous- and basal-cell carcinomas in kidney-transplant recipients after the first skin cancer: cumulative incidence and risk factors. *Transplantation*. 2010;89(10):1231-8.
205. Kelley WN, Rosenbloom FM, Seegmiller JE. The effects of azathioprine (imuran) on purine synthesis in clinical disorders of purine metabolism. *J Clin Invest*. 1967;46(9):1518-29.
206. Allison AC, Hovi T, Watts RW, Webster AD. The role of de novo purine synthesis in lymphocyte transformation. *Ciba Found Symp*. 1977;(48):207-24.
207. Morris PJ, editor. *Kidney transplantation: principles and practice*. Philadelphia: WB Saunders; 2001.
208. Tiede I, Fritz G, Strand S, Poppe D, Dvorsky R, Strand D, et al. CD28-dependent Rac1 activation is the molecular target of azathioprine in primary human CD4+ T lymphocytes. *J Clin Invest*. 2003;111(8):1133-45.
209. Thomas CW, Myhre GM, Tschumper R, Sreekumar R, Jelinek D, McKean DJ, et al. Selective inhibition of inflammatory gene expression in activated T lymphocytes: a mechanism of immune suppression by thiopurines. *J Pharmacol Exp Therap*. 2005;312(2):537-45.
210. Patel AA, Swerlick RA, McCall CO. Azathioprine in dermatology: the past, the present, and the future. *J Am Acad Dermatol*. 2006;55(3):369-89.
211. Servitje O, Serón D, Ferrer I, Carrera M, Pagerols X, Peyri J. Quantitative and morphometric analysis of Langerhans cells in non-exposed skin in renal transplant patients. *J Cutan Pathol*. 1991;18(2):106-11.
212. Hofbauer GF, Attard NR, Harwood CA, McGregor JM, Dziunycz P, Iotzova-Weiss G, et al. Reversal of UVA skin photosensitivity and DNA damage in kidney transplant recipients by replacing azathioprine. *Am J Transplant*. 2012;12(1):218-25.
213. De Graaf YG, Rebel H, Elghalbzouri A, Cramers P, Nellen RG, Willemze R, et al. More epidermal p53 patches adjacent to skin carcinomas in renal

- transplant recipients than in immunocompetent patients: the role of azathioprine. *Exp Dermatol*. 2008;17(4):349-55.
214. Alsberg CL, Black F. Contribution to the study of maize deterioration: biochemical and toxicological investigations of *Penicillium puberulum* and *Penicillium stoloniferum*. *Bur Plant Ind Bull*. 1913;270:1-47.
215. Abraham EP. The effect of mycophenolic acid on the growth of *Staphylococcus aureus* in heart broth. *Biochem J*. 1945;39(5):398-404.
216. Florey HW, Jennings MA, Gilliver K, Sanders AG. Mycophenolic acid; an antibiotic from *Penicillium brevicompactum* Dierckx. *Lancet*. 1946;1(6385):46-9.
217. Cline JC, Nelson JD, Gerzon K, Williams RH, DeLong DC. In vitro antiviral activity of mycophenolic acid and its reversal by guanine-type compounds. *Appl Microbiol*. 1969;18(1):14-20.
218. Mitsui A, Suzuki S. Immunosuppressive effect of mycophenolic acid. *J Antibiot (Tokyo)*. 1969;22(8):358-63.
219. Nelson PH, Eugui E, Wang CC, Allison AC. Synthesis and immunosuppressive activity of some side-chain variants of mycophenolic acid. *J Med Chem*. 1990;33(2):833-8.
220. Lee WA, Gu L, Miksztal AR, Chu N, Leung K, Nelson PH. Bioavailability improvement of mycophenolic acid through amino ester derivatization. *Pharm Res*. 1990;7(2):161-6.
221. Mydlarski PR. Mycophenolate mofetil: a dermatologic perspective. *Skin Therapy Lett*. 2005;10(3):1-6.
222. Knight SR, Russell NK, Barcena L, Morris PJ. Mycophenolate mofetil decreases acute rejection and may improve graft survival in renal transplant recipients when compared with azathioprine: a systematic review. *Transplantation*. 2009;87(6):785-94.
223. Silva Filho AP, Manfro RC, Contieri FL, Mazzali M, Garcia VD, Carvalho DB, et al. Evaluation of tolerability of enteric-coated mycophenolate sodium versus mycophenolate mofetil in de novo renal transplantation. *J Bras Nefrol*. 2015;37(3):291-6.
224. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2007;46(1):13-58.
225. De Winter BC, Van Gelder T, Glander P, Cattaneo D, Tedesco-Silva H, Neumann I, et al. Population pharmacokinetics of mycophenolic acid: a comparison between enteric-coated mycophenolate sodium and mycophenolate mofetil in renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2008;47(12):827-38.
226. Tett SE, Saint-Marcoux F, Staatz CE, Brunet M, Vinks AA, Miura M, et al. Mycophenolate, clinical pharmacokinetics, formulations and methods for assessing drug exposure. *Transplant Ver (Orlando)*. 2011;25(2):47-57.
227. Sintchak MD, Fleming MA, Futer O, Raybuck SA, Chambers SP, Caron PR, et al. Structure and mechanism of inosine monophosphate dehydrogenase in complex with the immunosuppressant mycophenolic acid. *Cell*. 1996;85(6):921-30.

228. Krensky A, Vincenti F, Bennett W. Immunosuppressants, tolerogens, and immunostimulants. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editors. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw-Hill; 2006. p. 1414-5.
229. Strathie Page SJ, Tait CP. Mycophenolic acid in dermatology a century after its discovery. *Australas J Dermatol*. 2015;56(1):77-83.
230. Orvis AK, Wesson SK, Breza Junior TS, Church AA, Mitchell CL, Watkins SW. Mycophenolate mofetil in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60(2):183-99;quiz 200-2.
231. Natsumeda Y, Carr SF. Human type I and II IMP dehydrogenases as drug targets. *Ann N Y Acad Sci*. 1993;696:88-93.
232. Carr SF, Papp E, Wu JC, Natsumeda Y. Characterization of human type I and type II IMP dehydrogenases. *J Biol Chem*. 1993;268(36):27286-90.
233. Allison AC, Eugui EM. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF). *Clin Transplant*. 1996;10(1 Pt 2):77-84.
234. Allison AC. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil. *Lupus*. 2005;14(Suppl 1):s2-8.
235. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology*. 2000;47(2-3):85-118.
236. Liu V, Mackool BT. Mycophenolate in dermatology. *J Dermatolog Treat*. 2003;14(4):203-11.
237. Robson R, Cecka JM, Opelz G, Budde M, Sacks S. Prospective registry-based observational cohort study of the long-term risk of malignancies in renal transplant patients treated with mycophenolate mofetil. *Am J Transplant*. 2005;5(12):2954-60.
238. O'Neill JO, Edwards LB, Taylor DO. Mycophenolate mofetil and risk of developing malignancy after orthotopic heart transplantation: analysis of the transplant registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2006;25(10):1186-91.
239. Koehl GE, Wagner F, Stoeltzing O, Lang SA, Steinbauer M, Schlitt HJ, et al. Mycophenolate mofetil inhibits tumor growth and angiogenesis in vitro but has variable antitumor effects in vivo, possibly related to bioavailability. *Transplantation*. 2007;83(5):607-14.
240. Chi H. Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(5):325-38.
241. Vezina C, Kudelski A, Sehgal SN. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J Antibiot (Tokyo)*. 1975;28(10):721-6.
242. McAlpine JB, Swanson SJ, Jackson M, Whittern DN. Revised NMR assignments for rapamycin. *J Antibiot (Tokyo)*. 1991;44(6):688-90.
243. Sehgal SN. Sirolimus: its discovery, biological properties, and mechanism of action. *Transplant Proc*. 2003;35(3 Suppl):7S-14S.
244. Drakos E, Rassidakis GZ, Medeiros LJ. Mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway signalling in lymphomas. *Expert Rev Mol Med*. 2008;10:e4.

245. Harris TE, Lawrence Junior JC. TOR signaling. *Sci STKE*. 2003;2003(212):re15.
246. Bjornsti MA, Houghton PJ. The TOR pathway: a target for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(5):335-48.
247. Tee AR, Blenis J. mTOR, translational control and human disease. *Semin Cell Dev Biol*. 2005;16(1):29-37.
248. Heitman J, Movva NR, Hall MN. Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science*. 1991;253(5022):905-9.
249. Kunz J, Henriquez R, Schneider U, Deuter-Reinhard M, Movva NR, Hall MN. Target of rapamycin in yeast, TOR2, is an essential phosphatidylinositol kinase homolog required for G1 progression. *Cell*. 1993;73(3):585-96.
250. Helliwell SB, Wagner P, Kunz J, Deuter-Reinhard M, Henriquez R, Hall MN. TOR1 and TOR2 are structurally and functionally similar but not identical phosphatidylinositol kinase homologues in yeast. *Mol Biol Cell*. 1994;5(1):105-18.
251. Chen Y, Chen H, Rhoad AE, Warner L, Caggiano TJ, Failli A, et al. A putative sirolimus (rapamycin) effector protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;203(1):1-7.
252. Johnson EM, Zimmerman J, Duderstadt K, Chambers J, Sorenson AL, Granger DK, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of the safety, tolerance, and preliminary pharmacokinetics of ascending single doses of orally administered sirolimus (rapamycin) in stable renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 1996;28(2):987.
253. Groth CG, Bäckman L, Morales JM, Calne R, Kreis H, Lang P, 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*. 1999;67(7):1036-42.
254. Kahan BD, Julian BA, Pescovitz MD, Vanrenterghem Y, Neylan J. Sirolimus reduces the incidence of acute rejection episodes despite lower cyclosporine doses in caucasian recipients of mismatched primary renal allografts: a phase II trial. Rapamune Study Group. *Transplantation*. 1999a;68(10):1526-32.
255. Saunders RN, Metcalfe MS, Nicholson ML. Rapamycin in transplantation: a review of the evidence. *Kidney Int*. 2001;59(1):3-16.
256. Huang S, Houghton PJ. Inhibitors of mammalian target of rapamycin as novel antitumor agents: from bench to clinic. *Curr Opin Investig Drugs*. 2002;3(2):295-304.
257. Schuler W, Sedrani R, Cottens S, Häberlin B, Schulz M, Schuurman HJ, et al. SDZ RAD, a new rapamycin derivative: pharmacological properties in vitro and in vivo. *Transplantation*. 1997;64(1):36-42.
258. Schuurman HJ, Cottens S, Fuchs S, Joergensen J, Meerloo T, Sedrani R, et al. SDZ RAD, a new rapamycin derivative: synergism with cyclosporine. *Transplantation*. 1997;64(1):32-5.

259. Bohler T, Waiser J, Budde K, Lichter S, Jauho A, Fritsche L, et al. The in vivo effect of rapamycin derivative SDZ RAD on lymphocyte proliferation. *Transplant Proc.* 1998;30(5):2195-7.
260. Neumayer HH, Paradis K, Korn A, Jean C, Fritsche L, Budde K, et al. Entry-into-human study with the novel immunosuppressant SDZ RAD in stable renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol.* 1999;48(5):694-703.
261. Kahan BD, Wong RL, Carter C, Katz SH, Von Fellenberg J, Van Buren CT, et al. A phase I study of a 4-week course of SDZ-RAD (RAD) quiescent cyclosporine-prednisone-treated renal transplant recipients. *Transplantation.* 1999b;68(8):1100-6.
262. Nunes Ficher K, Dreige Y, Gessolo Lins PR, Nicolau Ferreira A, Toniato de Rezende Freschi J, Linhares K, et al. Long-term Efficacy and Safety of Everolimus Versus Mycophenolate in Kidney Transplant Recipients Receiving Tacrolimus. *Transplantation.* 2022;106(2):381-90.
263. Hahn D, Hodson EM, Hamiwka LA, Lee VW, Chapman JR, Craig JC, et al. Target of rapamycin inhibitors (TOR-I; sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression in kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;12(12):CD004290.
264. Vincenti F. A decade of progress in kidney transplantation. *Transplantation.* 2004;77(9):52-61.
265. Salvadori M, Bertoni E. Is it time to give up with calcineurin inhibitors in kidney transplantation?. *World J Transplant.* 2013;3(2):7-25.
266. Heilman RL, Cortese C, Geiger XJ, Younan K, Wadei HM, Mai ML, et al. Impact of early conversion from tacrolimus to sirolimus on chronic allograft changes in kidney recipients on rapid steroid withdrawal. *Transplantation.* 2012;93(1):47-53.
267. Kandula P, Fridell J, Taber TE, Sharfuddin A, Yaqub MS, Phillips CL, et al. Impact of tacrolimus-sirolimus maintenance immunosuppression on proteinuria and kidney function in pancreas transplant alone recipients. *Transplantation.* 2012;94(9):940-6.
268. Sofroniadou S, Goldsmith D. Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors: potential uses and a review of haematological adverse effects. *Drug Saf.* 2011;34(2):97-115.
269. Kahan BD. Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. The Rapamune US Study Group. *Lancet.* 2000;356(9225):194-202.
270. MacDonald AS. A worldwide, phase III, randomized, controlled, safety and efficacy study of a sirolimus/cyclosporine regimen for prevention of acute rejection in recipients of primary mismatched renal allografts. *Transplantation.* 2001;71(2):271-80.
271. Guba M, Von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med.* 2002;8(2):128-35.
272. Flechner SM. mTOR Inhibition and clinical transplantation: kidney. *Transplantation.* 2018;102(2S Suppl 1):S17-S18.

273. Dantal J, Morelon E, Rostaing L, Goffin E, Brocard A, Tromme I, et al. Sirolimus for secondary prevention of skin cancer in kidney transplant recipients: 5-year results. *J Clin Oncol*. 2018;36(25):2612-20.
274. Liko D, Hall MN. mTOR in health and in sickness. *J Mol Med (Berl)*. 2015;93(10):1061-73.
275. Tedesco Silva Junior H. The long journey of mTOR Inhibitors and the long path that is still ahead. *Transplantation*. 2018;102(2S Suppl 1):S1-S2.
276. Cortot A, Armand JP, Soria JC. PI3K-AKT-mTOR pathway inhibitors. *Bull Cancer*. 2006;93(1):19-26.
277. Silva BV, Horta BA, Alencastro RB, Pinto AC. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. *Quím Nova*. 2009;32(2):453-62.
278. Hennessy BT, Smith DL, Ram PT, Lu Y, Mills GB. Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4(12):988-1004.
279. Guertin DA, Sabatini DM. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell*. 2007;12(1):9-22.
280. Figueiredo VC, Caldow MK, Massie V, Markworth JF, Cameron-Smith D, Blazevich AJ. Ribosome biogenesis adaptation in resistance training-induced human skeletal muscle hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;309(1):E72-83.
281. Fingar DC, Blenis J. Target of rapamycin (TOR): an integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression. *Oncogene*. 2004;23(18):3151-71.
282. Sehgal SN. Rapamune (RAPA, rapamycin, sirolimus): mechanism of action immunosuppressive effect results from blockade of signal transduction and inhibition of cell cycle progression. *Clin Biochem*. 1998;31(5):335-40.
283. Fogel AL, Hill S, Teng JM. Advances in the therapeutic use of mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72(5):879-89.
284. Paghdal KV, Schwartz RA. Sirolimus (rapamycin): from the soil of Easter Island to a bright future. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57(6):1046-50.
285. Allison AC. Immunosuppressive drugs: the first 50 years and a glance forward. *Immunopharmacology*. 2000;47(2-3):63-83.
286. Geissler EK, Schlitt HJ, Thomas G. mTOR, cancer and transplantation. *Am J Transplant*. 2008;8(11):2212-8.
287. Guertin DA, Sabatini DM. The pharmacology of mTOR inhibition. *Sci Signal*. 2009;2(67):pe24.
288. Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today*. 1992;13(4):136-142.
289. Bracho-Valdés I, Moreno-Alvarez P, Valencia-Martínez I, Robles-Molina E, Chávez-Vargas L, Vázquez-Prado J. mTORC1- and mTORC2-interacting proteins keep their multifunctional partners focused. *IUBMB Life*. 2011;63(10):896-914.

290. Petroulakis E, Mamane Y, Le Bacquer O, Shahbazian D, Sonenberg N. mTOR signaling: implications for cancer and anticancer therapy. *Br J Cancer*. 2006;94(2):195-9.
291. Deane JA, Fruman DA. Phosphoinositide 3-kinase: diverse roles in immune cell activation. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:563-98.
292. Katso R, Okkenhaug K, Ahmadi K, White S, Timms J, Waterfield MD. Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis, and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001;17:615-75.
293. Pathak SK, Basu S, Basu KK, Banerjee A, Pathak S, Bhattacharyya A, et al. Direct extracellular interaction between the early secreted antigen ESAT-6 of *Mycobacterium tuberculosis* and TLR2 inhibits TLR signaling in macrophages. *Nat Immunol*. 2007;8(6):610-8.
294. Gomez-Pinillos A, Ferrari AC. mTOR signaling pathway and mTOR inhibitors in cancer therapy. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2012;26(3):483-505, vii.
295. Hofbauer GF, Anliker M, Arnold A, Binet I, Hunger R, Kempf W, et al. Swiss clinical practice guidelines for skin cancer in organ transplant recipients. *Swiss Med Wkly*. 2009;139(29-30):407-15.
296. Wu X, Nguyen BC, Dziunycz P, Chang S, Brooks Y, Lefort K, et al. Opposing roles for calcineurin and ATF3 in squamous skin cancer. *Nature*. 2010;465(7296):368-72.
297. Duncan FJ, Wulff BC, Tober KL, Ferketich AK, Martin J, Thomas-Ahner JM, et al. Clinically relevant immunosuppressants influence UVB-induced tumor size through effects on inflammation and angiogenesis. *Am J Transplant*. 2007;7(12):2693-703.
298. Rival-Tringali AL, Euvrard S, Decullier E, Claudy A, Faure M, Kanitakis J. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus reduces vascularization and thickness of post-transplant cutaneous squamous cell carcinomas. *Anticancer Res*. 2009;29(6):1927-32.
299. Spangle JM, Munger K. The human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein activates mTORC1 signaling and increases protein synthesis. *J Virol*. 2010;84(18):9398-407.
300. Araki K, Youngblood B, Ahmed R. The role of mTOR in memory CD8+ T-cell differentiation. *Immunol Rev*. 2010;235(1):234-43.
301. Rao RR, Li Q, Odunsi K, Shrikant PA. The mTOR kinase determines effector versus memory CD8+ T cell fate by regulating the expression of transcription factors T-bet and Eomesodermin. *Immunity*. 2010;32(1):67-78.
302. Li Q, Rao R, Vazzana J, Goedegebuure P, Odunsi K, Gillanders W, et al. Regulating mammalian target of rapamycin to tune vaccination-induced CD8+ T cell responses for tumor immunity. *J Immunol*. 2012;188(7):3080-7.
303. Rovira J, Sabet-Baktach M, Eggenhofer E, Lantow M, Koehl GE, Schlitt HJ, et al. A color-coded reporter model to study the effect of

- immunosuppressants on CD8+ T-cell memory in antitumor and alloimmune responses. *Transplantation*. 2013;95(1):54-62.
304. Delgoffe GM, Pollizzi KN, Waickman AT, Heikamp E, Meyers DJ, Horton MR, et al. The kinase mTOR regulates the differentiation of helper T cells through the selective activation of signaling by mTORC1 and mTORC2. *Nat Immunol*. 2011;12(4):295-303.
305. Strauss L, Czystowska M, Szajnik M, Mandapathil M, Whiteside TL. Differential responses of human regulatory T cells (Treg) and effector T cells to rapamycin. *PLoS One*. 2009;4(6):e5994.
306. Sathaliyawala T, O’Gorman WE, Greter M, Bogunovic M, Konjufca V, Hou ZE, et al. Mammalian target of rapamycin controls dendritic cell development downstream of Flt3 ligand signaling. *Immunity*. 2010;33(4):597-606.
307. Wood KJ, Bushell A, Hester J. Regulatory immune cells in transplantation. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(6):417-30.
308. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol*. 1988;124(6):869-71.
309. Velazquez EF, Murphy GF. Histologia da pele. In: Elder DE, Elenitsas R, Murphy GF, Johnson BL, Xu X, editors. *Lever, histopatologia da pele*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011. p. 7-64.
310. Bieber T, Ring J, Braun-Falco O. Comparison of different methods for enumeration of Langerhans cells in vertical cryosections of human skin. *Br J Dermatol*. 1988;118(3):385-92.
311. Ding X, Bloch W, Iden S, Rüegg MA, Hall MN, Leptin M, Partridge L, Eming SA. mTORC1 and mTORC2 regulate skin morphogenesis and epidermal barrier formation. *Nat Commun*. 2016;7:13226.
312. Zhang A, Duchatelet S, Lakdawala N, Tower RL, Diamond C, Marathe K, Hill I, Richard G, Diab Y, Kirkorian AY, Flora Watanabe F, Siegel DH, Hovnanian A. Targeted Inhibition of the Epidermal Growth Factor Receptor and Mammalian Target of Rapamycin Signaling Pathways in Olmsted Syndrome. *JAMA Dermatol*. 2020;156(2):196-200.
313. Baba H, Yoshida M, Yokota T, Uchiwa H, Watanabe S. Human epidermal basal cell responses to ultraviolet-B differ according to their location in the undulating epidermis. *J Dermatol Sci*. 2005;38(1):41-6.
314. Bezerra SMFMC, Sotto MN, Orii NM, Alves C, Duarte AJS. Effects of long-term chronic exposure to sun radiation in immunological system of commercial fishermen in Recife, Brazil. *An Bras Dermatol*. 2011;86(2):222-33.
315. Houghton AN, Gold JS, Blachere NE. Immunity against cancer: lessons learned from melanoma. *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 134-40.
316. Chung CL, Lawrence I, Hoffman M, Elgindi D, Nadhan K, Potnis M, Jin A, Catlin Sershon 1, Rhonda Binnebose 3, Antonello Lorenzini 4, Christian Sell. Topical rapamycin reduces markers of senescence and aging in human skin: an exploratory, prospective, randomized trial. *Geroscience* 2019; 41(6): 861-69.



317. Abbas AK, Lichtman A, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2017.
318. Mahmoud F, Shields B, Makhoul I, Avaritt N, Wong HK, Hutchins LF, et al. Immune surveillance in melanoma: From immune attack to melanoma escape and even counterattack. *Cancer Biol Ther*. 2017;18(7):451-69.
319. Montagnino G, Lorca E, Tarantino A, Bencini P, Aroldi A, Cesana B, Braga M, Lonati F, Ponticelli C. Cancer incidence in 854 kidney transplant recipients from a single institution: comparison with normal population and with patients under dialytic treatment. *Clin Transplant*. 1996;10(5):461-9.
320. Shao EX, Betz-Stablein B, Khosrotehrani K, Campbell S, Isbel N, Green AC. Keratinocyte Cancer Mortality in Kidney Transplant Recipients. *Transplantation*. 2022;106(5):1078-83.
321. Glover MT, Deeks JJ, Raftery MJ, Cunningham J, Leigh IM. Immunosuppression and risk of non-melanoma skin cancer in renal transplant recipients. *Lancet*. 1997;349(9049):398.

**ARTIGO PUBLICADO**

---

“Lymphocyte subsets and Langerhans cells in the skin of kidney transplant recipients under three different immunosuppressive regimens” publicado no periódico *The Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, em 16 jul. 2022. Fator de impacto = 6,166.

DOI: 10.1111/jdv.18430

JEADV

ORIGINAL ARTICLE

## Lymphocyte subsets and Langerhans cells in the skin of kidney transplant recipients under three different immunosuppressive regimens

M.V. Quaresma,<sup>1</sup> L.S. Azevedo,<sup>2</sup> N.V. Pereira,<sup>1</sup> M.G. Saldanha,<sup>3</sup> E. David-Neto,<sup>2</sup> M.N. Sotto<sup>1,4,\*</sup> 

<sup>1</sup>Department of Dermatology, Hospital das Clínicas, University of São Paulo Medical School, São Paulo, Brazil

<sup>2</sup>Renal Transplantation Service, Hospital das Clínicas, University of São Paulo Medical School, São Paulo, Brazil

<sup>3</sup>Department of Gynecology, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>4</sup>Department of Pathology, University of São Paulo Medical School, São Paulo, Brazil

\*Correspondence: M.N. Sotto. E-mail: mnsotto@usp.br

### Abstract

**Background** Renal transplant recipients (RTRs) are at increased risk of developing skin cancer; however, the role of immunosuppression is not yet fully understood. In this study, we evaluated the immunohistochemical changes in the skin of RTRs under three different immunosuppression regimens: mTOR inhibitors (mTORi), sirolimus or everolimus, mycophenolic acid (MPA) precursors such as mycophenolate sodium or mofetil, or azathioprine (AZA).

**Methods** We evaluated biopsies of sun-exposed and sun-protected skin for immunohistochemical quantification of B lymphocytes (CD20<sup>+</sup>), T lymphocytes (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, and CD8<sup>+</sup>), and Langerhans cells (LCs) (CD1a<sup>+</sup>) in 30 RTRs and 10 healthy controls. The RTRs were divided into three groups: mTORi (*n* = 10), MPA (*n* = 10), and AZA (*n* = 10).

**Results** No differences were observed in the number of B lymphocytes. However, a significant decrease in the number of T lymphocytes and LCs was observed in both sun-protected and sun-exposed skin in the AZA and MPA groups, although to a lesser degree in the latter group. The skin of the mTORi group did not differ from that of the control group in terms of the number of B and T lymphocytes and LCs.

**Conclusions** Patients treated with mTORi exhibit preserved cellular elements related to cutaneous immune surveillance. The use of AZA induced a greater degree of skin immunosuppression than in the control group, as demonstrated by the decrease in T lymphocytes and LCs.

Received: 1 April 2022; Accepted: 10 June 2022

Quaresma MV, Azevedo LS, Pereira NV, Saldanha MG, David-Neto E, Sotto MN. Lymphocyte subsets and Langerhans cells in the skin of kidney transplant recipients under three different immunosuppressive regimens. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022. doi: [10.1111/jdv.18430](https://doi.org/10.1111/jdv.18430). Online ahead of print.

## **APÊNDICES**

---

**Apêndice A – Parecer da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA  
USP - HCFMUSP



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** USO DOS INIBIDORES DA mTOR E ALTERAÇÕES CUTÂNEAS EM TRANSPLANTADOS RENAI: AVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA

**Pesquisador:** Mirian Nacagami Sotto

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 58401716.4.0000.0068

**Instituição Proponente:** HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.685.977

**Apresentação do Projeto:**

Avaliar alterações histológicas na pele de pacientes transplantados renais em uso de imunossupressores, comparando com indivíduos saudios.

**Objetivo da Pesquisa:**

Analisar a expressão de células do sistema linfóide cutâneo, apoptose, crescimento epitelial e angiogênese na pele de pacientes transplantados renais em uso de mTORI, azatioprina e micofenolato de mofetil, comparando entre si e com pele de indivíduos saudáveis.. Será avaliada através de biópsia cutânea a pele em área fotoprotetida e fotoexposta.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os riscos envolvidos estão relacionados a execução de biópsia cutânea, uma vez que os exames relatados já fazem parte da rotina do serviço de transplante renal.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo transversal comparativo entre pacientes transplantados renais e saudios.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O TCLE atende de maneira satisfatória aos dois grupos envolvidos na pesquisa, tanto de pacientes transplantados como o do grupo controle de indivíduos saudios.

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

**Bairro:** Cerqueira Cesar

**CEP:** 05.403-010

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)2661-7585

**Fax:** (11)2661-7585

**E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 1.685.977

**Recomendações:**

APROVADO.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

APROVADO.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_738005.pdf	05/08/2016 09:35:39		Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto_Diretoria.pdf	05/08/2016 09:34:51	Mirian Nacagami Sotito	Aceito
Outros	Registro_on_line.pdf	05/08/2016 09:30:50	Mirian Nacagami Sotito	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Pele_inibidores_mTOR.pdf	16/07/2016 15:04:35	Mirian Nacagami Sotito	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_CONSENT_GUARDA_MATERIAAL_BIO.docx	16/07/2016 14:55:50	Mirian Nacagami Sotito	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_GRUPO_CONTROLE.docx	16/07/2016 14:55:28	Mirian Nacagami Sotito	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_GRUPO_DOENTE.docx	16/07/2016 14:54:58	Mirian Nacagami Sotito	Aceito
Outros	Anuencia_UTR.pdf	26/06/2016 10:56:56	Mirian Nacagami Sotito	Aceito

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

**Bairro:** Cerqueira Cesar

**CEP:** 05.403-010

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)2661-7585

**Fax:** (11)2661-7585

**E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

## Apêndice B – Protocolo de levantamento de dados clínicos

PROJETO VICTÓRIA

**TEST**

Data do Evento: 01/03/2021 07:08

Dados | Exames | Dermatologia

Idade atual:  Idade evento:  Telefones:

Fototipo (Fitzpatrick):  Data do Transplante Renal:  Tempo pós transplante (meses):

Doença de base:  Comorbidades:

Doador:  Transplante realizado entre 2 - 5 anos:  Transplante renal simples:

**Em uso de**

<input checked="" type="checkbox"/> Azatioprina	Data início: <input type="text"/>	Tempo de uso: <input type="text"/> meses	
<input checked="" type="checkbox"/> Sirolimo	Data início: <input type="text"/>	Tempo de uso: <input type="text"/> meses	Nível sanguíneo: <input type="text"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Everolimo	Data início: <input type="text"/>	Tempo de uso: <input type="text"/> meses	Nível sanguíneo: <input type="text"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Micofenól. M.	Data início: <input type="text"/>	Tempo de uso: <input type="text"/> meses	
<input checked="" type="checkbox"/> Micofenól. S.	Data início: <input type="text"/>	Tempo de uso: <input type="text"/> meses	
<input checked="" type="checkbox"/> Ciclosporina	Data início: <input type="text"/>	Tempo de uso: <input type="text"/> meses	Nível sanguíneo: <input type="text"/>
<input checked="" type="checkbox"/> Tacrolimo	Data início: <input type="text"/>	Tempo de uso: <input type="text"/> meses	Nível sanguíneo: <input type="text"/>

Observações do Evento

## Apêndice C – Protocolo de levantamento de dados laboratoriais

PROJETO VICTÓRIA

**TEST**

Data do Evento 01/03/2021 07:08

Dados Exames | Dermatologia

Evento neoplásico prévio Especificar:

Urea:  Creatnina:  Urina tpo 1 proteinúria/creatinina:

TFG pela fórmula CKD-EPI:   Igual ou maior 45 (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>)

Aspartato aminotransferase (TGO):  Alamina aminotransferase (TGP):  Gama-glutamilttransferase:

Bilirubina direta:  Bilirubina indireta:  Bilirubina total:

Tempo de protrombina/RNI:

Fosfatase alcalina:  Ácido úrico:

Colesterol total:  HDL:  LDL:  VLDL:  Triglicédeos:

Hemograma:

HB:  HTC:  VGM:  Leucócitos total:

Observações do Evento