

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA

ENDOTELINA – 1 PLASMÁTICA EM TRANSPLANTADOS RENAIIS  
SOB TRATAMENTO COM CICLOSPORINA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

RAFAEL LAMPERT CAUDURO

Porto Alegre

2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA

## ENDOTELINA – 1 PLASMÁTICA EM TRANSPLANTADOS RENAIIS SOB TRATAMENTO COM CICLOSPORINA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dissertação de mestrado apresentada  
como requisito parcial para obtenção do  
título de Mestre em Ciências Médicas:  
Nefrologia

RAFAEL LAMPERT CAUDURO

Orientador: Prof. Dr. César Costa  
Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Ceratti Manfro

Porto Alegre

2003

## AGRADECIMENTOS

- À minha família pelo apoio e incentivo.
- À Dra. Elisa Brietzke pelo carinho e apoio.
- Aos pacientes que entenderam a seriedade e a necessidade da pesquisa.
- Aos amigos do Serviço de Nefrologia do HCPA pelo apoio.
- Ao Programa de Pós-graduação pela oportunidade.
- Ao Dr. César Costa e ao Dr. Roberto Manfro, meus orientadores, pelo exemplo, confiança e interesse.
- Ao bioquímico Francisco Lhulier pelas dosagens de Endotelina e pelo interesse.
- Aos acadêmicos Regis Garcia e Renan Cabral pela ajuda nas coletas.
- À estaticista Vânia Naomi Hirakata pela ajuda na análise dos dados.
- Ao Grupo de Pós-Graduação e Pesquisa (GPPG) e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo suporte financeiro.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>5</b>
<b>I. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>6</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>14</b>
<b>II. OBJETIVO</b>	
o II.a Objetivo principal.....	20
o II.b Objetivos secundários.....	20
<b>III. ARTIGO FINAL</b>	
<b>III.a Versão português - NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ENDOTELINA-1 E HIPERTENSÃO ARTERIAL EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAI EM USO DE CICLOSPORINA - submetido a publicação.</b>	
o Resumo .....	22
o Introdução .....	23
o Materiais e métodos .....	24
o Resultados .....	26
o Discussão .....	27
o Referências .....	32
<b>III.b Versão inglês - ENDOTHELIN-1 (ET-1) PLASMA LEVELS AND HYPERTENSION IN CYCLOSPORINE (CyA) TREATED RENAL TRANSPLANT PATIENTS – submetido a publicação.</b>	
o Abstrat .....	41
o Introduction .....	42
o Patients and Methods .....	43
o Results .....	45
o Discussion .....	46
o References .....	50
<b>IV. ANEXO 1. DIVULGAÇÕES PARCIAIS DOS RESULTADOS DA PESQUISA</b>	
<b>A. ARTIGOS PUBLICADOS</b>	
<b>A.1 ARTIGO “ Endothelin-1 plasma levels in Cyclosporine- treated stable renal transplant patients” publicado na revista Transplantation Proceedings 2002; 34: 487. ....</b>	<b>58</b>
<b>A.2 ARTIGO “Níveis plasmáticos de Endotelina-1 em pacientes transplantados renais sob terapia com Ciclosporina” publicado na Revista Brasileira de Transplantes 2002; 5: 55. ....</b>	<b>59</b>
<b>A.3 ARTIGO “Cyclosporine increase Endothelin-1 plasma levels in renal transplant patients” publicado na revista Transplantation Proceedings 2004;36(4): 880-881. ....</b>	<b>60</b>
<b>B. TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS .....</b>	<b>61</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

CyA - Ciclosporina

ET-1 - Endotelina-1

OKT3 - Anticorpo monoclonal anti-CD3

HLA - Antígeno Leucocitário Humano

IL-2 - Interleucina 2

IL-4 - Interleucina 4

FTY720- Agonista do receptor fosfato-1-esfingosina

DOCA - Acetato de desoxicorticosterona

## **I. INTRODUÇÃO**

### **O Transplante Renal**

O primeiro transplante renal com êxito foi realizado em Boston em 1954 por Merrill e colaboradores (1). Este transplante foi realizado entre gêmeos monozigóticos. O sucesso dessa estratégia foi confirmado a seguir em dois outros transplantes, novamente em Boston e em Paris. Estes transplantes mostraram à comunidade médica que esta estratégia poderia vir a ser útil no manejo da insuficiência renal crônica terminal (1). No entanto, foi somente com o desenvolvimento da imunossupressão farmacológica, a partir da década de 1960, que os transplantes renais passaram a ser uma terapêutica aplicável em maior escala, sendo hoje um tratamento usado em milhares de pacientes, em todo o mundo. No Brasil, realizam-se anualmente em torno de 3000 transplantes renais. (2).

A sobrevida dos enxertos renais é afetada por diversos fatores, sendo a ação do sistema imunológico do receptor sobre o rim transplantado o mais importante. O desenvolvimento de novas abordagens para o controle da resposta aloimune tem sido muito significativo, em especial nos últimos anos. O arsenal usado para esse controle contempla o uso de medicamentos e preparações de anticorpos. Entre os primeiros estão os corticosteróides, inibidores da calcineurina (ciclosporina e tacrolimus), antiproliferativos (azatioprina, micofenolato mofetil e sódico, rapamicinas) além de drogas em fase de testagem clínica inicial tal como o FTY720. Existe também uma grande variedade de anticorpos de uso terapêutico, sejam eles policlonais (globulinas anti-linfocitárias ou anti-timocitárias) ou monoclonais tais como o anticorpo monoclonal anti-CD3 (OKT3®), basiliximab, daclizumab e Campath1H, entre outros. Nos últimos anos, o maior

conhecimento da resposta imune possibilitou melhor controle da imunidade, cuidados médicos mais elaborados possibilitaram melhoras significativas nas sobrevidas de pacientes e enxertos renais. Foi justamente a introdução da Ciclosporina (CyA) e do OKT3 na prática clínica, no início dos anos 1980, que possibilitou a primeira elevação significativa nas taxas de sobrevida de curto prazo de enxertos e pacientes (3). Progressivamente as rejeições agudas apresentaram significativa diminuição da sua incidência; atualmente, a nefropatia crônica do enxerto e o óbito com enxerto funcionante são as principais causas de perda do enxerto, após um ano de transplante (4).

A nefropatia crônica do enxerto, anteriormente denominada de rejeição crônica, abrange fatores imunológicos e não imunológicos. Os principais fatores imunológicos são a compatibilidade nos antígenos do sistema HLA e o desenvolvimento de episódios de rejeição aguda (5,6). Os fatores não imunológicos que contribuem ao desenvolvimento da nefropatia crônica do enxerto são a ocorrência da função retardada do enxerto, idade avançada do doador, má qualidade do enxerto, redução da massa de néfrons no órgão doado, infecção citomegálica, uso de inibidores da calcineurina, presença de dislipidemia e de hipertensão arterial sistêmica (7-9).

A hipertensão arterial sistêmica é uma condição de elevada prevalência em receptores de órgãos transplantados e representa um forte contribuidor para piorar o prognóstico cardiovascular destes pacientes. Além disso, foi recentemente demonstrado que a presença de hipertensão arterial sistêmica contribui significativamente para a perda de transplantes renais a médio e longo prazo (10,11). Mesmo assim o transplante renal é uma terapia estabelecida e com inequívocos benefícios em termos de sobrevida e de qualidade de vida quando comparado as alternativas dialíticas (12,13).

## **A Ciclosporina**

A CyA foi extraída a partir de um fungo chamado *Tolypocladium inflatum* por Gams, em 1969, na Noruega (14). Em 1976, Borel e colaboradores descreveram as propriedades imunossupressoras deste undecapeptídeo (15). Em 1978, Sir Roy Calne e colaboradores publicaram o primeiro estudo clínico sugerindo a utilidade desta droga em pacientes transplantados (16). A seguir, diferentes ensaios clínicos comprovaram sua superioridade, em associação com corticosteróides, sobre a terapia padrão da época que consistia de azatioprina e corticosteróides (17,18). A partir destes estudos a CyA tornou-se o componente central da maioria dos regimes de imunossupressão, tendo melhorado a sobrevida de todos os tipos de enxertos (14).

A CyA atua no bloqueio da ativação das células T; mais precisamente, ela forma um complexo heterodimérico com um receptor citoplasmático, a ciclofilina. O complexo CyA-ciclofilina liga-se a calcineurina e bloqueia a ação de desfosforilação da subunidade citoplasmática do fator nuclear de ativação das células T, impedindo sua entrada no núcleo. Este sinal nuclear possibilitaria a transcrição de genes de proteínas regulatórias, de genes ativadores de citocinas envolvidas na ativação celular (IL-2, IL-4) e de receptores de citocinas. A CyA também induz a expressão do TGF-beta que é um potente inibidor da proliferação de células T ativadas por IL-2 (19).

O uso desta droga, no entanto, está envolvido na etiologia da nefropatia crônica do enxerto renal e de hipertensão arterial sistêmica, em uma proporção significativa de pacientes. (19, 20). Após a introdução da CyA nos esquemas imunossupressores dos transplantes de órgãos sólidos, observou-se significativo aumento da incidência de hipertensão arterial sistêmica. Nos transplantes renais, a incidência aumentou de em torno



de 50% para aproximadamente 90% (21,19). Em estudo realizado com pacientes transplantados renais em nosso meio constatou-se a prevalência de hipertensão de 76% em pacientes sob terapia com CyA (22). Observou-se também, neste estudo, que o uso de CyA produziu um aumento de 5,6 para 9,0 na razão de chances para o desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica pós-transplante.

### **A Endotelina**

A Endotelina (ET), um peptídeo mitogênico descoberto em 1988, é um dos mais potentes, provavelmente o mais potente, vasoconstritor endógeno. (23, 24). Ela é composta por 21 aminoácidos, codificados por 3 genes e, além do endotélio vascular, é produzida em diversos tecidos tais como neurônios, células mesangiais, epiteliais e tubulares renais (25, 26). Existem três isoformas conhecidas (ET 1, 2 e 3) sendo que a ET-1 é a mais produzida e responsável pela maioria das ações fisiológicas e fisiopatológicas em humanos (23, 24). A ET-1 é a única produzida nas células endoteliais, sendo também sintetizada nas células musculares lisas e a sua meia vida plasmática é de 4 a 7 minutos (27).

Ao contrário de um hormônio circulante, a ET-1 exerce as suas funções predominantemente de forma autócrina e parácrina. Sua atividade é desempenhada através da estimulação de receptores específicos (A e B). Ao nível bioquímico, a endotelina acopla-se ao receptor A que estimula a hidrólise da fosfolipase C, a qual leva a formação de inositol 1,4,5-trifosfato e diacilglicerol; o primeiro causa aumento da concentração de cálcio intracelular e elevação da atividade da proteinaquinase C; estas ações induzem vasoconstrição e proliferação celular, respectivamente. Já a estimulação do receptor B parece ativar uma proteína inibidora, não causando vasoconstrição mas, ao contrário, estimulando o relaxamento através da ação de prostaciclina e óxido nítrico (24,26,27).

Assim como a regulação fina do sistema circulatório e perfusão tecidual, a biologia da ET ainda está em processo de investigação. O complexo equilíbrio de forças vasoconstritoras e vasodilatadoras, com suas regulações e inter-relações, estão sendo paulatinamente desvendados. Atualmente sabe-se que a ET-1 é um potente vasoconstritor que é liberado na corrente sangüínea em pequenas quantidades e que tem sua produção estimulada principalmente por isquemia tecidual e agressão vascular. Seus níveis plasmáticos encontram-se elevados em situações como a hipertensão arterial grave ou quando ocorrem lesões em órgãos alvo (28,23). Os níveis plasmáticos são usualmente normais em humanos com hipertensão essencial (29). Já níveis aumentados têm sido observados em pacientes hipertensos em uma série de outras condições tais como hipertensão maligna, hipertensão “sal-sensível”, hipertensão de origem parenquimatosa renal, eclâmpsia, entre outras (24).

Experimentalmente, a ET administrada sistemicamente induz hipertensão prolongada (30). *In vitro*, demonstrou-se que CyA aumenta a produção e liberação de ET-1 por células endoteliais (31). *In vivo*, a administração de altas doses de CyA em camundongos associa-se a aumento significativo da liberação de ET-1 e ao desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica (32), adicionalmente, sua administração, em camundongos e em humanos, determina redução da taxa de filtração glomerular e aumento da resistência vascular renal (33-35).

A relação entre o uso clínico de CyA e elevação dos níveis plasmáticos de ET-1 foi primeiramente observada em um paciente que inadvertidamente recebera dose excessiva de CyA (36). Posteriormente, o mesmo achado foi descrito em um paciente com uveíte idiopática (37). Em pacientes transplantados, os estudos publicados sobre a relação CyA/ET-1 são controversos. Grieff e colaboradores constataram o aumento nos níveis plasmáticos de

ET-1 em pacientes com transplantes de órgãos sólidos sob terapia com CyA (38). Já Xiao e colaboradores, avaliando níveis plasmáticos de ET-1 em pacientes transplantados renais há menos de 3 meses, e Edwards e colaboradores, analisando pacientes transplantados cardíacos também usando a mesma droga, não evidenciaram níveis aumentados de ET-1 (39,40).

### **A Endotelina e a Hipertensão Arterial Sistêmica Pós-Transplante Renal**

A despeito dos recentes avanços no prolongamento da sobrevida de enxertos e pacientes, a incidência de morte prematura por doença cardiovascular permanece muito elevada (41). A Hipertensão Arterial Sistêmica é bastante prevalente no pós-transplante e é importante fator de risco para morbidade e mortalidade por eventos cardiovasculares; ela está presente em torno de 80-90% dos transplantados (22,42). Possui, como fatores de risco para seu aparecimento, a presença de hipertensão pré-transplante, o uso de inibidores da calcineurina, presença de proteinúria e idade do doador (42, 43), além da disfunção do enxerto, doença renal recorrente ou *de novo* e ainda a secreção não controlada de renina pelos rins nativos. (41) Estenose de artéria renal deve ser lembrada no diagnóstico diferencial da hipertensão pós-transplante renal, principalmente em situações onde o seu controle seja difícil ou o paciente fosse normotenso pré-transplante (19). O aumento pressórico é fator de risco independente para falência do enxerto renal e contribuir para o desenvolvimento de doença cardiovascular (43,8).

Atualmente, mais da metade das perdas tardias de enxerto ocorrem por morte do receptor com enxerto funcionante; por isso, ao analisar a sobrevida do enxerto, várias publicações tem feito discriminação entre estas situação e a falência do enxerto (7,44). A taxa de mortalidade por doença coronariana isquêmica é de 40% e decorre de fatores de

risco bem estabelecidos, na população geral, ou seja, hipertensão arterial, diabetes, dislipidemia, tabagismo, entre outros (19). Um estudo avaliando estes fatores encontrou doenças cardiovasculares pré-existentes ao transplante, idade avançada, hipertensão pré-transplante, tempo em diálise e tabagismo como fatores de risco bastante importantes. (19, 45)

O uso de inibidores da calcineurina está associado a aumento da prevalência de hipertensão; tal fato ocorre mais com CyA quando comparada ao Tacrolimus (42). Na era pré CyA essa prevalência era de 40–50%; e na era pós houve um aumento para 80–90 % (42,46). Os fatores envolvidos na gênese da hipertensão arterial induzida pelo uso deste inibidor da calcineurina são: aumento da atividade simpática e vasoconstrição arteriolar aferente, seguida da ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona com retenção de sal e água, e provavelmente a produção e liberação de ET-1 (47, 49).

As relações entre o uso de CyA, produção e liberação de ET-1 e o desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica tem sido estudadas na literatura.

Assim como nos animais de experimentação (32,49), a infusão de CyA produziu elevações nos níveis de ET-1 em humanos (38). Adicionalmente, a vasoconstrição induzida por CyA pode ser prevenida por anticorpos anti-endotelina (33). Alguns estudos mostraram níveis elevados de ET-1 em modelos experimentais como camundongos hipertensos dois-rins-um-clip (50) e camundongos hipertensos tratados com acetato de desoxicorticosterona (DOCA)-sal (51) e em pacientes hipertensos, como por exemplo, nos hipertensos severos ou nos com hipertensão maligna (23). O uso de antagonistas da ET-1 vem sendo estudado com crescente interesse: seu uso em camundongos DOCA-sal causou redução da pressão arterial e da hipertrofia vascular (52); em pacientes hipertensos ocasionou redução da

pressão arterial (53). Não há registros na literatura de evidências semelhantes em situações de transplante renal.

Diante desse contexto, propõe-se a análise dos níveis de ET-1 e de pressão arterial em pacientes transplantados renais que estão em uso de CyA no intuito de melhor entender a etiopatogenia e a fisiopatologia da complexa e multifatorial hipertensão arterial pós-transplante.

## REFERÊNCIAS

- 1- Merrill JP, Murray JE, Harrison JR, Guild WR.: Successful homotransplantation of the human Kidney between identical twins. JAMA 1956; 160: 277.
- 2- Registro Brasileiro de Transplantes Ano 2002. [www.abto.com.br](http://www.abto.com.br)
- 3- Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, McIntosh MJ, Stablein D. Improved graft survival after renal transplantation in United States, 1988 to 1996. N Engl J Med 2000; 342: 605.
- 4- Denton MD, Magee CM, Sauegh MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. Lancet 1999; 353: 1083.
- 5- Halloran PF, Melk A, Barth C. Rethinking chronic allograft nephropathy: the concept of accelerated senescence. J Am Soc Nephrol 1999; 10: 167.
- 6- Massy ZA, Guijarro C, Kasiske BL. Clinical predictors of chronic renal allograft rejection. Kidney Int Suppl 1995; 52: S85.
- 7- Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tokoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. N Engl J Med 2002; 346: 580.
- 8- Opelz G, Wujciak T, Ritz E. Association of chronic kidney graft failure with recipient blood pressure: Collaborative Transplant Study. Kidney Int 1998; 53: 217.
- 9- Wissing KM, Abramowicz D, Broeders N, Vereerstraeten P. Hypercholesterolemia is associated with increased kidney graft loss caused by chronic rejection in male patients with previous acute rejection. Transplantation 2000; 70: 464.
- 10- Opelz G, Dohler B. Cyclosporine and long-term kidney graft survival. Transplantation 2001; 72: 1267.

- 11- Cosio FG, Pelletier RP, Pesavento TE, Henry ML, Ferguson RM, Mitchell L, Lemeschow S. Elevated blood pressure predicts the risk of acute rejection in renal allograft recipients. *Kidney Int* 2001; 59: 1158.
- 12- Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LYC, Held PJ, Port FK. 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: 1725.
- 13- Curtis JJ. End-stage renal disease patients: referral for transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: S137.
- 14- Massry e Glasscock's textbook of nephrology. Capítulo 88, parte 2. B. 4th ed. 2001.
- 15- Borel JF, Feurer C, Gublier HV, Stahelm H. Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 1976; 6: 486.
- 16- Calne RY, Thiru S, McMaster P et al. Cyclosporin A in patients receiving renal allograft from cadaver donors. *Lancet* 1978; 2: 1323.
- 17- Canadian Transplant Study Group: A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. *N Engl J Med* 1983; 309: 809.
- 18- European Multicenter Trial Group: Cyclosporin A in cadaveric renal transplantation: one year follow-up of a multicenter trial. *Lancet* 1982; 1: 896.
- 19- Barros et al. *Nefrologia – rotinas, diagnóstico e tratamento*. Cap. 32 e 33. 2ªed. Porto Alegre: Ed Artmed, 1999.
- 20- Cohen DJ, Loertscher R, Rubin MF, Tilney NL, Carpenter CB, Strom TB. Cyclosporine: a new immunosuppressive agent for organ transplantation. *Ann Intern Med* 1984; 101: 667.

- 21- The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *JAMA* 2003; 289: 2560.
- 22- Manfro RC, Thomé FS, Gonçalves LFS. Pretransplant hypertension as the main determinant of post renal transplant high blood pressure. *Transplant Proc* 1992; 6: 3078.
- 23- Pinto-Sietsma SJ, Paul M: A role for endothelin in the pathogenesis of hypertension: Fact or fiction. *Kidney Int* 1998; 54: S115.
- 24- Watschinger B, Sayegh M. Endothelin in Organ Transplantation. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 151.
- 25- Hamblin Tj. Endothelins. *BMJ* 1990; 301: 568.
- 26- Schiffrin EL. Role of Endothelin-1 in hypertension. *Hypertension* 1999; 34: 875.
- 27- Levin, ER. Endothelins. *N Eng J Med* 1995; 333: 356.
- 28- Ergul S, Ergul A, Hudson JA, Puett D, Wieman BM, Durham MD, Parish DC. The effect of regulation of High Blood Pressure on Plasma Endothelin-1 Levels in Blacks with Hypertension. *Am J Hypertens* 1998; 11: 1381.
- 29- Schiffrin EL, Thibault G. Plasma endothelin in human essential hypertension. *Am J Hypertens* 1991; 4: 303.
- 30- Yanagisawa M, Kurihara H, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411.
- 31- Bunchman TE, Brookshire CA. Cyclosporine-induced synthesis of endothelin by cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1991; 88: 310.
- 32- Kon V, Sugiura M, Inagam T, Harvie BR, Ichikawa J, Hoover RL. Role of endothelin in cyclosporine-induced glomerular dysfunction. *Kidney Int.* 37:1487, 1990.



- 33- Perico N, Dadan J, Remuzzi G. Endothelin mediates the vasoconstriction induced by cyclosporine in rat. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1: 76.
- 34- Perico N, Ruggenenti P, Gaspari F, Mosconi L, Benigni A, Amuchastegui CS, Gasparini F, Remuzzi G. Daily renal hypoperfusion induced by cyclosporine in patients with renal transplantation. *Transplantation* 1992; 54: 56.
- 35- Rezzani R, Redella L, Bianchi R. Induction of endothelin in rat kidney after cyclosporine A treatment. *Acta Histochem* 2001; 103: 423.
- 36- Fogo A, Hakim RC, Sugiura M, Inagami T, Kon V. Severe endothelial injury in a renal transplant patient receiving cyclosporine. *Transplantation* 1990; 49: 1190.
- 37- Deray G, Carayon A, Le Hoang P. Increased endothelin level after cyclosporine therapy. *Ann Intern Med* 1991; 114: 809. (Letter)
- 38- Grieff M, Loertscher R, Al Shohaib S, Stewart. Cyclosporine induced elevation in circulating endothelin-1 in patients with solid-organ transplants. *Transplantation* 1993; 56: 880.
- 39- Xio XR, Ao JT, Li YT, Zhang XY, Zeng Q, Yu XJ. Plasma endothelin levels in the early period after renal transplantation. *Transplant proc* 1996; 28: 1212.
- 40- Edwards BS, Hunt SA, Fowler MB, Valantine HA, Anderson LM, Lerman A. Effect of Cyclosporine on plasma Endothelin levels in humans after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1991; 67: 782.
- 41- Midtvedt K, Neumayer HH. Management strategies for posttransplant hypertension. *Transplantation* 2000; 70: 64.
- 42- Ducloux D, Motte G, Kribs M, Abdelfatah AB, Bresson-Vautrin C, Rebibou JM, Chapolin JM. Hypertension in renal transplantation donor and recipient risk factors. *Clin Nephrol* 2002; 57: 409.

- 43- Morales JM, Influence of the new immunosuppressive combinations on arterial hypertension after renal transplantation. *Kidney Int Suppl* 2002; 81.
- 44- Ojo AO, Hanson JA, Wolfe RA, Leichtman AB, Agodoa LY, Port FK. Long-term survival in renal transplant recipients with graft function. *Kidney Int* 2000; 57: 307.
- 45- Ponticelli C, VillaM, Cesana B, Montagnino G, Tarantino A. Risk factors for late kidney allograft failure. *Kidney Int* 2002; 62: 1848.
- 46- Sanders Jr CE, Curtis JJ. Role of hypertension in chronic renal allograft dysfunction. *Kidney Int* 1995; 48: S43.
- 47- Cavarape A, Endlich K, Feletto F, Parekn N, Bartoli E, SteinHausen M. Contribution of endothelin in renal microvessels in acute cyclosporine-mediated vasoconstriction in rats. *Kidney Int.* 1998; 53: 963.
- 48- Morris ST, McMurray JJ, Rodger RS, Farmer R, Jardine AG. Endothelial dysfunction in renal transplant recipients maintained on cyclosporine. *Kidney Int* 2000; 57: 1100.
- 49- Carrier M, Trong F, Stewart DJ, Pelletier LC. Dose-dependent effect of cyclosporine on renal arterial resistance in the dog. *Am J Physiol* 1992; 261: H1791.
- 50- Kohno M, Murakawa K-i, Horio T, Yokokawa K, Yasunari K, Fukui T, Takeda T. Plasma immunoreactive endothelin-1 in experimental malignant hypertension. *Hypertension* 1991; 18: 93.
- 51- Schiffrin El, Lariviere R, Li JS, Sventek P, Touyz RM. Desoxycorticosterone acetate plus salt induce over-expression of vascular endothelin-1 and severe vascular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1995; 25: 769.
- 52- Schiffrin El, Lariviere R, Li JS, Sventek P, Touyz RM. Endothelin-1 gene expression and vascular hypertrophy in DOCA-salt hypertension compared to spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995; 22:188.

53- Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, Bude M, Charlon V. The effect of endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1998; 338: 784.

## **II. OBJETIVOS**

### **II.a Objetivo principal**

Avaliar os níveis plasmáticos da Endotelina-1 em pacientes transplantados renais sob terapia com Ciclosporina.

### **II.b Objetivo secundário**

Avaliar a correlação entre os níveis plasmáticos de Endotelina-1 e a presença de hipertensão arterial sistêmica.

### **III.a – ARTIGO EM PORTUGUÊS**

#### **NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ENDOTELINA-1 E HIPERTENSÃO ARTERIAL EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS EM USO DE CICLOSPORINA.**

Rafael L. Cauduro<sup>1,2,4</sup>, Cesar Costa<sup>1,2</sup>, Francisco Lhulier<sup>2</sup>, Régis G. Garcia<sup>1</sup>, Renan D. Cabral<sup>1</sup>, Roberto C. Manfro<sup>1,2,3</sup>

Serviço de Nefrologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Nefrologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos, 2350. CEP 90035-003 Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

<sup>2</sup> Serviço de Nefrologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

<sup>3</sup> Autor para correspondência

<sup>4</sup> Endereço atual. Hospital Universitário de Santa Maria. Universidade Federal de Santa Maria

#### **Endereço para correspondência:**

Dr. Roberto C. Manfro

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Serviço de Nefrologia, Sala 2030

Porto Alegre, RS. Brasil

90035-9037

[rmanfro@hcpa.ufrgs.br](mailto:rmanfro@hcpa.ufrgs.br)

## **Resumo**

### **NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ENDOTELINA-1 (ET-1) E HIPERTENSÃO ARTERIAL EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAI EM USO DE CICLOSPORINA (CyA).**

Rafael L. Cauduro<sup>1,2,4</sup>, César Costa<sup>1,2</sup>, Francisco Lhulier<sup>2</sup>, Régis G. Garcia<sup>1</sup>, Renan D. Cabral<sup>1</sup>, Roberto C. Manfro<sup>1,2,3</sup>

**Introdução:** Modelos experimentais sugerem um papel relevante para a ET-1 na hipertensão induzida por CyA, no entanto seus níveis plasmáticos em transplantados de órgãos sólidos mostram valores controversos em diferentes trabalhos.

**Métodos:** Foram avaliados trinta e três pacientes transplantados renais em uso de CyA (grupo CyA) e outros dez que não usavam esta droga (grupo controle). Foram aferidos dados laboratoriais basais, pressão arterial e foi coletado sangue para dosagens de ET-1 nos tempos 0, 3 e 4 horas em relação ao momento da ingesta da CyA. No grupo controle coletou-se amostras nos tempos correspondentes.

**Resultados:** Os níveis pressóricos foram mais elevados no Grupo CyA no qual também foram observados níveis mais elevados de creatinina e de ET-1 os quais apresentaram pico na terceira hora após a ingesta da CyA cuja concentração sanguínea máxima ocorreu em 1 a 2 horas; o grupo controle apresentou níveis significativamente menores de ET-1 ( $P=0,044$ ). Na comparação entre hipertensos e normotensos não foi observada diferença com significância estatística nos níveis de ET-1 ( $1,54 \pm 0,76$  versus  $1,27 \pm 0,62$ ;  $P=0,27$ ).

**Conclusão:** No presente estudo, a ingesta de CyA na forma de microemulsão oral esteve associada a aumento nos níveis plasmáticos de ET-1.

**Palavras-chave:** Transplante Renal, Endotelina-1, Hipertensão, Ciclosporina-A

## **Introdução**

As endotelinas são peptídeos endógenos constituídos por 21 aminoácidos e que apresentam propriedades mitogênicas e grande capacidade vasoconstritora. Há três isoformas conhecidas (ET-1, ET-2 e ET-3), sendo que a ET-1 é a responsável pela maioria das ações fisiológicas e fisiopatológicas. Em humanos, ela é produzida principalmente pelas células endoteliais e células musculares lisas dos vasos, embora as células mesangiais renais, endometriais, hepatócitos e neurônios também a sintetizam. A ET-1 atua predominantemente por mecanismo autócrino em receptores específicos, denominados A e B (1). Isquemia, hipóxia e stress mecânico na parede do vaso são estímulos para a produção de ET-1 (1). O receptor A localiza-se mais nas células musculares lisas e quando estimulado induz vasoconstrição e resposta pressórica (2). Estudos experimentais, demonstram expressão aumentada do RNAm dos precursores da ET-1, em camundongos hipertensos tratados com sal e acetato de deoxicorticosterona, e resposta hipotensora aos antagonistas da ET-1 (3). Em pacientes hipertensos, demonstrou-se aumento da expressão endotelial do gene da ET-1 e o uso endovenoso deste peptídeo causou elevação significativa da pressão arterial (4-6).

A CyA é largamente utilizada como parte de regimes imunossupressores de manutenção em transplantes e pode causar hipertensão arterial sistêmica, nefropatia aguda e/ou crônica. Embora sua fisiopatologia não esteja totalmente estabelecida sabe-se que o evento desencadeador do dano renal induzido pela CyA é uma intensa vasoconstrição. Hipertensão arterial ocorre em cerca de 80% dos pacientes transplantados renais em uso deste inibidor da calcineurina (7,8).

Existem controvérsias na literatura em relação aos níveis de ET-1 em transplantados em uso de CyA. Em 1990 foi relatado o caso de um paciente que recebeu inadvertidamente uma superdosagem de CyA no qual foi constatado aumento dos níveis plasmáticos de ET-1 (9). Em estudos posteriores demonstrou-se que o uso de CyA não alterou os níveis plasmáticos de ET-1 (10-12), o mesmo ocorrendo com uma série de casos tratados com a dose de 5 mg/kg (13). Por outro lado, Grieff e col (14) constataram aumento da endotelinemia após o uso de CyA. Diante destas referidas incertezas e da importância do uso da CyA em transplantes e do dano causado pela vasculopatia e hipertensão na sobrevivência do enxerto (15), e ainda a possibilidade da ET-1 ser um elo entre o imunossupressor e o aumento da pressão arterial, é importante que maiores esclarecimentos sejam buscados nesta área.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar os níveis plasmáticos de ET-1 em pacientes transplantados renais e avaliar a associação dos mesmos com a presença de hipertensão arterial, e o uso de Ciclosporina.

### **Pacientes e Métodos**

Quarenta e três pacientes transplantados renais foram alocados para o estudo. Trinta e três pacientes faziam uso de CyA (grupo CyA) e dez pacientes não usaram esta droga (grupo controle). Os critérios de inclusão foram: transplante há pelo menos 12 meses, estabilidade da função renal nos três últimos meses, creatinina sérica menor que 2,0 mg/dl e proteinúria de 24 horas menor que 1,0 grama. Foram excluídos do estudo pacientes com diabetes mellito, hipertensão renovascular, uropatia obstrutiva ou hepatopatia avançada. O estudo e o termo de consentimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do



Hospital de Clínicas de Porto Alegre, credenciado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), vinculada ao Ministério da Saúde, e no Escritório para a Proteção de Humanos na Pesquisa (Office for Human Research Protections - OHRP) - USDHHS - dos Estados Unidos da América, como Comitê Revisor Institucional (Institucional Review Board - IRB 00000921).

Em uma amostra inicial de seis pacientes, em uso de CyA, foram coletadas amostras de sangue em intervalos horários, por 6 horas. A coleta basal foi feita antes da ingestão de CyA e 5 coletas adicionais foram feitas a intervalos horários para dosagem de ET-1 e de CyA. Na seqüência do estudo, todos os pacientes incluídos foram recebidos no local da pesquisa pela manhã, em jejum, 10 a 12 horas após a última administração de CyA; ficavam sentados por 10 minutos para então terem suas pressões arteriais medidas e coletadas as amostras de sangue para dosagens de creatinina sérica, CyA sangüínea, colesterol, triglicérides e ET-1 basal. Após o paciente ingerir sua dose habitual de CyA e após 3 e 4 horas eram coletadas novas amostras de sangue para dosagem de ET-1. No grupo controle amostras foram coletadas nos tempos correspondentes.

Os níveis plasmáticos de ET-1 foram determinados por técnica de enzima-imunoensaio quantitativo (R&D Systems, Minneapolis, USA), de acordo com as instruções do fabricante. O teste possui sensibilidade < 1,0 pg/ml e detecta níveis entre zero e 117 pg/ml. Os níveis sangüíneos de CyA foram medidos por técnica com anticorpos monoclonais (Emit 2000, Cupertino, USA). As demais dosagens foram realizadas por técnicas laboratoriais padronizadas.

Os dados são apresentados como média e desvio padrão. A análise estatística foi realizada utilizando-se: teste t não pareado, ANOVA para medidas repetidas e teste de Tukey para múltiplas comparações. Para avaliar-se a exposição à ET-1 nos diferentes

grupos foram calculadas as áreas sob as curvas utilizando-se as concentrações plasmáticas de ET-1 no decorrer do tempo. A análise multivariada incluiu no modelo o uso de CyA como variável independente e colesterol, triglicérides, função renal (depuração da creatinina estimada e creatinina) e pressão arterial (sistólica, diastólica e média) como variáveis dependentes. Foram usados os programas SPSS 8.0 e SAS. O nível de significância estatística foi estabelecido em  $P < 0,05$ .

## **Resultados**

As características gerais dos grupos estão apresentadas na Tabela 1. Os pacientes do grupo CyA apresentaram menor tempo de transplante e, níveis de pressão arterial sistólica, diastólica, creatininemia, colesterolemia e trigliceridemia significativamente mais elevados que o grupo controle.

No experimento inicial, com seis pacientes constatou-se que a concentração máxima da CyA ocorre entre a primeira e a segunda hora e que o pico plasmático da ET-1 ocorre na terceira hora após a ingestão da CyA. (Tabela 2)

Na análise de todos os pacientes, observou-se que no grupo CyA os níveis de ET-1 apresentaram pico na terceira hora pós tomada da CyA e que no grupo controle os valores eram menores, com inclinação levemente ascendente, sem sugestão de pico. Desta forma, analisando-se o comportamento da ET-1 ao longo do tempo (basal, terceira e quarta hora) notou-se diferença significativa entre os grupos (ANOVA,  $P=0,044$ ) (Figura 1). Comparados os níveis de ET-1 nos diferentes grupos, isoladamente, a cada momento observou-se valores basais de  $1,28 \pm 0,57$  x  $0,92 \pm 0,30$  ( $P=0,05$ );  $1,81 \pm 1,00$  x  $1,17 \pm 0,46$  na terceira hora ( $P=0,10$ ) e  $1,43 \pm 0,69$  x  $1,34 \pm 0,60$  na quarta hora ( $P = 0,71$ ). Na

avaliação das áreas sob a curva também encontram-se resultados semelhantes (grupo CyA  $6,29 \pm 2,95$  x grupo controle  $4,40 \pm 1,28$  pg.h/dl  $P=0,05$ ).

Vinte e seis pacientes eram hipertensos e estavam sob tratamento com bloqueadores dos canais de cálcio, inibidores da enzima conversora de angiotensina, diuréticos e beta-bloqueadores. A análise dos níveis de ET-1, estratificados entre hipertensos e normotensos, demonstrou que os primeiros apresentavam níveis maiores em todos os tempos dosados: (a) basal:  $1,30 \pm 0,62$  x  $1,04 \pm 0,32$ ; (b) terceira hora:  $1,75 \pm 0,89$  x  $1,54 \pm 1,00$ ; (c) quarta hora:  $1,55 \pm 0,71$  x  $1,21 \pm 0,54$  ng/ml. A análise estatística dos resultados não mostrou significância estatística ( $P=0,72$ ); o mesmo ocorreu quando se avaliou a exposição à ET-1 na área sob a curva (hipertensos  $6,21 \pm 2,90$  x normotensos  $5,26 \pm 0,62$  pg.h/dl  $P=0,27$ ).

Os pacientes foram divididos em quatro grupos, de acordo com o uso de CyA e a presença de hipertensão arterial sistêmica, e as dosagens de ET-1 analisadas. Embora não tenham apresentado diferença estatisticamente significativa, notou-se que os grupos com CyA apresentaram pico na terceira hora, independente da presença ou não de hipertensão ( $P=0,28$ ). Os dados são mostrados na Figura 2.

Na análise multivariada constatou-se que a diferença verificada no comportamento da ET-1, entre os grupos CyA e controle, não foi influenciada pelas variáveis dependentes incluídas no modelo como tempo de transplante, função renal, colesterolemia e pressão arterial.

## **Discussão**

A ET-1 é um peptídeo com importante ação vasoconstritora e mitogênica (16,17). Ela é produzida nas células endoteliais, e musculares lisas dos vasos e não é estocada em

grânulos secretórios dentro das células endoteliais. Um fator importante para a confirmação do papel da ET-1 na hipertensão seria a constatação de níveis elevados de ET-1 nos vasos e no plasma; esta tarefa no entanto, é dificultada pela curta meia vida da ET-1 plasmática (1).

Em modelos experimentais de hipertensão arterial tem sido demonstrada a existência de um componente ET-1-dependente como, por exemplo, nos camundongos hipertensos sal-sensíveis DOCA e em animais Dahl, entre outros (22). A transferência viral de cDNA humano da preproET-1 para o fígado de camundongos produziu aumento nos níveis de ET-1 e também da pressão arterial (23). Em estudos experimentais em animais hipertensos demonstrou-se expressão aumentada do RNAm dos precursores da ET-1 e uma resposta hipotensora aos antagonistas da ET-1 (3). A relação causal entre hipertensão e ET-1 foi adicionalmente demonstrada pela resposta pressórica à infusão de ET-1, em animais e também em humanos (24,6).

Em humanos com hipertensão severa foi detectado aumento da expressão endotelial do gene ET-1 (4). O uso endovenoso de ET-1, em pacientes hipertensos, causa elevação da pressão arterial (6, 5). Além disso, a endotelinemia pode estar aumentada em uma variedade de condições tais como hipertensão maligna, hipertensão “sal-sensível”, hipertensão parenquimatosa renal e eclâmpsia, entre outras (17); este achado, no entanto, não foi constatado em pacientes com hipertensão essencial leve a moderada (25). A vasoconstrição induzida por CyA pode ser prevenida por anticorpos anti-endotelina (5).

O uso de CyA, em camundongos transplantados cardíacos, associado a inibidor da enzima de conversão de ET-1, resultou em menos vasculopatia e fibrose miocárdicas e melhor sobrevida (26).

Nos últimos anos tem sido debatida a possibilidade da CyA, usada para prevenção de rejeições após transplantes de órgãos, induzir elevação nos níveis plasmáticos de ET-1.

Em caso afirmativo a CyA poderia constituir-se em potencial co-fator etiológico das alterações vasculares detectadas nos pacientes transplantados.

Experimentos laboratoriais *in vitro* demonstraram que a CyA aumenta a produção e a liberação de ET-1 pelas células endoteliais (18). *In vivo*, a CyA induz a produção de ET-1 que é acompanhada de aumento da resistência vascular renal e redução da taxa de filtração glomerular, em camundongos e em humanos (13,19,20). A administração, em camundongos, de altas doses de CyA associou-se com aumento de liberação de ET-1 e desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica (21).

Grieff e colaboradores observaram, em pacientes transplantados de órgãos sólidos, que o uso de CyA induzia aumento dos níveis plasmáticos de ET-1 fato não observado nos pacientes que não a recebiam (14). Diferentemente, Edwards e colaboradores (11), avaliando pacientes transplantados cardíacos, não observaram alterações nos níveis de ET-1 atribuíveis ao uso de CyA. Xiao e colaboradores (10) mostraram que a ET-1 plasmática diminui logo após o transplante renal e se mantém estável nos três meses subsequentes, independentemente do uso ou não de CyA. Achados semelhantes foram descritos por Grekas e colaboradores (12). Diferenças metodológicas provavelmente sejam as melhores explicações para os resultados observados nos estudos acima citados.

No presente estudo observamos que, em transplantados renais, a concentração plasmática máxima de ET-1 ocorre na terceira hora após a ingestão da CyA, cujo pico sanguíneo acontece uma a duas horas antes. Os pacientes do grupo controle não apresentaram aumento dos níveis de ET-1, nos períodos correspondentes. Estes achados estão em consonância com alguns estudos anteriores (14).

Pela consistência dos nossos resultados no decorrer do tempo, apesar da falta de significância estatística, é possível especular que pacientes hipertensos provavelmente

apresentem níveis de ET-1 mais elevados que os normotensos, independentes do uso de CyA. No entanto, ao estratificar-se o grupo total, em função do uso de CyA e da presença de hipertensão, observamos que os pacientes em uso de CyA apresentaram pico plasmático de ET-1 independente da presença de hipertensão; este fato permite inferir-se que a presença de hipertensão não interfere e nem tão pouco é responsável pela modificação da curva da ET-1 causada pela CyA. Isto se confirma na análise multivariada, quando se controlou os possíveis fatores que pudessem estar implicados no aumento do nível plasmático de ET-1 e onde se observou que a CyA exerce papel independente.

Não há indícios na literatura pertinente que o tempo pós-transplante renal influencie *per se* os níveis basais de ET-1; em um estudo eles não aumentaram ao longo de três meses pós-transplante (10). Da mesma forma, a presença de disfunção leve a moderada do enxerto renal não influencia os níveis basais de ET-1 (14). Portanto, as diferenças nos tempos pós-transplante e na função dos enxertos, observadas entre os nossos grupos, não podem ser apontadas como responsáveis pelas diferenças encontradas nos níveis de ET-1. A partir da análise multivariada, do nosso material, comprova-se que as referidas diferenças não são influenciadas nem pelo tempo pós-transplante nem pelo nível de função renal.

Os dados apresentados neste estudo demonstram que o uso de CyA, nas doses terapêuticas normalmente usadas pelos transplantados renais, causa aumento nos níveis plasmáticos de ET-1, sendo esta elevação independente da condição pressórica do paciente. A inferência de que esta mudança da ET-1 possa ser a responsável ou uma das responsáveis pelas alterações vasculares devidas ao uso de CyA, inclusive a resposta pressórica, necessita de mais estudos.

Estes achados permitem concluir que o uso de CyA está associado a aumento nos níveis plasmáticos de ET-1 e que possivelmente esta tenha um papel etiopatogênico

significativo na gênese da hipertensão induzida por CyA no pós-transplante renal. No entanto, outros fatores tais como função do enxerto, presença de hipertensão prévia no doador ou no receptor entre outros, provavelmente estejam envolvidos na gênese da hipertensão arterial pós-transplante renal.

## **Bibliografia**

1. Levin, FH. Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333: 356.
2. Bax WA, Saxena PR. The current endothelin receptor classification: Time for reconsideration? *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15: 379.
3. Day R, Larivière R, Schiffrin EL. In situ hybridization shows increased endothelin-1 levels in endothelial cells of blood vessels of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Am J Hypertens.* 1995; 8: 294.
4. Schiffrin EL, Deng LY, Sventek P, Day R. Enhanced expression of endothelin-1 gene in resistance arteries in severe human essential hypertension. *J Hypertens* 1997; 15: 157.
5. Kaasjager KA, Koomans HA, Rabelink TJ. Endothelin-1 induced vasopressor responses in essential hypertension. *Hypertension* 1997; 30: 115.
6. Vierhapper H, Wagner O, Nowotny P, Waldhausl W. Effect of endothelin-1 in man. *Circulation* 1990; 81: 1415.
7. Cavarape A, Endlich K, Feletto F, Parekn N, Bartoli E, Steinhausen M. Contribution of endothelin in renal microvessels in acute cyclosporine-mediated vasoconstriction in rats. *Kidney Int* 1998; 53: 963.
8. Manfro RC, Thome FS, Schacher SC, Boger J, Goncalves LF, Prompt CA. Pretransplant hypertension as the main determinant of postrenal transplant high blood pressure. *Transplant Proc* 1992; 24: 3080.
9. Fogo A, Hakim RC, Sugiura M, Inagami T, Kon V. Severe endothelial injury in a renal transplant patient receiving cyclosporine. *Transplantation* 1990; 49: 1190.
10. Xiao XR, Ao JT, Li YT, Zhang XY, Zeng Q, Yu XJ. Plasma endothelin levels in the early period after renal transplantation. *Transplant Proc* 1996; 28: 1212.



11. Edwards BS, Hunt SA, Fowler MB, Valantine HA, Anderson LM, Lerman A. Effect of Cyclosporine on plasma Endothelin levels in humans after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1991; 67: 782.
12. Grekas D, Bamichas G, Karamouziz M, Savidis N, Bacharaki D, Tourkantonis A. Plasma Endothelin in Cyclosporine A-treated renal transplant patients. *Transplant Proc* 1999; 31: 1703.
13. Perico N, Ruggenti P, Gaspari F, Mosconi L, Benigni A, Amuchastegui CS, Gasparini F, Remuzzi G. Daily renal hypoperfusion induced by cyclosporine in patients with renal transplantation. *Transplantation* 1992; 54: 56.
14. Grieff M, Loertscher R, Al Shohaib S, Stewart. Cyclosporine induce elevation in circulating endothelin-1 in patients with solid-organ transplants. *Transplantation* 1993; 56: 880.
15. Solez K, Vicenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S.multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine: a report of the FK 506 Kidney Study Group. *Transplantation* 1998; 66: 1736.
16. Pinto-Sietsma SJ, Paul M. A role for endothelin in the pathogenesis of hypertension: Fact or fiction. *Kidney Int* 1998; 54: 115S.
17. Watschinger B, Sayegh M. Endothelin in Organ Transplantation. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 151.
18. Bunchman TE, Brookshire CA. Cyclosporine-induced synthesis of endothelin by cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1991; 88: 310.
19. Perico N, Dadan J, Remuzzi G. Endothelin mediates the vasoconstriction induced by cyclosporine in rat. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1: 76.

20. Rezzani R, Redella L, Bianchi R. Induction of endothelin in rat kidney after cyclosporine A treatment. *Acta Histochem* 2001; 103: 423.
21. Kon V, Sugiura M, Inagam T, Harvie BR, Ichikawa J, Hoover RL. Role of endothelin in cyclosporine-induced glomerular dysfunction. *Kidney Int* 1990; 37: 1487.
22. Schiffrin EL. Role of Endothelin-1 in hypertension. *Hypertension* 1999; 34: 875.
23. Nirvanja V, Telemaque S, deWit D, Gerard RD, Yanagisawa M. Systemic hypertension induced by hepatic over-expression of human preproendotelin-1 in rats. *J Clin Invest* 1996; 98: 2364.
24. Hamilton CA, Huang YT, Reid JL. Effects of endothelin upon blood pressure in normotensive rabbits and in perinephritis hypertension. *J Hypertens* 1992; 10: 787.
25. Schiffrin EL, Thibault G. Plasma endothelin in human hypertension. *Am J Hypertens* 1991; 4: 303.
26. Simonson MS, Robinson AV, Schulak JÁ, Hricik DE. Inhibition of endothelin-1 improves survival and vasculopathy in rat cardiac transplants treated with cyclosporine. *Transplantation* 2002; 73: 1054.
27. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nefron* 1976; 16: 31.

**TABELA 1. Características demográficas e laboratoriais dos grupos.**

	Todos (43)	Grupo Controle (10)	Grupo CyA (33)	P
Masculino/feminino	24 / 19	6 / 4	18 / 15	0,95
Raça (B/não B)	38 / 5	8 / 2	30 / 3	0,70
HAS (S/N)	26 / 17	5 / 5	21 / 12	0,91
Idade (anos)	42,1 ± 10,5	40 ± 6	42 ± 11	0,58
Tempo pós Tx (meses)	65,0 ± 41,0	133 ± 60	44 ± 29	0,001
PAS (mmHg)	136,2 ± 17,4	122 ± 16	140 ± 15	0,005
PAD (mmHg)	83,8 ± 9,0	75 ± 8	86 ± 7	0,01
PAM (mmHg)	101,2 ± 9,52	91,1 ± 10,7	104,0 ± 9,2	0,001
Creatinina (mg/dl)	1,2 ± 0,28	0,97 ± 0,13	1,29 ± 0,27	0,001
DCEe (ml/min)	75,8 ± 17,65	93,1 ± 15,2	71,1 ± 18,3	0,002
Proteinúria 24h (g)	0,27 ± 0,26	0,18 (0,1;0,27)	0,2 (0,13;0,37)	0,63
Colesterol total (mg/dl)	209 ± 50	174 ± 32	219 ± 51	0,018
Triglicerídeos (mg/dl)	166 ± 117	97 ± 24	185 ± 125	0,05
Ciclosporina (ng/dl)	187 ± 51	-	187 ± 51	-

B = branco; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média calculada [(PAS + 2PAD)/3]; DCEe = depuração da creatinina endógena estimada (27).

**TABELA 2. Endotelina-1 plasmática e ciclosporina sanguínea a intervalos horários após a ingestão da ciclosporina.**

	*	1° h	2° h	3° h	4° h	5° h
CyA sangue (ug/dl)	170±34	885±421	847±462	658±153	407 ± 63	297±42
ET-1 plasma (ng/dl)	0,96±0,40	1,18±0,85	1,72±0,83	1,84±1,11	1,50±0,93	1,55±1,10

N = 6 pacientes

\* = imediatamente antes da ingesta da ciclosporina

### **Legendas para as Figuras**

**Figura 1.** Níveis plasmáticos de Endotelina-1 em dois grupos de pacientes transplantados renais, grupo em uso de Ciclosporina e controle.

**Figura 2.** Níveis plasmáticos de Endotelina-1 pré ingestão de ciclosporina e após 3 e 4 horas. Estratificado quanto ao uso de Ciclosporina e presença de Hipertensão Arterial Sistêmica.

HAS = Hipertensão Arterial Sistêmica CyA = Ciclosporina

**FIGURA 1.**

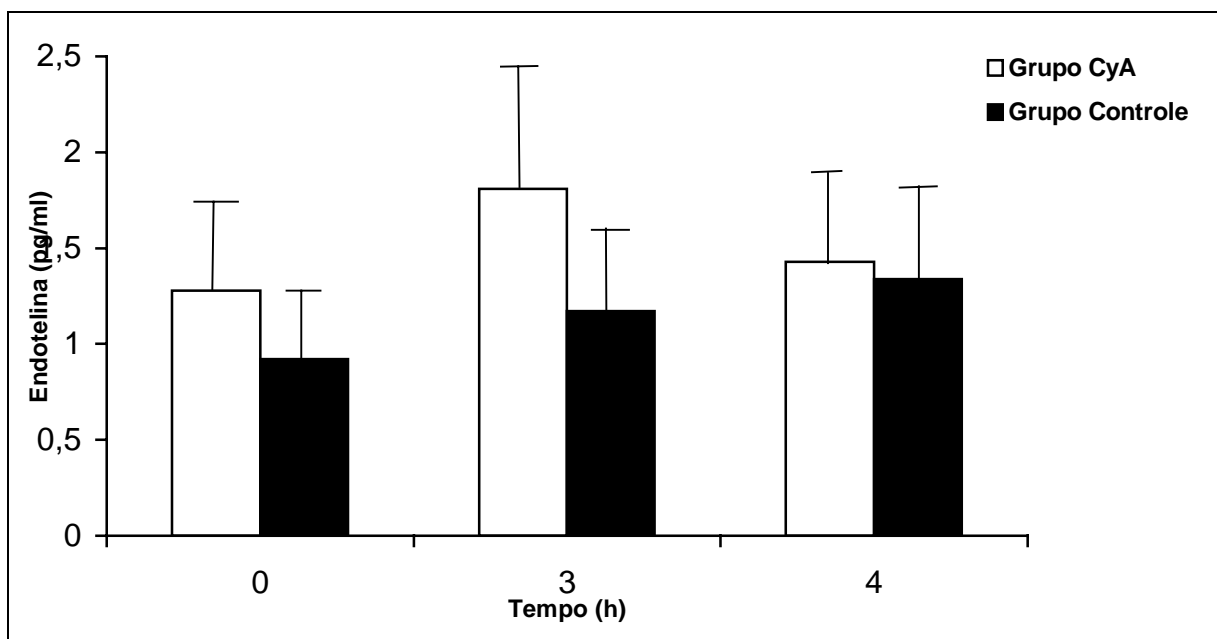
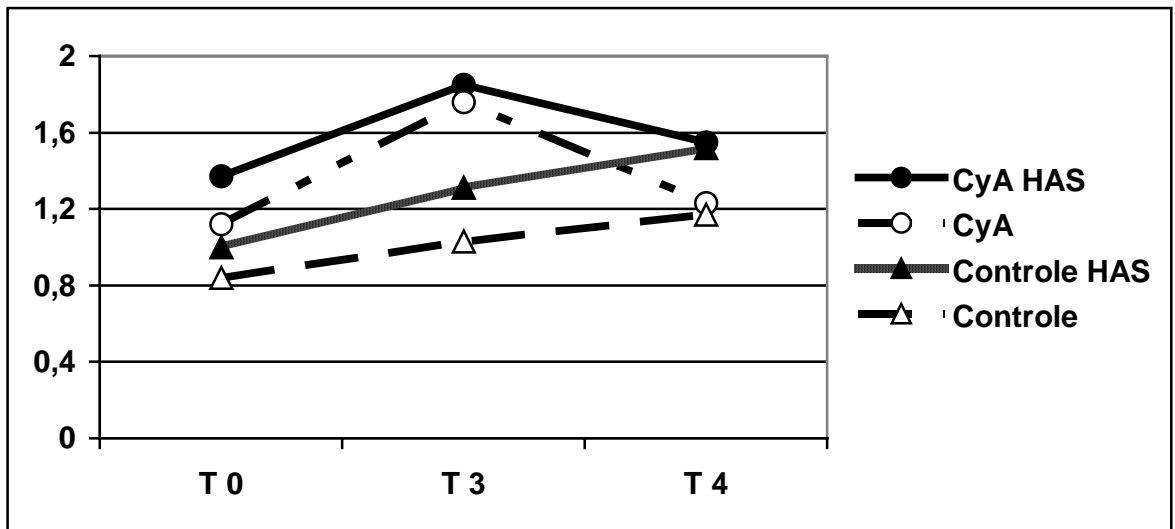


FIGURA 2.



### **III.b - ARTIGO EM INGLÊS**

#### **ENDOTHELIN-1 PLASMA LEVELS AND HYPERTENSION IN CYCLOSPORINE TREATED RENAL TRANSPLANT PATIENTS.**

Rafael L. Cauduro<sup>1,2,4</sup>, Cesar Costa<sup>1,2</sup>, Francisco Lhulier<sup>2</sup>, Régis G. Garcia<sup>1</sup>, Renan D. Cabral<sup>1</sup>, Roberto C. Manfro<sup>1,2,3</sup>

Post Graduate Nephrology Program. School of Medicine. Universidade Federal do Rio Grande do Sul and Division of Nephrology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.  
Rua Ramiro Barcelos 2350  
90035-003  
Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>1</sup> Post Graduate Nephrology Program. School of Medicine. Universidade Federal do Rio Grande do Sul

<sup>2</sup> Division of Nephrology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

<sup>3</sup> Corresponding author

<sup>4</sup> Current address. Hospital Universitário de Santa Maria. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS. Brazil

#### **Address for correspondence:**

Roberto C. Manfro M.D.  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
Division of Nephrology, Room 2030  
Porto Alegre, RS. Brazil  
90035-9037  
Fax: 55 51 3316-8121  
email: [rmanfro@hcpa.ufrgs.br](mailto:rmanfro@hcpa.ufrgs.br)



## Summary

### **ENDOTHELIN-1 (ET-1) PLASMA LEVELS AND HYPERTENSION IN CYCLOSPORINE (CyA) TREATED RENAL TRANSPLANT PATIENTS.**

Rafael L. Cauduro, César Costa, Francisco Lhulier, Régis G. Garcia, Renan D. Cabral, Roberto C. Manfro

Experimental models suggest that ET-1 has a significant role in the pathogenesis of CyA induced hypertension. However its serum levels measurements in patients that received solid organs transplants exhibit controversial results in different studies. Our study population consisted of 43 renal transplant patients. Thirty three were assessed when taking CyA (CyA group) and other ten never received this drug (control group). Baseline laboratory data, blood pressure and ET-1 levels were drawn zero, 3 and 4 hours in relation to the time of CyA ingestion. In the control group samples were collected in the corresponding periods of time. Blood pressure was significantly higher in the CyA group (mean blood pressure:  $101.2 \pm 9.5$  versus  $91.1 \pm 10.7$  mmHg;  $P < 0.001$ ), who also presented higher creatinine ( $1.2 \pm 0.28$  versus  $0.97 \pm 0.13$ ;  $P < 0.001$ ) and ET-1 levels. In the CyA group a ET-1 peak was evident by the third hour after CyA ingestion that showed its maximum concentration after 1 to 2 hours; the control group exhibited significantly lower levels of ET-1 ( $P=0.044$ ). When comparing hypertensive and normotensive patients no statistically significant difference was noticed in the ET-1 levels ( $1.54 \pm 0.76$  versus  $1.27 \pm 0.62$ ;  $P = 0.27$ ). In conclusion, in the present study chronic CyA ingestion was associated with higher blood pressure and plasma ET-1 levels.

**Key Words:** renal transplantation, endothelin-1, hypertension, cyclosporine

## **Introduction**

Endothelins are endogen peptides with 21 aminoacids that exhibit important mitogenic and vasoconstrictive properties. Three isoforms are known, ET-1, ET-2 e ET-3, being ET-1 the one responsible for the most of the described physiologic and physiopathologic actions. In human ET-1 is mainly produced by endotelial cells and vascular smooth muscle cells, however kidney mesangial cells, endometrial cells, hepatocytes and neurons also synthesize it. ET-1 acts mostly in an autocrine fashion in specific receptors named A and B [1]. Ischemia, hypoxia and mechanical stress in the vessels wall are the main stimuli to ET-1 production (1). The A receptor is located predominantly in the smooth muscle cells and upon stimulation induces vasoconstriction and a pressure response [2]. In experimental studies a RNA transcription increment of the ET-1 precursors was detected in hypertensive rats treated with and deoxycorticosterone acetate-salt, also the use of ET-1 antagonists produces lowering of the blood pressure [3]. In patients wit hypertension an increased expression of the ET-1 gene was observed and the intravenous use of this peptide causes a significant increase of the blood pressure [4-6].

CyA is widely used as a constituent of the maintenance immunosuppressive regimens in organ transplantation. Among other side effects this drug may cause hypertension and acute and/or chronic nephropathy. Hypertension occurs in about 80% of the renal allograft patients using this calcineurine inhibitor [7,8]. Although its physiopathology is not entirely defined, it is known that the trigger of the CyA induced kidney damage is an intense vasoconstriction.

The evaluation of the ET-1 levels in the plasma of CyA treated solid organ transplanted patients has displayed controversial results. A case-report of a patient that inadvertently received an elevated CyA dose and in whom an increased level of ET-1 was

detected called the attention to this possibility [9]. In later surveys it was suggested that CyA did not alter ET-1 plasma levels [10-13] or, in the other hand, that the levels were increased by the use of this drug [14]. In view of this controversy and of the key role of CyA in the immunosuppressive armamentarium as well as the relevance of its detrimental effects hampering graft survival [15], and finally due to the possibility that ET-1 is a link between the CyA immunosuppressive effect and hypertension, it is appropriate to gather more relevant information in this area.

So, this survey was undertaken aiming to evaluate of the ET-1 plasma levels in CyA treated renal transplant recipients and to establish a correlation between these levels and the presence of hypertension.

### **Patients and Methods**

Forty three patients with renal transplants were enrolled in the study. Thirty three were receiving CyA (CyA Group) as a part of their immunosuppressive regimen. Ten patients never took this drug (control group). The inclusion criteria were: (a) having a functioning kidney transplant for at least 12 months ago; (b) stable renal function in the last three months; (c) serum creatinine lower than 2.0 mg/dl and (d) 24 hour proteinuria lower than 1.0 gram. Exclusion criteria were: (a) patients with diabetes mellitus, (b) renovascular hypertension, (c) obstructive uropathy and (d) severe liver disease. The study protocol and consent term were approved by the Research Ethics Committee at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, accredited by the National Research Ethics Committee, Ministry of Health and at the Office for Human Research Protections - OHRP) - USDHHS – of the United States of America, as the Institucional Review Board - IRB 00000921.

In six patients on CyA therapy an analysis of the CyA and ET-1 levels was performed by drawing blood samples at hourly intervals over 6 hours. The baseline evaluation was made before taking CyA and 5 additional samples were collected at hourly intervals. Patients were admitted to the research facility in the morning, fasting, 10 to 12 hours after their last CyA ingestion. They were allowed to rest seated for 10 minutes before blood pressure measurement and blood sampling for serum creatinine, cholesterol, triglycerides, CyA blood through levels and basal ET-1, and the third and fourth hours ET-1. In the control group the samples were collected at the equivalent periods of time.

The ET-1 plasma levels were determined through a quantitative immune assay (R&D Systems, Minneapolis. USA), according to the manufacturer's instructions. The test has a  $< 1.0$  pg/ml sensitivity and detects levels between zero and 117 pg/ml. CyA blood levels were measured through a technique employing monoclonal antibodies (Emit 2000, Cupertino, USA). The other measurements were performed by standard laboratory techniques.

Data is presented as average and standard deviation. The statistic analysis was performed by using *t* tests, ANOVA for repeated measures and Tukey test for multiple comparisons whenever appropriate. To assess the ET-1 exposure the areas under the curve were calculated using the ET-1 plasmatic concentrations over time. In the multivariate analysis model CyA was included as an independent variable and transplant time, cholesterol, triglycerides, renal function (estimated creatinine clearance) and arterial pressure (systolic, diastolic and average) as dependent variables. Statistics were performed by using the SPSS 8.0 e SAS programs. The level of statistic significance was established at  $P < 0.05$ .

## Results

The general characteristics of the groups are shown in Table 1. Patients in the CyA group presented significantly lower transplant time and higher systolic, diastolic and mean blood pressures. Control group had significantly lower serum creatinine, cholesterol and tryglicerides levels and higher estimated creatinine clearance.

In the time-course analyses with six patients it was verified that the maximum concentration of CyA occurs between the first and the second hour and the ET-1 plasmatic peak occurs in the third hour after CyA ingestion (Table 2).

Analysing all patients it was observed that in the CyA group, the ET-1 levels peaked by the third hour after CyA ingestion. In the control group ET-1 concentrations were always lower and a peak was not observed, however a slightly increasing concentration was observed overtime. Therefore, analyzing the ET-1 behavior over time a significant difference was observed between the groups (ANOVA,  $P=0.044$ ) (Figure 1).

The comparison of the ET-1 levels, at each moment, in the CyA and control group respectively, showed: (a) baseline:  $1.28 \pm 0.57$  x  $0.92 \pm 0.30$  ( $P=0.05$ ); (b) third hour:  $1.81 \pm 1.00$  x  $1.17 \pm 0.46$  ( $P=0.10$ ); and (c) fourth hour:  $1.43 \pm 0.69$  x  $1.34 \pm 0.60$  ( $P = 0.71$ ). In the evaluation of the area under the time - ET-1 curve, similar results were found, CyA group  $6.29 \pm 2.95$  and control group  $4.40 \pm 1.28$  pg.h/dl ( $P = 0.05$ ).

Twenty patients were hypertensive and were under treatment with calcium channel blockers, angiotensin converting enzyme inhibitors, diuretics and beta-blockers. In the comparison of the ET-1 levels in patients with and without hypertension it was found that that the former presented higher levels in all times: (a) baseline:  $1.30 \pm 0.62$  x  $1.04 \pm 0.32$ ; (b) third hour:  $1.75 \pm 0.89$  x  $1.54 \pm 1.00$ ; (c) fourth hour:  $1.55 \pm 0.71$  x  $1.21 \pm 0.54$  ng/ml,

the differences however did not reach statistical significance. The same happened when the exposure to ET-1 was assessed by the area under the curve (hypertensives  $6.21 \pm 2.90$  x normotensives  $5.26 \pm 0.62$  pg.h/dl;  $P=0.27$ ).

The patients were divided in four groups, according to the use of CyA and the presence of hypertension and the ET-1 levels were analyzed. No statistically significant difference was found, however, as shown in figure 2, it became clear that the third hour peak ET-1 observed for the CyA group was present regardless of the presence of hypertension.

In the multivariate analysis model we found that the difference in the ET-1 levels observed in the CyA group was not influenced by the dependent variables analyzed.

## **Discussion**

ET-1 is a peptide with critical vasoconstrictor and mitogenic functions (16,17). It is produced in the endothelial and vascular smooth muscle cells and it is not stored in secretory glands within the endothelial cells. A significant finding to confirm the ET-1 role in the pathogenesis of hypertension would be the detection of increased ET-1 levels in the vasculature and in the plasma, however achieving this task is hampered by the short half life of plasmatic ET-1 (1).

Laboratory tests *in vitro* have shown that the CyA increases production and release of ET-1 by the endothelial cells (18). *In vivo*, CyA induced production of the ET-1 which is followed by an increase of the renal vascular resistance and a reduction of the glomerular filtration rate, in the rat model and human beings (13,19,20). In rodents high doses of CyA were associated to increased plasmatic levels of ET-1 and to the development of hypertension (21).

It has been demonstrated in experimental models of hypertension, such as in the salt-sensitive DOCA mice and Dahl animals the existence of a ET-1 dependent component of high blood pressure (22). Viral transference of human DNA of the preproET-1 to the liver of rat has produced an increase of the ET-1 levels and also of the arterial pressure (23). Also, in animals with high blood pressure there is an increased level of RNA transcription of the ET-1 precursors and a clear hypotensive response to the ET-1 antagonists (3). The cause-effect relationship between hypertension and ET-1 was additionally demonstrated by the pressure response to the ET-1 infusion in animals and in human beings (6, 24).

In human beings with severe hypertension, there was an increase of the endothelial expression of ET-1 gene (4). Endovenous use of the ET-1 in hypertensive patients causes arterial pressure increase (6, 5). Also, plasmatic endothelin is increased in a variety of conditions such as malignant hypertension, salt-sensitive hypertension, renal parenchimatous hypertension and eclampsia, among others (17). This finding, however, was not verified in patients with light to moderate essential hypertension (25).

Cycloporine induced vasoconstriction may be prevented by anti-endothelin antibodies and the use of CyA associated to the ET-1 conversion inhibitor in rats with cardiac transplants, resulted in less vasculopathy and miocardiac fibrosis and increased survival (5, 26). In the last few years it has been raised the possibility that CyA induces increments of the ET-1 plasmatic levels in transplant recipients. If this possibility holds true CyA could be a potential ethiologic co-factor for the hypertension and vascular damage frequently detected in transplant recipients.

Grieff and collaborators have observed in patients who received solid organ transplants that use of CyA is associated to an increase of the ET-1 plasmatic levels (14).

Differently, Edwards and collaborators (11), evaluating cardiac transplant patients did not observe changes in the ET-1 levels that could be assigned to CyA use. Xiao and collaborators (10) showed that the plasmatic level of ET-1 reduced immediately after the renal transplant and stays stable during the three following months, regardless of the use of CyA. Similar findings were made by Grekas and collaborators (12). Methodological differences may account for the variability of the above results.

In the present work we found that, in renal transplant patients, the maximum plasmatic concentration of ET-1 occurs by the third hour following CyA ingestion, one to two after the CyA peak. The control group patients did not exhibit increase in the ET-1 levels in the corresponding periods. This finding is in agreement with a previous work by Grieff et al that included a limited number of renal transplant patients and recipients of other solid organs (14).

From the consistency of our results over time, regardless of the lack of statistical significance, it is possible to speculate that hypertensive patients probably exhibit higher ET-1 levels than the normotensive patients regardless of the use of CyA. However, as the group was stratified according to the use of CyA, and presence of hypertension, we noticed that patients taking CyA presented a plasmatic ET-1 peak regardless of the presence of hypertension; this finding allows the inference that presence of hypertension does not interferes nor causes the change in the ET-1 curve caused by the CyA. This is confirmed in the multivariate analysis, where the variables that could possibly be involved in the ET-1 increment were statically controlled and where it was verified that CyA has an independent effect.

There are no references in the relevant literature that the post renal transplant period of time influences by itself the ET-1 basal levels; in a study they did not increase during



three months post transplantation (10). Also light to moderate graft dysfunction do not influence the ET-1 basal levels (14). Therefore, the differences in the post transplant periods of time and in the grafts function, as noticed in the present work, cannot be pointed as involved in the differences found in the ET-1 levels. Also, the multivariate analysis support the assumption that the differences of the ET-1 levels were not influenced either by the post transplant period of time or by renal graft function.

The data here presented show that the use of CyA, in the doses usually taken by the renal transplant patients causes increase in the ET-1 plasmatic level, and this increase is independent of the patient blood pressure condition. The inference that this ET-1 increment may be one among the reasons for the vascular changes due to the use of CyA, including hypertension, requires additional studies.

These findings allows the conclusion that the use of CyA is associated to increase of ET-1 plasmatic levels and that possibly the ET-1 has a role of etiopathogenic significance in the genesis of CyA induced hypertension in renal transplant recipients. However, other factors such as graft function, presence of previous hypertension in the donor or in the recipient, among others, are certainly involved in the genesis of the post renal transplant high blood pressure.

## References:

28. Levin, FH. Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333: 356.
29. Bax WA, Saxena PR. The current endothelin receptor classification: Time for reconsideration? *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15: 379.
30. Day R, Larivière R, Schiffrin EL. In situ hybridization shows increased endothelin-1 levels in endothelial cells of blood vessels of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Am J Hypertens.* 1995; 8: 294.
31. Schiffrin EL, Deng LY, Sventek P, Day R. Enhanced expression of endothelin-1 gene in resistance arteries in severe human essential hypertension. *J Hypertens* 1997; 15: 157.
32. Kaasjager KA, Koomans HA, Rabelink TJ. Endothelin-1 induced vasopressor responses in essential hypertension. *Hypertension* 1997; 30: 115.
33. Vierhapper H, Wagner O, Nowotny P, Waldhausl W. Effect of endothelin-1 in man. *Circulation* 1990; 81: 1415.
34. Cavarape A, Endlich K, Feletto F, Parekn N, Bartoli E, Steinhausen M. Contribution of endothelin in renal microvessels in acute cyclosporine-mediated vasoconstriction in rats. *Kidney Int* 1998; 53: 963.
35. Manfro RC, Thome FS, Schacher SC, Boger J, Goncalves LF, Prompt CA. Pretransplant hypertension as the main determinant of postrenal transplant high blood pressure. *Transplant Proc* 1992; 24: 3080.
36. Fogo A, Hakim RC, Sugiura M, Inagami T, Kon V. Severe endothelial injury in a renal transplant patient receiving cyclosporine. *Transplantation* 1990; 49: 1190.

37. Xiao XR, Ao JT, Li YT, Zhang XY, Zeng Q, Yu XJ. Plasma endothelin levels in the early period after renal transplantation. *Transplant Proc* 1996; 28: 1212.
38. Edwards BS, Hunt SA, Fowler MB, Valantine HA, Anderson LM, Lerman A. Effect of Cyclosporine on plasma Endothelin levels in humans after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1991; 67: 782.
39. Grekas D, Bamichas G, Karamouziz M, Savidis N, Bacharaki D, Tourkantonis A. Plasma Endothelin in Cyclosporine A-treated renal transplant patients. *Transplant Proc* 1999; 31: 1703.
40. Perico N, Ruggenti P, Gaspari F, Mosconi L, Benigni A, Amuchastegui CS, Gasparini F, Remuzzi G. Daily renal hypoperfusion induced by cyclosporine in patients with renal transplantation. *Transplantation* 1992; 54: 56.
41. Grieff M, Loertscher R, Al Shohaib S, Stewart. Cyclosporine induce elevation in circulating endothelin-1 in patients with solid-organ transplants. *Transplantation* 1993; 56: 880.
42. Solez K, Vicenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S.multicenter renal transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine: a report of the FK 506 Kidney Study Group. *Transplantation* 1998; 66: 1736.
43. Pinto-Sietsma SJ, Paul M. A role for endothelin in the pathogenesis of hypertension: Fact or fiction. *Kidney Int* 1998; 54: 115S.
44. Watschinger B, Sayegh M. Endothelin in Organ Transplantation. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 151.
45. Bunchman TE, Brookshire CA. Cyclosporine-induced synthesis of endothelin by cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1991; 88: 310.

46. Perico N, Dadan J, Remuzzi G. Endothelin mediates the vasoconstriction induced by cyclosporine in rat. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1: 76.
47. Rezzani R, Redella L, Bianchi R. Induction of endothelin in rat kidney after cyclosporine A treatment. *Acta Histochem* 2001; 103: 423.
48. Kon V, Sugiura M, Inagam T, Harvie BR, Ichikawa J, Hoover RL. Role of endothelin in cyclosporine-induced glomerular dysfunction. *Kidney Int* 1990; 37: 1487.
49. Schiffrin EL. Role of Endothelin-1 in hypertension. *Hypertension* 1999; 34: 875.
50. Nirvanja V, Telemaque S, deWit D, Gerard RD, Yanagisawa M. Systemic hypertension induced by hepatic over-expression of human preproendotelin-1 in rats. *J Clin Invest* 1996; 98: 2364.
51. Hamilton CA, Huang YT, Reid JL. Effects of endothelin upon blood pressure in normotensive rabbits and in perinephritis hypertension. *J Hypertens* 1992; 10: 787.
52. Schiffrin EL, Thibault G. Plasma endothelin in human hypertension. *Am J Hypertens* 1991; 4: 303.
53. Simonson MS, Robinson AV, Schulak JÁ, Hricik DE. Inhibition of endothelin-1 improves survival and vasculopathy in rat cardiac transplants treated with cyclosporine. *Transplantation* 2002; 73: 1054.
54. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nefron* 1976; 16: 31.

**Table 1. Groups demographics and laboratory results.**

	All (43)	Control Group (10)	CyA Group (33)	P
Male/female	24 / 19	6 / 4	18 / 15	0.95
Race (W/NW)	38 / 5	8 / 2	30 / 3	0.70
Hypertension (Yes/No)	26 / 17	5 / 5	21 / 12	0.91
Age (years)	42.1 ± 10.5	40 ± 6	42 ± 11	0.58
Time post Tx (months)	65.0 ± 41.0	133 ± 60	44 ± 29	0.001
SBP (mmHg)	136.2 ± 17.4	122 ± 16	140 ± 15	0.005
DBP (mmHg)	83.8 ± 9.0	75 ± 8	86 ± 7	0.01
MBP (mmHg)	101.2 ± 9.52	91.1 ± 10.7	104.0 ± 9.2	0.001
Creatinine (mg/dl)	1.2 ± 0.28	0.97 ± 0.13	1.29 ± 0.27	0.001
eCrCl (ml/min)	75.8 ± 17.65	93.1 ± 15.2	71.1 ± 18.3	0.002
Proteinuria (g/24 hours)	0.27 ± 0.26	0.18 (0.1;0.27)	0.2 (0.13;0.37)	0.63
Total cholesterol (mg/dl)	209 ± 50	174 ± 32	219 ± 51	0.018
Tryglicerides (mg/dl)	166 ± 117	97 ± 24	185 ± 125	0.05
Cyclosporine (ng/dl)	187 ± 51	-	187 ± 51	-

W/NW = white/not white; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure; MAP = mean arterial pressure [(SBP + 2DBP)/3]; eCrCl = estimated creatinine clearance (27).

**Table 2. Time course of serum ET-1 and blood cyclosporine levels.**

Baseline/hour	*	1	2	3	4	5
CyA -blood(ug/dl)	170 ± 34	885 ± 421	847 ± 462	658 ± 153	407 ± 63	297 ± 42
ET-1 plasma (ng/dl)	0.96 ± 0.40	1.18±0.85	1.72±0.83	1.84±1.11	1.5 ± 0.93	1.55 ± 1.1

N = 6 patients

\* = immediately before cyclosporine ingestion

## **Legends to the figures**

**Figure 1.** Plasmatic endothelin-1 levels two groups of renal transplant patients, taking Cyclosporine and control group.

**Figure 2.** Curves of ET-1 plasmatic levels from pre cyclosporine ingestion or correspondent time and after 3 and 4 hours stratified by the presence of hypertension and use of Cyclosporine.

CyA = Cyclosporine; HBP = high blood pressure

**Figure 1**

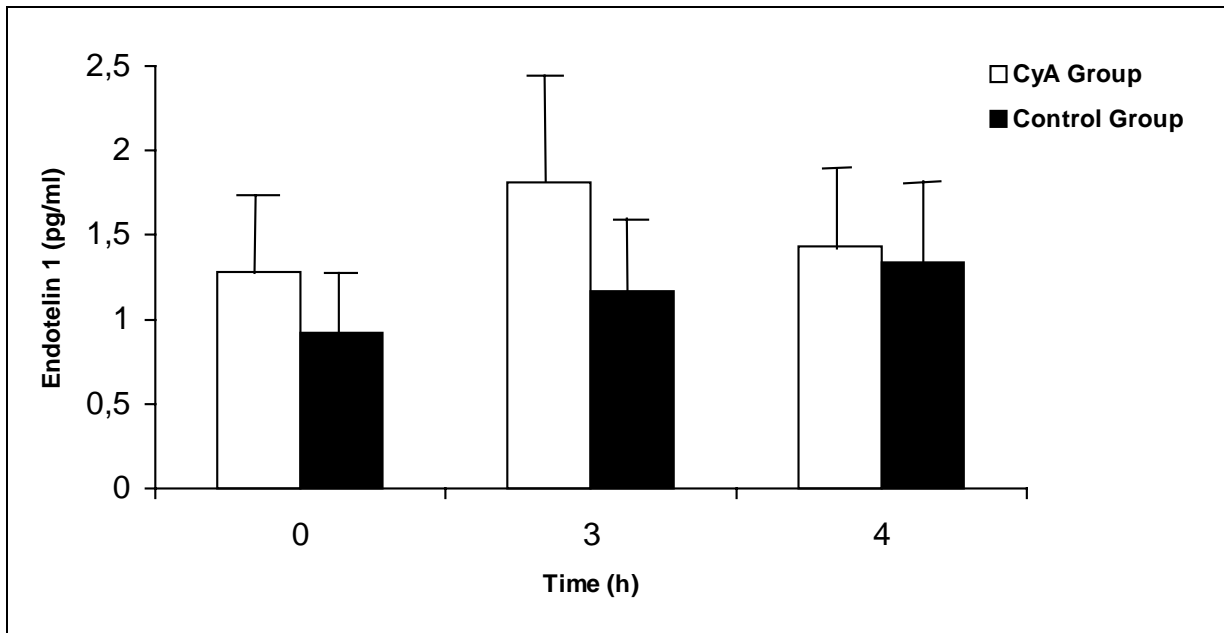
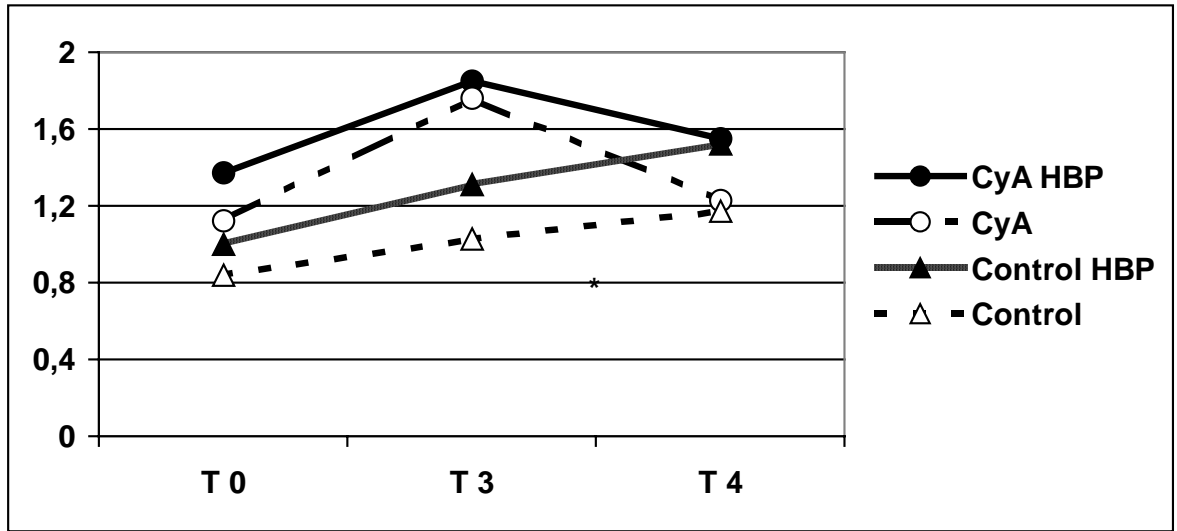




Figure 2



## A. ARTIGOS PUBLICADOS

**A.1 ARTIGO “ Endothelin-1 plasma levels in Cyclosporine- treated stable renal transplant patients”** publicado na revista Transplantation Proceedings 2002; 34: 487.

<http://www.periodicos.capes.gov.br/>

**A.2 ARTIGO “Níveis plasmáticos de Endotelina-1 em pacientes transplantados renais sob terapia com Ciclosporina”** publicado na Revista Brasileira de Transplantes 2002; 5: 55.

<http://www.abto.org.br/profissionais/profissionais.asp>

**A.3 ARTIGO “Cyclosporine increase Endothelin-1 plasma levels in renal transplant patients”**  
publicado na revista Transplantation Proceedings 2004;36(4): 880-881.

<http://www.periodicos.capes.gov.br/>

## **B. TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS:**

**B.1 – Congresso Brasileiro de Nefrologia**, Natal –RN, ano 2000. Apresentação oral.

**B.2 – Congresso Brasileiro de Transplante de Órgãos**, Fortaleza – CE, ano 2003. Apresentação oral

**B.3 – Jornada Gaúcha de Nefrologia**, Gramado – RS, ano 2003. Apresentação oral.