

# Monitorização seqüencial do transplante renal com citologia aspirativa

R.C. MANFRO, L.F.S. GONÇALVES, L.A.R DE MOURA

Unidade de Transplante Renal – Serviço de Nefrologia — Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

**RESUMO — OBJETIVO.** Avaliar a utilidade da citologia aspirativa renal convencional na monitorização seqüencial da rejeição aguda de transplantes renais.

**MATERIAL E MÉTODO.** 376 punções aspirativas renais em 30 pacientes transplantados. Os diagnósticos das situações clínicas em que as aspirações foram feitas foram estabelecidos de maneira independente.

**RESULTADOS.** Na avaliação seqüencial “cega” obteve-se 82,7% de representatividade das amostras. Encontraram-se aumentos significativos do incremento corrigido total (ICT) e dos números de células imunoativadas por lâmina nos episódios de rejeição aguda quando comparados aos valores obtidos durante os períodos de função estável do enxerto, necrose tubular aguda e nefrotoxicidade por ciclosporina. Os parâmetros diagnósticos para rejeição aguda foram: sensibilidade: 71,8%; espe-

cificidade: 87,3%; valor preditivo positivo: 50,9%; valor preditivo negativo: 94,4%; e acurácia: 84,9%. Os resultados falsos-positivos para rejeição foram devidos, principalmente, a infecção citomegálica ou subseqüentes ao uso de OKT3 para tratamento de episódios de rejeição aguda celular. Em 10 dos 11 resultados falsos-negativos, encontrou-se o diagnóstico de imunoativação incipiente, que deve ser considerado como um alerta para a possibilidade de rejeição aguda.

**CONCLUSÕES.** A citologia aspirativa renal é um método útil na monitorização seqüencial da rejeição aguda no paciente transplantado renal. Os melhores resultados são obtidos quando os dados da citologia aspirativa são interpretados juntamente com o quadro clínico.

**UNITERMOS:** Transplante renal — rejeição aguda. Citologia aspirativa.

## INTRODUÇÃO

O transplante renal é, atualmente, a melhor opção terapêutica e de reabilitação para pacientes com insuficiência renal crônica terminal<sup>1-3</sup>. Apesar disso, esta é uma forma de tratamento que ainda se encontra longe da perfeição, uma vez que órgãos transplantados são perdidos por diversas causas.

As rejeições aguda e crônica são as principais causas de perda de rins transplantados e decorrem, principalmente, da falta de identidade genética entre doador e receptor, com bloqueio incompleto da resposta imune<sup>4,5</sup>. Como não existe, atualmente, terapêutica comprovadamente eficiente para a rejeição crônica, a prevenção, diagnóstico e tratamento da rejeição aguda assumem importância primordial no manejo do paciente transplantado renal, pois a sua cura incompleta pode ser o mecanismo inicial perpetuador dos processos de rejeição crônica<sup>5,6</sup>.

Na prática clínica, o aumento da creatinina sérica é a principal pista para o diagnóstico de rejeição aguda. No entanto, este dado pode não estar presente, como nos casos de necrose tubular aguda (NTA), ou ocorrer em diversas outras cir-

cunstâncias, como nefrotoxicidade por ciclosporina, pielonefrite aguda, obstrução e/ou fistula urinária, uso de drogas nefrotóxicas ou, ainda, diminuição da perfusão renal por problemas vasculares. Apesar de diversos métodos de monitorização não invasiva terem sido tentados, permanece a biópsia renal o “padrão-ouro” para a avaliação das disfunções dos rins transplantados<sup>7,8</sup>. Contudo, a biópsia renal apresenta algumas limitações, como os riscos, os problemas de amostragem, a informação é estática — e os efeitos da terapia na morfologia são, na maior parte das vezes, presumidos, uma vez que o procedimento não deve ser repetido com muita frequência<sup>9,10</sup>.

A punção aspirativa renal (PAR) foi, inicialmente, aplicada ao transplante renal em 1968, quando, em Helsinque, se utilizou esse procedimento em aloenxertos renais humanos<sup>11</sup>. Estudos subseqüentes serviram para a padronização técnica do procedimento e do método, sendo definidos parâmetros de representatividade da amostra e introduzida a metodologia de interpretação conhecida como “incremento corrigido total” (ICT), que é uma tentativa de quantificar o infiltrado inflamatório intra-enxerto<sup>12,13</sup>. A reprodutibilidade da

PAR, analisada através do método do ICT, foi avaliada por diferentes estratégias e pode ser considerada satisfatória<sup>14,15</sup>. A avaliação do estado das células parenquimatosas, mais especificamente das células tubulares e endoteliais, é feita através de um escore morfológico.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a acuidade diagnóstica da PAR na monitorização seqüencial da rejeição aguda em pacientes transplantados renais.

### PACIENTES E MÉTODOS

Foram incluídos 30 pacientes transplantados no período de novembro de 1990 a abril de 1992 na Unidade de Transplante Renal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todos os pacientes apresentavam prova cruzada negativa e iniciaram a medicação imunossupressora no período pré-transplante imediato (receptores de rins de doador cadáver) ou dois dias antes da cirurgia do transplante (receptores de rins de doador vivo). Dois pacientes estavam sendo submetidos a retransplante, 12 receberam rins de doador cadáver, 17 receberam rins de doadores parentes e um recebeu o rim do cônjuge.

A avaliação clínica e o acompanhamento laboratorial pós-transplante foram feitos diariamente durante a internação; duas vezes por semana por um mês após a alta hospitalar; uma vez por semana até o fim do segundo mês; quinzenalmente, por 4 meses adicionais e, mensalmente, daí por diante, até completar um ano. O acompanhamento laboratorial básico constou de exames bioquímicos e hematológicos. No pós-operatório imediato foi obtido, rotineiramente, um ultra-som e uma cintilografia de fluxo renal com <sup>99m</sup>Tc-DTPA. Dosagens de ciclosporina (Abbott Laboratories, EUA), em sangue total utilizando anticorpo policlonal, foram obtidas duas vezes por semana durante a internação e por indicação clínica, posteriormente.

As disfunções agudas do enxerto, conceituadas como aumento confirmado e significativo (>0,3mg/dL) da creatinina sérica, ou ausência da queda aos níveis esperados no pós-operatório, acompanhados ou não de quadro clínico de rejeição aguda, foram investigadas com cintilografia de fluxo, ecografia, dosagem de ciclosporina sérica, exame do sedimento urinário e exame cultural da urina. A punção biópsia renal (PBR) foi realizada sempre que houvesse disfunção aguda do enxerto, não existisse contra-indicação absoluta e fosse operacional.

As punções aspirativas renais foram feitas duas vezes por semana durante a internação, uma vez por semana até o fim do primeiro mês pós-transplante, duas vezes durante o segundo mês, uma

vez no terceiro mês, e nos episódios de disfunção aguda do enxerto. Tanto as PAR quanto as PBR foram feitas com o consentimento informado do paciente após o esclarecimento do procedimento, seus riscos e potenciais benefícios.

As rejeições agudas foram diagnosticadas com base no aumento da creatinina sérica, acompanhado ou não de quadro clínico típico, levando-se em conta os exames citados na avaliação de disfunção renal aguda do enxerto. Um último critério diagnóstico foi a resposta ao tratamento da rejeição aguda. Os episódios de nefrotoxicidade por ciclosporina foram diagnosticados na presença de quadro clínico compatível associado ou não a nível sérico elevado, biópsia renal compatível ou, ainda, melhora da função renal com diminuição ou suspensão da droga. O diagnóstico de NTA foi de exclusão, tendo sido feito na ausência de rejeição, nefrotoxicidade, pielonefrite ou de outras condições conhecidas. Arbitrariamente, diagnosticou-se como estando em NTA todo o paciente sem as condições acima citadas e cuja creatinina sérica fosse superior a 2,5mg% no período pós-transplante imediato.

Todos os diagnósticos da situação clínica no dia da PAR foram estabelecidos de maneira independente usando-se os critérios citados acima, sem, no entanto, utilizar as informações da citologia aspirativa na elaboração diagnóstica.

As PAR foram realizadas à beira do leito com localização do rim por palpação. Após anti-sepsia, introduz-se agulha de punção espinhal 25G 3½ na região cortical, acoplado-se a seringa e iniciando-se a aspiração com movimentos repetidos de vai-e-vem e de rotação. O material aspirado é diluído em RPMI e processado por citocentrifugação. Uma gota de sangue periférico é processada da mesma maneira. Os citoesfregaços das PAR e do sangue são corados por MGG (May-Grünwald-Giemsa) e interpretados de acordo com o método do ICT<sup>13</sup>.

Para o diagnóstico citológico de rejeição aguda utilizou-se o escore do ICT maior ou igual a 3,0, acompanhado de "sinais de imunoativação" assim definidos: a) imunoativação: células imunoativadas (plamócitos, linfoblastos, ou linfócitos ativados) representando mais de 1% do número total de leucócitos presentes na lâmina, ou presença na lâmina de 5 ou mais células imunoativadas; b) imunoativação incipiente: células imunoativadas presentes mas inferiores a 1% do total de leucócitos, ou células imunoativadas >1 e <4 por lâmina; c) ausência de imunoativação: células imunoativadas ausentes na lâmina. A presença de imunoativação incipiente alertava para a possibilidade de rejeição aguda sem, no entanto, confirmá-la.

Os protocolos das fichas de leituras foram identificados por um número, e as punções de um mesmo paciente, colocadas em ordem cronológica para avaliação seqüencial por um único citologista que, assim, foi tornado "cego" para a identidade do paciente, o tipo de imunossupressão e o quadro clínico.

As punções biópsias renais foram executadas através das técnicas habituais. As colorações utilizadas foram: hematoxilina e eosina, PAS, PASM (prata metenamina) e tricrômico verde. A interpretação das lâminas foi feita por um único patologista, que era conhecedor do quadro clínico mas não das hipóteses diagnósticas ou das impressões clínicas. Os critérios diagnósticos empregados para esta interpretação foram os recomendados no estudo Banff<sup>16</sup>. O resultado da PBR e/ou a evolução do paciente com as diferentes intervenções para tratamento de rejeição aguda foram utilizados como "padrão-ouro" para o estabelecimento dos parâmetros de acuidade diagnóstica da PAR.

#### Análises estatísticas

Foram empregadas estatísticas descritivas para a caracterização da amostra e o teste de Kolmogorov-Smirnov para a avaliação da distribuição dos dados. Com a finalidade de verificar diferenças entre dois ou mais grupos independentes, foram utilizados os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, respectivamente. Testes de comparações múltiplas (diferença mínima significativa) pertinentes foram efetuados. O nível de significância mínimo adotado foi o de  $p < 0,05$ <sup>17,18</sup>.

## RESULTADOS

A sobrevida até o terceiro mês pós-transplante, momento até o qual foi feita a avaliação com citologia aspirativa, foi 86,7% e 100% para enxertos e pacientes, respectivamente.

A incidência de rejeição aguda foi de 76,6% nos primeiros três meses e em 12 meses. Vinte e três pacientes apresentaram 28 episódios de rejeição aguda nos primeiros três meses pós-transplante ( $1,22 \pm 0,52$  episódios por paciente com rejeição). O anticorpo monoclonal anti-CD3 (OKT3<sup>®</sup>) foi utilizado em seis oportunidades para o tratamento de rejeição aguda.

Os 30 pacientes foram submetidos a 376 PAR. A média de punções por paciente foi de  $12,5 \pm 3,4$ , com variação de 4 a 20 punções por paciente. Oitenta e três por cento das punções coradas por MGG foram consideradas representativas, permitindo avaliação citológica. As causas de não-representatividade foram: a) punção hemorrágica (36 punções; 9,6%); b) punção com pouco material ou ausente

**Tabela 1 — Incremento corrigido total. Resultados por situação clínica**

| Diagnóstico clínico           | N   | Média+DP  |
|-------------------------------|-----|-----------|
| Função renal estável          | 114 | 2,95±1,91 |
| NTA                           | 74  | 2,63±2,03 |
| Rejeição aguda                | 39  | 4,46±1,47 |
| RA em tratamento (esteróides) | 45  | 4,04±2,33 |
| RA em tratamento (OKT3)       | 16  | 3,19±1,85 |
| Citomegalovírus               | 10  | 4,94±2,96 |
| Necrose cortical              | 6   | 1,98±1,33 |
| Nefrotoxicidade CyA           | 4   | 0,65±0,41 |
| Outros diagnósticos           | 3   | 2,67±1,29 |
| Total                         | 311 |           |

Kruskal-Wallis, Análise de variância não-paramétrica (ANOVA). N = número de punções; DP = desvio padrão; NTA = necrose tubular aguda; RA = rejeição aguda; CyA = Ciclosporina. Qui-quadrado corrigido: 48,23;  $p < 0,0001$ .

("branca") (19 punções; 5,1%); e punção não avaliável por problema técnico (9 punções; 2,4%).

A análise da citologia aspirativa convencional foi feita com base nos dados obtidos na avaliação seqüencial dos casos, sendo aferidos o ICT e o número de células imunoativadas por lâmina. Para a análise do ICT, 311 resultados de citologias aspirativas renais foram analisados. As médias e os respectivos desvios padrões do ICT por situação clínica estão demonstrados na tabela 1.

A avaliação da tabela 1 demonstra que existem diferenças significativas nas distribuições dos resultados do ICT de acordo com a situação clínica em que ele foi calculado. Na análise de variância, as diferenças ocorreram de maneira significativa quando os valores dos ICT, nos casos de rejeição aguda sem tratamento, foram comparados aos obtidos durante períodos de função estável do enxerto, necrose tubular aguda, nefrotoxicidade por ciclosporina e outros diagnósticos. Não ocorreram diferenças significativas nos valores do ICT quando o grupo de punções obtidas durante episódios de rejeição aguda foi comparado aos grupos com infecção por citomegalovírus, rejeição aguda em tratamento com esteróides, rejeição aguda em tratamento com OKT3 e necrose cortical.

A contagem das células imunoativadas foi possível em 315 lâminas. As médias das contagens com os desvios padrões estão demonstradas na tabela 2. A avaliação desta tabela revela que existem diferenças significativas nas distribuições dos valores das células imunoativadas por lâmina nas diferentes situações clínicas. Os valores obtidos nos episódios de rejeição aguda, durante seus tratamentos, seja com corticosteróides ou com OKT3 e na infecção por citomegalovírus, são os mais eleva-

**Tabela 2 — Número de células imunoativadas por lâmina. Resultados por situação clínica**

| Diagnóstico clínico           | N   | Média+DP    |
|-------------------------------|-----|-------------|
| Função renal estável          | 116 | 2,70±7,85   |
| NTA                           | 75  | 2,80±7,73   |
| Rejeição aguda                | 39  | 11,46±13,56 |
| RA em tratamento (esteróides) | 45  | 5,62±8,21   |
| RA em tratamento (OKT3)       | 17  | 7,00±7,78   |
| Citomegalovírus               | 10  | 10,40±12,10 |
| Necrose cortical              | 6   | 0,00 —      |
| Nefrotoxicidade CyA           | 4   | 0,50±1,00   |
| Outros diagnósticos           | 3   | 8,23±11,26  |
| Total                         | 315 |             |

Kruskall-Wallis, Análise de variância não-paramétrica. N = número de punções; DP = desvio padrão; NTA = necrose tubular aguda; RA = rejeição aguda; CyA = ciclosporina. Qui-quadrado corrigido: 84,94; p < 0,0001.

**Tabela 3 — Avaliação dos parâmetros diagnósticos para rejeição aguda da citologia aspirativa convencional**

| Parâmetro índice | Ponto de corte | Sens | Esp  | VPP  | VPN  | Ac   |
|------------------|----------------|------|------|------|------|------|
| ICT              | ≥3             | 87,2 | 60,8 | 29,1 | 96,3 | 64,9 |
| CIA              | ≥5             | 76,9 | 84,9 | 48,4 | 95,2 | 83,7 |
| ICT e CIA        | 3 e 5          | 71,8 | 87,3 | 50,9 | 94,4 | 84,9 |

Sens = sensibilidade; Esp = especificidade; VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo; Ac = acurácia; CIA = células imunoativadas. Dados em porcentagem.

dos. Observa-se uma tendência a diminuição no número de células imunoativadas por lâmina quando foram administradas altas doses de corticosteróides ou de OKT3. Diferenças estatisticamente significativas foram encontradas nas comparações entre os grupos com rejeição aguda, independente da presença de tratamento, e o grupo com função estável do enxerto. O valor obtido no grupo infecção por citomegalovírus não foi estatisticamente diferente do obtido no grupo com rejeição aguda.

Na avaliação dos parâmetros diagnósticos da citologia aspirativa foram excluídos os casos de rejeição aguda em tratamento com esteróides ou com OKT3. Na tabela 3 estão demonstrados os parâmetros diagnósticos do ICT e do número de células imunoativadas isoladamente ou em conjunto. A avaliação da tabela 3 revela que nessa amostra o parâmetro isolado de melhor acurácia diagnóstica e de melhor balanço entre sensibilidade e especificidade para rejeição aguda é a presença inequívoca de imunoativação (células imunoativadas por lâmina >5), seguida do ICT >3. A associação do ICT >3 e células imunoativadas >5

apresentou o melhor desempenho na avaliação da acurácia diagnóstica. Mesmo assim, na presente amostra, obteve-se uma sensibilidade intermediária e baixo valor preditivo positivo.

Na avaliação do parâmetro de melhor desempenho no cálculo da acurácia, ou seja, ICT >3,0, e células imunoativadas por lâmina >5, encontraram-se 27 falsos-positivos e 11 falsos-negativos. Nas 27 PAR com diagnóstico falso-positivo para rejeição aguda, verificou-se que em 18 ocasiões havia imunoativação associada a infecção por citomegalovírus ou após o uso de OKT3; em duas ocasiões o falso-positivo precedeu, por 48 e 72 horas, um episódio de rejeição aguda clinicamente detectável e, em 7 oportunidades, não foi possível detectar uma potencial razão para o resultado falso-positivo. Em 10 das 11 PAR com diagnóstico falso-negativo para rejeição aguda havia imunoativação incipiente.

Vinte e um pacientes foram submetidos a 38 biópsias renais (1,3 ± 1,3 biópsias por pacientes; variação: 0 a 6 biópsias por paciente), sendo 35 (92,1%) adequadas para o diagnóstico histopatológico. Duas biópsias foram realizadas em transoperatório de intercorrências; as demais foram obtidas por agulha conforme descrito anteriormente<sup>7</sup>. A avaliação da PAR nos casos com biópsia renal foi feita nas 30 ocasiões em que as PAR e PBR foram concomitantes e representativas. Entre esses, 23 punções apresentaram infiltrados intersticiais, interpretados como rejeição aguda na biópsia de fragmento. Em 13 o infiltrado não era acompanhado de componente de rejeição vascular, em oito havia componente vascular mas com predomínio do componente celular, e nos dois restantes o componente vascular era mais importante. Excluindo-se as punções obtidas durante episódios de rejeição aguda em tratamento com esteróides ou OKT3, restaram para a análise 23 pares de punções, quando, tomando-se como "padrão-ouro" o resultado da biópsia renal de fragmento, chegou-se aos seguintes parâmetros diagnósticos da análise citológica para o diagnóstico de rejeição aguda: sensibilidade, 76,5%; especificidade, 80,0%; valor preditivo positivo, 92,9%; valor preditivo negativo, 44,4%, e acuidade, 73,9%.

## DISCUSSÃO

A análise de trabalhos recentes de grupos americanos, europeus e nacionais permite concluir que a representatividade média da PAR situa-se em torno de 80%<sup>19-24</sup>. O método do ICT<sup>12</sup> é o mais empregado para a quantificação do infiltrado inflamatório dos enxertos renais. Para contornar o problema

da contaminação sanguínea do aspirado renal, é feita uma contagem diferencial do material obtido no rim e do material obtido por punção digital. O conteúdo de leucócitos encontrados no sangue é subtraído do encontrado na amostra renal e, quando existente, a maior quantidade de leucócitos provenientes do material renal é considerada como estando em excesso no rim. Com o objetivo de enfatizar os diagnósticos de rejeição, o conceito de ICT foi introduzido em 1982. Em função de sua importância fundamental nos processos de rejeição celular aguda, as células blásticas das linhagens T e B receberam o fator de correção mais elevado.

Diversos trabalhos avaliaram a correlação da PAR com a BRP que vem sendo considerada como o "padrão-ouro" para a avaliação dos métodos diagnósticos em transplante renal. De uma maneira geral, pode-se afirmar que os resultados da citologia aspirativa guardam boa correlação com os da biópsia renal para o diagnóstico de rejeição aguda<sup>19,20,25,26</sup>, e que o ICT é diretamente proporcional à severidade da rejeição quando avaliada por histopatologia<sup>27-29</sup>. Adicionalmente, estudos empregando técnicas de imunoperoxidase em aspirados renais e em fragmentos de biópsia demonstraram existir boa correlação fenotípica na frequência dos diferentes subtipos celulares nas duas amostras<sup>30</sup>.

Quando a avaliação e a interpretação dos resultados da citologia aspirativa são feitas à luz do quadro clínico, as informações sobre a presença ou ausência de disfunção renal e de outras condições clínicas frequentes em pós-operatório de transplante renal podem ser de grande auxílio. Assim, na presente série, excetuando-se sete punções, os falsos-positivos ocorreram em períodos subsequentes à administração de OKT3 ou em períodos de infecção por citomegalovírus<sup>27,31,32</sup>. As duas punções com diagnósticos "falsos-positivos" que precederam, por curto espaço de tempo, episódios de rejeição aguda foram assim consideradas devido a estratégia empregada de avaliar o resultado de cada PAR com a situação clínica estabelecida para aquele. Esses dois diagnósticos não poderiam de fato ser considerados falsos-positivos. Dez das 11 punções que levaram a diagnósticos falsos-negativos para rejeição aguda apresentavam imunotativação incipiente, o que no contexto clínico de disfunção do enxerto, para a qual outras causas tenham sido devidamente afastadas, poderiam ter contribuído para diagnosticar rejeição aguda. Assim, o rendimento diagnóstico da citologia aspirativa de transplantes renais é bastante superior quando os resultados são interpretados dentro do contexto clínico.

A variabilidade encontrada na literatura em relação aos parâmetros diagnósticos da PAR parece ser parcialmente devida a escolha de diferentes pontos de corte no ICT empregados nos trabalhos. A maioria dos trabalhos usam pontos de corte entre 2,5 e 5,0. Além disso, alguns pesquisadores requerem apenas um determinado valor de ICT para fazer o diagnóstico de rejeição aguda, enquanto outros exigem a presença de imunotativação. Adicionalmente, a maneira como é feita a determinação da situação clínica, rejeição *versus* não-rejeição e a prevalência de rejeição na amostra podem modificar significativamente os valores preditivos<sup>33</sup>. Esta, provavelmente, é a razão pela qual os parâmetros diagnósticos diferiram no subgrupo de pacientes com biópsia renal. Primeiro, houve nesse grupo uma elevada prevalência de rejeição aguda, suspeita pela qual a maior parte das biópsias foi efetivada, e, segundo, a avaliação histológica tende a diagnosticar rejeição aguda com maior frequência em função do achado de infiltrados que podem ou não ter esse significado<sup>16,34,35</sup>. Esses fatores podem ser os responsáveis pelo baixo valor preditivo negativo encontrado no subgrupo de pacientes com biópsia de fragmento no presente trabalho e no de outros<sup>36</sup>. Por sua vez, a baixa acuidade da PAR nesse subgrupo de punções deveu-se ao baixo valor preditivo negativo encontrado.

Os valores dos ICT durante os episódios de rejeição aguda são, em geral, significativamente maiores do que os encontrados em outras situações clínicas<sup>21,36</sup>, exceto, possivelmente, nas fases iniciais da infecção por citomegalovírus (CMV), quando a presença de linfócitos grandes granulares pode ser a responsável pelo aumento do incremento<sup>37,38</sup>. O aumento desses linfócitos pode ser mais importante no enxerto do que no sangue periférico, quando parece crescer uma a duas semanas após o seu aumento no rim, sugerindo, nesses casos, que o sítio primário da infecção pelo CMV possa ser o próprio enxerto<sup>27,39</sup>.

Os valores dos ICT foram maiores no grupo de punções obtidas durante episódios de rejeição aguda do que naqueles obtidos em outras situações, como função estável do enxerto, necrose tubular aguda e nefrotoxicidade por ciclosporina. Rejeição aguda, necrose tubular e nefrotoxicidade por ciclosporina são as situações clínicas que mais comumente causam disfunção do enxerto em pós-operatório recente de transplante renal, período no qual a PAR encontra a sua maior utilidade.

A infecção pelo citomegalovírus é uma importante causa de morbidade, perda de enxertos e mortalidade em pacientes transplantados renais.

No presente trabalho, o diagnóstico de infecção por citomegalovírus foi feito com base no quadro clínico e no aumento de quatro vezes dos títulos de anticorpos anticitomegalovírus em dois pacientes. Dez PAR foram efetuadas nestes dois pacientes durante o quadro de infecção caracterizado por febre, pneumonia e acometimento do trato gastrointestinal no primeiro, e de febre, leucopenia e alteração nas provas de função hepática no outro. Nenhum desses pacientes apresentou disfunção do enxerto durante ou logo após o quadro de infecção viral, e as médias dos ICT, assim como das células imunoativadas, não foram estatisticamente diferentes das encontradas nos episódios de rejeição aguda. Esses achados estão de acordo com os referidos na literatura, em que se relatam incrementos elevados, sem manifestações clínicas ou laboratoriais outras de rejeição aguda<sup>27,38</sup>. Na infecção citomegálica, os achados citológicos contribuem para a menor especificidade e valor preditivo positivo da técnica da citologia aspirativa renal quando se avaliam os parâmetros diagnósticos para rejeição aguda. Na verdade, uma avaliação crítica dos trabalhos disponíveis na literatura em que se estudou a PAR para o diagnóstico de rejeição aguda de transplantes renais demonstra que os casos de infecção citomegálica foram, na maior parte das vezes, retirados da análise.

A avaliação do número de células imunoativadas na amostra tem sido sugerida como um critério isolado de boa acurácia para o diagnóstico de rejeição aguda de enxertos renais<sup>22,40</sup>. Nesse trabalho, encontrou-se que as células imunoativadas estão significativamente aumentadas nos episódios de rejeição aguda, que elas diminuem com o tratamento da rejeição e que, além da rejeição aguda, episódios de infecção, principalmente viral, estão associados a um aumento no seu número. Dados experimentais demonstram que o infiltrado blástico, ou seja, o aparecimento de células imunoativadas no enxerto, precede a expressão de antígenos HLA classe II na rejeição aguda, modificada ou não por imunossuppressores, e que a imunossupressão retarda a expressão das moléculas HLA classe II, sem no entanto retardar a infiltração blástica<sup>41</sup>. Esses achados sugerem que o estímulo à expressão dos antígenos HLA-DR, bem como de moléculas de adesão, nas células do enxerto seja produzido por células do componente blástico do infiltrado através da liberação de fator(es) solúvel(is). Essas estruturas representam "alvos" imunes ou aumentam a interação célula a célula no enxerto.

Em conclusão, encontrou-se que a PAR é um método útil na avaliação seqüencial de pacientes

transplantados renais. Possivelmente, este método encontra sua maior utilidade nos casos que evoluem com NTA pós-transplante em que o diagnóstico da rejeição aguda é difícil. Adicionalmente, conforme demonstrado na literatura, a avaliação da expressão de antígenos HLA e de moléculas de adesão pode ser útil na elucidação de casos com escores limítrofes<sup>42,43</sup>.

## SUMMARY

### Aspiration cytology in the sequential monitoring of kidney allografts

*OBJECTIVE.* To evaluate the utility of kidney aspiration cytology in the sequential monitoring of acute rejection in renal transplant patients.

*PATIENTS AND METHODS.* Thirty patients were submitted to 376 aspirations. The clinical diagnoses were independently established.

*RESULTS.* The representativity of the samples reached 82.7%. The total corrected increment index and the number of immunoactivated cells were higher during acute rejection as compared to normal allograft function, acute tubular necrosis, and cyclosporine nephrotoxicity. The parameters to the diagnosis of acute rejection were: sensitivity: 71.8%, specificity: 87.3%, positive predictive value: 50.9%, negative predictive value: 94.9% and accuracy 84.9%. The false positive results were mainly related to cytomegalovirus infection or to the administration of OKT3. In 10 out of 11 false negative results incipient immunoactivation was present alerting to the possibility of acute rejection.

*CONCLUSIONS.* Kidney aspiration cytology is a useful tool for the sequential monitoring of acute rejection in renal transplant patients. The best results are reached when the results of aspiration cytology are analyzed with the clinical data. [Rev Ass Med Brasil 1998; 44(2): 87-93.]

KEY WORDS: Renal transplantation. Acute rejection. Aspiration cytology.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morris PJ. Results of Renal Transplantation. In Morris PJ ed. *Kidney transplantation — Principles and practice*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1994; 504-23
2. United States Renal Data System. Survival probabilities and causes of death. *Am J Kidney Dis* 1991; 18(suppl 2): 49-60.
3. Russell JD, Beecroft, ML, Ludwin D, Churchill DN. The quality of life in renal transplantation. A prospective study. *Transplantation* 1992; 54: 656-60.
4. Tilney NL, Kupiec-Weglinsky JW. The biology of acute transplant rejection. *Ann Surg* 1991; 214: 99-106.
5. Tilney NL, Whitney WD, Diamond JW, Kupiec-Weglinsky JW,

- Adams DH. Chronic rejection — an undefined conundrum. *Transplantation* 1991; 52: 389-98.
6. Forbes RDC, Darden AG, Gomersali M, Guttman RD. Patterns of donor major histocompatibility complex antigen expression in rat heart grafts in a model of chronic vascular rejection. *Transplant Proc* 1989; 21: 447-8.
  7. Manfro RC, Lee JY, Lewgoy J, Gonçalves LF, Edelweiss MI *et al.* O papel da biópsia renal percutânea no transplante renal. *Rev Ass Med Brasil* 1994; 40: 108-12.
  8. Matas AJ, Tellis VA, Sablay L *et al.* The value of needle renal allograft biopsy. III. A prospective study. *Surgery* 1985; 98: 922-5.
  9. Gault MH, Muehrcke RC. Renal biopsy: current views and controversies. *Nephron* 1983; 34: 1-34.
  10. Wilczek HE. Percutaneous needle biopsy of renal allograft: A clinical safety evaluation of 1129 biopsies. *Transplantation* 1990; 50: 790-7.
  11. Pasternack A. Fine-needle aspiration biopsy of human renal homografts. *Lancet* 1968; 2: 82-4.
  12. Häyry P, von Willebrand E. Practical guidelines for fine needle aspiration biopsy of human renal allografts. *Ann Clin Res (Helsinki)* 1981; 13: 288-306.
  13. Häyry P, von Willebrand E. Transplant aspiration cytology. *Transplantation* 1984; 38: 7-12.
  14. von Willebrand E, Häyry P. Reproducibility of fine needle aspiration biopsy. Analysis of 93 double biopsies. *Transplantation* 1984; 38: 314-6.
  15. Manfro RC, Gonçalves LFS, Moura LAR. Reproducibility of fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of acute rejection of renal allografts. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 2.306-9.
  16. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H *et al.* International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993; 44: 411-22.
  17. Campos H. Análise de variância — Classificação simples. In Campos H (ed). *Estatística experimental não paramétrica*. 4ª ed. São Paulo, Editora Universidade de São Paulo, 1983; 201-26.
  18. Zar JH. *Biostatistical analysis*. 2<sup>nd</sup> ed. New Jersey, Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, 1984.
  19. Gray DWR, Richardson R, Hughes D *et al.* A prospective, randomized, blind comparison of three biopsy techniques in the management of patients after renal transplantation. *Transplantation* 1992; 53: 1.226-32.
  20. Reinholt FP, Bohman SO, Wilczek H, von Willebrand E, Häyry P. Fine-needle aspiration cytology and conventional histology in 200 renal allografts. *Transplantation* 1990; 49: 910-2.
  21. Danovich G, Nast CC, Wilkinson A, Rosenthal T. Evaluation of fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of renal transplant dysfunction. *Am J Kidney Dis* 1991; 17: 206-10.
  22. Helderman JH, Hernandez J, Sagalowsky A, Dawidson I, Glennie J. Confirmation of the utility of fine needle aspiration biopsy of the renal allograft. *Kidney Int* 1988; 34: 376-81.
  23. Dantas M, Costa RS, Ferraz AS. Monitorização do aloenxerto renal através da biópsia aspirativa por agulha fina: relato de 218 punções realizadas na UTR do HCFMRP-USP. *XVI Congresso Brasileiro de Nefrologia* [Resumos]. 1992; 43.
  24. Moura LAR, Alberti VN, Montezzo LC *et al.* Brazilian experience with fine-needle aspiration cytology in kidney transplants. *Transplant Proc* 1988; 20: 617-8.
  25. Gonçalves LF, Manfro RC, Rauber L, Prompt CA. Evaluation of fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of acute renal transplant dysfunction. *Transplant Proc* 1992; 24: 3.081-82, 1992.
  26. Reeve RS, Cooksey G, Wenhan PW, Bourne LD, Paterson AD, *et al.* A comparison of fine needle aspiration cytology and trucut tissue biopsy in the diagnosis of acute renal allograft rejection. *Nephron* 1986; 42:68-71.
  27. Boshkos C, Steinmuller DR, Novick AC, Strem RJ, Cunningham RJ. Correlation of fine-needle aspiration biopsies with core biopsies after renal transplantation. *Transplant Proc* 1988; 22: 592-4.
  28. Gupta R, Campbell J, Om A, Belitsky P. Serial monitoring of cellular rejection by simultaneous histology and fine needle aspiration cytology. *Transplant Proc* 1985; 17: 2.123-4.
  29. Hughes DA, McWhinnie DL, Sutton R, Chapman JR, Carter NP. Can incremental scoring of fine-needle aspirates predict histopathologic renal allograft rejection? *Transplant Proc* 1988; 20: 690-1.
  30. Bolton EM, Thompson JF, Wood RF, Morris PJ. Immunoperoxidase staining of fine needle aspiration biopsies and needle core biopsies from renal allografts. *Transplantation* 1983; 36: 728-31.
  31. Gonçalves LF, Rauber ML, Manfro RC, Prompt CA. Fine needle aspiration biopsy in renal transplant patients on prophylactic OKT3 treatment. *Transplant Proc* 1992; 24: 3.083-84.
  32. Jorgensen KA, Strate M, Svendsen V *et al.* Fine needle aspiration biopsy during and after OKT3. *Transplant Proc* 1989; 21: 3.594-5.
  33. Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. Diagnóstico. In Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH (eds). *Epidemiologia clínica*. Porto Alegre, Artes Médicas, 1989; 68-107.
  34. Castro MCR, Davi DSR, Saldanha LB *et al.* Should we treat a severe acute cellular rejection with no clinical signs? *Transplantation* 1991; 51:1.301-2.
  35. Solez K, McGraw DJ, Beschoner WE *et al.* Reflections on the use of the renal biopsy as the “gold-standart” in distinguishing transplant rejection from cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc* 1985; 17: 123-33.
  36. Egidi F, Banfi G, Bogetic J, Passerini P, Ponticelli C. Correlation between fine-needle aspiration biopsy and renal biopsy in renal transplantation. *Transplant Proc* 1988; 20: 589-91.
  37. Belitsky P, Gupta R. Fine needle aspiration biopsy. In Burdick J, Racusen LC, Solez K, Williams GM (eds). *Kidney transplant rejection*. 2<sup>nd</sup> ed. New York, Marcel Dekker Inc, 1992; 419-35.
  38. Harfmann P, Dittmer R, Busch R *et al.* Morphologic changes in the fine needle aspiration cytology of renal transplants during virus infection as detected by DNA in situ hybridization. *Transplant Proc* 1989; 21: 3.588-90.
  39. Nguyen L, Hammer C, Dendorfer U *et al.* Changes in large granular lymphocytes size and number in kidney transplant patients during rejection and viral infection. *Transplant Proc* 1985; 17: 2.110-1.
  40. van Oers MHJ, Surachno S, Wilmink JM. Infiltrate analysis by monoclonal antibodies does not contribute to the usefulness of fine needle aspiration biopsy. *Transplant Proc* 1987; 19: 1.646-9.
  41. Belitsky P, Miller SM, Gupta R, Lee S, Ghose T. Induction of MHC class II expression in recipient tissue caused by allograft rejection. *Transplantation* 1990; 49: 472-6.
  42. Von Willebrand E, Loginov R, Salmela K, Isoniemi H, Häyry P. Relationship between intercellular adhesion molecule-1 and HLA class II expression in acute cellular rejection of human kidney allografts. *Transplant Proc* 1993; 25: 870-1.
  43. Manfro RC, Gonçalves LFS, Rauber M, Moura LAR. Analysis of ICAM-1 and HLA-DR expression on renal allograft aspirates. *Clin Transplant* 1996; 10: 379.