

Estresse oxidativo e Disfunção Crônica do Enxerto Renal

Oxidative stress and Renal Chronic Allograft Dysfunction

Rosana G. Pagliuso¹; Eny M. Goloni-Bertollo²; Mario Abbud Filho³; Érika C. Pavarino-Bertelli²

¹Profa. Adjunto do depto. de Medicina I, Disciplina de Farmacologia; ²Profa. Adjunto do Depto. de Biologia Molecular, Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular – UPGEM; ³Instituto de Urologia e Nefrologia de São José do Rio Preto-SP e Prof. Adjunto do Depto. de Medicina I

Resumo A doença renal crônica (DRC) pode ser considerada um problema mundial de saúde pública e o transplante (Tx) renal é a melhor opção terapêutica e de reabilitação para pacientes com DRC em estágio terminal. Entretanto, a perda progressiva da função do Tx em consequência da disfunção crônica do enxerto (DCE) ainda constitui um sério problema sem terapêutica específica, constituindo a principal causa de falência desses Tx. Na presente revisão visamos mostrar o papel do estresse oxidativo (formação de Espécies Reativas de Oxigênio - EROs) na DCE, bem como o papel e a possível correlação entre as enzimas do grupo das glutatonas.

Palavras-chave Transplante de Rim; Estresse Oxidativo; Glutatonas; Espécies de Oxigênio Reativas; Rejeição do Enxerto.

Abstract Chronic renal failure (CRF) can be considered a worldwide public health problem. Renal transplantation is the best therapeutic and rehabilitation treatment of choice for patients with end-stage renal disease. However, the progressive loss of transplantation function due to chronic allograft dysfunction (CAD) is still a serious problem without a specific therapeutic remaining as the main cause of the Tx failure. In the present review, we aimed at showing the role of oxidative stress (formation of Reactive Oxygen Species - ROS) in (CAD), as well as the active function and the potential correlation among enzymes of the glutathione.

Keywords Kidney Transplantation; Oxidative Stress; Glutathione; Reactive Oxygen Species; Graft Rejection.

Introdução

O transplante (Tx) ainda é a melhor opção terapêutica e de reabilitação para pacientes com Insuficiência Renal Crônica (IRC) em estágio terminal^{1,2}, proporcionando ao paciente uma melhor qualidade de vida e prolongando significativamente sua expectativa de vida, quando comparada àquela do paciente mantido cronicamente em diálise. Apesar disso, a disfunção crônica do enxerto (DCE) é causa importante de perda do enxerto renal e sua terapêutica é inespecífica em virtude de sua etiologia multifatorial^{3,4,5}.

Conseqüentemente, evitar e/ou retardar a progressão da DCE pela sua prevenção ou com diagnóstico precoce, assume importância primordial no manejo do paciente transplantado renal.⁴

Agentes imunossupressores químicos e biológicos, utilizados de formas combinadas em protocolos de imunossupressão, são usados com objetivo de minimizar o fenômeno da rejeição do enxerto. Essas drogas, por meio de mecanismos moleculares complexos, visam modificar a resposta imunológica de forma a “aceitar” ou “ignorar” o órgão transplantado⁵.

Os agentes químicos mais freqüentemente utilizados no Tx renal são a prednisona, azatioprina, ciclosporina, tacrolimus, micofenolato e, mais recentemente, o sirolimus. A globulina antilinfocítica é o agente biológico do grupo dos anticorpos policlonais mais usado, enquanto o OKT3 representa o grupo dos anticorpos monoclonais. Mais recentemente, foram desenvolvidos anticorpos monoclonais quiméricos (basiliximab) e humanizados (daclizumab) que são utilizados como agentes de “indução” e atuam por meio do bloqueio do receptor da interleucina-2 (IL-2)^{6,7,8}. Essas drogas sofrem metabolização no organismo para serem eliminadas, o que pode acarretar sobrecarga no sistema enzimático do paciente, levando ao acúmulo na circulação sanguínea de radicais livres, metabólitos ativos (e às vezes nefrotóxicos) e/ou inativos e drogas não metabolizadas. Todos esses fatores somados aos problemas já ocasionados ao rim transplantado, podem levar ao estresse oxidativo e à DCE. O resultado do uso das drogas imunossupressoras sobre o estresse oxidativo é pouco conhecido^{8,9,10,11}.

O estresse oxidativo pode ser definido como um desequilíbrio entre a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade antioxidante total do organismo¹². Nos seres vivos de metabolismo aeróbico, no interior da mitocôndria, o oxigênio sofre redução tetravalente recebendo quatro elétrons e formando duas moléculas de água por meio da enzima citocromo oxidase. Nesse processo, uma pequena fração (1-2%) reduz-se de modo incompleto, formando os radicais livres superóxido ($O_2^{\bullet-}$), hidroxila (OH^{\bullet}) e hidroperoxila (HO_2^{\bullet})¹³.

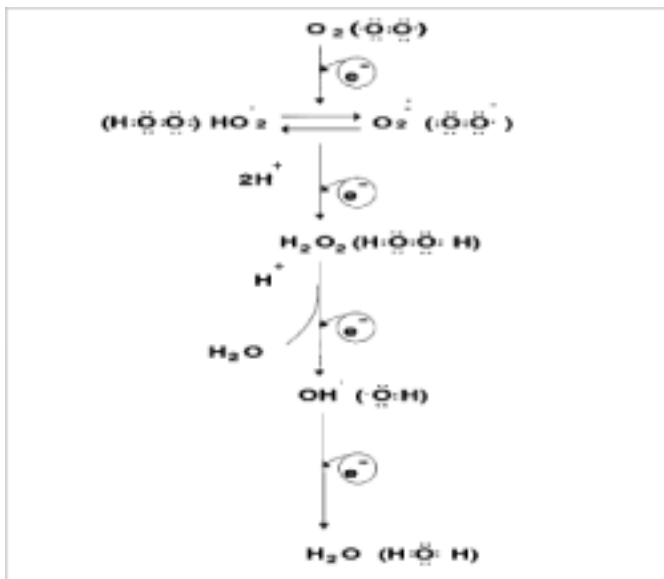


Fig. 1 — Redução tetravalente do oxigênio molecular (O_2) na mitocôndria até a formação de água (H_2O). Várias espécies reativas de O_2 são formadas no processo. (Adaptado de Cohen MV¹³.)

O termo *radical livre* significa qualquer átomo ou molécula que tenha em sua órbita mais externa um ou mais elétrons não-pareados. O não emparelhamento de elétrons na última camada confere alta reatividade aos átomos e moléculas, pois eles têm uma forte tendência a doar ou receber elétrons¹⁵. O papel dos radicais livres no processo de isquemia e reperfusão, causando lesão tecidual, têm sido extensamente estudados no intestino, no estômago, no fígado, no pâncreas, nos rins, no coração, na pele e no cérebro^{16, 17} e, recentemente, o interesse científico voltou-se para o possível papel dos radicais livres do oxigênio na patogênese da morte tecidual após reperfusão e na prevenção dessa lesão por agentes farmacológicos, inclusive em pacientes transplantados¹⁸.

Os radicais superóxido e hidroxila, metabólitos do oxigênio extremamente reativos são formados em situações de isquemia e reperfusão. Podem causar lesão na membrana celular diretamente pela peroxidação lipídica ou por meio da degradação do colágeno intracelular. Os radicais livres de oxigênio promovem alterações no metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídios, desagregam os microfilamentos do citoplasma que compõem o “esqueleto” das células e interferem nos mecanismos reguladores dos fluxos de íons através das membranas celulares. Também alteram, pela oxidação, os lipídios, em especial os ácidos graxos poliinsaturados, danificando estruturas nas quais estão presentes (como as membranas celulares). Podem inativar enzimas, impedindo processos metabólicos, e quebrar as longas cadeias de moléculas presentes nos carboidratos. Nos ácidos nucleicos, oxidam as bases nitrogenadas, fragilizando as cadeias de DNA e facilitando mutações, o que pode desativar genes supressores de certos tipos de tumores ou ativar oncogenes, levando ao câncer¹⁸.

Uma fonte geradora de EROs é o processo de redução temporária e localizada do fluxo sanguíneo (isquemia/hipoperfusão/hipóxia), seguido pelo retorno do sangue ao local (reperfusão) como em quadros de choque, em transplantes e em revascularizações, e também em processos inflamatórios, como pancreatite, colecistite (sem cálculos), septicemia, doença de Crohn e outros. Dependendo do tempo de isquemia e/ou hipóxia, as lesões teciduais podem ser reversíveis ou irreversíveis. Para reverter o estado isquêmico, há necessidade de restauração do fluxo sanguíneo. Porém, o restabelecimento do suprimento vascular normal, paradoxalmente, pode ser responsável por lesões ainda mais graves do que as da isquemia *per se*¹⁸. Se o volume de sangue no tecido ou órgão é insuficiente, ocorre o bloqueio da enzima citocromo-oxidase, uma das etapas da cadeia respiratória. A interrupção dessa cadeia leva à escassez de oxigênio para o metabolismo celular e ao excesso de íons hidrogênio (acidose). Quando o fluxo sanguíneo é restabelecido (reperfusão), o oxigênio agora disponível interage com a xantina-oxidase e com a hipoxantina e incorpora elétrons¹⁸. A partir dos estudos de Granger et al, 1986¹⁹, descobriu-se que o afluxo de oxigênio no tecido isquêmico levaria a uma série de alterações bioquímicas, inflamatórias e celulares mediadas principalmente pela formação dos EROs¹⁹.

Kerrigan & Stotland²⁰ descreveram que, dentre os mediadores, aqueles com papel mais importante no fenômeno da isquemia e reperfusão são PAF (Fator Ativador de Plaquetas), leucotrieno B_4 (LTB_4) e tromboxano A_2 (TXA_2), pois eles podem secundariamente ampliar a resposta inflamatória pelo aumento de mediadores peptídicos, por exemplo, citocinas (como o fator de necrose tumoral -TNF) e a interleucina-1 (IL-1); o TXA_2 e LTB_4 são, respectivamente, subprodutos da ação da cicloxigenase e lipoxigenase sobre o ácido aracdônico²⁰. Segundo Knight et al²¹, o LTB_4 é um potente quimiotático de leucócito que favorece a interação neutrófilo-célula endotelial com liberação de radicais livres e enzimas proteolíticas e o TXA_2 , além de induzir os neutrófilos a liberarem radicais livres, é um potente vasoconstritor e agregador plaquetário, diminuindo o fluxo capilar após reperfusão²¹.

Outro radical livre, intimamente envolvido com a lesão de isquemia e reperfusão, é o gás solúvel de radical livre, óxido nítrico (NO)²², conhecido inicialmente como Fator Relaxante Derivado do Endotélio e que, posteriormente, constatou-se que se tratava do NO^{23, 24}. Segundo Moncada et al., 1991²⁵ é produzido pelas células endoteliais, pelos macrófagos e por neurônios centrais específicos e sintetizado a partir da L-arginina, O_2 e NADPH por meio da enzima NO sintetase (NOS), que é ativada pelo aumento do influxo de cálcio no interior da célula. Fisiologicamente, atua mantendo o tônus vascular inibindo a agregação plaquetária e a adesão dos neutrófilos e das plaquetas ao endotélio vascular. Além disso, o NO, por ser um radical livre, é citotóxico para certos microorganismos e para células tumorais. Paralelamente, o NO reage com o radical superóxido, resultante da isquemia e reperfusão, dando origem via ânion peroxinitrito (ONOO-) ao dióxido de nitrogênio e ao altamente reativo radical hidroxila²⁶. A produção descontrolada de EROs pela mitocôndria da célula tubular pode também resultar em lesão tecidual, apoptose e fenótipo de senescência.²⁷ Em condições normais, os radicais livres são continuamente produzidos em pequenas quantidades como subprodutos metabólicos ou escapes da fosforilação oxidativa e naturalmente neutralizados por sistemas endógenos de defesa

antioxidante, enzimático e não-enzimático que previnem ou reparam a lesão oxidativa²⁸. Para proteger-se a célula possui um sistema de defesa que atua em duas linhas: uma que atua como detoxificadora do agente antes que ele cause lesão (GSH [glutathiona reduzida], SOD [superóxido dismutase], catalase, GSH-Px [glutathiona-peroxidase] e acetato de tocoferol [vitamina E]) e outra que tem a função de reparar a lesão ocorrida (ácido ascórbico [vitamina C], GSH-Rd [glutathiona-redutase] e GSH-Px)^{29,30}.

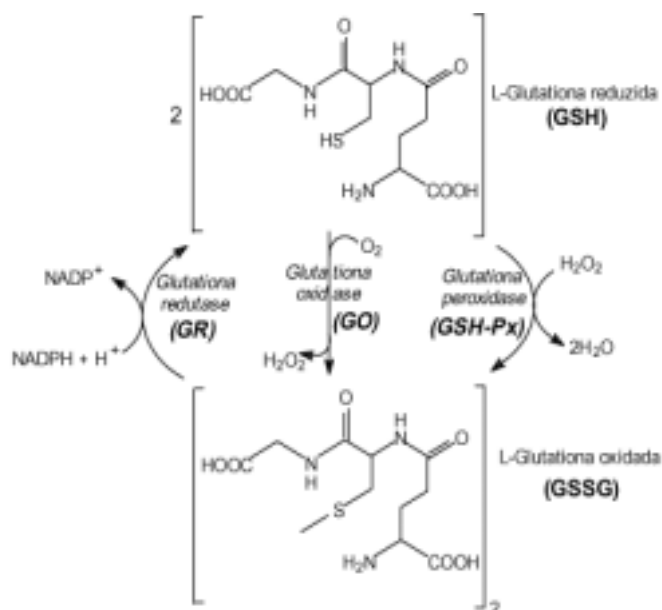


Figura 2 Intercorrência de glutathiona nas suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) pela ação das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px), glutathiona oxidase (GO) e glutathiona redutase (GR)¹.

A (GSH, L-gama-glutamil-L-cisteinil-glicina) está presente na maioria das células e é considerada um dos agentes mais importantes do sistema de defesa antioxidante da célula. A GSH-Rd é uma flavoproteína que recupera a GSH quando ocorre sua oxidação. A GSH-Px encontrada no citosol, na mitocôndria e na membrana, catalisa a redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e de outros peróxidos orgânicos na presença de selênio em seu sítio ativo³¹. A SOD catalisa a dismutação do radical superóxido em H_2O_2 e O_2 na presença do próton H^+ . Existem duas formas de SOD, a SOD₂ cobre-zinco presente no citosol, e a SOD manganês localizada primariamente na mitocôndria³².

Além do sistema antioxidante enzimático, também são consideradas antioxidantes todas as substâncias que doam ou recebem um elétron de um radical livre, inativando-o. São exemplos: ácido ascórbico (vitamina C), beta-caroteno, ácido úrico, alfa-tocoferol (vitamina E), albumina, transferrina e manitol. Há ainda aqueles que indiretamente têm um efeito antioxidante, como o alopurinol (inibidor da xantina oxidase), o selênio (presente na glutathiona peroxidase), a deferoxamina (quelante do ferro), entre outros²⁸.

Quando a barreira antioxidante é insuficiente, uma quantidade de radicais livres é produzida, levando a um aumento na peroxidação lipídica que pode causar envelhecimento e muitas doenças, incluindo complicações cardiovasculares ateroscleróticas. A peroxidação dos lipídios das membranas celulares é apenas um exemplo de lesão biológica que pode ser

promovida pelos radicais livres, uma vez que praticamente todas as biomoléculas são suscetíveis à oxidação²⁸. O componente lipídico da membrana eritrocitária está também sujeito à agressão oxidativa. Os produtos desta lipoperoxidação podem induzir o estresse oxidativo intracelular³³.

Apesar das defesas antioxidantes reduzirem os riscos de lesões oxidativas por EROs, os organismos podem vivenciar situações nas quais a proteção é insuficiente. Algumas situações geradoras de estresse oxidativo incluem: ativação de fagócitos (neutrófilos, macrófagos, monócitos e eosinófilos) por micro-organismos, hiperóxia, alguns xenobióticos, radiação ionizante, isquemia e exercício físico extenuante³⁴. Além de os fagócitos produzirem grandes quantidades de EROs quando são ativados³⁵, outras células como os fibroblastos, linfócitos B e células endoteliais também liberam O_2^- e H_2O_2 ³⁶. As EROs produzidas por estas células quando ativadas por microorganismos patogênicos atuam como bactericidas; sendo, portanto, um importante meio de proteção orgânica contra o desenvolvimento de infecções oportunistas. Portanto, a manutenção das defesas antioxidantes químicas e enzimáticas em equilíbrio dinâmico com a formação de EROs no organismo é fundamental para a sua sobrevivência. Na inativação de um agente oxidante ocorre produção de GSSG (Glutathiona oxidada) e depleção de GSH. Em situações em que o sistema de oxido-redução está íntegro, haverá recuperação da GSH. Entretanto, sob condições de excesso de agentes oxidantes e/ou deficiência do sistema protetor, haverá desequilíbrio entre o consumo de GSH e a produção de GSSG, o que caracteriza o estresse oxidativo³⁷. A proporção entre as duas espécies (GSH/GSSG), reflete a capacidade da célula em responder ao ataque oxidativo³⁸.

Apesar de as células possuírem meios de ampliarem suas defesas antioxidantes enzimáticas quando o organismo está sob estresse oxidativo, os fatores controladores deste processo ainda não foram totalmente estabelecidos³⁹.

As glutathionas participam de uma grande variedade de processos metabólicos, de transporte e de detoxificação, os quais protegem as células contra os danos dos radicais livres³⁸.

Considerada a principal enzima detoxificante da Fase II do metabolismo, a GSH desempenha papel fisiológico na iniciação da detoxificação de potenciais agentes alquilantes, incluindo compostos farmacologicamente ativos, gerados intracelularmente ou encontrados na forma de xenobióticos. A reação de conjugação do grupo SH da glutathiona com grupos eletrofílicos de compostos xenobióticos, catalisada pela GST, torna os produtos da reação menos tóxicos e mais solúveis em água, facilitando a excreção^{40,41}.

Participando do sistema de defesa contra os efeitos prejudiciais do estresse oxidativo estão também as enzimas GSTs⁴⁰ que desempenham um papel predominante nos processos de detoxificação, tanto pela conjugação com as glutathionas, como pela ligação não covalente com vários agentes xenobióticos. As GSTs podem ser encontradas na maioria dos organismos vivos, incluindo as formas inferiores tais como bactérias, fungos e plantas. No homem encontram-se sete classes geneticamente distintas de GSTs, das quais duas estão ligadas à membrana e cinco se encontram no citosol da célula, como as alfa (α), mi (μ), pi (π), theta (θ) e kappa (κ)⁴².

Após a reperfusão do rim transplantado, normaliza-se a liberação de oxigênio e de substratos metabólicos. Entretanto, o dano às células tubulares pode continuar em decorrência da formação de radicais livres de oxigênio e do aumento da atividade intracelular da fosfolipase⁴³. O uso de superóxido dismutase recombinante humano (SDO-rh), um removedor dos radicais superóxidos, poderia aliviar o dano de reperfusão, evitando o desenvolvimento de necrose tubular aguda (NTA) e, como consequência, poderia melhorar a sobrevida do enxerto pela minimização dos fatores que levam à DCE⁴⁴. A lesão causada pelo estresse oxidativo no enxerto renal imediatamente após o implante é considerada como maior fator deletério que interfere no sucesso do Tx⁴⁵.

Além da NTA, podem contribuir para a DCE, o uso de drogas nefrotóxicas como os agentes inibidores da calcineurina (ICN)^{46, 47, 48} e infecções sistêmicas graves⁴⁹. Embora tenha sido observado aumento da sobrevida do enxerto no primeiro ano pós – Tx em razão da melhora na profilaxia e no tratamento da rejeição aguda, muitas complicações de longo prazo, permanecem como fator limitante⁴³.

Alguns estudos experimentais mostram que a DRC possui um papel ativo na indução do estresse oxidativo⁵⁰. A DCE é apontada como um estado crônico de inflamação e, portanto, as EROs podem contribuir para a doença renal progressiva. Estudos demonstram que o nível de estresse oxidativo está relacionado com o grau de insuficiência renal^{13, 15, 16, 17, 18, 19}.

Além das EROs promoverem respostas inflamatórias agudas e crônicas, também atuam nas ações hemodinâmicas renais, prejudicando as propriedades de permeabilidade glomerular seletiva, induzindo respostas de crescimento desordenado ou aberrante, causando a perda do fenótipo celular e apoptose¹³. Adicionalmente, as EROs podem ser produzidas pelas células renais (vascular, glomerular ou tubular)²⁰ em decorrência do próprio processo inflamatório e também da utilização de imunossuppressores nefrotóxicos, como os ICN^{22, 51}. Entretanto, é difícil avaliar a contribuição das EROs na DCE, uma vez que essas espécies são produzidas tanto por células infiltrantes da circulação que levam ao processo inflamatório como liberadas pelo próprio rim em estado de inflamação.

Várias pesquisas na área de polimorfismos genéticos ligados à DCE tem sido realizadas pelo nosso grupo. Pavarino-Bertelli et al. (2004) demonstraram que a hiper-homocisteinemia e o polimorfismos C677T e A1298C do gene MTHFR (metilenetetraidrofolato redutase) estão associados com a DCE em pacientes transplantados renais. 52 Por outro lado, não foi observada influência do polimorfismo de deleção do gene ECA (Enzima Conversora da Angiotensina) 53 e dos genes GSTT1 e GSTM1 na DCE renal. 54

Portanto, pesquisas na área de polimorfismos genéticos ligados aos genes das glutatonas se fazem necessárias para determinar a participação da não-detoxificação dos radicais livres na DCE renal.

Referências bibliográficas

1. Oflaz H, Turkmen A, Turgut F, Pamuckcu B, Umman S, Ucar A et al. Changes in endothelial function before and after renal transplantation. *Transpl Int* 2006;19(4):333-7.
2. Silva AAG, Figueiredo MAS. Manifestações estomatológicas em pacientes receptores de transplante renal sob terapia imunossupressora: avaliação clínica de um ano. *Rev Odonto Ciênc* 1998;13(25):49-75.
3. Meng S, Jiamei L. Management of tongue cancer in the patient who is systemically immunosuppressed: a preliminary report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;90(6):689-93.
4. Manfro RC, Gonçalves LFS, Moura LAR. Monitorização seqüencial do transplante renal com citologia aspirativa. *Rev Assoc Med Bras* 1998;44(2):87-93.
5. Castro MCR, Chocair PR, Saldanha LB, Nahas W, Arap S, Sabbaga E et al. Comparação entre diagnósticos clínicos e histológicos no pós-transplante renal. *Rev Assoc Med Bras* 1998;44(2):155-8.
6. Chkhotua AB, Klein T, Shabtai EL, Yussim A, Bar-Nathan N, Shaharabani E et al. Kidney transplantation from living donors: comparison of results between related and unrelated donor transplants under new immunosuppressive protocols. *Isr Med Assoc J* 2003;5(9):622-5.
7. Abel EA. Cutaneous manifestations of immunosuppression in organ transplant recipients. *J Am Acad Dermatol* 1989;21(2 Pt 1):167-79.
8. Martins FPP, Gonçalves RT, Fonseca LMB, Gutfilen B. Correlação do esquema de imunossupressão com complicações pós-operatórias em transplantes renais através do uso da cintilografia renal dinâmica. *Radiol Bras* 2001;34(5):267-72.
9. Ellenhorn JDI, Woodle ES, Ghobreal I, Thistlethwaite JR, Bluestone JA. Activation of human T cells in vivo following treatment of transplant recipients with OKT3. *Transplantation* 1990;50(4):608-12.
10. Ramalho VLC, Ramalho HJ, Cipullo JP, Burdman EA. Hiperplasia gengival induzida por ciclosporina A. *Rev Assoc Med Bras* 2003;49(2):210-3.
11. Vollenbroeker B, Koch JH, Fobker M, Suwelack B, Hohage H, Müller U. Determination of cyclosporine and its metabolites in blood via HPLC-MS and correlation to clinically important parameters. *Transplant Proc* 2005;37(4):1741-4.
12. Campise M, Bamonti F, Novembrino C, Ippolito S, Tarantino A, Cornelli U et al. Oxidative stress in kidney transplant patients. *Transplantation* 2003;76(10):1474-8.
13. Ferreira ALA. Ação de íons Fe+++ no sistema de óxido-redução do glutation e na lipoperoxidação de membrana em eritrócitos humanos [tese]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina; 1994.
14. Cohen MV. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: is this time for clinical trials? *Ann Intern Med* 1989;111(11):918-31.
15. Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol* 1989;70(6):737-57.
16. Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand Suppl* 1980;492:153-68.
17. Southard JH, den Butter B, Marsh DC, Lindell S, Belzer FO. The role of oxygen free radicals in organ preservation. *Klin Wochenschr* 1991;69(21-23):1073-6.
18. Schanaider A. Radicais Livres: Vilões ainda em Estudo. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro, v. 27(158):60-2.

19. Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand Suppl* 1986;548:47-63 apud Campos EBP, Yoshida WB. O papel dos radicais livres na fisiopatologia da isquemia e reperfusão em retalhos cutâneos: modelos experimentais e estratégias de tratamento. *J Vasc Bras* 2004;3(4):357-66.
20. Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery* 1993; 14(3):165-75.
21. Knight KR, Vairo G, Hamilton JA. Regulation of pinocytosis in murine macrophages by colony-stimulating factors and other agents. *J Leukoc Biol* 1992;51(4):350-9.
22. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Inflammation and repair. In: Robbins pathologic basis of disease. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1994. p.51-94.
23. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327(6122):524-6.
24. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990;186:1-85.
25. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43(2):109-42.
26. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87(5):1620-4.
27. Nankivell BJ, Chapman JR. Chronic allograft nephropathy: current concepts and future directions. *Transplantation* 2006;81(5):643-54.
28. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE, Futrell JW. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 1987;79(6):990-7.
29. Ross D, Moldeus P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In Vigo-Pelfrey C, editor. *Membrane lipid oxidation*. Boca Raton: CRC Press; 1991. p.151-70.
30. Hebbel RP. Erythrocyte antioxidants and membrane vulnerability. *J Lab Clin Med* 1986;107(5):401-4.
31. Bedwall RS, Nair N, Sharma MP, Mathur RS. Selenium: its biological perspectives. *Med Hypotheses* 1993;41(2):150-9.
32. Halliwell B. Biochemical mechanisms accounting for the toxic action of oxygen on living organism: the key role of superoxide dismutase. *Cell Bio Int Rep* 1978;2(2):113-28.
33. Rice-Evans C, Baysal E, Flynn D, Kontoghiorghe G. Iron mediated free radical effects on erythrocytes: the role of desferrioxamine. *Biochem Soc Trans* 1986;14:368-9.
34. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74(1):139-62.
35. Curnutte JT, Babior BM. Chronic granulomatous disease. *Adv Human Genet* 1987;16:229-97.
36. Maly FE. The B-lymphocytes: a newly-recognized source of reactive oxygen species with immunoregulatory potential. *Free Radic Res Commun* 1990;8(3):143-8.
37. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 1993;23 Suppl 1:118-26.
38. Da Vega L, Perez Fernández R, Martín Mateo MC, Bustamante J, Bustamante A, Herrero AM et al. Study of activity of glutathione-peroxidase, glutathione-transferase and glutathione-reductase in renal transplants. *Transplant Proc* 2003;35(4):1346-50.
39. Harris ED. Regulations of antioxidant enzymes. *FASEB J* 1992;6(9):2675-83.
40. Onaran I, Güven G, Ozaydin A, Ulutin T. The influence of GSTM1 null genotype on susceptibility to in vitro oxidative stress. *Toxicology* 2001;157(3):195-205.
41. Wheatley JB, Kelley MK, Montali JA, Berry CO, Schmidt Jr DE. Examination of glutathione S-transferase isoenzyme profiles in human liver using high-performance affinity chromatography. *J Chromatogr A* 1994;663(1):53-63.
42. Taningher M, Malacarne D, Izzotti A, Ugolini D, Parodi S. Drug metabolism polymorphisms as modulators of cancer susceptibility. *Mutat Res* 1999;436(3):227-61.
43. Newman J, Abbud FM, Garcia VD. Aspectos clínicos do transplante renal. In: *Transplante de órgãos e tecidos*. São Paulo: Sarvier 1997; 4:143-76.
44. Land W, Schneeberger H, Schleichner S, Illner WD, Abendroth D, Rutili G et al. The beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants. *Transplantation* 1994;57(2):211-7.
45. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*. 1982;47(5):412-26 apud Ha H, Park J, Kim YS, Endou H. Oxidative stress and chronic allograft nephropathy. *Yonsei Med J* 2004;45(6):1049-52.
46. Fellström B. Cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc* 2004;36(2 Suppl):220S-3S.
47. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB 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(2):411-22.
48. Valcarce EG, Martínez JP, Fuentes FL. El aumento de la supervivencia de los trasplantes renales: un reto para la nefrología del siglo XXI. *Arch Med* vol 2 n°2, 2006.
49. Sibley RK, Payne W. Morphologic findings in the renal allograft biopsy. *Semin Nephrol* 1985;5(4):294-306.
50. Campos EBP, Yoshida WB. O papel dos radicais livres na fisiopatologia da isquemia e reperfusão em retalhos cutâneos: modelos experimentais e estratégias de tratamento. *J Vasc Bras* 2004;3 (4):357-66.
51. Lindholm A, Ohlman S, Albuhtsen D, Tufveson G, Persson H, Persson NH. The impact of acute rejection episodes on long-term graft function and outcome in 1347 primary renal transplants treated by 3 cyclosporine regimens. *Transplantation* 1993;56(2): 307-15.
52. Pavarino-Bertelli EC, Sanches de Alvarenga MP, Goloni-Bertollo EM, Baptista MA, Haddad R, Hoerh NF et al. Hyperhomocysteinemia and MTHFR C677T and A1298C polymorphisms are associated with chronic allograft nephropathy in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2004;36(10):2979-81.
53. Biselli PM, Abbud-Filho M, Ferreira-Baptista MA, Sanches de Alvarenga MP, Goloni-Bertollo EM, Pavarino-Bertelli EC. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in chronic allograft nephropathy. *Transplant Proc* 2006;38(5):1327-8.
54. Pagliuso RG. Polimorfismos genéticos de glutathione S-transferases e aspectos demográficos e clínicos em pacientes submetidos a transplante renal. [tese]. São José do Rio Preto: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto; 2006

Correspondência:

Rosana De Gasperi Pagliuso
Departamento de Medicina I – Disciplina de Farmacologia
Av Brigadeiro Faria Lima, 5416 – Vila São Pedro
15090-000 – São José do Rio Preto-SP
Tel: (17)3201-5849
e-mail: rosanagp@famerp.br
