

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

**BRUNA BELLINCANTA NICOLETTO**

**ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO GENE DA ADIPONECTINA E CCL5  
COM DESENVOLVIMENTO DE DIABETES MELITO PÓS-TRANSPLANTE RENAL**

**Porto Alegre**

**2013**

**BRUNA BELLINCANTA NICOLETTO**

**ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO GENE DA ADIPONECTINA E CCL5  
COM DESENVOLVIMENTO DE DIABETES MELITO PÓS-TRANSPLANTE RENAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Santos Gonçalves

**Porto Alegre  
2013**

## CIP - Catalogação na Publicação

Nicoletto, Bruna Bellincanta  
ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO GENE DA  
ADIPONECTINA E CCL5 COM DESENVOLVIMENTO DE DIABETES  
MELITO PÓS-TRANSPLANTE RENAL / Bruna Bellincanta  
Nicoletto. -- 2013.  
77 f.

Orientador: Luiz Felipe Santos Gonçalves.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2013.

1. Transplante renal. 2. Diabetes melito pós-  
transplante. 3. Adiponectina. 4. CCL5. 5.  
Polimorfismo. I. Gonçalves, Luiz Felipe Santos,  
orient. II. Título.

## **DEDICATÓRIA**

A minha mãe, pelo amor e apoio infinitos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais, Rudimar e Jane, pelo apoio e dedicação constantes, e ao meu noivo Rafael pelo amor e cumplicidade.

Ao Professor Luiz Felipe Gonçalves, pela oportunidade, orientação e ensinamentos de grande valia.

Ao Professor Luis Henrique Canani, pela disponibilidade e auxílio na realização deste trabalho.

À Professora Gabriela Corrêa Souza, pela amizade e incentivo constantes na busca de conhecimento, e por todo aprendizado.

Às alunas de iniciação científica Analaura Centenaro e Natasha da Fonseca pela ajuda na coleta de dados, pela amizade e dedicação na pesquisa.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Nefrologia, agradeço o apoio.

Aos colegas do Laboratório de Endocrinologia, em especial à biomédica Taís Assmann, pela amizade e ajuda nas atividades práticas deste trabalho, e à Professora Daisy Crispim, pelas orientações em atividades de laboratório.

Às amigas que, de alguma forma contribuíram na realização deste trabalho, em especial às colegas do Clube de Revista e da Infertilidade, muito obrigada.

Aos funcionários do Serviço de Nefrologia e da zona 12 do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo convívio e apoio. Em especial, à equipe do Ambulatório de Transplante Renal, pelo auxílio na busca de pacientes.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA, agradeço a atenção.

Ao Serviço de Nefrologia e ao Serviço de Endocrinologia do HCPA, pelo espaço concedido.

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa do HCPA e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro.

## RESUMO

**Introdução:** O diabetes melito pós-transplante (DMPT) é uma complicação comum em transplantados renais e está associada a desfechos desfavoráveis. Tanto a adiponectina como a quimiocina ligante 5 (CCL5) têm relação com o metabolismo da glicose, o que permite supor que polimorfismos nesses genes possam levar ao desenvolvimento de DMPT. **Objetivo:** Verificar a associação dos polimorfismos do gene da adiponectina e da CCL5 com DMPT em transplantados renais caucasianos.

**Métodos:** Trata-se de um estudo caso-controle aninhado a uma coorte de transplantados renais do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Duzentos e setenta transplantados renais caucasianos (83 com DMPT e 187 sem DMPT), com pelo menos um ano de transplante, foram incluídos no estudo. Pacientes com diabetes melito pré-transplante e com múltiplos transplantes de órgãos foram excluídos. O diagnóstico de DMPT foi realizado através dos critérios da Associação Americana de Diabetes. Dados sócio-demográficos e clínicos foram coletados. A genotipagem dos polimorfismos 276G/T (rs1501299) do gene da adiponectina e dos polimorfismos rs2280789 e rs3817665 do gene da CCL5 foi realizada pela técnica de discriminação alélica por PCR (*polymerase chain reaction*) em tempo real. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. **Resultados:** O genótipo TT do polimorfismo 276G/T do gene da adiponectina foi mais frequente nos pacientes com DMPT do que naqueles sem diabetes, em comparação aos genótipos GG/GT (modelo recessivo;  $p=0,031$ ). O genótipo TT foi identificado como fator de risco independente para o DMPT em transplantados renais caucasianos, no modelo ajustado para as variáveis: idade no momento do transplante, índice de massa corporal pré-transplante e uso de tacrolimus (TT vs. GG/GT, HR=1,88 IC95% 1,03-3,45,  $p=0,041$ ). Não houve diferença na distribuição dos genótipos e alelos dos polimorfismos rs2280789 e rs3817655 do gene da CCL5 entre os pacientes com e sem DMPT. **Conclusões:** O polimorfismo 276G/T do gene da adiponectina está associado ao DMPT em transplantados renais caucasianos.

**Palavras-chave:** transplante renal, diabetes melito pós-transplante, adiponectina, CCL5, polimorfismo.

## ABSTRACT

**Background:** New onset diabetes after transplantation (NODAT) is an increasingly recognized complication of kidney transplantation that is associated with poor outcomes. Both adiponectin and chemokine ligand 5 (CCL5) are related to glucose metabolism, allowing hypothesize that genetic variation in their genes can lead to development of NODAT. **Objective:** To investigate the association between adiponectin and CCL5 genes polymorphisms with NODAT in Caucasian kidney transplant recipients. **Methods:** This nested case-control study was undertaken within a cohort of kidney transplant recipients from Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Southern Brazil. Two hundred seventy Caucasian kidney transplant recipients (83 with NODAT and 187 without NODAT) with at least one year of transplantation were included in this study. Patients with pretransplant diabetes mellitus and multi-organ transplantation were excluded. NODAT diagnosis was determined by American Diabetes Association criteria. Demographic and clinical data were collected. Subjects were genotyped for 276G/T adiponectin gene polymorphism and rs2280789 and rs3817655 CCL5 gene polymorphisms by real-time PCR (polymerase chain reaction). This study was approved by the Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre and all subjects received adequate information about this study and gave informed consent. **Results:** The TT genotype of 276G/T adiponectin gene polymorphism was significantly more frequent in NODAT than non-NODAT patients, compared to GG/GT genotypes (recessive model;  $p=0.031$ ). TT genotype was identified as an independent risk factor for NODAT in Caucasian kidney transplant recipients, after adjusting for age at transplantation, pretransplant BMI and tacrolimus usage (TT vs. GG/GT, HR=1.88 95%CI 1.03-3.45,  $p=0.041$ ). There were no differences in genotype and allele distributions of rs2280789 and rs3817655 CCL5 gene polymorphisms between NODAT and non-NODAT groups. **Conclusions:** The 276G/T adiponectin gene polymorphism is associated with NODAT in Caucasian kidney transplant recipients.

**Keywords:** kidney transplantation, new onset diabetes after transplantation, adiponectin, CCL5, polymorphism.

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Consequências do desenvolvimento de DMPT e mecanismos associados ..	16
<b>Figura 2.</b> Efeitos da adiponectina no fígado (A) e no músculo esquelético (B) .....	20
<b>Figura 3.</b> Localização do ADIPOQ: Cromossomo 3, região 3q27.....	23
<b>Figura 4.</b> Localização do polimorfismo 276G/T no ADIPOQ: Ítron 2 .....	24
<b>Figura 5.</b> Papel da CCL5 no recrutamento de leucócitos para sítios inflamatórios.....	27
<b>Figura 6.</b> Localização do gene da CCL5: Cromossomo 17, região 17q12 .....	30

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Critérios diagnósticos de DMPT .....	15
<b>Tabela 2.</b> Fatores de risco para DMPT .....	17
<b>Tabela 3.</b> Frequência dos genótipos do polimorfismo 276G/T do ADIPOQ em transplantados renais com e sem DMPT. ....	25
<b>Tabela 4.</b> Frequência dos genótipos dos polimorfismos rs2280789 e rs3817655 do gene da CCL5 em transplantados renais com e sem DMPT. ....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ABTO</b>	Associação Brasileira de Transplante de Órgãos
<b>ACC</b>	Acetil-coenzima A carboxilase
<b>ADA</b>	Associação Americana de Diabetes ( <i>American Diabetes Association</i> )
<b>ADIPOQ</b>	Gene da adiponectina
<b>AMPK</b>	Proteína quinase ativada por AMP
<b>CCL5</b>	Quimiocina ligante 5
<b>CPT1</b>	Carnitina palmitoil transferase 1
<b>DCV</b>	Doença cardiovascular
<b>DM</b>	Diabetes melito
<b>DMPT</b>	Diabetes melito pós-transplante
<b>DRC</b>	Doença renal crônica
<b>GLUT4</b>	Transportador de glicose 4
<b>HbA1c</b>	Hemoglobina glicada
<b>HCPA</b>	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
<b>HLA</b>	Antígenos leucocitários humanos ( <i>human leukocyte antigen</i> )
<b>HR</b>	Razão de azares ( <i>hazard ratio</i> )
<b>IC95%</b>	Intervalo de confiança de 95%
<b>IMC</b>	Índice de massa corporal
<b>IRS-1</b>	Substrato receptor de insulina 1
<b>NCBI</b>	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
<b>OR</b>	Razão de chances ( <i>odds ratio</i> )

<b>p38MAPK</b>	Proteína quinase ativada por mitógeno
<b>PCR</b>	Reação em cadeia da polimerase ( <i>polymerase chain reaction</i> )
<b>PEPCK</b>	Fosfoenol piruvato carboxilase
<b>PI-3</b>	Fosfatidil inositol quinase 3
<b>PPAR</b>	Receptor ativado por proliferador de peroxissomo
<b>RANTES</b>	<i>Regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted</i>
<b>Ref</b>	Referência bibliográfica
<b>RR</b>	Risco relativo
<b>SNPs</b>	Polimorfismos de nucleotídeo único ( <i>single nucleotide polymorphism</i> )
<b>TCF7L2</b>	Fator de transcrição 7-like-2 ( <i>transcription factor 7-like-2</i> )
<b>TG</b>	Triglicerídeos
<b>TNF-α</b>	Fator de necrose tumoral-α
<b>vs.</b>	<i>Versus</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
2.1 TRANSPLANTE RENAL .....	14
2.2 DIABETES MELITO PÓS-TRANSPLANTE RENAL.....	15
<b>2.2.1 Fatores de risco.....</b>	<b>16</b>
2.3 ADIPONECTINA.....	19
<b>2.3.1 Ações da adiponectina .....</b>	<b>19</b>
<b>2.3.2 Adiponectina e transplante renal.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.3 Polimorfismo da adiponectina .....</b>	<b>23</b>
2.4 QUIMIOCINA LIGANTE 5 (CCL5).....	26
<b>2.4.1 Ações da CCL5 .....</b>	<b>26</b>
<b>2.4.2 CCL5 e transplante renal .....</b>	<b>28</b>
<b>2.4.3 Polimorfismo da CCL5 .....</b>	<b>29</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>32</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
<b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO.....</b>	<b>33</b>
<b>5 ARTIGO EM INGLÊS.....</b>	<b>48</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>72</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>73</b>
APÊNDICE I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	74
APÊNDICE II - Ficha para Coleta de Dados .....	76

## 1 INTRODUÇÃO

O transplante é a terapia de substituição renal com melhor custo-efetividade, e proporciona aos pacientes renais crônicos melhor qualidade e expectativa de vida (1, 2). Apesar disso, algumas complicações podem ser observadas em transplantados renais, como o desenvolvimento de diabetes melito (DM) (3).

O diabetes melito pós-transplante (DMPT) renal é comumente observado, apresentando uma prevalência de 4 a 25% (4). O DMPT está associado a desfechos desfavoráveis, como disfunção e perda precoce do enxerto renal, maior risco de infecções e desenvolvimento de doença cardiovascular (DCV) (5-7).

Diversos fatores de risco já foram associados ao DMPT. Eles podem estar relacionados ao processo do transplante e/ou a características do doador ou do receptor. Entre os fatores associados ao transplante renal, os medicamentos imunossupressores, incluindo os corticoesteróides e inibidores da calcineurina, são fortemente evidenciados na literatura (8). Além disso, episódios de rejeição aguda (9) e infecções por citomegalovírus e vírus da hepatite C têm sido apontados como fatores de risco para DMPT (10, 11). Em relação às características do doador, o sexo (12) e o tipo do doador (13, 14) parecem influenciar o desenvolvimento de DMPT. Entretanto, a maioria dos fatores de risco para este desfecho é atribuída a características do receptor, incluindo idade, etnia, obesidade (15), história familiar de diabetes, causa da doença renal crônica (DRC) (16), entre outros.

Além dos fatores de risco já conhecidos, a adiponectina tem sido relacionada ao desenvolvimento de DMPT. Trata-se de uma adipocina secretada exclusivamente pelo tecido adiposo, com propriedades antidiabéticas, antiinflamatórias e antiaterogênicas (17, 18). Existem evidências de que baixos níveis de adiponectina no pré-transplante renal estão associados ao desenvolvimento de DMPT (19-21). Adicionalmente, o polimorfismo 276G/T do gene da adiponectina também já foi associado a este desfecho (22, 23).

Além da adiponectina, polimorfismos no gene da quimiocina ligante 5 (CCL5), como o rs2280789 e rs3817655, também apresentaram associação com DMPT em uma população de transplantados renais (24). A CCL5 é uma proteína pertencente à

família das quimiocinas CC (25) e é expressa por diversas células, como linfócitos T, macrófagos, eosinófilos, fibroblastos, entre outras. Apresenta propriedades quimiotáticas para células T, eosinófilos e basófilos, desempenhando um papel ativo no recrutamento de leucócitos em locais de inflamação, além de induzir a expressão de moléculas de adesão celular (26, 27). Já existem evidências de níveis elevados de CCL5 no transplante renal, já que este processo pode ser entendido como indutor de reação inflamatória (28-30). Além disso, alguns estudos sugerem a associação da CCL5 com o desenvolvimento de DM tipo 2 (31-33).

Diante dos efeitos adversos causados pela DMPT renal, assim como o papel da adiponectina e da CCL5 no metabolismo do diabetes, faz-se importante verificar a associação dos polimorfismos do gene da adiponectina e da CCL5 com o desenvolvimento de DMPT em transplantados renais. Futuramente, a presença destas características genéticas poderá ser utilizada na identificação de pacientes com risco aumentado de DMPT.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 TRANSPLANTE RENAL

De acordo com a Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO), dos 6.839 transplantes realizados em 2011 no Brasil, 72% foram de rim (34). O transplante é a terapia de substituição renal com melhor custo-efetividade, e proporciona aos pacientes renais crônicos melhor qualidade e expectativa de vida (1, 2).

Nas últimas décadas tem sido reconhecida a significativa melhora nas sobrevidas do enxerto e do paciente, entre os receptores de transplante renal. A sobrevida após o transplante varia de 82% em cinco anos para receptores de rim de doadores falecidos a 91,6% para receptores de rim de doadores vivos com抗ígenos leucocitários humanos (HLA) idênticos (35, 36). A terapia imunossupressora, principalmente os inibidores da calcineurina (ciclosporina e tacrolimus) são responsáveis, em parte, pela maior sobrevida dos pacientes transplantados e pela redução na dose de corticoesteróides. Entretanto, o uso da terapia imunossupressora pode trazer efeitos colaterais importantes (37). Algumas complicações são comumente observadas, como episódios de rejeição, perda precoce do enxerto, nefropatia crônica do enxerto, hipertensão, dislipidemias, desenvolvimento de DM e eventos cardiovasculares, que contribuem para a redução da sobrevida do enxerto e do paciente (15, 38, 39).

A DCV é a principal causa de óbito em transplantados renais, sendo responsável por 40 a 55% da mortalidade nessa população (40). Os fatores de risco para a DCV compreendem alterações comuns do pós-transplante, entre elas o desenvolvimento de DM (5).

## 2.2 DIABETES MELITO PÓS-TRANSPLANTE RENAL

O desenvolvimento de diabetes melito pós-transplante (DMPT) é uma complicação comum em transplantados renais. Dados na literatura mostram que a prevalência de DMPT pode variar entre 4 a 25% (4), sendo o risco maior no primeiro ano pós-transplante (41, 42). Entretanto, há relatos de que, no pós-transplante tardio, a incidência de DMPT também é observada (41).

Em 2003, as Diretrizes do Consenso Internacional em Diabetes Melito Pós-Transplante (3) definiram como critério diagnóstico para DMPT a classificação proposta pela Associação Americana de Diabetes (ADA, do inglês *American Diabetes Association*) (43) para DM tipo 2, conforme apresentado na Tabela 1.

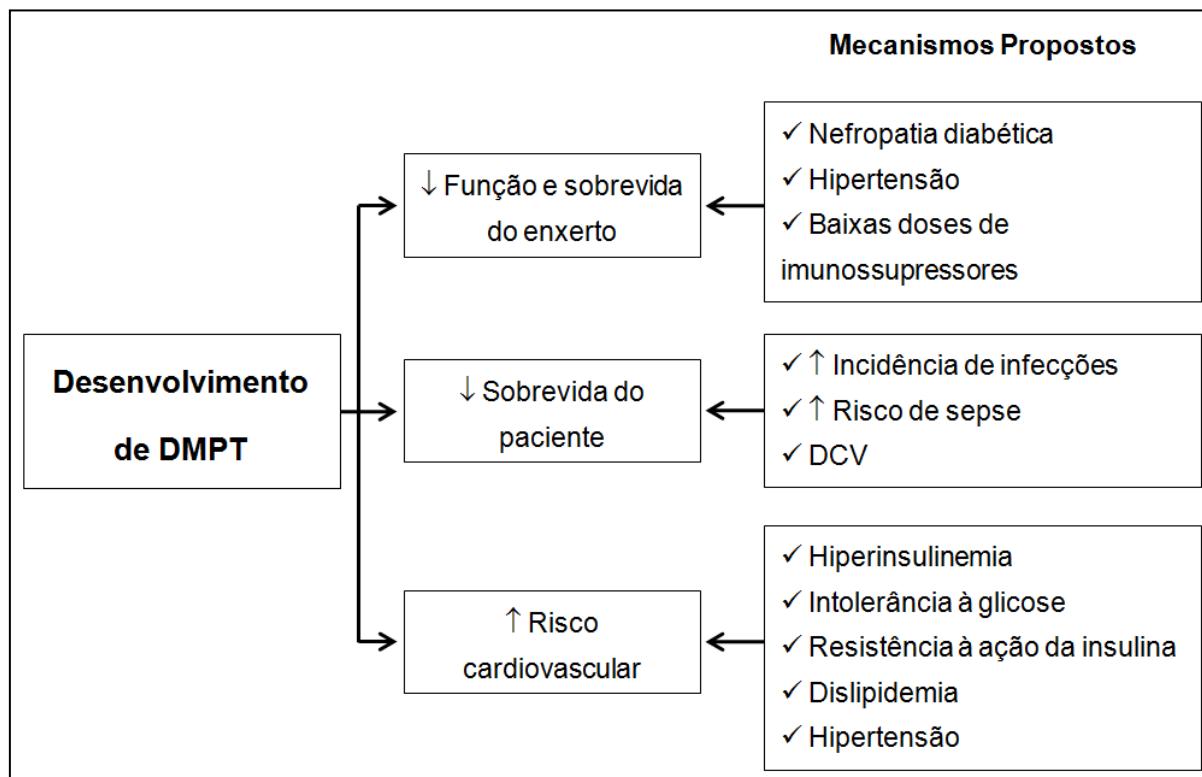
**Tabela 1.** Critérios diagnósticos de DMPT.

- |  |           |
|--|-----------|
| 1) hemoglobina glicada ( $\text{HbA1c}$ ) $\geq 6,5\%$   | <b>OU</b> |
| 2) glicemia em jejum $\geq 126 \text{ mg/dL}$ (jejum de 8h)  | <b>OU</b> |
| 3) glicemia 2h após administração de 75g de glicose $\geq 200\text{mg/dL}$                               | <b>OU</b> |
| 4) paciente apresentando sintomas clássicos de hiperglicemia, somado a glicemia $\geq 200\text{mg/dL}$ . |           |

**Os critérios 1-3 devem ser confirmados por teste de repetição.**

Fonte: Adaptado de ADA, 2012 (43).

Um estudo que avaliou 23.575 transplantados renais a partir de 1990, de 14 centros de transplante mundiais, observou que o DMPT é um fator de risco para doença arterial coronariana (38). Além disso, o DMPT está associado à redução da sobrevida do paciente, aumentando em quase 90% o risco de morte pós-transplante (15). Os mecanismos associados a estas complicações são descritos na Figura 1.



**Figura 1.** Consequências do desenvolvimento de DMPT e mecanismos associados.

DMPT: diabetes melito pós-transplante; DCV: doença cardiovascular.

Fonte: Adaptado de Davidson et al., 2003 (3).

### 2.2.1 Fatores de risco

Diversos fatores de risco têm sido associados ao desenvolvimento de DMPT. Alguns desses fatores se assemelham àqueles já descritos no desenvolvimento de DM tipo 2 na população geral; entretanto, outros são exclusivos de pacientes transplantados (44). Dessa forma, o DMPT renal pode ser associado a fatores relacionados ao processo do transplante, a características do doador, assim como a características do receptor. A Tabela 2 apresenta os principais achados de estudos que avaliaram fatores de risco para desenvolvimento de DMPT renal (9, 13, 15, 16, 45-49).

**Tabela 2.** Fatores de risco para DMPT.

Fator de Risco	Comparação	Medida de efeito (IC95%)	Ref
<b>Características relacionadas ao transplante</b>			
Uso de prednisolona	Usar vs. Não usar	OR = 1,05 (1,01 – 1,10)	(45)
	Usar vs. Não usar	RR = 1,53 (1,29 – 1,81)	(15)
Uso de tacrolimus	Tacrolimus vs. Ciclosporina A	RR = 1,50 (1,33 – 1,68)	(46)
		HR = 2,60 (1,30 – 5,50)	(13)
Rejeição aguda	Sim vs. Não	HR = 2,17 (1,24 – 3,83)	(9)
		HR = 2,00 (1,10 – 4,90)	(13)
Infecções por vírus da hepatite C	Sim vs. Não	RR = 1,33 (1,15 – 1,55)	(15)
		RR = 1,42 (1,15 – 1,74)	(46)
		HR = 3,40 (1,02 – 11,20)	(13)
Infecções por citomegalovírus	Sim vs. Não	OR = 4,00 (1,19 – 13,43)	(47)
<b>Características relacionadas ao doador</b>			
Sexo do doador	Masculino vs. Feminino	RR = 1,12 (1,03 – 1,21)	(15)
	Vivo vs. Falecido	RR = 0,97 (0,87 – 1,08)	(46)
Tipo do doador	Falecido vs. Vivo	HR = 3,70 (1,40 – 9,70)	(13)
<b>Características relacionadas ao receptor</b>			
Idade	18-44 anos (referência)		
	45-59 anos	RR = 1,90 (1,73 – 2,09)	(15)
	> 60 anos	RR = 2,60 (2,32 – 2,92)	
	A cada aumento de 1 ano	HR = 1,05 (1,02 – 1,09)	(9)
	> 45 anos vs. < 45 anos	RR = 2,20; p<0,0001	(48)
Sexo	Feminino vs. Masculino	RR = 0,92 (0,83 – 1,01)	(46)
Etnia	Negros vs. Brancos	RR = 1,68 (1,52 – 1,85)	(15)
	Negros vs. Outros	RR = 1,32 (1,17 – 1,48)	(46)
História familiar de DM	Sim vs. Não	OR = 3,93 (1,25 – 12,42)	(45)
Causa da DRC	Rins policísticos vs. Outros	OR = 11,8; p=0,015 (análise univariada)	(16)
Glicemia pré-transplante	90-100 mg/dL (referência)		
	101-110 mg/dL	OR = 1,50	(49)
	110-125 mg/dL	OR = 7,60; p<0,0001	
Glicemia 1 dia pós-transplante	A cada aumento de 1 mmol/L	HR = 1,46 (1,19 – 1,79)	(9)
IMC pré-transplante	IMC ≥ 30 vs. < 30 kg/m <sup>2</sup>	RR = 1,73 (1,57 – 1,90)	(15)
	IMC 25-30 vs. < 25 kg/m <sup>2</sup>	RR = 1,39 (1,24 – 1,57)	(46)

IC95%: intervalo de confiança de 95%; Ref: referência bibliográfica; vs.: versus; OR: razão de chances (*odds ratio*); RR: risco relativo; HR: razão de azares (*hazard ratio*); DM: diabetes melito; DRC: doença renal crônica; IMC: índice de massa corporal.

No que diz respeito às características do transplante renal, a medicação imunossupressora, incluindo o uso de corticoesteróides e inibidores da calcineurina, é apontada como uma das principais causas para o desenvolvimento de DMPT (8, 45), principalmente por estar envolvida com a resistência à insulina e a diminuição da secreção deste hormônio (50). Entre os inibidores da calcineurina, o uso de tacrolimus parece ser mais diabetogênico que a ciclosporina A (15, 51, 52). Outras características relacionadas ao transplante são episódios de rejeição aguda e infecções (9, 15, 45). Apesar do mecanismo de ação ainda não ser completamente elucidado, o vírus da hepatite C e o citomegalovírus alteram o metabolismo da glicose, e já foram identificados como fatores de risco para DMPT renal (11, 47).

Características atribuídas ao doador do enxerto também têm sido associadas ao DMPT. O sexo do doador parece influenciar este desfecho (15), já em relação ao tipo de doador, os resultados são controversos (13, 14, 46, 48).

Quanto ao receptor, a idade no momento do transplante tem sido identificada como um importante fator de risco para o desenvolvimento de DMPT (5, 16, 48, 53). Da mesma forma, a etnia (15, 46, 48), história familiar de diabetes (45) e causa da DRC (16) já foram associadas ao DMPT renal. O sexo do receptor, entretanto, não parece influenciar este desfecho (15, 46). Têm crescido o número de estudos, também, que avaliam a predisposição genética como um fator de risco para DMPT (44, 54). Diversos polimorfismos têm sido alvo de pesquisas, incluindo os genes da adiponectina (22), da CCL5 (24), de interleucinas (55), do fator de transcrição 7-like-2 (TCF7L2, do inglês *transcription factor 7-like-2*) (56), de canais de potássio (57), entre outros (14).

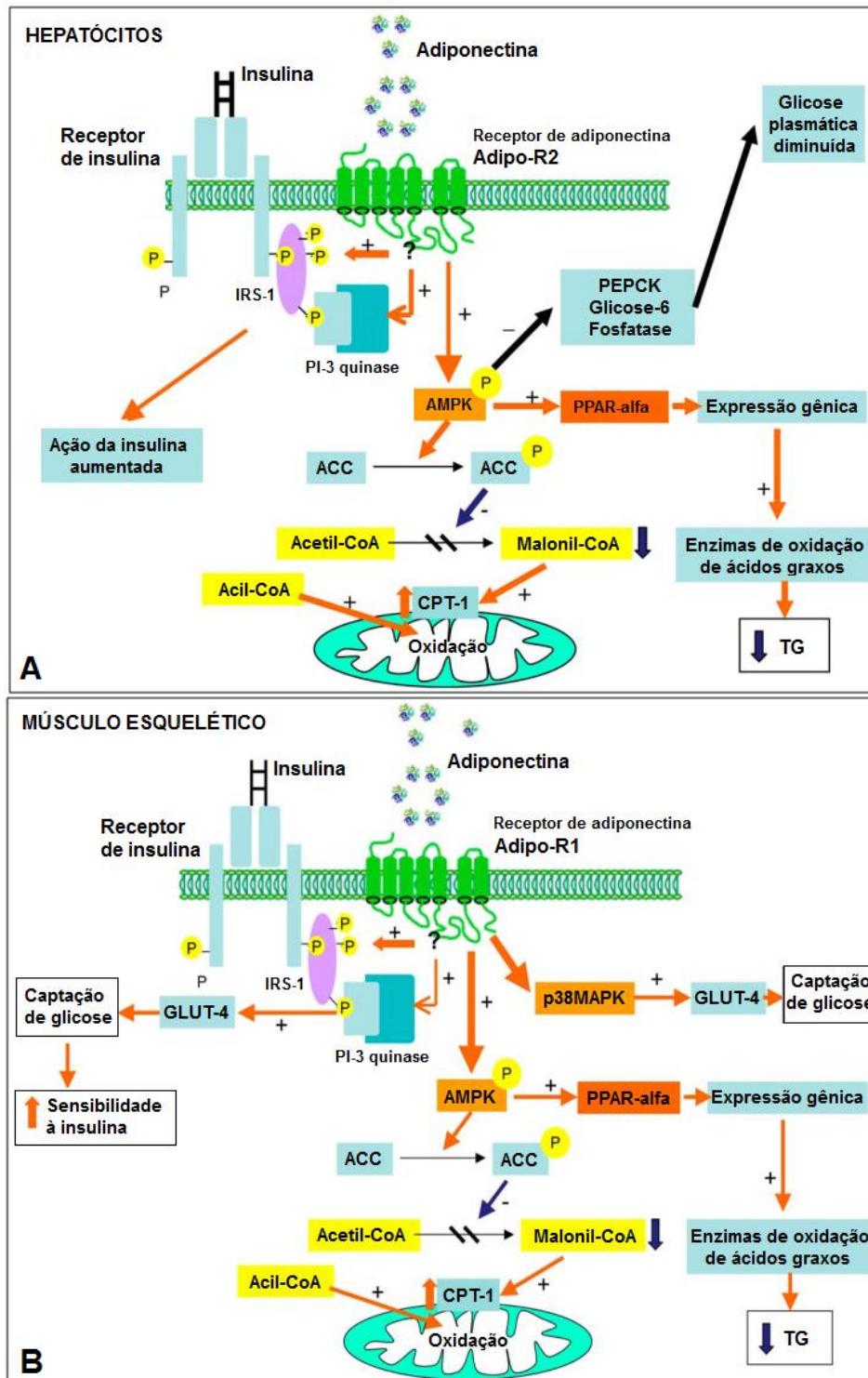
Algumas características do pré-transplante renal também podem influenciar o desenvolvimento de diabetes. Características bioquímicas, como glicemia elevada (49) e níveis de triglicerídeos maiores que 150 mg/dL já foram identificados como fatores de risco para DMPT (5). A presença de síndrome metabólica no pré-transplante também está associada ao DMPT, sendo maior o risco de desfecho em pacientes com mais componentes da síndrome (58, 59). Além disso, a obesidade, vista isoladamente, também contribui para o desenvolvimento de DMPT renal (15, 46, 60).

A relação entre a obesidade e suas desordens metabólicas pode ser explicada, em parte, pelas funções desempenhadas pelo tecido adiposo, no que diz respeito à secreção de diversas adipocinas. Desde a descoberta da leptina, em 1994, o tecido adiposo tem sido estudado como um órgão endócrino, onde as adipocinas por ele secretadas desempenham inúmeras funções no organismo. A adiponectina é uma dessas adipocinas, com um papel importante no metabolismo da glicose e da insulina e, consequentemente, no desenvolvimento do diabetes (17).

## 2.3 ADIPONECTINA

### 2.3.1 Ações da adiponectina

A adiponectina é uma citocina produzida e secretada exclusivamente pelo tecido adiposo. É uma proteína de peso molecular de 30 kDa, com propriedades antidiabéticas, antiinflamatórias e antiaterogênicas (17, 18). Ela exerce suas funções através da ligação com seus receptores Adipo-R1, expresso principalmente no músculo esquelético e Adipo-R2, expresso pelas células hepáticas. A ligação da adiponectina em seus receptores promove a fosforilação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e da acetil-coenzima A carboxilase (ACC). No músculo, a fosforilação destas enzimas ativa transportadores de glicose e promove a oxidação de lipídeos, enquanto no fígado, a gliconeogênese é inibida. Em conjunto, esses fatores são importantes para explicar o efeito da adiponectina na sensibilização da insulina (61). Além disso, a adiponectina parece aumentar a atividade do receptor de insulina tirosina quinase, o que também contribui para a sua função antidiabética (62). A Figura 2 sumariza os efeitos da adiponectina no músculo esquelético e no fígado, através da ligação com seus receptores.



**Figura 2.** Efeitos da adiponectina no fígado (A) e no músculo esquelético (B).

ACC: Acetil-coenzima A carboxilase; AMPK: Proteína quinase ativada por AMP; CPT1: Carnitina palmitoil transferase 1; GLUT4: Transportador de glicose 4; IRS-1: Substrato receptor de insulina 1; PI-3: Fosfatidil inositol quinase 3; p38MAPK: Proteína quinase ativada por mitógeno; PEPCK: Fosfoenol piruvato carboxilase; PPAR: Receptor ativado por proliferador de peroxissomo; TG: Triglicerídeos.

Fonte: Adaptado de Gil-Campos et al., 2004 (62).

Existem relatos, ainda, de que os receptores Adipo-R1 e Adipo-R2 estariam presentes no pâncreas, onde a adiponectina estaria envolvida com a função e sobrevida da célula  $\beta$ -pancreática, reduzindo a sua apoptose (63, 64).

A adiponectina também desempenha um papel antiinflamatório e de prevenção da aterosclerose. O mecanismo de ação tem sido relacionado ao efeito da adiponectina na supressão do fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), que por sua vez é um potente indutor da ativação do fator nuclear kappa-B (65).

A adiponectina está presente em alta concentração no plasma, no entanto, diferente de outras adipocinas, a sua produção é reduzida em indivíduos com depósito elevado de gordura visceral (18). A hipoadiponectinemia é causada pela soma de fatores genéticos e fatores ambientais envolvidos com a gênese da obesidade, como uma dieta rica em gorduras. Existem diversos estudos evidenciando uma correlação negativa entre os níveis de adiponectina e índice de massa corporal (IMC) (17, 62, 66). Na obesidade, os adipócitos estão hipertrofiados, o que causaria uma menor secreção desta adipocina, levando a inúmeras alterações metabólicas (64). A redução nos níveis séricos de adiponectina induzida pelo acúmulo de gordura visceral está associada à inflamação, resistência insulínica, DM tipo 2, dislipidemias e desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares (18, 67).

Diversos estudos evidenciam que pacientes com DM tipo 2 apresentam hipoadiponectinemia (17, 68-70). Da mesma forma, uma concentração adequada de adiponectina favorece a prevenção do diabetes. Em uma meta-análise com 13 estudos, um total de 14.598 participantes e 2.623 casos de DM tipo 2, observou-se que maiores níveis de adiponectina estão associados a uma redução no risco de desenvolvimento de DM tipo 2 (71).

### **2.3.2 Adiponectina e transplante renal**

Diversos estudos clínicos têm identificado níveis elevados de adiponectina no momento pré-transplante renal (72-74). Após o transplante, a concentração de

adiponectina diminui (73, 74), porém, alguns estudos apontam que transplantados renais permanecem com níveis mais elevados quando comparados à população em geral (74, 75). A explicação para a hiperadiponectinemia pré-transplante ainda não está completamente elucidada, entretanto, acredita-se que a diminuição da função renal exerce influência sobre os níveis de adiponectina. Além disso, o próprio estado urêmico poderia estar associado à elevação desta adipocina no plasma, porém, os mecanismos não são conhecidos (72).

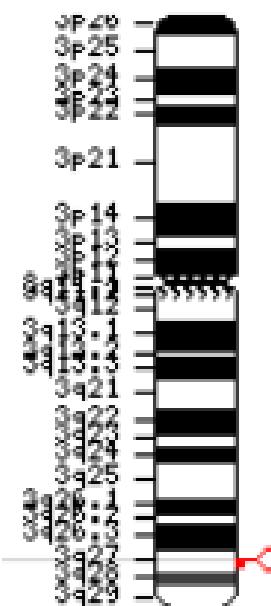
A literatura aponta que maiores concentrações de adiponectina no pré-transplante renal estão associadas a melhores desfechos no pós-transplante. Estudos já demonstraram que os níveis dessa adipocina estão associados inversamente com o risco de desenvolvimento de aterosclerose pós-transplante renal (76), assim como com a perda do enxerto (77).

Em relação ao desenvolvimento de DMPT, alguns estudos relatam que existe associação com baixos níveis de adiponectina (19-21). Mais do que esta relação, há evidências de que a sua concentração no pré-transplante renal é fator preditor independente de DMPT (19, 20). Um estudo que avaliou 199 transplantados renais, considerando que 45 desenvolveram diabetes após  $69 \pm 38$  meses de transplante, observou que uma concentração de 11,4 µg/mL de adiponectina no pré-transplante renal estima risco de DMPT com sensibilidade de 81% e especificidade de 70% (19). Além disso, a literatura aponta que pacientes com baixos níveis de adiponectina no pré-transplante renal têm 6,9 vezes mais chances de desenvolver DMPT em 6 anos pós-transplante (78). Diferente destes achados, um estudo que avaliou pacientes por um período de 3 e 12 meses pós-transplante não encontrou associação da adiponectina pré-transplante com DMPT neste período (73).

Além do impacto da concentração da adiponectina observada no período pré-transplante renal, os níveis dosados no pós-transplante também estão associados ao DMPT. Menores níveis de adiponectina são observados em pacientes com DMPT quando comparados àqueles sem diabetes (21).

### 2.3.3 Polimorfismo da adiponectina

Os níveis de adiponectina são em parte determinados por fatores genéticos (17). O gene da adiponectina (ADIPOQ) está localizado no cromossomo 3, na região 3q27 (Figura 3). Esse mesmo lócus contém genes relacionados com o aumento da resistência à insulina, obesidade e DM tipo 2 (79). Variações no ADIPOQ podem influenciar os níveis e funções da adiponectina, e frequentemente estão relacionadas a desordens no metabolismo da glicose e insulina (80).



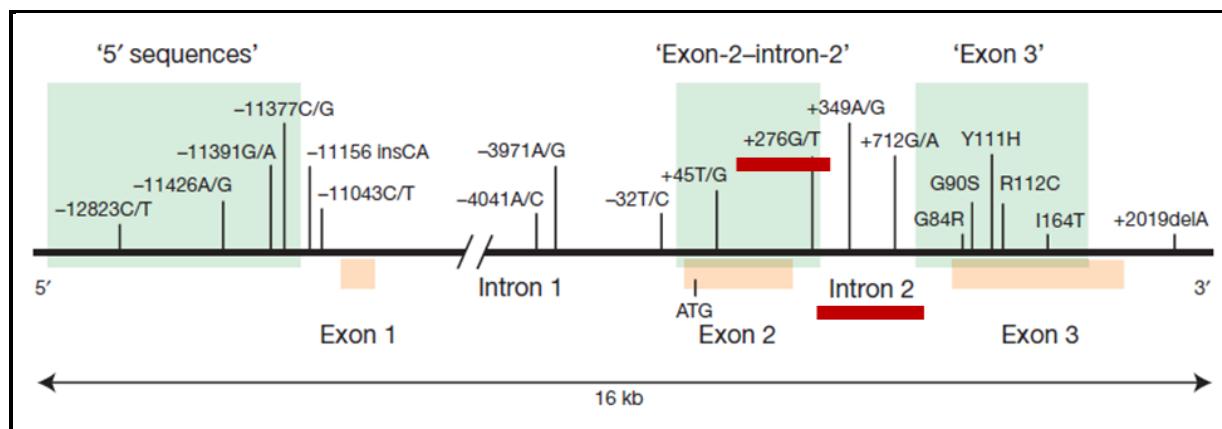
**Figura 3.** Localização do ADIPOQ: Cromossomo 3, região 3q27.

Fonte: Map Viewer. In Gene / National Center for Biotechnology Information (NCBI) (81).

Diversos estudos têm identificado a associação entre polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *single nucleotide polymorphism*) do gene da adiponectina com a concentração plasmática dessa adipocina (82, 83), assim como com a resistência insulínica e o DM tipo 2 (82-87). O DMPT também tem sido associado a polimorfismos do ADIPOQ, entretanto, a população estudada geralmente é a oriental (22, 23). Apesar disso, em artigo de revisão sobre os polimorfismos da adiponectina e suas desordens metabólicas, o autor mostra a

relação dos SNPs com obesidade, resistência à insulina, DM tipo 2 e doenças cardiovasculares, em diversos grupos étnicos (84).

Um dos polimorfismos do gene da adiponectina que tem sido bastante estudado é o 276G/T, identificado também por rs1501299, que se localiza no íntron 2 do ADIPOQ (Figura 4). Esse polimorfismo já foi associado a níveis de adiponectina (88), resistência insulínica, DM tipo 2 (85, 86) e também ao DMPT (22, 23).



**Figura 4.** Localização do polimorfismo 276G/T no ADIPOQ: Íntron 2.

Fonte: Adaptado de Vasseur et al., 2006 (80).

A associação do polimorfismo 276G/T com o DM tipo 2 é avaliada por diversos estudos, contudo, os resultados são controversos. Além da divergência entre alguns trabalhos que encontraram e outros que não observaram associação, há discrepâncias também em relação ao alelo que confere risco (85, 86, 89-92). A etnia parece influenciar essas diferenças (91). Estudo com a população japonesa relatou que portar o alelo G estaria associado à hipoadiponectinemia, resistência insulínica e risco 1,7 vezes maior de desenvolver DM tipo 2, enquanto o alelo T teria um fator protetor para esses desfechos (85). Ao contrário desses achados, outro estudo, este em europeus, não observou associação do SNP 276G/T com DM tipo 2 (93). Além disso, em relação a desfechos de doença cardiovascular em indivíduos diabéticos, alguns estudos suportam a hipótese de que o alelo G confere risco (94, 95), enquanto outros discordam, indicando que o alelo T estaria associado a desfechos desfavoráveis, incluindo, além da DCV (96), maior risco para síndrome metabólica em pacientes diabéticos (97).

Além das evidências da associação do SNP 276G/T com o DM tipo 2, existem estudos que avaliaram este polimorfismo em relação ao desenvolvimento do DMPT, porém a população investigada é oriental (22, 23, 98). Recentemente, um estudo de coorte avaliou 575 transplantados renais coreanos por um período mediano de 10 anos. Depois de verificarem a associação entre DMPT e diversos polimorfismos da adiponectina e do seu receptor Adipo-R1, observaram significância estatística para o SNP 276G/T do ADIPOQ. Nessa população, homens portadores do genótipo TT apresentam 2,5 vezes mais risco de desenvolver DMPT que aqueles com genótipo GG (22). Em contrapartida, um estudo com a população chinesa, observou maior frequência do alelo G em transplantados renais com DMPT, além de maior risco de desenvolvimento de diabetes atribuído ao genótipo GG em comparação ao GT (23). Somando-se a estes resultados divergentes, outro estudo, também em coreanos, não encontrou associação do polimorfismo em questão com o DMPT. Entretanto, esse estudo teve um curto período de acompanhamento e um pequeno tamanho amostral, onde comparou 10 pacientes que desenvolveram DMPT em 6 meses pós-transplante com outros 60 que não desenvolveram, limitando assim o poder estatístico da análise (98). As frequências dos genótipos entre os transplantados renais que desenvolveram ou não diabetes nos dois primeiros estudos são apresentadas na Tabela 3. O terceiro estudo (98), entretanto, apresenta as frequências para a população total de transplantados renais, sendo o percentual de pacientes com os genótipos GG 53,9%, GT 41,5% e TT 4,6%.

**Tabela 3.** Frequência dos genótipos do polimorfismo 276G/T do ADIPOQ em transplantados renais com e sem DMPT.

Genótipos	Kang et al., 2012 (22)		Yu et al., 2011 (23)	
	Com DMPT (%)	Sem DMPT (%)	Com DMPT (%)	Sem DMPT (%)
<b>GG</b>	45,4	51,3	56,7	40,9
<b>GT</b>	40,3	39,4	35,1	49,5
<b>TT</b>	14,3	8,5	8,2	9,6

DMPT: diabetes melito pós-transplante.

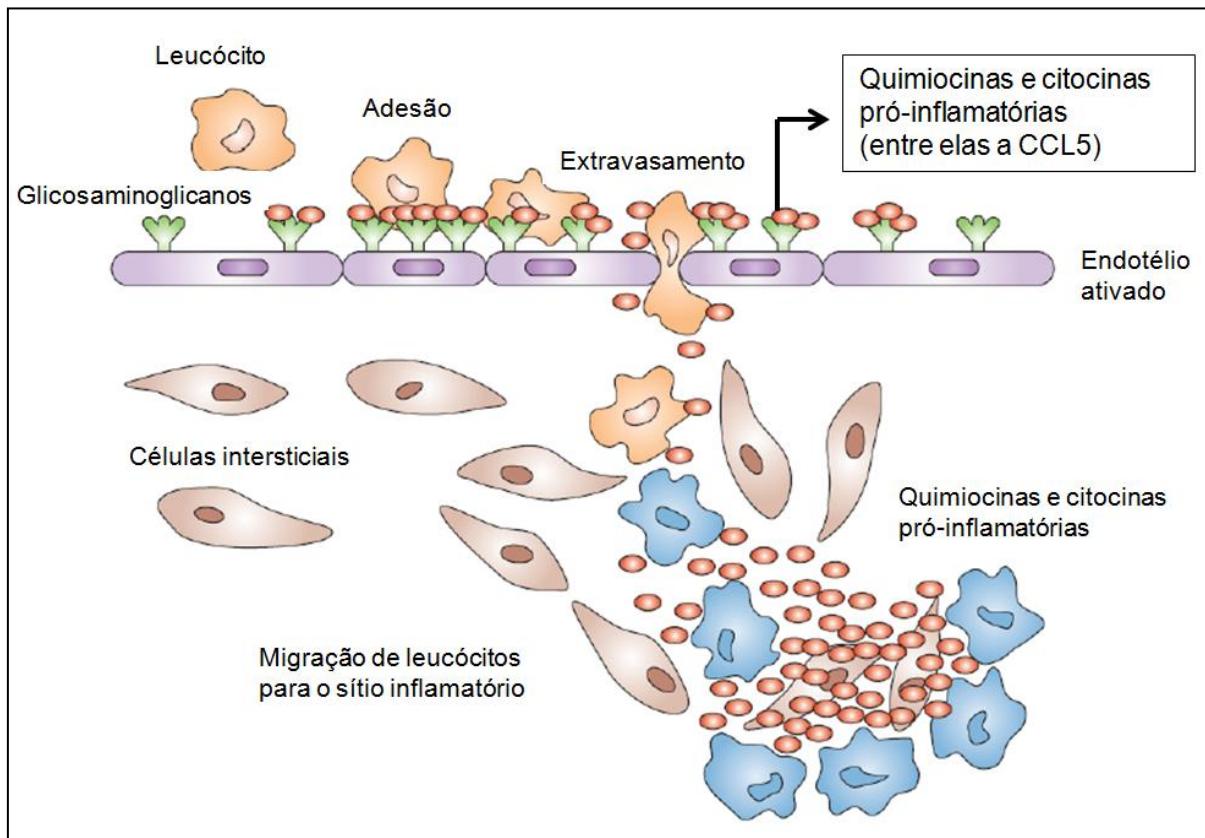
Fonte: Kang et al., 2012 (22) e Yu et al., 2011 (23).

## 2.4 QUIMIOCINA LIGANTE 5 (CCL5)

### 2.4.1 Ações da CCL5

Outros genes têm sido estudados em relação ao seu envolvimento com DMPT renal, como o gene da CCL5, também conhecida como RANTES (do inglês *regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*) (24). A CCL5 é uma proteína de 8 kDa, pertencente à família das quimiocinas CC (25). É expressa por diversas células, como linfócitos T, macrófagos, eosinófilos, fibroblastos, plaquetas, células endoteliais, intersticiais e epiteliais, entre outras. A CCL5 é quimiotática para células T, eosinófilos e basófilos, desempenhando um papel ativo no recrutamento de leucócitos em locais de inflamação, além de induzir a expressão de moléculas de adesão celular (26, 27). A CCL5 exerce suas funções quimiotáticas através da ligação em um de seus receptores CCR1, CCR3, CCR4 ou CCR5. Já as suas funções de expressão de moléculas de adesão celular e rolamento de leucócitos para o sítio inflamatório ocorrem através da ligação da CCL5 com receptores glicosaminoglicanos (26). A regulação da expressão dessa quimiocina é complexa, envolvendo uma série de moléculas e reações. Na indução da resposta inflamatória, células apresentadoras de抗ígenos, linfócitos T ativados e células *natural killers*, na presença de outras citocinas inflamatórias levam ao aumento de produção de células T auxiliares 1, que por sua vez, expressam receptores da CCL5. Dessa forma, a proteína CCL5 liga-se a seu receptor e desenvolve suas funções, como o recrutamento de leucócitos para sítios inflamatórios (99).

A Figura 5 demonstra a participação da CCL5 no processo inflamatório. As células intersticiais secretam quimiocinas, entre elas a CCL5, em locais onde há inflamação. Essas quimiocinas migram para o sangue e atraem leucócitos para a região lesada. Além disso, as quimiocinas induzem a expressão de moléculas de adesão celular, como glicosaminoglicanos. Os leucócitos, então, se aderem a estas moléculas e migram para o sítio inflamatório (99).



**Figura 5.** Papel da CCL5 no recrutamento de leucócitos para sítios inflamatórios.

CCL5: quimocina ligante 5.

Fonte: Adaptado de Krensky & Ahn, 2007 (99).

Sabe-se que a obesidade está fortemente associada a um quadro inflamatório. A literatura indica que há uma grande quantidade de linfócitos T presentes no tecido adiposo de obesos. Com isso, há secreção de quimiocinas, como a CCL5, atraindo mais leucócitos para a região e contribuindo para o processo inflamatório (100). Existem evidências da participação da CCL5 no recrutamento de monócitos para o tecido adiposo. Além disso, a CCL5 apresenta propriedades antiapoptóticas sobre macrófagos deste tecido, o que permite maior sobrevida para essas células e, consequentemente, maior inflamação (101). Estudos prévios corroboram com estes achados, indicando que indivíduos obesos apresentam concentrações de CCL5 maiores do que aqueles com IMC < 30 kg/m<sup>2</sup> (102). Em ratos, foi observada uma correlação negativa entre os níveis de CCL5 e a concentração de adiponectina, indicando a relação entre a secreção desregulada de adipocinas e o processo inflamatório presentes na obesidade (103). A adiponectina

também parece ter uma relação com o CCL5, diminuindo sua concentração a partir de monócitos. Além disso, nesse mesmo estudo, observou-se que esta ação da adiponectina fica comprometida em obesos e em pacientes com DM tipo 2 (104).

Evidenciando que as quimiocinas estão envolvidas com a infiltração de macrófagos no tecido adiposo, tem sido sugerido um papel importante da CCL5 no desenvolvimento de doenças relacionadas à obesidade, como o DM tipo 2. Um estudo que avaliou 1.653 pacientes demonstrou que aqueles com DM tipo 2 e até mesmo com intolerância à glicose apresentam maiores níveis de CCL5 que normoglicêmicos. Além disso, em modelo de regressão logística, a CCL5 manteve associação com DM tipo 2, mesmo com ajuste para diversas variáveis (31). Outros estudos também apontam níveis elevados de CCL5 em pacientes diabéticos tipo 2 (32, 33). Os mecanismos que envolvem essa relação não estão completamente elucidados. A relação entre níveis de CCL5 e diabetes tem sido mais estudada na patogênese do DM tipo 1, caracterizado por uma doença autoimune. Nessa condição, as células T desempenham um papel deletério importante nas células  $\beta$ -pancreáticas, onde ocorre maior infiltração e destruição. Nesse processo, há expressão de receptores da CCL5 na superfície da célula T, indicando a participação desta quimiocina na indução do diabetes (105).

#### **2.4.2 CCL5 e transplante renal**

Há evidências de que em pacientes com DRC, ou seja, no momento pré-transplante renal, as concentrações plasmáticas de CCL5 são maiores do que em indivíduos saudáveis. A DRC está associada a um processo inflamatório, onde diversas citocinas e quimiocinas são expressas pelas células renais e atraem leucócitos para este tecido (28). Existem relatos de que a expressão de CCL5 está aumentada em doenças como glomerulonefrite, síndrome nefrótica, insuficiência renal aguda e até mesmo na progressão da DRC (99).

O transplante renal também pode ser entendido como um processo indutor de reação inflamatória, onde o órgão do doador é apresentado ao sistema imune do receptor, desencadeando processos mediados por citocinas e quimiocinas. Sendo

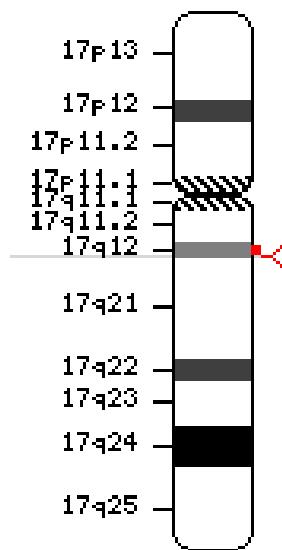
assim, alguns estudos evidenciam que os níveis de CCL5 estão elevados em transplantados renais (28-30). A literatura aponta que no período imediato após o transplante, tanto a concentração urinária (29), como os níveis sanguíneos (28, 29) e a expressão gênica de CCL5 (30) são maiores em pacientes transplantados renais do que em indivíduos saudáveis. Entre os transplantados renais, o tipo de doador parece influenciar os níveis séricos de CCL5 logo após o transplante. Um estudo identificou que pacientes receptores de rins de doadores falecidos apresentam maior expressão gênica de CCL5. De acordo com os autores, o maior tempo de isquemia fria estaria envolvido com esse achado, já que a reperfusão de um tecido isquêmico está associada com a expressão de diversas moléculas atribuídas ao processo inflamatório (106).

Apesar da escassez de estudos robustos que avaliem a concentração de CCL5 em diferentes períodos do transplante renal, há relatos de que os níveis plasmáticos dessa quimiocina tendem a se manter elevados nos dois primeiros anos após o transplante. Nesse momento, os níveis de CCL5 se assemelham aos observados na DRC e são significativamente maiores do que na população saudável. Em períodos posteriores do transplante renal, há uma diminuição na concentração de CCL5 em comparação a pacientes urêmicos; porém, em relação a indivíduos saudáveis, os níveis se mantêm mais elevados (28).

Em relação aos desfechos pós-transplante renal, tanto a rejeição aguda, como crônica, têm sido associadas a níveis elevados de CCL5 por diversos estudos (28, 107, 108). Entretanto, em relação à concentração dessa quimiocina e o desenvolvimento de DMPT, a literatura carece de evidências.

#### **2.4.3 Polimorfismo da CCL5**

O gene da CCL5 está localizado no cromossomo 17, na região 17q12 (Figura 6). Esse mesmo lócus contém genes de outras quimiocinas da família CC (109).



**Figura 6.** Localização do gene da CCL5: Cromossomo 17, região 17q12.

Fonte: Map Viewer. In Gene / NCBI (110).

Os polimorfismos do gene da CCL5 já foram associados às concentrações dessa quimiocina (109, 111, 112), além de uma série de outras doenças, como asma, lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide e esclerose múltipla (113). O desenvolvimento de nefropatia diabética também já foi associado a variações no gene da CCL5 em pacientes com DM tipo 2 (114).

Entre os polimorfismos da CCL5, são estudados o rs2280789 (T/C), localizado no íntron 1 do gene, e o rs3817655 (T/A), no íntron 2. Em pacientes renais em hemodiálise com DM tipo 2, o SNP rs2280789, também identificado como In1.1T/C, esteve associado com mortalidade por todas as causas, onde o alelo C conferiu maior risco para este desfecho (115). Este mesmo polimorfismo se associou à rejeição aguda em um estudo envolvendo 261 transplantados renais (116). Em relação ao desenvolvimento de diabetes, ambos os polimorfismos não apresentaram associação com a incidência de DM tipo 2 em um estudo prospectivo realizado na Alemanha (111).

Apesar das evidências dos SNPs rs2280789 e rs3817655 com DM tipo 2, em relação ao desenvolvimento de DMPT, já foi demonstrada a sua associação com esses polimorfismos. Um estudo com população coreana avaliou 311 transplantados renais de três centros de transplante do país, no período de 2008 a 2009. Dos

pacientes acompanhados, 56 desenvolveram DMPT e foram comparados com os pacientes sem diabetes. Houve uma diferença significativa entre as frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos avaliados entre os grupos com e sem DMPT (Tabela 4). Assumindo-se um modelo recessivo, indivíduos com o genótipo CC para o SNP rs2280789 ou AA para o SNP rs3817655 apresentam aproximadamente 2 vezes mais chance de desenvolvimento de DMPT que os transplantados renais com outros genótipos (24).

**Tabela 4.** Frequência dos genótipos dos polimorfismos rs2280789 e rs3817655 do gene da CCL5 em transplantados renais com e sem DMPT.

Polimorfismos	Genótipos	Com DMPT (%)	Sem DMPT (%)
<b>rs2280789</b>	<b>TT</b>	25,0	39,6
	<b>TC</b>	48,2	46,3
	<b>CC</b>	26,7	14,1
<b>rs3817655</b>	<b>TT</b>	23,6	39,4
	<b>TA</b>	47,3	46,1
	<b>AA</b>	29,1	14,5

DMPT: diabetes melito pós-transplante.

Fonte: Jeong et al., 2010 (24).

Diante das evidências que indicam a relação entre características genéticas e desenvolvimento de diabetes, estudos que avaliem os polimorfismos da adiponectina e CCL5 em transplantados renais poderiam adicionar informação sobre a associação com o DMPT.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a associação dos polimorfismos 276G/T do gene da adiponectina e rs2280789 e rs3817655 do gene da CCL5 com DMPT em transplantados renais caucasianos.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Verificar a associação do polimorfismo 276G/T do gene da adiponectina com DMPT, a partir da comparação das frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo em transplantados renais com e sem DMPT;

-Verificar a associação do polimorfismo rs2280789 do gene CCL5 com DMPT, a partir da comparação das frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo em transplantados renais com e sem DMPT;

-Verificar a associação do polimorfismo rs3817655 do gene CCL5 com DMPT, a partir da comparação das frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo em transplantados renais com e sem DMPT.

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO

1. Ogutmen B, Yildirim A, Sever MS, Bozfakioglu S, Ataman R, Erek E, et al. Health-related quality of life after kidney transplantation in comparison intermittent hemodialysis, peritoneal dialysis, and normal controls. *Transplant Proc* 2006; 38(2): 419-21.
2. Haller M, Gutjahr G, Kramar R, Harnoncourt F, Oberbauer R. Cost-effectiveness analysis of renal replacement therapy in Austria. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(9): 2988-95.
3. Davidson J, Wilkinson A, Dantal J, Dotta F, Haller H, Hernandez D, et al. New-onset diabetes after transplantation: 2003 International Consensus Guidelines. Proceedings of an international expert panel meeting. Barcelona, Spain, 19 February 2003. *Transplantation* 2003; 75(10 Suppl): SS3-24.
4. Pham PT, Pham PM, Pham SV, Pham PA, Pham PC. New onset diabetes after transplantation (NODAT): An overview. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2011; 4: 175-86.
5. Siraj ES, Abacan C, Chinnappa P, Wojtowicz J, Braun W. Risk factors and outcomes associated with posttransplant diabetes mellitus in kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 2010; 42(5): 1685-9.
6. Vincenti F, Friman S, Scheuermann E, Rostaing L, Jenssen T, Campistol JM, et al. Results of an international, randomized trial comparing glucose metabolism disorders and outcome with cyclosporine versus tacrolimus. *Am J Transplant* 2007; 7(6): 1506-14.
7. Heisel O, Heisel R, Balshaw R, Keown P. New onset diabetes mellitus in patients receiving calcineurin inhibitors: A systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant* 2004; 4(4): 583-95.

8. Mora PF. New-onset diabetes after renal transplantation. *J Investig Med* 2010; 58(6): 755-63.
9. Bee YM, Tan HC, Tay TL, Kee TY, Goh SY, Kek PC. Incidence and risk factors for development of new-onset diabetes after kidney transplantation. *Ann Acad Med Singapore* 2011; 40(4): 160-7.
10. Leung Ki EL, Venetz JP, Meylan P, Lamoth F, Ruiz J, Pascual M. Cytomegalovirus infection and new-onset post-transplant diabetes mellitus. *Clin Transplant* 2008; 22(2): 245-9.
11. Fabrizi F, Martin P, Dixit V, Bunnapradist S, Kanwal F, Dulai G. Post-transplant diabetes mellitus and HCV seropositive status after renal transplantation: Meta-analysis of clinical studies. *Am J Transplant* 2005; 5(10): 2433-40.
12. Sharif A, Baboolal K. Risk factors for new-onset diabetes after kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol* 2010; 6(7): 415-23.
13. Gourishankar S, Jhangri GS, Tonelli M, Wales LH, Cockfield SM. Development of diabetes mellitus following kidney transplantation: A Canadian experience. *Am J Transplant* 2004; 4(11): 1876-82.
14. Yang J, Hutchinson II, Shah T, Min DI. Genetic and clinical risk factors of new-onset diabetes after transplantation in hispanic kidney transplant recipients. *Transplantation* 2011; 91(10): 1114-9.
15. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D, Matas AJ. Diabetes mellitus after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2003; 3(2): 178-85.
16. Razeghi E, Heydarian P, Amerian M, Pourmand G. The risk factors for diabetes mellitus after kidney transplantation. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2010; 21(6): 1038-43.

17. Waki H, Tontonoz P. Endocrine functions of adipose tissue. *Annu Rev Pathol* 2007; 2: 31-56.
18. Matsuzawa Y. Adiponectin: A key player in obesity related disorders. *Curr Pharm Des* 2010; 16(17): 1896-901.
19. Bayes B, Granada ML, Pastor MC, Lauzurica R, Salinas I, Sanmarti A, et al. Obesity, adiponectin and inflammation as predictors of new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2007; 7(2): 416-22.
20. Bayes B, Lauzurica R, Granada ML, Serra A, Bonet L, Fontserè N, et al. Adiponectin and risk of new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation. *Transplantation* 2004; 78(1): 26-30.
21. Nishimura K, Kishikawa H, Kato T, Kobayashi Y, Fujii N, Takahara S, et al. Tacrolimus and angiotensin receptor blockers associated with changes in serum adiponectin level in new-onset diabetes after renal transplantation: Single-center cross-sectional analysis. *Transpl Int* 2009; 22(7): 694-701.
22. Kang ES, Magkos F, Kim BS, Zhai R, Su L, Kim YS, et al. Variants of the adiponectin and adiponectin receptor-1 genes and posttransplantation diabetes mellitus in renal allograft recipients. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(1): E129-35.
23. Yu AR, Xin HW, Wu XC, Fan X, Liu HM, Li G, et al. Adiponectin gene polymorphisms are associated with posttransplantation diabetes mellitus in chinese renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2011; 43(5): 1607-11.
24. Jeong KH, Moon JY, Chung JH, Kim YH, Lee TW. Significant associations between CCL5 gene polymorphisms and post-transplantational diabetes mellitus in korean renal allograft recipients. *Am J Nephrol* 2010; 32(4): 356-61.
25. Rollins BJ. Chemokines. *Blood*. 1997; 90(3): 909-28.

26. Appay V, Rowland-Jones SL. RANTES: A versatile and controversial chemokine. *Trends Immunol* 2001; 22(2): 83-7.
27. Levy JA. The unexpected pleiotropic activities of RANTES. *J Immunol* 2009; 182(7): 3945-6.
28. Corsi MM, Leone G, Fulgenzi A, Wasserman K, Leone F, Ferrero ME. RANTES and MCP-1 chemokine plasma levels in chronic renal transplant dysfunction and chronic renal failure. *Clin Biochem* 1999; 32(6): 455-60.
29. Baer PC, Koziolek M, Fierlbeck W, Geiger H. CC-chemokine RANTES is increased in serum and urine in the early post-transplantation period of human renal allograft recipients. *Kidney Blood Press Res* 2005; 28(1): 48-54.
30. Li Q, Wang D, Wang Y, Xu Q. Sirravastatin down regulates mRNA expression of RANTES and CCR5 in posttransplant renal recipients with hyperlipidemia. *Transplant Proc* 2006; 38(9): 2899-904.
31. Herder C, Haastert B, Müller-Scholze S, Koenig W, Thorand B, Holle R, et al. Association of systemic chemokine concentrations with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes: Results from the Cooperative Health Research in the Region of Augsburg Survey S4 (KORA S4). *Diabetes* 2005; 54: S11-S7.
32. Herder C, Peltonen M, Koenig W, Kraft I, Müller-Scholze S, Martin S, et al. Systemic immune mediators and lifestyle changes in the prevention of type 2 diabetes: Results from the Finnish diabetes prevention study. *Diabetes* 2006; 55(8): 2340-6.
33. Nomura S, Shouzu A, Omoto S, Nishikawa M, Fukuhara S. Significance of chemokines and activated platelets in patients with diabetes. *Clin Exp Immunol* 2000; 121(3): 437-43.
34. Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO). Registro Brasileiro de Transplantes. Ano XVII n 4 Jan/Dez 2011.

35. Serur D, Saal S, Wang J, Sullivan J, Bologna R, Hartono C, et al. Deceased-donor kidney transplantation: Improvement in long-term survival. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(1): 317-24.
36. Narayanan R, Cardella CJ, Cattran DC, Cole EH, Tinckam KJ, Schiff J, et al. Delayed graft function and the risk of death with graft function in living donor kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2010; 56(5): 961-70.
37. Yabu JM, Vincenti F. Kidney transplantation: The ideal immunosuppression regimen. *Adv Chronic Kidney Dis* 2009; 16(4): 226-33.
38. Israni AK, Snyder JJ, Skeans MA, Peng Y, Maclean JR, Weinhandl ED, et al. Predicting coronary heart disease after kidney transplantation: Patient Outcomes in Renal Transplantation (PORT) Study. *Am J Transplant* 2010; 10(2): 338-53.
39. Cosio FG, Pesavento TE, Kim S, Osei K, Henry M, Ferguson RM. Patient survival after renal transplantation: IV. Impact of post-transplant diabetes. *Kidney Int* 2002; 62(4): 1440-6.
40. Fernández-Fresnedo G, Rodrigo E, Valero R, Arias M. Traditional cardiovascular risk factors as clinical markers after kidney transplantation. *Transplant Rev* 2006; 20: 88-94.
41. Guerra G, Ilahe A, Ciancio G. Diabetes and kidney transplantation: Past, present, and future. *Curr Diab Rep* 2012; 12(5): 597-603.
42. Kaposztas Z, Gyurus E, Kahan BD. New-onset diabetes after renal transplantation: Diagnosis, incidence, risk factors, impact on outcomes, and novel implications. *Transplant Proc* 2011; 43(5): 1375-94.
43. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2012; 35(Suppl 1): S64-71.

44. Ghisdal L, Van Laecke S, Abramowicz MJ, Vanholder R, Abramowicz D. New-onset diabetes after renal transplantation: Risk assessment and management. *Diabetes Care* 2012; 35(1): 181-8.
45. Hjelmesaeth J, Hartmann A, Kofstad J, Stenstrom J, Leivestad T, Egeland T, et al. Glucose intolerance after renal transplantation depends upon prednisolone dose and recipient age. *Transplantation* 1997; 64(7): 979-83.
46. Shah T, Kasravi A, Huang E, Hayashi R, Young B, Cho YW, et al. Risk factors for development of new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation. *Transplantation* 2006; 82(12): 1673-6.
47. Hjelmesaeth J, Sagedal S, Hartmann A, Rollag H, Egeland T, Hagen M, et al. Asymptomatic cytomegalovirus infection is associated with increased risk of new-onset diabetes mellitus and impaired insulin release after renal transplantation. *Diabetologia* 2004; 47(9): 1550-6.
48. Cosio FG, Pesavento TE, Osei K, Henry ML, Ferguson RM. Post-transplant diabetes mellitus: Increasing incidence in renal allograft recipients transplanted in recent years. *Kidney Int* 2001; 59(2): 732-7.
49. Cosio FG, Kudva Y, van der Velde M, Larson TS, Textor SC, Griffin MD, et al. New onset hyperglycemia and diabetes are associated with increased cardiovascular risk after kidney transplantation. *Kidney Int* 2005; 67(6): 2415-21.
50. Yates CJ, Fourlanos S, Hjelmesaeth J, Colman PG, Cohney SJ. New-onset diabetes after kidney transplantation: Changes and challenges. *Am J Transplant* 2012; 12(4): 820-8.
51. Ghisdal L, Ben Bouchta N, Broeders N, Crenier L, Hoang AD, Abramowicz D, et al. Conversion from tacrolimus to cyclosporine A for new-onset diabetes after transplantation: A single-centre experience in renal transplanted patients and review of the literature. *Transpl Int* 2008; 21(2): 146-51.

52. Lee YJ, Kim B, Lee JE, Kim YG, Kim DJ, Kim SJ, et al. Randomized trial of cyclosporine and tacrolimus therapy with steroid withdrawal in living-donor renal transplantation: 5-year follow-up. *Transpl Int* 2010; 23(2): 147-54.
53. Madziarska K, Weyde W, Krajewska M, Patrzalek D, Janczak D, Kusztal M, et al. The increased risk of post-transplant diabetes mellitus in peritoneal dialysis-treated kidney allograft recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(4): 1396-401.
54. Sarno G, Muscogiuri G, De Rosa P. New-onset diabetes after kidney transplantation: Prevalence, risk factors, and management. *Transplantation* 2012. [Epub ahead of print].
55. Kim YG, Ihm C-G, Lee TW, Lee SH, Jeong KH, Moon JY, et al. Association of genetic polymorphisms of interleukins with new-onset diabetes after transplantation in renal transplantation. *Transplantation* 2012; 93(9): 900-7.
56. Kurzawski M, Dziewanowski K, Kedzierska K, Wajda A, Lapczuk J, Drozdzik M. Association of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphism with posttransplant diabetes mellitus in kidney transplant patients medicated with tacrolimus. *Pharmacol Rep* 2011; 63(3): 826-33.
57. Tavira B, Coto E, Torres A, Diaz-Corte C, Diaz-Molina B, Ortega F, et al. Association between a common KCNJ11 polymorphism (rs5219) and new-onset posttransplant diabetes in patients treated with tacrolimus. *Mol Genet Metab* 2012; 105(3): 525-7.
58. Bayer ND, Cochetti PT, Kumar MSA, Teal V, Huan Y, Doria C, et al. Association of metabolic syndrome with development of new-onset diabetes after transplantation. *Transplantation* 2010; 90(8): 861-6.
59. Israni AK, Snyder JJ, Skeans MA, Kasiske BL, PORT Investigators. Clinical diagnosis of metabolic syndrome: Predicting new-onset diabetes, coronary

- heart disease, and allograft failure late after kidney transplant. *Transpl Int* 2012; 25(7): 748-57.
60. Copstein L, Garcia J, Zelmanovitz T, Gonçalves L, Manfro R. Diabete melito pós-transplante em pacientes trasnsplantados renais tratados com Ciclosporina. *J Bras Nefrol* 2008; 30(1): 59-65.
  61. Villarreal-Molina M, Antuna-Puente B. Adiponectin: Anti-inflammatory and cardioprotective effects. *Biochimie* 2012; 94(10): 2143-9.
  62. Gil-Campos M, Canete R, Gil A. Adiponectin, the missing link in insulin resistance and obesity. *Clin Nutr* 2004; 23(5): 963-74.
  63. Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: Mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia* 2012; 55(9): 2319-26.
  64. Dunmore S, Brown J. The role of adipokines in beta-cell failure of type 2 diabetes. *J Endocrinol* 2012. [Epub ahead of print].
  65. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 2000; 102(11): 1296-301.
  66. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011; 11(2): 85-97.
  67. Ziemke F, Mantzoros CS. Adiponectin in insulin resistance: Lessons from translational research. *Am J Clin Nutr* 2010; 91(1): 258S-61S.
  68. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: Close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(5): 1930-5.

69. Cook JR, Semple RK. Hypoadiponectinemia--Cause or consequence of human "insulin resistance"? *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(4): 1544-54.
70. Stefanyk LE, Dyck DJ. The interaction between adipokines, diet and exercise on muscle insulin sensitivity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13(3): 255-9.
71. Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2009; 302(2): 179-88.
72. Jia T, Carrero J, Lindholm B, Stenvinkel P. The complex role of adiponectin in chronic kidney disease. *Biochimie* 2012; 94(10): 2150-6.
73. Idorn T, Hornum M, Bjerre M, Jørgensen K, Nielsen F, Hansen J, et al. Plasma adiponectin before and after kidney transplantation. *Transpl Int* 2012; 25(11): 1194-203.
74. Shen YY, Charlesworth JA, Kelly JJ, Peake PW. The effect of renal transplantation on adiponectin and its isoforms and receptors. *Metabolism* 2007; 56(9): 1201-8.
75. Taherimahmoudi M, Ahmadi H, Mehrsai A, Pourmand G. Plasma adiponectin concentration and insulin resistance: Role of successful kidney transplantation. *Transplant Proc* 2010; 42(3): 797-800.
76. Cañas L, Bayés B, Granada M, Ibernon M, Porrini E, Benítez R, et al. Is adiponectin a marker of preclinical atherosclerosis in kidney transplantation? *Clin Transplant* 2012; 26(2): 259-66.
77. Roos M, Baumann M, Liu D, Heinemann F, Lindemann M, Horn P, et al. Low pre-transplant adiponectin multimers are associated with adverse allograft outcomes in kidney transplant recipients a 3-year prospective study. *Regul Pept* 2012; 178(1-3): 11-5.

78. Hjelmesaeth J, Flyvbjerg A, Jenssen T, Frystyk J, Ueland T, Hagen M, et al. Hypoadiponectinemia is associated with insulin resistance and glucose intolerance after renal transplantation: Impact of immunosuppressive and antihypertensive drug therapy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1(3): 575-82.
79. Stumvoll M, Tschritter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, et al. Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: Interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51(1): 37-41.
80. Vasseur F, Meyre D, Froguel P. Adiponectin, type 2 diabetes and the metabolic syndrome: Lessons from human genetic studies. *Expert Rev Mol Med* 2006; 8(27): 1-12.
81. National Center for Biotechnology Information (NCBI). Map Viewer. In Gene. Disponível em [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/maps.cgi?taxid=9606&chr=3&query=uid\(-2146575967,-1811868772\)&QSTR=9370%5Bgene%5Fid%5D&maps=gene\\_set&cmd=focus](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/maps.cgi?taxid=9606&chr=3&query=uid(-2146575967,-1811868772)&QSTR=9370%5Bgene%5Fid%5D&maps=gene_set&cmd=focus) [acesso em 12 de outubro de 2012].
82. Schwarz P, Towers G, Fischer S, Govindarajalu S, Schulze J, Bornstein S, et al. Hypoadiponectinemia is associated with progression toward type 2 diabetes and genetic variation in the ADIPOQ gene promoter. *Diabetes Care* 2006; 29(7): 1645-50.
83. Hivert MF, Manning AK, McAtee JB, Florez JC, Dupuis J, Fox CS, et al. Common variants in the adiponectin gene (ADIPOQ) associated with plasma adiponectin levels, type 2 diabetes, and diabetes-related quantitative traits: The Framingham Offspring Study. *Diabetes* 2008; 57(12): 3353-9.
84. Gu H. Biomarkers of adiponectin: Plasma protein variation and genomic DNA polymorphisms. *Biomark Insights* 2009; 4: 123-33.

85. Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes* 2002; 51(2): 536-40.
86. Yang WS, Yang YC, Chen CL, Wu IL, Lu JY, Lu FH, et al. Adiponectin SNP276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly. *Am J Clin Nutr* 2007; 86(2): 509-13.
87. Kadokawa T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116(7): 1784-92.
88. Qi L, Li T, Rimm E, Zhang CL, Rifai N, Hunter D, et al. The +276 polymorphism of the APM1 gene, plasma adiponectin concentration, and cardiovascular risk in diabetic men. *Diabetes* 2005; 54(5): 1607-10.
89. Szopa M, Malczewska-Malec M, Wilk B, Skupien J, Wolkow P, Malecki MT, et al. Variants of the adiponectin gene and type 2 diabetes in a Polish population. *Acta Diabetol* 2009; 46(4): 317-22.
90. Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alokail MS, Alkhafry KM, Hussain T, Yakout S, et al. Adiponectin gene polymorphisms (T45G and 276G/T), adiponectin levels and risk for metabolic diseases in an Arab population. *Gene* 2012; 493(1): 142-7.
91. Han LY, Wu QH, Jiao ML, Hao YH, Liang LB, Gao LJ, et al. Associations between single-nucleotide polymorphisms (+45T>G, +276G>T, -11377C>G, -11391G>A) of adiponectin gene and type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Diabetologia* 2011; 54(9): 2303-14.
92. Huang MC, Wang TN, Lee KT, Wu YJ, Tu HP, Liu CS, et al. Adiponectin gene SNP276 variants and central obesity confer risks for hyperglycemia in indigenous Taiwanese. *Kaohsiung J Med Sci* 2010; 26(5): 227-36.

93. Gable DR, Matin J, Whittall R, Cakmak H, Li KW, Cooper J, et al. Common adiponectin gene variants show different effects on risk of cardiovascular disease and type 2 diabetes in European subjects. *Ann Hum Genet* 2007; 71(Pt 4): 453-66.
94. Katakami N, Kaneto H, Matsuoka TA, Takahara M, Maeda N, Shimizu I, et al. Adiponectin 276G/T gene polymorphism is associated with cardiovascular disease in Japanese patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2012; 220(2): 437-42.
95. Sun K, Li Y, Wei C, Tong Y, Zheng H, Guo Y. Recessive protective effect of ADIPOQ rs1501299 on cardiovascular diseases with type 2 diabetes: A meta-analysis. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 349(2): 162-9.
96. Yu S, Ryu H, Park H, Choi Y, Huh K, Kim W. Adiponectin gene SNP 276G-->T, nutrient intakes, and cardiovascular disease risk in Korean type 2 DM patients. *Nutr Res Pract* 2007; 1(4): 363-70.
97. Hwang JY, Park JE, Choi YJ, Huh KB, Kim WY. SNP276G>T polymorphism in the adiponectin gene is associated with metabolic syndrome in patients with type II diabetes mellitus in Korea. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64(1): 105-7.
98. Numakura K, Satoh S, Tsuchiya N, Horikawa Y, Inoue T, Kakinuma H, et al. Clinical and genetic risk factors for posttransplant diabetes mellitus in adult renal transplant recipients treated with tacrolimus. *Transplantation* 2005; 80(10): 1419-24.
99. Krensky AM, Ahn YT. Mechanisms of disease: Regulation of RANTES (CCL5) in renal disease. *Nat Clin Pract Nephrol* 2007; 3(3): 164-70.
100. Kaminski DA, Randall TD. Adaptive immunity and adipose tissue biology. *Trends Immunol* 2010; 31(10): 384-90.

101. Keophiphath M, Rouault C, Divoux A, Clément K, Lacasa D. CCL5 promotes macrophage recruitment and survival in human adipose tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30(1): 39-45.
102. Huber J, Kiefer FW, Zeyda M, Ludvik B, Silberhumer GR, Prager G, et al. CC chemokine and CC chemokine receptor profiles in visceral and subcutaneous adipose tissue are altered in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(8): 3215-21.
103. Wu HZ, Ghosh S, Perrard XD, Feng LL, Garcia GE, Perrard JL, et al. T-cell accumulation and regulation on activation, normal T cell expressed and secreted upregulation in adipose tissue in obesity. *Circulation* 2007; 115(8): 1029-38.
104. Neumeier M, Bauer S, Bruehl H, Eisinger K, Kopp A, Abke S, et al. Adiponectin stimulates release of CCL2,-3,-4 and -5 while the surface abundance of CCR2 and -5 is simultaneously reduced in primary human monocytes. *Cytokine* 2011; 56(3): 573-80.
105. Pfleger C, Kaas A, Hansen L, Alizadeh B, Hougaard P, Holl R, et al. Relation of circulating concentrations of chemokine receptor CCR5 ligands to C-peptide, proinsulin and HbA1c and disease progression in type 1 diabetes. *Clin Immunol* 2008; 128(1): 57-65.
106. Gomez del Moral M, Aviles B, Colberger IK, Campos-Martin Y, Suela J, Alvarez J, et al. Expression of adhesion molecules and RANTES in kidney transplant from nonheart-beating donors. *Transpl Int* 2005; 18(3): 333-40.
107. Lo DJ, Weaver TA, Kleiner DE, Mannon RB, Jacobson LM, Becker BN, et al. Chemokines and their receptors in human renal allotransplantation. *Transplantation* 2011; 91(1): 70-7.
108. Hribova P, Kotsch K, Brabcova I, Vitko S, Volk HD, Lacha J. Cytokines and chemokine gene expression in human kidney transplantation. *Transplant Proc* 2005; 37(2): 760-3.

109. Zhernakova A, Alizadeh BZ, Eerligh P, Hanifi-Moghaddam P, Schloot NC, Diosdado B, et al. Genetic variants of RANTES are associated with serum RANTES level and protection for type 1 diabetes. *Genes Immun.* 2006; 7(7): 544-9.
110. National Center for Biotechnology Information (NCBI). Map Viewer. In Gene. Disponível em [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/maps.cgi?taxid=9606&chr=17&query=uid\(-2146578302,-1811869769\)&QSTR=6352%5Bgene%5Fid%5D&maps=gene\\_set&cmd=focus](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/maps.cgi?taxid=9606&chr=17&query=uid(-2146578302,-1811869769)&QSTR=6352%5Bgene%5Fid%5D&maps=gene_set&cmd=focus) [acesso em 12 de outubro de 2012].
111. Herder C, Illig T, Baumert J, Mueller M, Klopp N, Khuseyinova N, et al. RANTES/CCL5 gene polymorphisms, serum concentrations, and incident type 2 diabetes: Results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. *Eur J Endocrinol* 2008; 158(5): R1-5.
112. Jang Y, Chae JS, Hyun YJ, Koh SJ, Kim JY, Ko MJ, et al. The RANTES - 403G>A promoter polymorphism in Korean men: Association with serum RANTES concentration and coronary artery disease. *Clin Sci (Lond)*. 2007; 113(8): 349-56.
113. Navratilova Z. Polymorphisms in CCL2&CCL5 chemokines/chemokine receptors genes and their association with diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2006; 150(2): 191–204.
114. Nakajima K, Tanaka Y, Nomiyama T, Ogihara T, Ikeda F, Kanno R, et al. RANTES promoter genotype is associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* 2003; 26(3): 892-8.
115. Böger CA, Fischereder M, Deinzer M, Aslanidis C, Schmitz G, Stubanis M, et al. RANTES gene polymorphisms predict all-cause and cardiac mortality in type 2 diabetes mellitus hemodialysis patients. *Atherosclerosis* 2005; 183(1): 121-9.

116. Kruger B, Boger CA, Obed A, Farkas S, Hoffmann U, Banas B, et al. RANTES/CCL5 polymorphisms as a risk factor for recurrent acute rejection. Clin Transplant 2007; 21(3): 385-90.

**5 ARTIGO EM INGLÊS**

**“Association between Adiponectin Gene Polymorphism  
and New Onset Diabetes after Kidney Transplantation”**

REVISTA DE ESCOLHA

*Transplantation*

## ASSOCIATION BETWEEN ADIPONECTIN GENE POLYMORPHISM AND NEW ONSET DIABETES AFTER KIDNEY TRANSPLANTATION<sup>1</sup>

**Bruna B. Nicoletto<sup>2</sup>.** Post Graduation Program in Medicine: Medical Sciences. School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

**Gabriela C. Souza<sup>3</sup>.** Nutrition Course, School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

**Natasha K. O. Fonseca<sup>4</sup>.** Nutrition Course, School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

**Analaura Centenaro<sup>5</sup>.** Nutrition Course, School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

**Luís Henrique S. Canani<sup>6</sup>.** Post Graduation Program in Medical Sciences: Endocrinology, School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Luiz Felipe S. Gonçalves<sup>7</sup>.** Post Graduation Program in Medicine: Medical Sciences. School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil. Division of Nephrology, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**Keywords:** kidney transplantation, new onset diabetes after transplantation, adiponectin, ccl5, polymorphism.

**Word count:** Abstract: 232, Text: 2061.

**Tables and figures:** Tables: 4, Total Figures: 1, Color Figures: 0.

**Address for Correspondence:** Luiz Felipe Santos Gonçalves PhD,  
Division of Nephrology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre,  
Ramiro Barcelos Street, 2350, Room 2030, CEP 90035-903, Porto Alegre, Brazil.  
Telephone/Fax: +55 51 3359-8295. Email: lfgoncalves@hcpa.ufrgs.br

## **<sup>1</sup>AUTHORSHIP / SUPPORT / CONFLICTS OF INTERESTS**

<sup>2</sup> Participated in research design; Participated in the writing of the paper; Participated in the performance of the research; Contributed new reagents or analytic tools; Participated in data analysis. Support received by CAPES. The author declare no conflicts of interest.

<sup>3</sup> Participated in research design; Participated in the writing of the paper; Participated in data analysis. The author declare no conflicts of interest.

<sup>4</sup> Participated in the performance of the research; Contributed new reagents or analytic tools. Support received by CNPq/UFRGS. The author declare no conflicts of interest.

<sup>5</sup> Participated in the performance of the research; Contributed new reagents or analytic tools. Support received by BIC/UFRGS. The author declare no conflicts of interest.

<sup>6</sup> Participated in research design; Participated in the writing of the paper; Participated in data analysis. The author declare no conflicts of interest.

<sup>7</sup> Participated in research design; Participated in the writing of the paper; Participated in the performance of the research; Participated in data analysis. The author declare no conflicts of interest.

## **ADDRESSES FOR EACH AUTHOR**

<sup>2</sup> Engenheiro Afonso Cavalcanti Street, 41/302. CEP 90440-110, Porto Alegre, Brazil.  
Telephone: +55 51 9646-3207. Email: brunanicoletto@gmail.com

<sup>3</sup> Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Ramiro Barcelos Street, 2350, Building 12, 2° floor,  
Room 12201, CEP 90035-903, Porto Alegre, Brazil. Telephone/Fax: Fax: +55-51-3359-8843.  
E-mail: gabriela.souza@ufrgs.br

<sup>4</sup> Felipe Camarão Street, 601/204. CEP 90035-141, Porto Alegre, Brazil. Telephone: +55 54  
9191-2372. Email: natasha.deoliveira@hotmail.com

<sup>5</sup> Henrique Dias Street, 179/201. CEP 90035-100, Porto Alegre, Brazil. Telephone: +55 51  
9199-2878. Email: analauracentenaro@yahoo.com.br

<sup>6</sup> Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Ramiro Barcelos Street,  
2350, Building 12, 4° floor, CEP 90035-903, Porto Alegre, Brazil. Telephone/Fax: Fax: +55-  
51-2101-8777. E-mail: luiscanani@yahoo.com

<sup>7</sup> **Corresponding author:** Division of Nephrology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre,  
Ramiro Barcelos Street, 2350, Room 2030, CEP 90035-903, Porto Alegre, Brazil.  
Telephone/Fax: +55 51 3359-8295. Email: lfgoncalves@hcpa.ufrgs.br

## **ABBREVIATIONS**

BMI: Body Mass Index

CCL5: Chemokine Ligand 5

FPG: Fasting Plasma Glucose

NODAT: New Onset Diabetes After Transplantation

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

T2DM: Type 2 Diabetes Mellitus

## ABSTRACT

**Background:** New onset diabetes after transplantation (NODAT) is an increasingly recognized complication of kidney transplantation that is associated with poor outcomes. Both adiponectin and chemokine ligand 5 (CCL5) are related to glucose metabolism, allowing hypothesize that genetic variation in their genes can lead to development of NODAT. The aim of this study was to investigate the association of adiponectin and CCL5 genes polymorphisms with NODAT in Caucasian kidney transplant recipients.

**Methods:** Two hundred and seventy Caucasian kidney transplant recipients (83 with NODAT and 187 without NODAT) were included in this nested case-control study. Patients with pretransplant diabetes mellitus and multi-organ transplantation were excluded. NODAT diagnosis was determined by American Diabetes Association criteria. Subjects were genotyped for 276G/T adiponectin gene polymorphism (rs1501299) and rs2280789 and rs3817655 CCL5 gene polymorphisms by real-time PCR (polymerase chain reaction).

**Results:** The TT genotype of 276G/T adiponectin gene polymorphism was significantly more frequent in NODAT than non-NODAT patients, compared to GG/GT genotypes (recessive model;  $p=0.031$ ). TT genotype was identified as an independent risk factor for NODAT in Caucasian kidney transplant recipients, after adjusting for age at transplantation, pretransplant body mass index and tacrolimus usage (TT vs. GG/GT, HR=1.88 95%CI 1.03-3.45,  $p=0.041$ ). There were no differences in genotype distribution and allele frequency of rs2280789 and rs3817655 CCL5 gene polymorphisms between NODAT and non-NODAT groups.

**Conclusions:** The 276G/T adiponectin gene polymorphism is associated with NODAT in Caucasian kidney transplant recipients.

## INTRODUCTION

Kidney transplantation is a cost-effective renal replacement therapy, which provides uremic patients better quality of life and survival (1, 2). Nevertheless, kidney transplant recipients are affected by some complications, such as new onset diabetes after transplantation (NODAT) (3), with incidence ranging between 4 to 25% (4). NODAT is associated with poor outcomes, increasing risk of death, cardiovascular disease and graft loss (5-7). Several risk factors have been related to the development of NODAT, including aging, race, obesity (6), family history of diabetes (8) and immunosuppressive drugs (9). Also, genetic factors have been reported to play an important role in development of NODAT (10, 11).

Recent findings suggest an association between adiponectin gene polymorphism and NODAT (12). Adiponectin is a 30 kDa secreted protein produced exclusively by adipocytes, with antidiabetic, anti-inflammatory and antiatherosclerotic effects (13, 14). Previous studies have shown that adiponectin levels are lower in diabetic patients when compared to healthy individuals (13, 15, 16). In addition, reduced pretransplant serum adiponectin concentrations are associated with NODAT development (17, 18). In Korean kidney recipients, the 276G/T single nucleotide polymorphism (SNP) of adiponectin gene, also known as rs1501299, is associated with NODAT in a sex-specific manner (12).

Besides adiponectin, chemokine ligand 5 (CCL5) gene polymorphisms are associated with development of NODAT in Korean kidney recipients (19). CCL5, also known as RANTES (regulated on activation normal T cell expressed and secreted), is a chemokine of 8 kDa generated predominantly by T cells, epithelial cells, macrophages, fibroblasts and platelets (20, 21). CCL5 has chemotactic activity, which recruits leukocytes to sites of inflammation and also induces the expression of cell adhesion molecules (21, 22). Elevated serum CCL5 concentrations are observed in some conditions affected by inflammation, such as kidney transplantation (23, 24) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) (25-27).

Previous studies that investigated the association of 276G/T adiponectin gene polymorphism and rs2280789 and rs3817655 CCL5 gene polymorphisms with NODAT development were performed in patients of Oriental ancestry (12, 19). Their results, however, were not conclusive. In this study we aimed to investigate the

association between these polymorphisms and NODAT in Caucasian kidney transplant recipients from Southern Brazil.

## RESULTS

### *Clinical characteristics*

Patients' demographic and clinical characteristics are shown in Table 1. NODAT patients were older than non-NODAT patients at the time of transplantation, and had greater prevalence of adult polycystic kidney disease as primary diagnosis. Pretransplant obesity (defined as body mass index – BMI  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) was also more common in NODAT group. Pretransplant fasting plasma glucose (FPG) concentration was higher in patients who developed NODAT. Time after transplantation in the moment of evaluation and other clinical variables were similar between NODAT and non-NODAT kidney recipients (Table 1). Median time of NODAT development was 2 (1 – 15.5) months.

Initial immunosuppressive regimens according NODAT development are presented in Table 2. Type of calcineurin inhibitor agent used was different between groups. Tacrolimus usage was more prevalent in patients who eventually developed NODAT as compared to cyclosporine that was more frequent in the non-NODAT group (Table 2).

### *Genotype and allele frequencies and association with NODAT*

Genotyping success rates were 95.9%, 98.9% and 98.5% for 276G/T, rs2280789 and rs3817655 polymorphisms, respectively. All SNPs were on Hardy-Weinberg equilibrium ( $p>0.05$ ). Genotype and allele frequencies between NODAT and non-NODAT patients are summarized in Table 3. There were no differences in genotype distribution and allele frequency of rs2280789 and rs3817655 CCL5 gene polymorphisms between groups. Regarding 276G/T adiponectin gene polymorphism, there was greater prevalence of TT carriers in NODAT group compared to non-NODAT patients, admitting a recessive model (16.7% vs. 7.7% respectively;  $p=0.031$ ). Using Cox regression test, including age at transplantation, pretransplant

BMI, tacrolimus usage, and genotype as covariates, TT genotype of 276G/T SNP was identified as an independent risk factor for NODAT in Caucasian kidney transplant recipients (TT vs. GG/GT, HR=1.88 95%CI 1.03-3.45, p=0.041). Multivariate Cox regression analysis is shown in Table 4. Survival curves for NODAT development were built for all patients and according to the calcineurin inhibitor agent used, as presented in Figure 1. Again a statistically significant difference was observed in the curve for all patients but the differences did not reach significance in the stratified analysis. The median follow up time for all patients was 34 (13 – 79) months.

## DISCUSSION

In the present study, TT genotype of 276G/T SNP was identified as an independent risk factor for NODAT, admitting a recessive model. Likewise, Kang *et al.* (12) reported an association between 276G/T polymorphism and NODAT in Korean transplant recipients. Similar to our findings, they identified TT genotype as a risk factor for NODAT, but only in men. In the present study, survival curves patterns for both genders were the same (data not shown), however, the small sample size limits this analysis. Different results are shown in other studies that evaluated kidney transplant recipients. Yu *et al.* (28) found greater prevalence of G allele in Chinese NODAT patients, and increased risk for NODAT in GG carriers, compared to GT genotype. In addition, no association was observed between adiponectin gene polymorphisms and development of NODAT in a cohort of 70 Korean patients (29). Supporting the role of 276G/T SNP in predisposition of NODAT, there is some data linking the T allele with hyperglycemia and T2DM (30, 31). On the other hand, there are studies reporting a protective effect of T allele, with reduced risk of T2DM and insulin resistance (32, 33). Although the reason for these discrepant findings is not clear, it is possible that ethnicity plays an important role on genetic effects (34).

It is known that adiponectin levels are partly determined by genetic factors. Previous studies reported an association between the T allele of 276G/T SNP and increased plasma adiponectin concentrations (32, 35). Elevated adiponectin levels seem to have beneficial effects in kidney transplantation, with reduced risk for

development of NODAT (17, 18). However, it is not known the relationship between 276G/T polymorphism and adiponectin levels in kidney transplant recipients.

Regarding CCL5 gene polymorphisms, no association was observed between both SNPs and NODAT in our study. These findings differ from other results observed in kidney transplant recipients. Jeong *et al.* (19) reported an increased risk for NODAT associated with C allele and CC genotype of rs2280789 SNP and A allele and AA genotype of rs3817655 SNP. These differences could be among other reasons due to ethnicity. Compared to Caucasian Brazilian recipients, Korean patients presented higher prevalence of C allele and CC genotype of rs2280789 SNP, even as A allele and AA genotype of rs3817655 SNP (19). In German patients, no association was found between CCL5 gene polymorphisms and T2DM (36), which is in agreement with our results. Regarding plasma CCL5 concentrations, this same study found a beneficial effect of rs2280789 C allele and rs3817655 A allele, that were associated with reduced CCL5 levels (36). In kidney transplantation, elevated plasma CCL5 concentrations are observed (23, 24), however, it is not known the relationship between CCL5 levels and development of NODAT. CCL5 is involved in inflammatory process that affects kidney recipients, however, in this context, it depends on compatibility, immunosuppressive dosage and individual inflammatory response. Also, some findings seem to be controversial. The rs2280789 SNP was investigated in patients with T2DM and end-stage kidney disease, and suggests an association between the C allele and mortality in this population (37).

The relative small sample size is the main limitation of the present study. The inclusion of only Caucasian patients limits the application of these findings to other ethnic groups; however, it provides more reliable findings in a population based in a country with ethnic diversity. Larger studies are required to confirm our results and to investigate the association of adiponectin and CCL5 genes polymorphisms with NODAT in different ethnicities. Another limitation of this study is the lack of measurements of plasma adiponectin and CCL5 levels. These data would be an important piece in understanding the effect of polymorphisms on development of NODAT.

In conclusion, our findings suggest an association between 276G/T adiponectin gene polymorphism and NODAT in Caucasian kidney transplant

recipients. Therefore, with these findings confirmed by other studies, it will be relevant to identify risk of NODAT development in kidney transplant recipients and thereby controlling other modifiable risk factors.

## MATERIALS AND METHODS

### *Patients*

This nested case-control study was undertaken within a cohort of Caucasian kidney transplant recipients from Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Southern Brazil. Caucasian ethnicity was defined by skin color. Eighty three kidney transplant recipients who developed NODAT and a control group of 187 patients without NODAT diagnosis were recruited in our transplant clinic. Case and control patients were included in a proportion of 1:2, with all recipients with at least one year of transplantation follow up, and paired by gender and period of transplant. Exclusion criteria were age below 18 years old, pretransplant diabetes mellitus and multi-organ transplantation. Patients were classified in NODAT and non-NODAT group, according to the American Diabetes Association (ADA) criteria (38), which are recommended by International Consensus Guidelines for the diagnosis and management of NODAT (3).

Demographic and clinical data were collected, including the following variables: age at transplantation, gender, primary kidney disease, family history of diabetes, dialysis modality and duration, re-transplantation, pretransplant BMI and FPG, donor type, donor gender, cytomegalovirus and hepatitis C infection, delayed graft function (defined by the requirement for hemodialysis in the first post-transplant week), acute rejection episodes (defined as clinically suspected and treated and/or biopsy proven), types of immunosuppressive agents used, time after transplantation in the moment of evaluation and time of NODAT development.

The immunosuppressive regimen consisted of corticosteroids, calcineurin inhibitors (cyclosporine or tacrolimus), and an adjunctive agent (either azathioprine, mycophenolate mofetil/sodium, or sirolimus).

This study was approved by the Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre and all subjects received adequate information about this study and gave informed consent.

### *Genotyping*

DNA was extracted from peripheral blood leukocytes using a standardized salting-out procedure. Genotyping of the 276G/T SNP of adiponectin gene and rs2280789 and rs3817655 SNPs of CCL5 gene were performed using primers and probes contained in the Human Custom TaqMan Genotyping Assay 40x (Life Technologies – Applied Biosystems – ABI, Foster City, CA). Real-time PCR reactions were performed on 96-well plates, using a 7500 Fast Real Time PCR System (ABI). Genotyping of CCL5 gene polymorphisms were performed with a total volume of 5 µL containing 2 ng of genomic DNA, TaqMan Genotyping Master Mix 1x (ABI), and Custom TaqMan Genotyping Assay 1x (ABI). The thermocycling condition was as follows: an initial cycle of 95°C for 10 minutes, followed by 50 cycles of 95°C for 15 seconds and 60°C for 1 minute. Genotyping of 276G/T adiponectin gene polymorphism was performed by the same standardized procedure; however the following adjustments were applied: total volume of 10 µL containing 10 ng of genomic DNA and thermocycling condition with an initial cycle of 95°C for 10 minutes, followed by 50 cycles of 95°C for 15 seconds and 63°C for 1 minute. Fluorescence data of each plate were analyzed by the System Sequence Detection Version 2.1 program (ABI). A total of 50 samples (19%) were genotyped in duplicate and showed 100% concordance.

### *Statistical Analysis*

Data were processed and analyzed using the program Statistical Package for Social Sciences, version 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL). After assessing normality of continuous variables by Shapiro Wilk test, NODAT and non-NODAT groups were compared by Student's *t* test or Mann-Whitney test, as appropriate. Data with normal distribution are presented as mean ± standard deviation (SD), whereas data with asymmetric distribution are presented as median (interquartile range). The genotype

and allele frequencies and other categorical variables were compared between NODAT and non-NODAT groups by Pearson's  $\chi^2$  test. Categorical variables are reported as absolute numbers and percentages. Cox regression test was used to identify risk factors for development of NODAT. First, univariate Cox regression test was applied to recognize variables with significance level at  $p<0.10$ . Multivariate Cox regression test was used fixing genotype variable and applying stepwise backward selection method, in which only significant variables within the model are used for the analysis. Survival curves were built using follow up time from transplantation until NODAT diagnosis for NODAT group or until evaluation in non-NODAT group. The level of statistical significance was established at  $p<0.05$ .

## **ACKNOWLEDGMENTS**

This project was accomplished at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Financial sponsorship was received from Research Incentive Fund of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (Fipe/HCPA).

## REFERENCES

1. Ogutmen B, Yildirim A, Sever MS, et al. Health-related quality of life after kidney transplantation in comparison intermittent hemodialysis, peritoneal dialysis, and normal controls. *Transplant Proc* 2006; 38: 419.
2. Haller M, Gutjahr G, Kramar R, Harnoncourt F, Oberbauer R. Cost-effectiveness analysis of renal replacement therapy in Austria. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 2988.
3. Davidson J, Wilkinson A, Dantal J, et al. New-onset diabetes after transplantation: 2003 International Consensus Guidelines. Proceedings of an international expert panel meeting. Barcelona, Spain, 19 February 2003. *Transplantation* 2003; 75: SS3.
4. Pham PT, Pham PM, Pham SV, Pham PA, Pham PC. New onset diabetes after transplantation (NODAT): An overview. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2011; 4: 175.
5. Israni AK, Snyder JJ, Skeans MA, et al. Predicting coronary heart disease after kidney transplantation: Patient Outcomes in Renal Transplantation (PORT) Study. *Am J Transplant* 2010; 10: 338.
6. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D, Matas AJ. Diabetes mellitus after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2003; 3: 178.
7. Cosio FG, Pesavento TE, Kim S, Osei K, Henry M, Ferguson RM. Patient survival after renal transplantation: IV. Impact of post-transplant diabetes. *Kidney Int* 2002; 62: 1440.
8. Razeghi E, Heydarian P, Amerian M, Pourmand G. The risk factors for diabetes mellitus after kidney transplantation. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2010; 21: 1038.

9. Mora PF. New-onset diabetes after renal transplantation. *J Investig Med* 2010; 58: 755.
10. Sarno G, Muscogiuri G, De Rosa P. New-onset diabetes after kidney transplantation: Prevalence, risk factors, and management. *Transplantation* 2012. [Epub ahead of print].
11. Ghisdal L, Van Laecke S, Abramowicz MJ, Vanholder R, Abramowicz D. New-onset diabetes after renal transplantation: Risk assessment and management. *Diabetes Care* 2012; 35: 181.
12. Kang ES, Magkos F, Kim BS, et al. Variants of the adiponectin and adiponectin receptor-1 genes and posttransplantation diabetes mellitus in renal allograft recipients. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: E129.
13. Waki H, Tontonoz P. Endocrine functions of adipose tissue. *Annu Rev Pathol* 2007; 2: 31.
14. Matsuzawa Y. Adiponectin: A key player in obesity related disorders. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 1896.
15. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: Close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1930.
16. Cook JR, Semple RK. Hypoadiponectinemia--Cause or consequence of human "insulin resistance"? *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 1544.
17. Bayes B, Granada ML, Pastor MC, et al. Obesity, adiponectin and inflammation as predictors of new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2007; 7: 416.
18. Bayes B, Lauzurica R, Granada ML, et al. Adiponectin and risk of new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 26.

19. Jeong KH, Moon JY, Chung JH, Kim YH, Lee TW. Significant associations between CCL5 gene polymorphisms and post-transplantational diabetes mellitus in korean renal allograft recipients. *Am J Nephrol* 2010; 32: 356.
20. Rollins BJ. Chemokines. *Blood*. 1997; 90: 909.
21. Appay V, Rowland-Jones SL. RANTES: A versatile and controversial chemokine. *Trends Immunol* 2001; 22: 83.
22. Levy JA. The unexpected pleiotropic activities of RANTES. *J Immunol* 2009; 182: 3945.
23. Corsi MM, Leone G, Fulgenzi A, Wasserman K, Leone F, Ferrero ME. RANTES and MCP-1 chemokine plasma levels in chronic renal transplant dysfunction and chronic renal failure. *Clin Biochem* 1999; 32: 455.
24. Baer PC, Koziolek M, Fierlbeck W, Geiger H. CC-chemokine RANTES is increased in serum and urine in the early post-transplantation period of human renal allograft recipients. *Kidney Blood Press Res* 2005; 28: 48.
25. Herder C, Haastert B, Müller-Scholze S, et al. Association of systemic chemokine concentrations with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes: Results from the Cooperative Health Research in the Region of Augsburg Survey S4 (KORA S4). *Diabetes* 2005; 54: S11.
26. Herder C, Peltonen M, Koenig W, et al. Systemic immune mediators and lifestyle changes in the prevention of type 2 diabetes: Results from the Finnish diabetes prevention study. *Diabetes* 2006; 55: 2340.
27. Nomura S, Shouzu A, Omoto S, Nishikawa M, Fukuhara S. Significance of chemokines and activated platelets in patients with diabetes. *Clin Exp Immunol* 2000; 121: 437.

28. Yu AR, Xin HW, Wu XC, et al. Adiponectin gene polymorphisms are associated with posttransplantation diabetes mellitus in chinese renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2011; 43: 1607.
29. Numakura K, Satoh S, Tsuchiya N, et al. Clinical and genetic risk factors for posttransplant diabetes mellitus in adult renal transplant recipients treated with tacrolimus. *Transplantation* 2005; 80: 1419.
30. Huang MC, Wang TN, Lee KT, et al. Adiponectin gene SNP276 variants and central obesity confer risks for hyperglycemia in indigenous Taiwanese. *Kaohsiung J Med Sci* 2010; 26: 227.
31. Yang WS, Yang YC, Chen CL, et al. Adiponectin SNP276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 509.
32. Hara K, Boutin P, Mori Y, et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes* 2002; 51: 536.
33. Szopa M, Malczewska-Malec M, Wilk B, et al. Variants of the adiponectin gene and type 2 diabetes in a Polish population. *Acta Diabetol* 2009; 46: 317.
34. Han LY, Wu QH, Jiao ML, et al. Associations between single-nucleotide polymorphisms (+45T>G, +276G>T, -11377C>G, -11391G>A) of adiponectin gene and type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Diabetologia* 2011; 54: 2303.
35. Woo JG, Dolan LM, Deka R, et al. Interactions between noncontiguous haplotypes in the adiponectin gene ACDC are associated with plasma adiponectin. *Diabetes* 2006; 55: 523.

36. Herder C, Illig T, Baumert J, et al. RANTES/CCL5 gene polymorphisms, serum concentrations, and incident type 2 diabetes: Results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. *Eur J Endocrinol* 2008; 158: R1.
37. Böger CA, Fischereider M, Deinzer M, et al. RANTES gene polymorphisms predict all-cause and cardiac mortality in type 2 diabetes mellitus hemodialysis patients. *Atherosclerosis* 2005; 183: 121.
38. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2012; 35: S64.

**TABLES****Table 1.** Characteristics of NODAT and non-NODAT patients.

	<b>NODAT</b> <b>(n = 83)</b>	<b>Non-NODAT</b> <b>(n = 187)</b>	<b>p value</b>
Age at transplantation, years	48.1 ± 11.0	39.8 ± 11.9	<0.0001
Male gender, n (%)	50 (60.4)	113 (60.2)	0.977
Adult polycystic kidney disease as primary diagnosis, n (%)	15 (18.1)	11 (5.9)	0.002
Family history of diabetes mellitus, n (%)	36 (43.9)	73 (39.2)	0.457
Dialysis modality			0.319
Conservative treatment, n (%)	0 (0)	7 (3.7)	
CAPD, n (%)	2 (2.4)	4 (2.1)	
HD, n (%)	80 (96.4)	172 (92.0)	
CAPD and HD, n (%)	1 (1.2)	4 (2.1)	
Dialysis duration before transplant, months	41 (18 – 63)	30 (15 – 60)	0.143
Re-transplantation, n (%)	9 (12.0)	17 (9.5)	0.558
Pretransplant BMI, n (%)			<0.0001
< 25 kg/m <sup>2</sup>	35 (43.8)	123 (66.8)	
25 – 29,99 kg/m <sup>2</sup>	27 (33.8)	52 (28.3)	
≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	18 (22.5)	9 (4.9)	
Pretransplant FPG, mg/dL	96 (85 – 106)	89 (83 – 97)	0.023
Donor type, deceased, n (%)	56 (69.8)	112 (59.9)	0.117
Male donor gender, n (%)	29 (50.9)	85 (56.7)	0.454
Cytomegalovirus infection, n (%)	15 (18.5)	44 (24.0)	0.320

Hepatitis C infection, n (%)	18 (22.5)	30 (16.7)	0.263
Delayed graft function, n (%)	43 (51.8)	80 (43.0)	0.181
Acute rejection, n (%)	27 (32.5)	57 (30.5)	0.737
Time after transplantation in the moment of evaluation, months			
	47 (23 – 113)	53 (23 – 97)	0.946

Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation or median (interquartile range).

NODAT: new onset diabetes after transplantation; CAPD: continuous ambulatory peritoneal dialysis; HD: hemodialysis; BMI: body mass index; FPG: fasting plasma glucose.

**Table 2.** Initial immunosuppressive regimens according to NODAT development.

	<b>NODAT</b> <b>(n=83)</b>	<b>Non-NODAT</b> <b>(n=187)</b>	<b>p-value</b>
Prednisone, n (%)	83 (100)	186 (99.5)	0.504
Cumulative dose at diagnosis, mg*	2560 (1593 – 4970)	2280 (2103 – 3588)	0.935
Micophenolate, n (%)	75 (78.3)	154 (82.4)	0.434
Azathioprine, n (%)	17 (20.5)	27 (14.4)	0.215
Sirolimus/Everolimus, n (%)	0 (0)	3 (1.6)	0.246
Tacrolimus, n (%)	49 (59.0)	86 (46.0)	0.048
Serum level at diagnosis, ng/mL*	9.45 (8.0 – 12.9)	9.70 (7.5 – 12.3)	0.484
Ciclosporine, n (%)	30 (36.1)	100 (53.5)	0.009
Serum level at diagnosis, ng/mL*	229 (121 – 343)	248 (181 – 296)	0.486

Data are presented as median (interquartile range). NODAT: new onset diabetes after transplantation. \*Non-NODAT values presented correspond to 2<sup>nd</sup> post transplant month (median time of NODAT development in NODAT group).

**Table 3.** Genotype and allele frequencies between NODAT and non-NODAT groups.

SNPs	Genotype	NODAT	Non-NODAT	Aditive	Dominant <sup>a</sup>	Recessive <sup>b</sup>	Allele	NODAT	Non-NODAT	p value
		n (%)	n (%)	p value	p value	p value		n (%)	n (%)	
<i>Adiponectin</i> 276G/T	GG	38 (48.7)	94 (51.9)	0.093	0.635	0.031	G	103 (66.0)	261 (72.1)	0.165
	GT	27 (34.6)	73 (40.3)				T	53 (34.0)	101 (27.9)	
	TT	13 (16.7)	14 (7.7)							
<i>CCL5</i> rs2280789	TT	60 (72.3)	141 (76.6)	0.567	0.447	0.589	T	142 (85.5)	321 (87.2)	0.595
	TC	22 (26.5)	39 (21.2)				C	24 (14.5)	47 (12.8)	
	CC	1 (1.2)	4 (2.2)							
<i>CCL5</i> rs3817655	TT	55 (69.7)	135 (73.0)	0.142	0.399	0.152	T	135 (83.3)	311 (84.1)	0.835
	TA	25 (30.9)	41 (22.2)				A	27 (16.7)	59 (15.9)	
	AA	1 (1.2)	9 (4.8)							

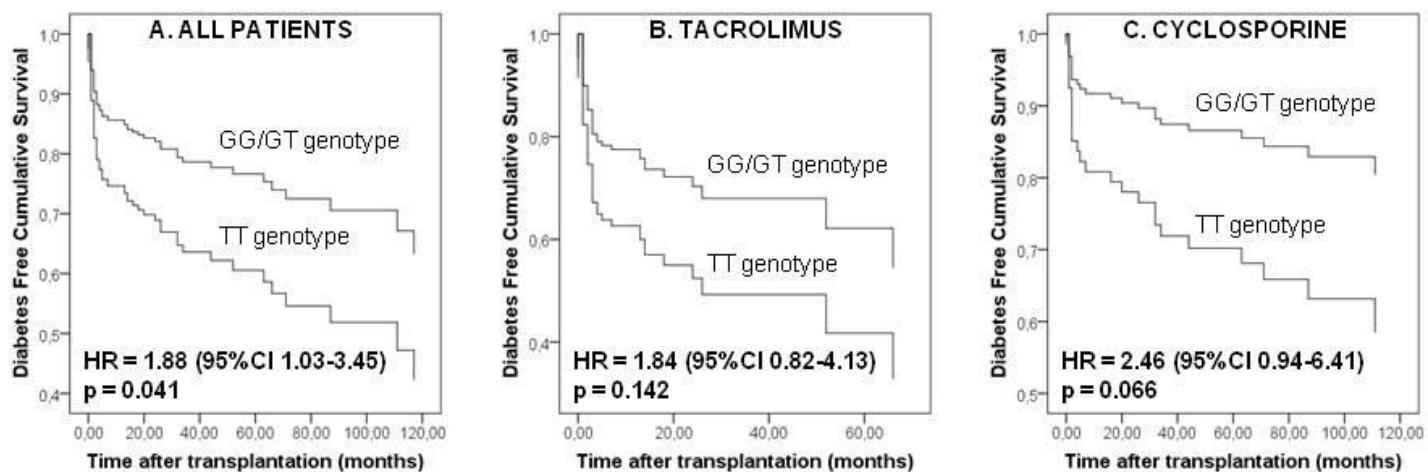
SNPs: single nucleotide polymorphisms; NODAT: new onset diabetes after transplantation; CCL5: chemokine ligand 5. <sup>a</sup>Dominant: major allele homozygotes vs. minor allele homozygotes plus heterozygotes. <sup>b</sup>Recessive: major allele homozygotes plus heterozygotes vs. minor allele homozygotes.

**Table 4.** Multivariate Cox regression analysis for NODAT development.

Variable	HR	95% Confidence Interval	p value
TT genotype of 276G/T SNP	1.883	1.027 – 3.453	0.041
Age at transplantation (years)	1.054	1.032 – 1.077	<0.0001
Pre-transplant obesity (BMI $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup> )	2.911	1.654 – 5.124	<0.0001
Tacrolimus usage	3.286	1.947 – 5.547	<0.0001

NODAT: new onset diabetes after transplantation; HR: hazard ratio; SNP: single nucleotide polymorphism; BMI: body mass index.

## FIGURES



**Figure 1.** Cox regression analysis of 276G/T adiponectin gene polymorphism and development of NODAT in Caucasian kidney transplant recipients. A. All patients (n=253). Carriers of TT genotype had significantly greater risk of development of NODAT than patients with GG/GT genotype (recessive model). B. Patients using tacrolimus as calcineurin inhibitor agent (n=131). C. Patients using cyclosporine as calcineurin inhibitor agent (n=119).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve como objetivo verificar a associação dos polimorfismos 276G/T do gene da adiponectina e rs2280789 e rs3817655 do gene da CCL5 com DMPT em transplantados renais caucasianos. O genótipo TT do polimorfismo 276G/T do gene da adiponectina foi identificado como fator de risco independente para DMPT, assumindo um modelo recessivo. Ainda não há consenso na literatura em relação ao alelo deste polimorfismo que confere risco de diabetes. Há controvérsias tanto em estudos que avaliam o DMPT em transplantados renais, assim como nos estudos em DM tipo 2. A etnia parece ter um papel importante nas diferenças genéticas relatadas na literatura.

Diferenças étnicas também são observadas na relação dos polimorfismos da CCL5 com o DMPT. As frequências alélicas e genotípicas que caracterizam a nossa população são diferentes daquelas observadas em outras. No presente estudo, não houve associação dos polimorfismos rs2280789 e rs3817655 do gene da CCL5 com o DMPT, entretanto, em coreanos, os polimorfismos se apresentaram como fatores de risco para este desfecho.

O estudo apresenta algumas limitações, como o tamanho amostral relativamente pequeno. Além disso, a inclusão de pacientes caucasianos limita a aplicabilidade dos resultados em outras etnias, porém, fornece resultados mais fidedignos para uma população de um país rico em diversidade étnica. Mais estudos são necessários para confirmar esses achados e verificar a associação desses polimorfismos com DMPT em outras etnias. Outra limitação é a ausência de dados referentes à dosagem plasmática de adiponectina e CCL5, o que permitiria uma melhor compreensão do efeito dos polimorfismos no DMPT.

Apesar das limitações, o estudo sugere que o polimorfismo 276G/T do gene da adiponectina esteja associado ao DMPT em transplantados renais caucasianos. Este resultado, se confirmado por outros estudos, permitirá identificar pacientes com risco aumentado de DMPT, a fim de controlar outros fatores de risco modificáveis.

## APÊNDICES

## APÊNDICE I

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(a) Sr(a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa científica que irá avaliar a associação entre uma característica dos seus genes e o desenvolvimento de diabetes melito pós-transplante renal. O diabetes melito é uma doença onde os níveis de açúcar no sangue estão aumentados.

Para participar dessa pesquisa, você responderá a um questionário sobre dados sócio-demográficos (idade, sexo, etnia, estado civil e renda) e de fumo e história familiar de diabetes melito. Medidas de peso e altura também serão aferidas para a pesquisa.

O seu sangue será coletado para posteriores avaliações. O procedimento de coleta consiste em colocar uma agulha em alguma veia do corpo para retirada de sangue. A quantidade de sangue coletada será de 5mL, o que é semelhante a uma colher de chá. O(a) Sr(a) poderá sentir o desconforto relacionado às coletas, podendo causar dores, extravasamento de sangue ou manchas roxas na pele, sendo este o único risco a que estará exposto. A partir da coleta, serão identificadas características genéticas no seu sangue, envolvendo o gene da adiponectina e CCL5. A adiponectina é uma substância presente no seu sangue que tem propriedades anti-inflamatórias e de proteção contra diabetes e doenças do coração. Já a CCL5 é uma proteína envolvida com a inflamação e o sistema imune.

Além disso, o seu sangue será armazenado no freezer do Laboratório de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a uma temperatura de -80°C, e estará sob a responsabilidade dos pesquisadores Bruna Nicoletto e Luiz Felipe Gonçalves. O armazenamento do seu sangue vai permitir, além da realização deste estudo, a realização de futuras pesquisas, sempre preservando o seu anonimato. Todos os projetos que futuramente poderão ser desenvolvidos serão submetidos a um Comitê de Ética e Pesquisa; e somente sob a aprovação do estudo por este Comitê, o seu sangue será utilizado.

- |  |
|--|
| <input type="checkbox"/> Autorizo o armazenamento e o registro das informações relacionadas ao meu sangue coletado, preservando o meu anonimato.   |
| <input type="checkbox"/> Não autorizo o armazenamento e o registro das informações relacionadas ao meu sangue coletado, preservando o meu anonimato.   |
| <input type="checkbox"/> Não desejo ser recontatado para concordar com o uso do meu sangue e informações associadas em futuras pesquisas.  |
| <input type="checkbox"/> Não desejo receber informações sobre justificativas, objetivos e procedimentos que envolvam o uso do meu sangue coletado, além de informações sobre riscos e benefícios de futuras pesquisas. |

( ) Não desejo receber informações sobre resultados de futuras pesquisas que envolverão o meu sangue coletado e informações associadas.

A partir do seu sangue coletado, poderão ser avaliados exames de rotina, como glicose, insulina, colesterol, triglicerídeos e outros hormônios. No caso se futuras pesquisas que envolvam a análise de outros genes através do seu sangue coletado, você não será comunicado sobre o resultado, a não ser que se exista tratamento e este seja necessário.

( ) Autorizo a divulgação dos resultados encontrados no meu sangue para outros indivíduos da minha família ou de gerações futuras, caso eles tenham benefícios com esses resultados.

O(a) Sr(a). poderá desistir da pesquisa a que está sendo convidado(a) a participar a qualquer momento, mesmo após ter começado. Além disso, poderá retirar o seu consentimento para a utilização de seu sangue e informações associadas quando quiser. Isso não vai lhe trazer nenhum prejuízo à continuidade do tratamento prestado pela equipe de saúde desse hospital. Para participar dessa pesquisa, não será necessário receber nenhum tipo de medicação e não haverá despesas pessoais com a participação na pesquisa.

Os resultados obtidos com este estudo e com futuras pesquisas aprovadas por um Comitê de Ética serão usados para publicações, e lhe garantimos que estes dados serão utilizados sem a sua identificação, preservando e mantendo o seu anonimato. Futuramente, essa pesquisa pode auxiliar indiretamente muitos transplantados renais, já que a partir dela saberemos se uma característica genética pode influenciar no desenvolvimento de diabetes melito pós-transplante.

Os pesquisadores responsáveis por este projeto de pesquisa são: a nutricionista Bruna Bellincanta Nicoletto, a professora de nutrição Gabriela Corrêa Souza e o professor de medicina Luiz Felipe Gonçalves, tendo este documento sido revisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa desta instituição. Contato do Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre: (51) 3359.8304. Contato da pesquisadora Bruna Nicoletto: (51) 9646.3207. Endereço e contato dos pesquisadores: Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2º andar, telefone (51) 3359.8295.

A minha assinatura, neste termo de consentimento informado, dará autorização ao pesquisador envolvido para utilizar os dados obtidos quando se fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a minha identificação.

Nome do pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

Nome do paciente: \_\_\_\_\_

Assinatura do paciente: \_\_\_\_\_

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 2011.

## APÊNDICE II

### FICHA PARA COLETA DE DADOS

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

( ) CASO: Número _____	( ) CONTROLE: Número _____
------------------------	----------------------------

Nome: \_\_\_\_\_ Prontuário: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) F ( ) M

Endereço: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_

Estado: \_\_\_\_\_ Telefone(s): \_\_\_\_\_

Estado civil: ( ) casado ( ) solteiro ( ) separado ( ) viúvo ( ) união estável

Etnia: ( ) branco ( ) negro ( ) mulato ( ) oriental ( ) índio ( ) outros

Profissão: \_\_\_\_\_

Em atividade: ( ) não ( ) sim: \_\_\_\_\_

Fumante: ( ) não ( ) sim ( ) ex-tabagista: há \_\_\_\_\_ anos.

Doença de base: \_\_\_\_\_

Tipo de diálise: ( ) CAPD ( ) HD Data da 1<sup>a</sup> diálise: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Doador: ( ) vivo ( ) falecido Sexo doador: ( ) homem ( ) mulher

Data do transplante: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Re-transplante: ( ) não ( ) sim

Tempo de isquemia fria: \_\_\_\_\_ Disfunção inicial do enxerto: ( ) não ( ) sim

Rejeição aguda: ( ) não ( ) sim – número de episódios: \_\_\_\_\_

Tratamento: ( ) pulso metilprednisolona: \_\_\_\_\_ ( ) AGT/OKT3: \_\_\_\_\_

Diagnóstico de DMPT: ( ) não ( ) sim: Data do diagnóstico: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Tratamento DMPT: \_\_\_\_\_

História familiar de DM: ( ) não ( ) sim: \_\_\_\_\_

Infecções: ( ) não ( ) vírus da hepatite C ( ) citomegalovírus

Hipertensão prévia: ( ) não ( ) sim Hipertensão atual: ( ) não ( ) sim

### Imunossupressão inicial

Imunossupressão	Sim	Não	Observações:
Prednisona			
Ciclosporina			
Tacrolimus			
Azatioprina			
Micofenolato			
OKT3			
ATG			
Basiliximab			
Everolimus			
Sirolimus			

### Antropometria

Peso atual		Observações:
Altura atual		
Peso pré-transplante		

### Exames laboratoriais

Exame	Pré-transplante	Atual	Observações:
Glicose			
Insulina			
Hemoglobina glicosilada			
Triglicerídeos			
Colesterol total			
Colesterol HDL			
Colesterol LDL			

### Polimorfismos

276G/T (ADIPOQ)		Observações:
rs2280789 (CCL5)		
rs3817655 (CCL5)		