

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CARGA VIRAL DO TORQUE TENO VIRUS (TTV) COMO MARCADOR DE IMUNOSSUPRESSÃO

Trabalho submetido por
Vasco Neves Matos Relvas Marino
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

fevereiro de 2024

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CARGA VIRAL DO TORQUE TENO VIRUS (TTV) COMO MARCADOR DE IMUNOSSUPRESSÃO

Trabalho submetido por
Vasco Neves Matos Relvas Marino
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Doutora Perpétua da Conceição Rodrigues Gomes

fevereiro de 2024

“Success is walking from failure to failure”

(Winston Churchill)

Agradecimentos

O final de um percurso nunca se faz sozinho, pelo que neste pequeno espaço, vou tentar expressar todo o meu reconhecimento e gratidão a todas as pessoas que me possibilitaram atingir o final desta jornada.

Queria começar por agradecer à minha orientadora, a Professora Perpétua Gomes, pelas explicações, orientações e chamadas de atenção para não perder o rumo.

Um agradecimento aos meus pais, Luís e Marina, à minha irmã Rita, aos meus tios, Filipa e Miguel, por terem sempre puxado por mim durante todos estes anos, e, por acreditarem no meu sucesso. Todo o vosso apoio foi recebido e canalizado para este final.

Aos meus amigos e colegas, Ivan Real, Jorge Domingos, Miguel Seabra, Inês Martins, Inês Rebocho, João Cruz, Tiago Nogueira, Daniela Cravidão, Carolina Dias, Isabel Pinto, Carla Soares, David Travassos, João Galhanas, por todos estes anos de amizade e ajuda, tornando os dias melhores, sempre com bom humor e disposição, assim como espírito de entreajuda e por nunca me deixarem desistir.

Um especial agradecimento à minha namorada, Ana Teresa Rosado, por todo o amor, carinho, apoio e paciência que todos os dias me dá desde sempre, assim como todos os sorrisos e gargalhadas que me consegue fazer expressar. Sem ti, nada disto seria possível, obrigado por caminhares comigo durante este tempo, mas que nunca paremos de caminhar juntos.

Finalmente, um agradecimento geral, para aqueles que, por imensa quantidade de nomes, não conseguem ser enumerados/as individualmente, por todas as ações, formações, risos e empurrões para a frente que tiveram de me dar. O meu obrigado a todos, por esta etapa e por todas as próximas que virão.

Resumo

Nas últimas décadas, os avanços na área dos transplantes de órgãos permitiram prolongar a esperança média de vida de pessoas com doença renal crónica. No entanto, para garantir a viabilidade e a estabilidade do transplante renal, é necessário instituir terapêutica imunossupressora. Contudo, ainda é difícil prever com precisão, a nível individual, os efeitos secundários que podem ocorrer em consequência da utilização de imunossupressores.

Após a realização de um transplante é necessário trabalhar dentro de uma margem terapêutica estreita, de modo a prevenir a possibilidade de rejeição pela utilização de baixas doses de imunossupressores, ou o aparecimento de infeções oportunistas pela utilização de altas doses de imunossupressores.

Não existindo ainda uma ferramenta ideal para auxiliar no controlo desta estreita margem terapêutica, a utilização da carga viral do Torque Teno Vírus (TTV) como um marcador de imunossupressão tornou-se um objeto de estudo.

Esta dissertação incide na análise dos diversos estudos sobre TTV em doentes transplantados renais, onde várias amostragens de carga viral foram colhidas em diversos períodos pré e pós-transplantação, numa tentativa de averiguar a possibilidade do TTV ser utilizado como um marcador de imunossupressão fiável. Todos os estudos avaliados concluíram que existe uma forte possibilidade de utilização da carga viral do TTV como marcador de imunossupressão, no entanto, também foi unânimamente referido que são necessários mais estudos, com amostragens maiores, para chegar a uma conclusão definitiva.

Palavras-Chave: Torque teno vírus, Imunossupressão, Transplante, Marcador TTV

Abstract

Over the last decades, the medical advancements in the area of organ transplants allowed for an increase of life expectancy of chronic kidney disease patients. To maintain viability of the organ, immunosuppressors are used. Since it's difficult to precisely predict outcomes due to the immunosuppressive therapy, it's necessary to work on a strict therapeutic margin, so that rejection cannot occur with lower dosages of immunosuppressors, and opportunistic infections can't appear with higher dosages.

Without a tool to help control this strict therapeutic margin, the usage of Torque Teno Virus (TTV) as a marker for immunosuppression became a field of study, in an attempt to check if its presence could lead to a discovery of a control mechanism, preventing complications associated with immunosuppressive therapy.

This dissertation will focus on the analysis of diverse TTV studies found on kidney transplant patients, where numerous samples were collected before and after they have been transplanted, in an attempt to check if TTV viral load could be used as a viable immunosuppressive marker. All analysed authors came to a conclusion that TTV could very well be used as an immunosuppressive marker, however, it was also said that more specific studies should also be performed to give a definitive answer.

Keywords: Torque Teno Virus, Immunosuppression, Transplant, TTV Marker

Sumário

Resumo	9
Abstract	11
Índice de Figuras	15
Índice de Tabelas.....	17
Lista de abreviaturas.....	18
Introdução	19
Desenvolvimento	22
Caracterização do TTV.....	22
Imunobiologia	24
Transmissão e fatores de patogenicidade.....	26
Deteção da presença do TTV	29
Utilização clínica do TTV.....	30
Associação entre a carga viral de TTV e o sistema imunitário	31
Terapêutica Imunossupressora.....	33
Fármacos de indução.....	33
Terapêutica de manutenção	33
Doença Renal	37
Considerações gerais	37
Transplante Renal.....	39
Transplante Renal e TTV.....	41
Seleção de estudos considerados mais relevantes na avaliação da carga viral do TTV	42
Conclusão	47
Bibliografia.....	49

Índice de Figuras

Figura 1 – Representação esquemática do TTV	23
Figura 2 – Transmissão do TTV.....	26
Figura 3 – Relação entre a carga viral do TTV e imunossupressão ao longo do tempo...30	

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Imunossupressores utilizados em TOS	36
---	----

Lista de abreviaturas

BKV – Vírus BK

CMV – Citomegalovirus

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay*

FLA – Fases de leitura aberta

GAT – Globulinas Anti-Timócitos

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

IC – Inibidores da calcineurina

PCR – Reação de polimerização em cadeia

RNA – Ácido ribonucleico

TOS – Transplante de órgãos sólidos

TTV – Torque Teno Vírus

TTV-Ag – Antígeno de Torque Teno Vírus

Introdução

A verificação do estado de imunossupressão de um paciente, seja por doença ou por prescrição de fármacos imunossupressores, tem sido um dos grandes desafios da comunidade científica. É notória a necessidade de recorrer e de encontrar novos marcadores que ajudem a determinar o estado imunitário do doente antes do agravamento das condições imunitárias que podem inúmeras vezes conduzir a situações fatais. Um dos procedimentos mais comuns em que é necessário recorrer à terapêutica imunossupressora é o transplante de órgãos sólidos (TOS), onde a dose administrada desses fármacos implica um equilíbrio delicado entre imunossupressão sub-terapêutica, que pode resultar em rejeição do transplante, ou imunossupressão sobre-terapêutica, que pode conduzir a infecções oportunistas graves. Até à data, não existe nenhum marcador ideal que revele com a máxima segurança o estado do sistema imunitário nos doentes transplantados (Rezahosseini et al., 2019; Fernandez-Ruiz, 2020).

Um dos TOS mais comuns, realizados nos centros de transplantação, é o transplante renal. Desde o primeiro transplante renal com sucesso, em 1954, os avanços científicos nas terapêuticas imunossupressoras têm levado a melhorias significativas nos níveis das taxas de rejeição aguda, e da sobrevivência dos enxertos a curto prazo. No entanto, este sucesso não se traduz, na mesma magnitude, nos benefícios a longo prazo. Assim sendo, a otimização da imunossupressão é de grande importância para melhorar estes resultados e a qualidade de vida destes doentes (Cheung & Tang, 2022; Nordham & Ninokawa, 2022).

Ao mesmo tempo, a recente e contínua descoberta do viroma humano tem vindo a melhorar a percepção das interações hospedeiro-agente patogénico, sendo que uma vasta diversidade de ácido ribonucleico (RNA) e ácido desoxirribonucleico (DNA) virais mantém uma relação dinâmica e bidirecional com o sistema imunitário do hospedeiro em diversos pontos anatómicos. Destaca-se, entre os vírus encontrados no viroma humano, o Torque Teno Vírus (TTV). O TTV - cujo nome provém das palavras em Latim *torques* (colar) e *tenuis* (fino) - foi o primeiro vírus da família *Anelloviridae* a ser descoberto no ano de 1997. O TTV é considerado um “vírus órfão”, dado até ao momento, não ter sido demonstrada uma associação a qualquer tipo de manifestações clínicas (Fernández-Ruiz, 2020). Dado este vírus ser endémico e ubiqüitário, a sua monitorização poderá ser muito útil e informativa em variadas situações. Até à data, a utilização do TTV como marcador

de monitorização tem-se mostrado útil em pelo menos duas situações: avaliação da eficácia dos tratamentos de águas, de modo a prevenir contaminações fecais e possível desenvolvimento de patologias, e avaliação da competência da função imunológica em indivíduos imunocomprometidos (Focosi, Antonelli, Pistello & Maggi, 2016; Zárata, Taboada, Yocupicio-Monroy & Arias, 2017).

A monitorização da eficácia dos tratamentos de águas ainda é algo que se encontra pouco desenvolvida, pois é considerada ineficaz. No entanto, as possíveis melhorias de saneamento nas estações de tratamento das águas levaram à prevenção de doenças transmitidas pela água, como disenteria, febre tifóide e diarreia (Ekundayo, 2021).

O TTV tem vindo a ser cada vez mais considerado como um marcador universal da função imunológica, pela comunidade científica. Neste momento, procura-se compreender e aprofundar os conhecimentos relativos à informação disponível sobre a variação da virémia do TTV e a sua relação com a imunossupressão (Focosi, Macera, Boggi, Nelli & Maggi, 2015). Assim, a monitorização da cinética do DNA de TTV no plasma poderá ser útil na identificação de transplantados com risco aumentado de complicações relacionadas com a imunossupressão (Fernández-Ruiz, 2020).

Tem havido cada vez mais um maior número de estudos realizados em transplantados renais, em que se tem tentado definir valores limite e intervalos de carga viral de TTV, no plasma, de modo a prever e prevenir infeções oportunistas e, consequentemente, rejeição de transplante (Gorzer et al., 2023).

O objetivo da presente dissertação, foi realizar uma revisão da literatura onde se apresenta a caracterização do TTV, algumas considerações sobre transplante renal e terapêutica imunossupressora, assim como a relação entre a carga viral de TTV e a imunossupressão em indivíduos transplantados, verificando a possibilidade de se utilizar o TTV como um marcador de imunossupressão.

O método adotado para realizar a revisão da literatura foi a pesquisa em motores de busca como o PubMed, GoogleScholar, selecionando artigos maioritariamente entre 2017 e 2023, usando como palavras-chave: Torque Teno Virus, TTV, Immunosuppression, Kidney Transplant, Marker.

Desenvolvimento

Caracterização do TTV

O TTV foi identificado pela primeira vez em 1997, no soro de um indivíduo japonês que desenvolveu uma hepatite, após transfusão sanguínea (Westman, Schoofs, Ingelsson, Järhult & Muradrasoli, 2020).

Segundo o International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV, 2022), este vírus pertence à família *Anelloviridae*, inserido no género *Alphatorquetenovirus*.

Dentro da família *Anelloviridae*, existem outros géneros como o género *Betatorquevirus* que inclui os torque teno mini vírus e o género *Gammatorquevirus* que inclui os torque teno midi vírus. A família *Anelloviridae* inclui também vírus que infetam outros animais, como porcos (torque teno sus vírus), gatos (torque teno felis vírus), cães (torque teno canis vírus) e tupaia (torque teno tupaia vírus). No total, até ao momento, foram classificadas 29 espécies, sendo frequente a co-infecção com mais de uma espécie (Spandole, Cimponeriu, Berca & Mihăescu, 2015; Querido et al., 2023).

O TTV é um vírus de tamanho pequeno, com 30-50 nm de diâmetro, genoma circular e com polaridade negativa (Albert et al., 2017). Estes vírus possuem uma molécula de DNA simples, circular com cerca de 3,8 kb (Figura 1). O genoma do TTV é dividido em duas partes, uma parte que não é traduzível e que corresponde a 1,2 kb, e outra parte com potencial de codificação, que corresponde a 2,6 kb. A região que não é codificada tem um papel importante na replicação viral do TTV. A zona codificante expressa 3 mRNAs, estes utilizam codões de iniciação de tradução, e codificam pelo menos 3 proteínas através das zonas fases de leitura aberta (FLA) (Spandole et al., 2015; Rezahosseini et al., 2019).

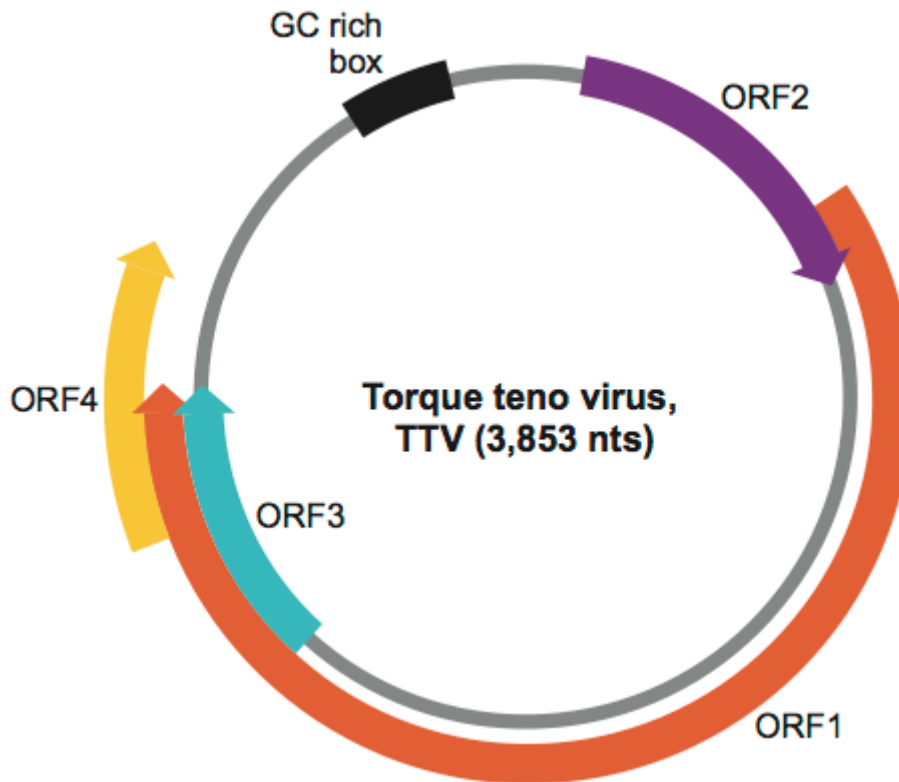


Figura 1- Representação esquemática do TTV (Adaptado de ICTV, 2011). O TTV possui uma molécula de DNA circular, com 3,8kb. Possui três fases de leitura aberta, que codificam as proteínas FLA.

O TTV infeta de forma crônica os seres humanos (>90% infetados), não provocando qualquer tipo de sintomatologia ou manifestações clínicas, e é mantido sob controle pelos mecanismos imunomoduladores adaptativos dos linfócitos T. Pensa-se que os linfócitos T possam ser o local onde ocorre a maior replicação destes vírus, apesar de outras células externas ao compartimento hematopoiético também poderem contribuir para a carga viral do TTV (Albert et al., 2017). Dada a elevada percentagem de infecção em humanos e entre humanos, o TTV é um vírus ubiquitário. Apesar de existir pouca informação acerca do tropismo celular no hospedeiro, tem sido descrito que o TTV se mantém de forma latente nas células mononucleares do sistema imunitário (Abbas et al., 2016).

A descoberta do TTV aconteceu num momento em que a atenção e os recursos científicos dos virologistas estavam sobretudo focados no vírus da imunodeficiência humana (HIV)

e nos vírus das hepatites. No entanto, todos esses recursos permitiram também a identificação de outros vírus e até à data, foram identificados 29 genótipos de TTV.

Estima-se que sejam produzidos no organismo humano imunocompetente, cerca de $3,8 \times 10^{10}$ cópias/ml de viriões de TTV por dia, onde >90% destes serão eliminados pelos diferentes mecanismos do sistema imunitário (Focosi et al., 2016) (Rezahosseini et al., 2019).

A investigação da infeção por TTV ganhou um especial interesse nos anos mais recentes, uma vez que ainda se conhece muito pouco sobre este assunto. Esta investigação tem estado limitada a alguns laboratórios a nível mundial, e é uma matéria de investigação com particular interesse em situações de comprometimento do sistema imunitário. É por isso inevitável que o conhecimento, neste momento, relativamente ao TTV, esteja a surgir e a ser discutido na comunidade científica para identificar as potencialidades da sua utilização como marcador de imunossupressão (Focosi et al., 2015).

Imunobiologia

No genoma do TTV, a fase de leitura aberta 1 (FLA1) é a região de codificação mais longa, e, com a maior taxa de mutações genéticas. A região FLA1 codifica para uma proteína da cápside viral, a proteína FLA1 que ajuda na evasão e fuga ao sistema imunitário. A proteína FLA2 inibe o fator de transcrição NF-kB, interrompendo assim a tradução de genes e diminuindo a produção de citocinas inflamatórias e enzimas, como a interleucina e a ciclo-oxigenase 2. A região FLA3, codifica para a proteína FLA3, que tem um papel importante no ciclo de replicação viral e na resistência antiviral (Rezahosseini et al., 2019).

As proteínas do TTV são antigénicas e consequentemente geram uma resposta por anticorpos. Os anticorpos da classe das IgM anti-TTV detetam-se entre as 10 e as 21 semanas após infeção, e essa deteção pode durar entre 5 e 11 semanas, começando a diminuir até deixarem de ser detetáveis. Os anticorpos da classe IgG anti-TTV começam a aumentar 16 semanas após a infeção, podendo ser detetadas durante pelo menos 4 anos pós-infeção. Apesar de serem detetáveis, os anticorpos anti-TTV não são nem protetores nem neutralizantes (Rezahosseini et al., 2019).

As células apresentadoras de antígenos como os linfócitos-B, os macrófagos, e as células dendríticas plasmocitóides apresentam um receptor que reconhece o DNA do TTV como DNA estranho, e, dependendo da posição e número das sequências citosina-fosfato-guanina, pode levar à produção ou inibição de citocinas inflamatórias. Além disso, o TTV produz também microRNAs, que inibem a sinalização de interferão, melhorando a resistência do vírus, facilitando assim a sua persistência nas células do hospedeiro. A carga viral do TTV aumenta quando existem condições que comprometam a resposta imunitária, estando a replicação do TTV inversamente correlacionada com o número e funções dos linfócitos-T (Rezahosseini et al., 2019).

Transmissão e fatores de patogenicidade

O TTV transmite-se na comunidade de múltiplas formas, podendo inclusive ser transmitido por via vertical trans-placentariamente, pela amamentação, ou pela via oro-fecal. Pode estar presente na maior parte dos tecidos e células, com exceção dos glóbulos vermelhos e das plaquetas (Figura 2). O TTV é politrófico, e replica-se no fígado, na medula óssea e nas células sanguíneas mononucleares, especialmente nos linfócitos-T (Rezahosseini et al., 2019).

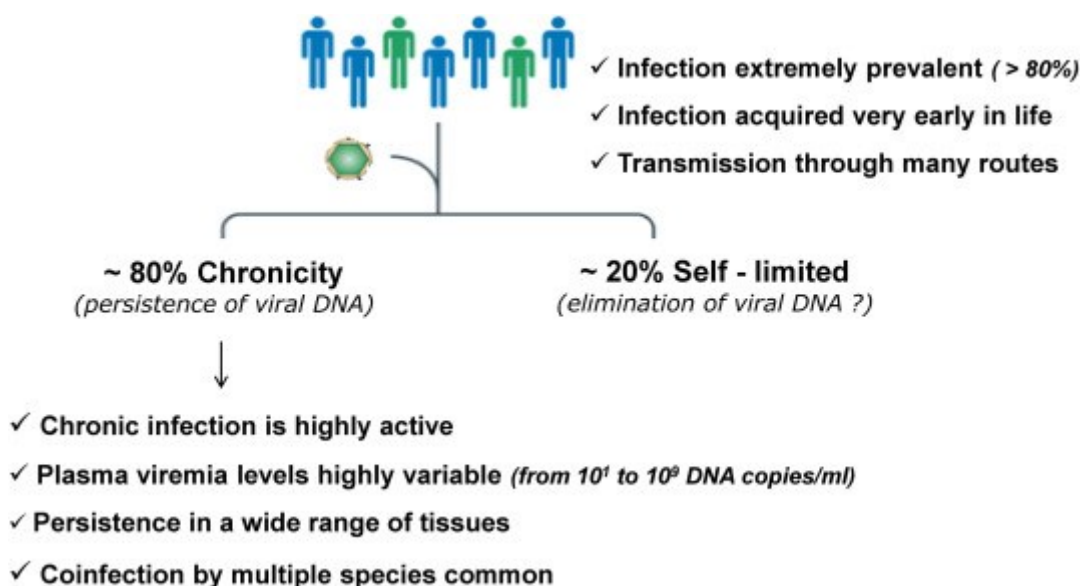


Figura 2 – Infecção por TTV (Adaptado de Spezia, 2023). A infecção do TTV ocorre de múltiplas formas, como por exemplo a via oro-fecal ou a via vertical. Em 80% dos indivíduos a infecção persiste conseguindo 20% dos indivíduos fazer a *clearance* viral espontânea.

Os *Anellovirus*, como o TTV, ainda são considerados “vírus órfãos”, sem existir evidência que suporte a sua associação direta causal a manifestações clínicas específicas (Fernández-Ruiz, 2020).

Um estudo realizado por Westman e colegas (Westman et al., 2020) demonstrou uma associação entre o valor da carga viral do TTV e alterações do sistema imunitário com

origem em infecções crônicas e/ou cânceros. Além disso, outros trabalhos demonstraram que pode ocorrer um aumento significativo de carga viral de TTV após imunossupressão

iatrogênica (Rezahosseini et al., 2019). Em consequência, a carga viral de TTV tem sido sugerida como um marcador alternativo do estado imunológico dos hospedeiros (Westman et al., 2020).

A prevalência do TTV é variável segundo o genótipo viral. O genótipo 1 foi descoberto em portadores saudáveis, em doentes com enzimas hepáticas aumentadas e em doentes com hepatites (Spezia et al., 2023). O genótipo 4 não é prevalente em sujeitos saudáveis, mas foi identificado em doentes com condições inflamatórias, como a artrite reumatoide ou doenças respiratórias agudas (Rezahosseini et al., 2019). Globalmente verifica-se que a carga viral do TTV é mais elevada em doentes com imunossupressão induzida, por terapêutica farmacológica, do que em portadores saudáveis. Além disso, a carga viral do TTV é igualmente mais elevada em doentes com infeções concomitantes, como com o vírus Epstein-Barr, com o papiloma vírus humano, com a bactéria *Helicobacter pylori*, com o HIV ou com o Citomegalovirus (CMV) (Westman et al., 2020).

A idade e o género são igualmente fatores a considerar, sendo que em homens de idade mais avançada, a carga viral encontrada tem sido sempre a mais alta do que em mulheres jovens (Rezahosseini et al., 2019).

Deteção da presença do TTV

Estando presente nos linfócitos, a carga viral do TTV é 100 vezes superior no sangue total que no plasma. O TTV pode ser detetado por técnicas de biologia molecular como a reação de polimerização em cadeia (PCR) quantitativa ou qualitativa. Também podem ser utilizados os métodos imunoenzimáticos - *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) para detetar anticorpos contra FLA1 e FLA2. Até agora, não existe nenhum método considerado *standard* para o diagnóstico da infeção por TTV. O PCR em tempo real é um método altamente preciso, sendo atualmente considerado o método *state of the art*. O teste ELISA é um procedimento mais fácil e menos dispendioso, mas o seu uso é limitado, uma vez que é apenas utilizado para detetar anticorpos, não permitindo diferenciar infeções recentes de infeções passadas, devido à grande sobreposição no tempo de IgM e IgG (Rezahosseini et al., 2019).

Utilização clínica do TTV

A imunossupressão que se segue a um transplante altera o viroma endógeno. Esta alteração do viroma pode representar uma possível medida para verificar a imunocompetência dos receptores. Desta forma foi possível verificar que o TTV se encontra em níveis elevados em episódios de sépsis, na infeção por HIV, em transplantes de órgãos ou de células estaminais. Sendo a carga viral do TTV inversamente correlacionada com o nível de imunocompetência, esta poderá ser um novo marcador para ajuste terapêutico de modo a evitar rejeição do órgão e complicações pós-transplante (Figura 3). Assim sendo, foi proposta a utilização da carga viral do TTV como biomarcador funcional de imunidade em situações de pós-transplante (Albert et al., 2017; Martín-López et al., 2020; Westman et al., 2020).

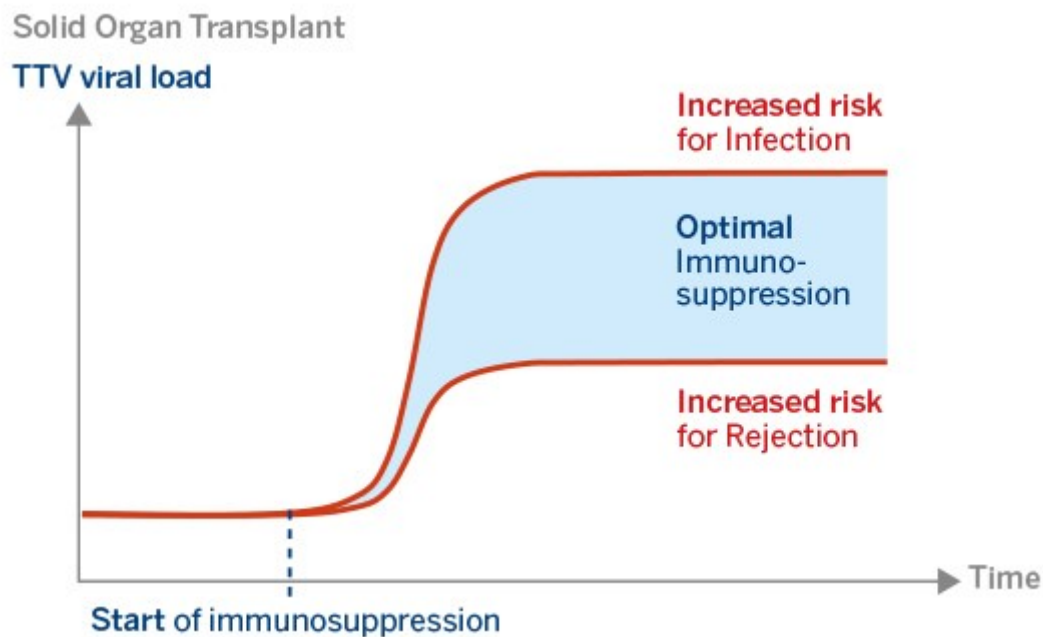


Figura 3- Relação entre a carga viral do TTV e a imunossupressão ao longo do tempo (Adaptado de Biomerieux, 2023). Após o transplante, inicia-se a terapêutica imunossupressora. Os níveis de carga viral de TTV permitem um controlo do estado da imunossupressão, podendo ser ajustada a terapêutica se os níveis atingirem valores acima ou abaixo dos estipulados como valores de margem terapêutica ideal.

Associação entre a carga viral de TTV e o sistema imunitário

A competência imunitária é definida como a capacidade de produzir uma resposta imunitária protetora contra a estimulação antigénica. Estudos que monitorizaram a viremia de TTV por PCR reportaram que mesmo indivíduos negativos para TTV se tornaram positivos após imunossupressão, sugerindo que existem depósitos virais persistentes noutros tecidos do organismo sem ser o sangue periférico (Oweira et al., 2022). O TTV tem uma habilidade notável para produzir infeções crónicas sem manifestações clínicas associadas. Até à data, ainda não se compreende inteiramente como o sistema imunitário efetivamente controla a infeção do TTV e protege contra infeções por espécies heterólogas do vírus (Focosi et al., 2016).

Em sujeitos saudáveis, a carga viral de TTV pode variar entre 1×10^2 e 1×10^8 cópias de DNA por ml de plasma (Focosi et al., 2016). Está demonstrado que a carga viral do TTV aumenta com a idade, mas diminui com o aumento de IgG de CMV (Westman et al., 2020). Focosi demonstrou também que o TTV é um vírus com tropismo para os linfócitos T, que é amplamente afetado por fármacos anti-linfócitos T, como a globulina antitimocítica (Focosi et al., 2015).

Transplante de Órgãos Sólidos

Os Transplantes de Órgãos Sólidos (TOS) evoluíram de um procedimento experimental para um tratamento definitivo para doentes em estadio avançado de doença, seja esta renal, hepática, pulmonar ou até mesmo cardíaca. Esta evolução permitiu de forma significativa ter um aumento de sobrevivência e uma diminuição de complicações no pós-operatório (Kao et al., 2022).

Nos recipientes de TOS, é iniciada terapêutica com fármacos imunossupressores, antes ou no momento do transplante, de modo a prevenir a rejeição do órgão e aumentar a sobrevivência do paciente e do órgão transplantado. Normalmente, para induzir ou manter a imunossupressão, é utilizado um regime poli medicamentoso que inclui fármacos com diferentes mecanismos de ação, e, para tratamento da rejeição, são utilizadas doses altas de esteroides, ou, uma combinação de medicamentos imunossupressores (Rezahosseini et al., 2019).

Terapêutica Imunossupressora

Existem cinco grupos de fármacos imunossupressores (Tabela 1). Dado que cada paciente tem características distintas, o plano imunoterapêutico não deve ser visto como uma abordagem igual para todos, devendo ser ajustado doente a doente. O objetivo é equilibrar o risco de rejeição com o risco de imunossupressão excessiva. Um desequilíbrio pode levar também a um aumento do risco de infecções oportunistas, tanto de origem viral, como bacteriana ou micótica. (Taher, Hussein & Kadhim, 2021; Cheung & Tang, 2022).

Existem duas famílias principais de fármacos imunossupressores: os de indução e os de manutenção. Segue-se uma breve descrição de ambos.

Fármacos de indução

Os fármacos de indução possuem dois grupos, os agentes depletors de linfócitos (OKT3, globulina antitimócito equina, globulina antitimócito leporídea, Alefacept, Efalizumab, Rituximab, Alemtuzumab) e os antagonistas dos receptores da IL-2 (Basiliximab). Os agentes depletors de linfócitos são mais fortes que os antagonistas dos receptores da IL-2, obtendo menor incidência de rejeição de transplante. No entanto, estes agentes tornam o indivíduo receptor mais suscetível ao risco de desenvolver infecções, ou até mesmo ao aparecimento de cancro (Cheung & Tang, 2022; Oweira et al., 2022).

Terapêutica de manutenção

A terapêutica de manutenção inclui cinco grupos, os inibidores da calcineurina (IC), os agentes antiproliferativos, os inibidores mTOR, os corticosteróides e o belatacept.

Dentro dos IC, temos o tacrolímus, que é um fármaco utilizado em duas formulações, a de libertação imediata, administrada bidariamente, e a de libertação prolongada, administrada diariamente. A maior reserva de Tacrolimus no organismo fica nos eritrócitos, existindo uma grande variabilidade inter-paciente, estando então dependentes de fatores como o hematócrito, capacidade de ligação a fármacos dos eritrócitos e a distribuição do fármaco entre sangue e plasma que vai depender da sua concentração. A sua metabolização dá-se no fígado e na parede do intestino, com contribuição das enzimas CYP3A4, CYP3A5 e CYP3A7 (Urzi Brancati, Scarpignato, Minutoli & Pallio, 2022). Um dos maiores problemas com a utilização do tacrolímus é o aumento da suscetibilidade para o desenvolvimento de diabetes (Oweira et al., 2022). Encontramos também a

ciclosporina, que é um péptido cíclico lipofílico, formado por onze aminoácidos produzidos pelo fungo *Typocladium inflatum*. A ciclosporina é metabolizada no fígado, com contribuição das enzimas CYP3A4 e CYP3A5. A maioria dos seus metabolitos são excretados pela bÍlis (Urzi Brancati et al., 2022). Os IC reduzem a rejeição celular aguda, mas podem causar nefrotoxicidade, neurotoxicidade, patologia de origem metabólica, e, distúrbios de eletrólitos (Oweira et al., 2022). Os IC são o pilar da terapêutica imunossupressora, sendo que o tacrolimus é mais potente que a ciclosporina (Rezahosseini et al., 2019).

Os agentes antiproliferativos incluem o micofenolato mofetil, que é um inibidor potente, seletivo, reversível e não competitivo da desidrogenase monofosfato inosina de tipo II, uma enzima que participa na síntese do nucleótido guanosina, que é necessário para a proliferação dos linfócitos. Posto isto, este inibidor faz com que pare a proliferação de linfócitos e a ativação das células-T. Este fármaco é metabolizado no fígado, intestino e rins por UDP-glucuronosiltransferases. Dentro deste grupo também se encontra a azatioprina, um antimetabolito imitador de purinas, onde o efeito principal será do seu metabolito 6-mercaptopurina. O micofenolato é preferível à azatioprina, dado o seu maior sucesso na prevenção da rejeição aguda e ter um melhor perfil de segurança (Cheung & Tang, 2022; Urzi Brancati et al., 2022).

Os inibidores mTOR incluem o sirolimus e o everolimus, estes medicamentos atuam ao inibir a resposta da IL-2, bloqueando a ativação das células T e B. O seu metabolismo ocorre no fígado e na parede intestinal, por intervenção das enzimas CYP3A4 e CYP3A5 (Urzi Brancati et al., 2022).

Os corticosteróides ligam-se aos recetores glucocorticoides, inibindo a produção de citocinas, como a IL-1, IL-2, IL-3, IL-6. Afetam a atividade das células B e T, assim como a dos macrófagos, devido à sua toxicidade quando usados num longo espaço de tempo, evitando-se a sua utilização prolongada (Cheung & Tang, 2022; Oweira et al., 2022).

Atualmente, os IC são o tratamento imunossupressor habitual em transplantes renais, no entanto, estes fármacos são utilizados em diversas combinações. De modo a atingir os diversos níveis de ativação de linfócitos, é necessário um regime inicial constituído por uma terapêutica imunossupressora tripla, que inclui corticosteroides, inibidor de

calcineurina e um agente antiproliferativo. Os inibidores mTOR e o belatacept são utilizados como alternativa em doentes que desenvolveram nefrotoxicidade, ou, cancros pós-transplante devido aos inibidores da calcineurina (Cheung & Tang, 2022).

Tabela 1 – Imunossupressores utilizados em TOS

Imunossupressores		Mecanismo de ação
1- Biológicos		
	Globulina antitimocítica	Anticorpos policlonais que bloqueiam as proteínas da membrana, inativando as células T.
	Alemtuzumab	Anticorpo monoclonal que se liga aos linfócitos T e B, causando morte celular.
	Basiliximab	Antagonista dos receptores das Interleucinas-2, inibindo a activação das células T.
	Belatacept	Previne a ligação entre as Células T e os linfócitos B.
	Rituximab	Anticorpo monoclonal que se liga às células B, permitindo uma citotoxicidade antibiótico dependente.
2- Inibidores da Calcineurina (IC)		
	Tacrolimus	Ligam-se à calcineurina, impedindo a produção de interleucina-2, e, posteriormente, negam a proliferação das células T, controlando assim a resposta imune.
	Ciclosporina	
3- Antimetabolitos/Agentes antiproliferativos		
	Azatioprina	Inibem a proliferação de células T, ao impedirem a síntese das purinas.
	Micofenolato mofetil	
4- Inibidores mTOR (Mammalian Target of Rapamycin)		
	Sirolimus	Inibem as interleucinas-2, impedindo a activação das células T ou B.
	Everolimus	
5- Corticosteróides		
	Prednisolona	Bloqueiam a expressão de citocinas dos linfócitos B.

Doença Renal

Considerações gerais

A doença renal crónica é uma patologia progressiva identificada por alterações estruturais e funcionais nos rins, sem cura e com elevada morbilidade e mortalidade. Tem maior prevalência na população geriátrica, especialmente em doentes diabéticos, hipertensos, ou que sofram de glomerulonefrite ou doença quística renal (Kalantar-Zadeh, Jafar, Nitsch, Neuen, & Perkovic, 2021).

As maiores consequências de doença renal crónica incluem a progressão para falência renal e maior risco de doença cardiovascular, que contribuem significativamente para o aumento da morbilidade e da mortalidade (Wang, Peter, Chu, Tuot & Chen, 2022).

A preservação da função renal pode ser realizada por métodos não farmacológicos, como ter uma dieta ou manter um estilo de vida saudável e controlar os riscos cardiovasculares. No entanto, quando necessário, será preciso recorrer a determinados fármacos dependendo do estágio da doença renal, para controlo da mesma. Uma dieta vegetariana ou até mesmo vegan, com baixa quantidade de sal e conteúdo proteico, pode ajudar a mitigar a hiperfiltração glomerular e preservar a função renal por mais tempo. Em termos farmacoterapêuticos, temos os modeladores da via renina-angiotensina-aldosterona, que reduzem a pressão interglomerular, enquanto outros fármacos, como os diuréticos poupadores de potássio, protegem os rins por mecanismos anti-inflamatórios e antifibróticos (Hariharan, Israni & Danovitch, 2021).

Quando a terapêutica farmacológica se torna inviável, tem de se considerar a alternativa de substituição renal, iniciando-se diálise ou, considerar-se o transplante renal, de modo a preservar a função renal residual por mais tempo (Haupenthal et al., 2023).

Quer a diálise, quer o transplante renal, são processos que impactarão significativamente a da vida do doente que sofra de falência ou diminuição de capacidade renal. Devido à pequena quantidade de dadores de rim e devido às comorbilidades que surgem com o envelhecimento e mesmo à maior dificuldade de acesso, a diálise é ainda a opção mais prevalente (Macera et al., 2019).

Embora a realização de diálise, durante longos períodos de tempo, esteja associada ao aumento da esperança média de vida, tem como consequência possíveis complicações ou o surgimento de sintomas que impactam a qualidade de vida dos doentes. Em algumas situações, os cuidados paliativos e a terapêutica de suporte são as opções escolhidas (Ho et al., 2023).

Transplante Renal

Segundo os manuais da MSD, o transplante renal define-se como a remoção cirúrgica de um rim saudável de uma pessoa viva ou recentemente falecida e a sua transferência para uma pessoa com insuficiência renal terminal (MSD Manuals, 2022).

Uma maior taxa de sobrevivência em doentes submetidos a transplante renal em comparação com a de doentes submetidos a diálise a longo-prazo tem sido observada. Existem intervenções médicas que levam ao sucesso de um transplante renal, de modo a evitar o retorno à diálise ou à necessidade de realizar novo transplante. A título de exemplo, encontram-se a prevenção de rejeição por ajuste de doses de fármacos imunossupressores, o rastreio de infeções víricas oportunistas (vírus BK e citomegalovírus) e consequente tratamento destas, e ainda pela utilização de biomarcadores para o diagnóstico de rejeição aguda (Hariharan et al., 2021).

A rejeição aguda é confirmada por biópsia renal. A rejeição pode ser mediada por linfócitos-T (no primeiro ano), anticorpos, ou uma combinação dos dois (depois de um ano). As infeções oportunistas mais comuns após transplante renal são a infeção por citomegalovírus, infeção por vírus BK (BKV) e infeção por influenza vírus (Hariharan et al., 2021).

Apesar dos resultados de transplante renal a longo-prazo terem aumentado positivamente nas últimas décadas, a sobrevivência dos doentes recetores de transplante renal é quatro vezes mais baixa do que em doentes sem doença renal avançada (Oweira et al., 2022).

A rejeição crónica mediada por anticorpos é a maior causa de falha de enxerto e a sua ocorrência está relacionada com a não adesão à terapêutica por parte do doente ou por redução na imunossupressão com o objetivo de evitar toxicidade. Outros fatores que contribuem para perda de enxerto incluem a fibrose intersticial, a atrofia tubular, a doença recorrente, eventuais infeções oportunistas, a presença de diabetes mellitus, e/ou outras complicações associadas à imunossupressão a longo prazo (Cheung & Tang, 2022).

Os marcadores de função renal em transplantados incluem a creatinina sérica, a taxa de filtração glomerular estimada, proteinúria, a histologia de enxerto e anticorpos específicos do dador. No entanto, estes marcadores têm baixa sensibilidade e especificidade, podem estar associados a práticas invasivas e muitas vezes difíceis de interpretar. Novos

biomarcadores têm sido estudados e apresentados na atualidade. Os biomarcadores podem ser divididos em três grupos: os associados a risco de rejeição (aloreatividade/tolerância), os que refletem a resposta individual a fármacos imunossupressores e os associados a disfunção e lesão do enxerto. Alguns exemplos incluem o IFN- γ , a IL-2, células T regulatórias, mTOR e CYP3A5 (Cheung & Tang, 2022).

Paralelamente diversos fatores podem influenciar o resultado clínico de um transplante renal, sendo que apenas a utilização de um biomarcador não será com certeza suficiente para garantir o sucesso da terapêutica e de todo o processo. Idealmente, um conjunto de biomarcadores poderá ajudar a prever o risco de rejeição e a resposta individual ao tratamento, o que irá orientar e desenvolver estratégias para terapêuticas de imunossupressão individualizadas, para cada doente transplantado (Cheung & Tang, 2022).

Transplante Renal e TTV

O transplante continua atualmente a ser a melhor opção terapêutica para estádios finais de doença renal, sendo uma opção segura, com maior qualidade de vida e melhor custo-efetividade (Segall et al., 2016; Fernández-Ruiz, 2020).

Um dos principais obstáculos neste processo é a rejeição mediada por anticorpos, que corresponde a uma das maiores causas de rejeição do órgão no transplante renal, muitas vezes associado a uma terapêutica imunossupressora inadequada (Gore, Gard, Niesters & Buter, 2023).

Os níveis de TTV no sangue periférico, ou seja, o seu valor de carga viral poderá espelhar a força geral da imunidade inata e específica, sendo que a carga viral está intrinsecamente relacionada com a imunocompetência do hospedeiro. A prevalência da presença de TTV em doentes imunocomprometidos é de 100% após transplante, sendo que não é afetada pelos fármacos antivirais comumente utilizados pós-transplante para controlo de outras infeções virais, nomeadamente CMV ou BKV (Strassl et al., 2018).

Em casos de transplante renal, a carga viral do TTV aumenta rapidamente a partir do dia 7 até ao dia 30, e chega ao pico cerca de 3 a 12 meses pós-transplante, sendo que começa a diminuir após este período (Strassl et al., 2018).

A utilização de fármacos, como os inibidores da calcineurina (tacrolimus e ciclosporina), são atualmente a única estratégia para determinar a imunocompetência de um transplantado renal (Strassl et al., 2018; Grenda, 2021).

Para melhor avaliar a possibilidade de utilizar o TTV como um marcador de imunossupressão, têm saído publicações de vários estudos realizados por diferentes equipas de investigação. Estes estudos apresentam diferentes metodologias e resultados nem sempre concordantes. Optei por apresentar aqui alguns dos trabalhos que achei mais relevantes. Estes estudos foram selecionados especificamente por terem uma amostragem maior em número de colheitas, ou em número de doentes. Todos os estudos aqui apresentados foram realizados em doentes que sofreram transplante renal.

Seleção de estudos considerados mais relevantes na avaliação da carga viral do TTV

Para realizar uma avaliação com o objetivo de concluir se a carga viral de TTV poder ser utilizada como um marcador de imunossupressão, foi analisada uma seleção de estudos realizados em doentes transplantados renais.

Os trabalhos aqui apresentados foram selecionados mediante os seguintes critérios: estudos efetuados em transplantados renais, realizados entre 2016 e 2023, com variáveis de género e idade, avaliações pré e pós transplante, com seguimentos faseados ao longo de pelo menos 1 ano.

O estudo de Schiemann (2017) quis verificar a possibilidade de uma correlação inversa entre a carga viral de TTV e a rejeição mediada por anticorpos em doentes de transplante renal. Para tal, foram estudados 715 recetores de transplante renal, com idades entre os 37 e os 58 anos, e uma mediana de idade igual a 48 anos. 267 dos 715 recetores pertencem ao sexo feminino, correspondendo a 37% dos casos estudados. Foram registados 46 casos de rejeição mediada por anticorpos. Os autores conseguiram demonstrar que a carga viral de TTV é variável com o tipo de imunossupressão, tendo sido estudados regimes terapêuticos com ciclosporina, tacrolimus, inibidores mTOR e belatacept. Os valores de TTV foram mais altos com a terapêutica com belatacept, estando já estabelecido o seu efeito de preservar a função renal. Baseado nestas observações foi sugerido que a carga viral do TTV reflete a eficácia da imunossupressão neste grupo de doentes. Em concordância, foi observado que uma maior carga viral pré-transplante está associada a uma menor taxa de rejeição aguda (Schiemann et al., 2017).

Strassl (2018), numa tentativa de verificar a viabilidade do TTV como marcador de imunossupressão, estudou 169 transplantados renais. A amostragem englobava apenas adultos, com uma média de 55 anos de idade e uma disparidade de 30% de sexo feminino vs sexo masculino. Todos os recetores de transplante foram tratados com uma terapêutica tripla de ácido micofenólico, tacrolimus e corticosteróides. Foram feitas colheitas sanguíneas antes da cirurgia, semanalmente após o transplante até nota de alta dos doentes, e, posteriormente, na consulta de seguimento a cada 3 meses.

Para quantificar a carga viral de TTV nas colheitas, foi utilizada a técnica de PCR em tempo real, sendo os valores colocados na medida de cópias/mL de plasma. Strassl conseguiu verificar que a presença de comorbilidades, a diabetes mellitus e a profilaxia de CMV não estavam associados com os níveis de TTV quantificados. No entanto, tanto os recetores de transplante do sexo feminino, assim como as idades mais altas do dador e do recetor, são valores estatisticamente significativos para os níveis medidos de TTV. Strassl conseguiu não só identificar uma associação linear entre a carga viral do TTV e infeções pós-transplante, como também uma previsão de infeção 3 meses antes de estas se manifestarem (Strassl et al., 2018).

Em contrapartida Uhl (2020) focou a sua investigação no facto de a deterioração dos transplantes estar ou não associada a uma imunossupressão inadequada. Para tal, interpretou os resultados de 45 transplantados pediátricos, que realizaram colheitas de sangue mensalmente, durante um ano, com início após o transplante. Estas amostras foram posteriormente quantificadas recorrendo ao PCR em tempo real. Os autores concluíram que a carga viral do TTV reflete a força de imunossupressão, variando com a terapêutica utilizada, como com o uso de inibidores da calcineurina tacrolímus e ciclosporina, que apresentam maiores cargas virais de TTV, versus o uso de rapamicina, onde as cargas virais de TTV estavam mais baixas. Também se verificou que os usos de IC alteraram mais as cargas virais do TTV do que as cargas virais do vírus Epstein-Barr, mostrando uma maior sensibilidade como marcador. No entanto, os autores referem ser necessário realizar mais estudos com um maior número de participantes para confirmar estes achados (Uhl et al., 2020).

O estudo de observação de Doberer (2020) foi realizado com o objetivo de verificar a utilização do TTV para medir risco de rejeição ou infeção em doentes que receberam um transplante renal. Neste estudo participaram 386 adultos, com idade média de 55 anos e sendo 35% do sexo feminino. Foram avaliados continuamente até aos doze meses após o transplante, salvo desistência, rejeição do órgão ou morte.

Dos 386 doentes, 110 tiveram de abandonar o estudo, pois ocorreram situações de perda do órgão transplantado, morte e alteração do local de seguimento. Foram excluídos dois

doentes por não terem infecção por TTV. Uma análise de risco de infecção foi realizada aos 274 alvos de estudo, tendo-se obtido 127 positivos para infecção. Testaram-se 37 doentes por biópsia, devido a suspeita de rejeição e encontraram-se 11 casos de rejeição.

Os resultados obtidos revelaram que a carga viral do TTV atinge um pico após os três meses de transplante, atingindo uma estabilidade na carga viral começando a diminuir lentamente após o sexto mês até ao décimo segundo mês.

A carga viral de TTV conseguiu prever com alguma antecedência casos de rejeição e de infecção, tendo Doberer conseguido definir um valor ideal de TTV para transplantados renais entre os 1×10^6 e 1×10^8 cópias/mL, de modo a minimizar os riscos de rejeição e infecção. Doberer defende assim a utilização do TTV como um bom marcador de imunossupressão para transplantes renais (Doberer et al., 2020).

O estudo de Taher (2021) realizado no Centro de Doenças e Transplantes Renais, em Bagdade, realizou uma avaliação de carga viral TTV e Ag TTV em amostras de soro de 80 recetores de transplante renal. Foram realizados questionários para obter informações, como a idade, o género, a terapêutica farmacológica habitual, o peso, e se o rim recebido provinha de um familiar direto ou não. Os critérios de inclusão implicavam ter recebido um transplante há mais de 6 meses e não serem doentes pediátricos. O protocolo para doentes de transplantes renais implicou uma abordagem terapêutica com duas conjugações diferentes de medicamentos. A primeira, com uma combinação de Ciclosporina, Micofenolato e Prednisolona (grupo CYC), ou uma segunda, com Tacrolímus, Micofenolato, Prednisolona e Anticorpos monoclonais anti CD-25 (Basiliximab ou daclizumab) (grupo TAC).

Contrariamente aos outros estudos, Taher decidiu estudar não só a carga viral de TTV, mas também o antígeno de TTV (TTV-Ag), para tal, tentou verificar se a carga viral do TTV poderia ser um indicador de reativação de CMV ao mesmo tempo que o TTV-Ag seria verificado relativamente à possibilidade de diminuir os níveis de IL-6. Para deteção de TTV-Ag e para deteção dos níveis de IL-6 foram utilizados testes ELISA e para deteção da carga viral de TTV foi utilizada a técnica de PCR em tempo real.

Os resultados obtidos revelaram que 8 dos 80 doentes testaram positivo para TTV-Ag, sendo que foi conseguido estabelecer uma associação inversa entre o TTV-Ag e o nível de IL-6 (Taher, Hussein & Kadhim, 2021).

Ho e colegas decidiram realizar um estudo com início em 2023, com a duração de pelo menos 1 ano, onde o TTV vai ser utilizado como marcador de imunossupressão. No entanto, apenas irá incluir doentes que receberam um transplante renal há mais de 3 meses e que se encontrem com doses de manutenção com imunossupressores estáveis. Dentro dos parâmetros estabelecidos, estão a ser avaliados 172 recetores de transplante, com idades acima dos 21 anos. Para averiguar o TTV como marcador fiável, foi colhida uma amostra de sangue no momento de inclusão no estudo, sendo feita uma nova colheita em caso de internamento por complicações relacionadas com o transplante, ou, quando for necessário fazer uma biopsia do enxerto para controlo. As amostragens serão posteriormente tratadas com PCR quantitativo em tempo real (Ho et al., 2023).

Querido e colegas, uma equipa portuguesa, avaliaram 81 recetores de transplante renal, dos quais todos eram adultos e maioritariamente (65%) do sexo masculino. Foram programados seguimentos, onde foram colhidas amostras na primeira semana, no primeiro mês, no terceiro, sexto e nono mês, assim como na altura do primeiro ano após o transplante. Incluíram-se também amostragens adquiridas por eventualidades clínicas, como infeções que levassem a hospitalização ou estadias prolongadas no hospital onde se executou o estudo, ou rejeição comprovada por biópsia. A taxa de incidência de infeções foi de 1,32 acontecimentos por cada 1000 dias de transplante, sendo a maioria das infeções de causa bacteriana, embora existindo também infeções virais registadas.

As análises das amostras colhidas revelaram que 80 dos 81 recetores possuíam já valores positivos de TTV ainda antes de se executarem os transplantes. Verificou-se que a carga viral do TTV aumenta até ao terceiro mês atingindo o seu valor máximo registado, começando a diminuir lentamente até às últimas medições registadas.

Querido verificou que a medição da carga viral do TTV até ao primeiro ano após o transplante é um bom mecanismo de previsão de infeção, com sensibilidade de 99,73% e especificidade de 83,67%. Com os resultados obtidos, Querido et al. aceita a hipótese da carga viral do TTV ser um marcador eficaz de imunossupressão. No entanto, sugere

também uma continuação de estudos para se poder desenvolver marcadores ainda mais fiáveis na avaliação da função imunológica dos transplantados (Querido et al., 2023).

Conclusão

Atualmente, o maior problema em transplantes de órgãos é conseguir assegurar a qualidade de vida dos transplantados. Dado que é necessária terapêutica imunossupressora para garantir o sucesso de um transplante de órgãos sólidos, é de extrema importância a utilização de um marcador que permita determinar o equilíbrio entre as margens terapêuticas estabelecidas. Na terapia imunossupressora, ocorrem continuamente ajustes de doses e até alteração de fármacos imunossupressores ao longo do tempo de tratamento, sendo que a função imunitária dos doentes tem de ser adequadamente monitorizada e avaliada.

Em termos da determinação da competência da função imunitária, a carga viral do TTV poderá servir como uma alternativa pouco dispendiosa e fácil de medir, sendo especialmente útil em recetores de transplante renal, e, possivelmente noutras patologias. A virémia do TTV poderá ser então útil para prever infeções oportunistas ou rejeição do órgão transplantado.

A comunidade científica tem feito esforços nos últimos anos de modo a estudar a carga viral do TTV e as suas interações com o sistema imunitário na presença de diversas patologias. Dos estudos aqui apresentados, estudos esses em que a amostragem foi feita em casos de transplante renal, todos demonstraram uma associação entre a carga viral do TTV com o estado imunitário dos transplantados: situações de imunossupressão em excesso, em que se observou uma maior carga viral sinalizando assim casos em que houve infeções oportunistas; e situações em que foi feita uma imunoterapia inadequada, em que se observou uma menor carga viral, ocorrendo assim, casos de rejeição do transplante.

No entanto, muitos destes estudos apresentam uma pequena amostragem e um tempo de seguimento reduzido, demonstrando um nível de evidência baixo, como Uhl ou Taher.

De modo a tornar o papel da carga viral do TTV como um marcador de seguimento de confiança, do nível de imunossupressão ou do risco de infeção ou rejeição, temos de considerar uma medição com parâmetros bem definidos, ou padronizados. Para tal, o estudo de Ho, estando ainda a decorrer, poderá conseguir resultados fiáveis, indicando o TTV como um marcador não de curto prazo, imediatamente após transplante, mas de longo prazo, após 3 meses de transplante e com a terapêutica já estabilizada, para prevenir

possíveis rejeições ou complicações associadas ao enxerto. Tendo em conta os vários estudos apresentados, os autores revelam em conjunto que é uma possibilidade a utilização do TTV. No entanto, todos sugerem estudos mais abrangentes, com maior número de doentes, melhores grupos de controlo e maior duração de estudo, podendo ou não incluir outro tipo de patologias no mesmo estudo.

Penso que com os dados que estão disponíveis atualmente ainda não pode ser tirada uma conclusão precisa acerca do papel do TTV e da sua utilização como biomarcador de imunossupressão, ou como preditor de complicações como infeções ou rejeições. No entanto, os dados preliminares apresentados sugerem uma forte possibilidade a ser confirmada com mais estudos. Apesar de ser necessária uma pesquisa mais aprofundada, o uso do TTV já demonstrou ser uma ferramenta de grande interesse e utilidade como um acréscimo nas estratégias atuais para monitorizar o estado imunitário e as complicações que podem ocorrer nos doentes de transplante renal.

Bibliografia

- Abbas, A. A., Diamond, J. M., Chehoud, C., Chang, B., Kotzin, J. J., Young, J. C., ... Collman, R. G. (2017). The Perioperative Lung Transplant Virome: Torque Teno Viruses Are Elevated in Donor Lungs and Show Divergent Dynamics in Primary Graft Dysfunction. *American Journal of Transplantation*, 17(5), 1313–1324. <https://doi.org/10.1111/ajt.14076>
- Albert, E., Solano, C., Pascual, T., Torres, I., Macera, L., Focosi, D., ... Navarro, D. (2017). Dynamics of Torque Teno virus plasma DNAemia in allogeneic stem cell transplant recipients. *Journal of Clinical Virology*, 94(January), 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2017.07.001>
- Batista, A. M., Caetano, M. W., Stincarelli, M. A., Mamana, A. C., Zerbinati, R. M., Sarmiento, D. J. S., ... Braz-Silva, P. H. (2022). Quantification of torque teno virus (TTV) DNA in saliva and plasma samples in patients at short time before and after kidney transplantation. *Journal of Oral Microbiology*, 14(1). <https://doi.org/10.1080/20002297.2021.2008140>
- Biomerieux. (2023). TTV R-GENE. Disponível em: <https://www.biomerieux-diagnostics.com/ttv-r-gene>
- Boonham, N., Kreuze, J., Winter, S., van der Vlugt, R., Bergervoet, J., Tomlinson, J., & Mumford, R. (2014). Methods in virus diagnostics: From ELISA to next generation sequencing. *Virus Research*, 186, 20–31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.007>
- Cheung, C. Y., & Tang, S. C. W. (2022). Personalized immunosuppression after kidney transplantation. *Nephrology*, 27(6), 475–483. <https://doi.org/10.1111/nep.14035>
- Doberer, K., Schiemann, M., Strassl, R., Haupenthal, F., Dermuth, F., Görzer, I., ... Bond, G. (2020). Torque teno virus for risk stratification of graft rejection and infection in kidney transplant recipients—A prospective observational trial. *American Journal of Transplantation*, 20(8), 2081–2090. <https://doi.org/10.1111/ajt.15810>

- Ekundayo, T. C. (2021). Prevalence of emerging torque teno virus (TTV) in drinking water, natural waters and wastewater networks (DWNWWS): A systematic review and meta-analysis of the viral pollution marker of faecal and anthropocentric contaminations. *Science of the Total Environment*, 771, 145436. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145436>
- Fernández-Ruiz, M. (2020). Torque Teno virus load as a surrogate marker for the net state of immunosuppression: The beneficial side of the virome. *American Journal of Transplantation*, 20(8), 1963–1964. <https://doi.org/10.1111/ajt.15872>
- Focosi, D., Antonelli, G., Pistello, M., & Maggi, F. (2016). Torquetenovirus: the human virome from bench to bedside. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(7), 589–593. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.04.007>
- Focosi, D., Macera, L., Boggi, U., Nelli, L. C., & Maggi, F. (2015). Short-term kinetics of torque teno virus viraemia after induction immunosuppression confirm T lymphocytes as the main replication-competent cells. *Journal of General Virology*, 96(1), 115–117. <https://doi.org/10.1099/vir.0.070094-0>
- Gore, E. J., Gard, L., Niesters, H. G. M., & Van Leer Buter, C. C. (2023). Understanding torquetenovirus (TTV) as an immune marker. *Frontiers in Medicine*, 10(June). <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1168400>
- Görzer, I., Haupenthal, F., Maggi, F., Gelas, F., Kulifaj, D., Brossault, L., ... Bond, G. (2023). Validation of plasma Torque Teno viral load applying a CE-certified PCR for risk stratification of rejection and infection post kidney transplantation. *Journal of Clinical Virology*, 158(September 2022). <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2022.105348>
- Grenda, R. (2021). Torque teno (TTV) viral load as a biomarker of immunosuppressive strength after kidney transplantation in children. *Pediatric Nephrology*, 36(1). <https://doi.org/10.1007/s00467-020-04607-2>

- Hariharan, S., Israni, A. K., & Danovitch, G. (2021). Long-Term Survival after Kidney Transplantation. *New England Journal of Medicine*, 385(8), 729–743.
<https://doi.org/10.1056/nejmra2014530>
- Hauptenthal, F., Rahn, J., Maggi, F., Gelas, F., Bourgeois, P., Hugo, C., ... Ohlmann, S. (2023). A multicentre, patient- and assessor-blinded, non-inferiority, randomised and controlled phase II trial to compare standard and torque teno virus-guided immunosuppression in kidney transplant recipients in the first year after transplantation: TTVguideIT. *Trials*, 24(1), 1–22. <https://doi.org/10.1186/s13063-023-07216-0>
- International Committee on Taxonomy of Viruses (2011). *Family: Anelloviridae*. Disponível em https://ictv.global/report_9th/ssDNA/Anelloviridae
- International Committee on Taxonomy of Viruses. (2022). *Taxon Details: Family: Anelloviridae*. Disponível em https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202202485&taxon_name=Anelloviridae
- Ho, Q. Y., Lai, C. M. D., Liew, I. T., Oon, L. L. E., Lim, K. L., Chung, S. J., ... Kee, T. (2023). Immune monitoring of prevalent kidney transplant recipients using Torque Teno Virus: Protocol for a single-centre prospective cohort study. *BMJ Open*, 13(9). <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2023-076122>
- Kalantar-Zadeh, K., Jafar, T. H., Nitsch, D., Neuen, B. L., & Perkovic, V. (2021). Chronic kidney disease. *The Lancet*, 398(10302), 786–802.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00519-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00519-5)
- Kao, J., Reid, N., Hubbard, R. E., Homes, R., Hanjani, L. S., Pearson, E., ... Gordon, E. H. (2022). Frailty and solid-organ transplant candidates: a scoping review. *BMC Geriatrics*, 22(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12877-022-03485-7>
- Macera, L., Spezia, P. G., Medici, C., Rofi, E., Del Re, M., Focosi, D., ... Maggi, F. (2022). Comparative evaluation of molecular methods for the quantitative measure of torquetenovirus viremia, the new surrogate marker of immune competence. *Journal of Medical Virology*, 94(2), 491–498. <https://doi.org/10.1002/jmv.25488>

- Martín-López, M., Albert, E., Fernández-Ruiz, M., González-Álvaro, I., Rodríguez, E., Aguado, J. M., ... Pablos, J. L. (2020). Torque teno virus viremia in patients with chronic arthritis: Influence of biologic therapies. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 50(1), 166–171. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2019.06.019>
- MSD Manuals. (2022). *Kidney Transplantation*. Disponível em <https://www.msdmanuals.com/professional/immunology-allergic-disorders/transplantation/kidney-transplantation>
- Nordham, K. D., & Ninokawa, S. (2022). The history of organ transplantation. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 35(1), 124–128. <https://doi.org/10.1080/08998280.2021.1985889>
- Oweira, H., Ramouz, A., Ghamarnejad, O., Khajeh, E., Ali-Hasan-al-saegh, S., Nikbakhsh, R., ... Sadeghi, M. (2022). Risk Factors of Rejection in Renal Transplant Recipients: A Narrative Review. *Journal of Clinical Medicine*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/jcm11051392>
- Querido, S., Martins, C., Gomes, P., Pessanha, M. A., Arroz, M. J., Adragão, T., ... Weigert, A. (2023). Kinetics of Torque Teno Virus Viral Load Is Associated with Infection and De Novo Donor Specific Antibodies in the First Year after Kidney Transplantation: A Prospective Cohort Study. *Viruses*, 15(7), 1–22. <https://doi.org/10.3390/v15071464>
- Rezahosseini, O., Drabe, C. H., Sørensen, S. S., Rasmussen, A., Perch, M., Ostrowski, S. R., & Nielsen, S. D. (2019). Torque-Teno virus viral load as a potential endogenous marker of immune function in solid organ transplantation. *Transplantation Reviews*, 33(3), 137–144. <https://doi.org/10.1016/j.trre.2019.03.004>
- Schiemann, M., Puchhammer-Stöckl, E., Eskandary, F., Kohlbeck, P., Rasoul-Rockenschaub, S., Heilos, A., ... Bond, G. (2017). Torque Teno Virus Load-Inverse Association with Antibody-Mediated Rejection after Kidney

- Transplantation. *Transplantation*, 101(2), 360–367.
<https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001455>
- Segall, L., Nistor, I., Pascual, J., Mucsi, I., Guirado, L., Higgins, R., ... Covic, A. (2016). Criteria for and Appropriateness of Renal Transplantation in Elderly Patients with End-Stage Renal Disease: A Literature Review and Position Statement on Behalf of the European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association Descartes Worki. *Transplantation*, 100(10), e55–e65.
<https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001367>
- Spandole, S., Cimponeriu, D., Berca, L. M., & Mihăescu, G. (2015). Human anelloviruses: an update of molecular, epidemiological and clinical aspects. *Archives of Virology*, 160(4), 893–908. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2363-9>
- Spezia, P. G., Focosi, D., Baj, A., Novazzi, F., Ferrante, F. D., Carletti, F., ... Maggi, F. (2023). TTV and other anelloviruses: The astonishingly wide spread of a viral infection. *Aspects of Molecular Medicine*, 1(March), 100006.
<https://doi.org/10.1016/j.amolm.2023.100006>
- Strassl, R., Schiemann, M., Doberer, K., Görzer, I., Puchhammer-Stöckl, E., Eskandary, F., ... Bond, G. (2018). Quantification of torque teno virus viremia as a prospective biomarker for infectious disease in kidney allograft recipients. *Journal of Infectious Diseases*, 218(8), 1191–1199. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy306>
- Taher, N. M., Hussein, M. R., & Kadhim, H. S. (2021). The Predicting Role of Torque Teno Virus Infection after Renal Transplantation. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 32(4), 1054–1064. <https://doi.org/10.4103/1319-2442.338279>
- Uhl, P., Heilos, A., Bond, G., Meyer, E., Böhm, M., Puchhammer-Stöckl, E., ... Rusai, K. (2021). Torque teno viral load reflects immunosuppression in paediatric kidney-transplanted patients—a pilot study. *Pediatric Nephrology*, 36(1), 153–162.
<https://doi.org/10.1007/s00467-020-04606-3>
- Urzi Brancati, V., Scarpignato, C., Minutoli, L., & Pallio, G. (2022). Use of Pharmacogenetics to Optimize Immunosuppressant Therapy in Kidney-

Transplanted Patients. *Biomedicines*, 10(8), 1–16.

<https://doi.org/10.3390/biomedicines10081798>

Wang, M., Peter, S. S., Chu, C. D., Tuot, D. S., & Chen, J. H. (2022). Analysis of Specialty Nephrology Care among Patients with Chronic Kidney Disease and High Risk of Disease Progression. *JAMA Network Open*, 5(8), E2225797.

<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.25797>

Westman, G., Schoofs, C., Ingelsson, M., Järhult, J. D., & Muradrasoli, S. (2020).

Torque teno virus viral load is related to age, CMV infection and HLA type but not to Alzheimer's disease. *PLoS ONE*, 15(1), 1–10.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227670>

Zárate, S., Taboada, B., Yocupicio-Monroy, M., & Arias, C. F. (2017). Human Virome. *Archives of Medical Research*, 48(8), 701–716.

<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2018.01.005>