

Faculdade Ciências da Saúde

Universidade da Beira Interior



**TRANSPLANTE DE PÂNCREAS NA
DIABETES MELLITUS TIPO 1**

- Dissertação de Mestrado -

Eliana José do Vale Aguiar

Dissertação realizada para obtenção do Grau de Mestre em Medicina

Junho, 2008

Faculdade Ciências da Saúde
Universidade da Beira Interior



TRANSPLANTE DE PÂNCREAS NA
DIABETES MELLITUS TIPO 1

- Dissertação de Mestrado -

Eliana José do Vale Aguiar

Orientador: Doutor Vítor Alexandre Pereira Gonçalves Branco

Dissertação realizada para obtenção do Grau de Mestre em Medicina

Junho, 2008

RESUMO

Enquadramento: A Diabetes tipo 1 é uma doença imunomediada que tem sofrido um aumento da sua incidência. O seu actual tratamento, apesar dos grandes avanços, tem eficácia incompleta, pois é incómodo e está associado, entre outros, a hipoglicemias e não evita por completo as complicações tardias. Nesse sentido, novas alternativas têm sido estudadas e a reposição dos ilhéus de Langerhans, por transplante total, ou de ilhéus, é uma modalidade terapêutica que tem sofrido grandes alterações.

Objectivo: Analisar estudos de transplante de ilhéus e verificar a sua eficácia e aplicabilidade no tratamento da Diabetes tipo 1.

Materiais e Métodos: Realizou-se pesquisa para identificar artigos na base de dados MEDLINE. Foram utilizadas as palavras-chave [type 1 diabetes], [pancreatic transplantation], [pancreatic islet transplantation]. Realizou-se também pesquisa partindo de referências de artigos e utilizaram-se limites relativamente à língua e autores.

Resultados: Dezanove estudos, que realizaram transplante de ilhéus isolado, simultaneamente ou após rim, partindo de dadores humanos, em diabéticos tipo 1, foram seleccionados. A maioria dos estudos mais recentes alcançou 100% de independência de insulina ou próximo, durante um período temporário após o transplante. Aqueles com seguimento mais longo mostraram que apenas 7,5% dos pacientes o permaneciam após cinco anos. A função parcial do enxerto teve melhores resultados, estando presente em 80% dos pacientes após cinco anos, com melhoria do controlo metabólico. A melhoria dos resultados deveu-se aos desenvolvimentos que têm ocorrido. Os maiores verificaram-se com a introdução do Protocolo de Edmonton, em 2000, preconizando, entre outros, imunossupressão sem corticosteroides.

Posteriormente, surgiu o Protocolo de Quioto para melhorar a utilização de doadores cadáveres. Estes investigadores utilizaram pela primeira vez um dador vivo. Desenvolvimentos também ocorreram nas técnicas de preparação dos ilhéus. Contudo, complicações relacionadas com o procedimento e imunossupressão ainda são frequentes, assim como a escassez de doadores, tornando essencial equilibrar a razão risco-benefício na selecção dos candidatos para transplante.

Conclusões: O transplante de ilhéus pancreáticos tem sofrido grandes alterações e o que parecia não ter sucesso, comparando com o transplante total, tem-se tornado na melhor opção para “curar” a Diabetes tipo 1. Apesar dos resultados apresentados parecerem demonstrar que esta estratégia pode ser eficaz, estes são menos favoráveis a longo prazo. A falta de doadores e a imunossupressão são os seus principais entraves, pelo que tem surgido interesse em técnicas alternativas.

PALAVRAS-CHAVE

Complicações; Diabetes Mellitus Tipo 1; Função do Enxerto; Função Parcial do Enxerto; Imunossupressão; Independência de Insulina; Rejeição do Enxerto; Transplante de Ilhéus Pancreáticos; Transplante de Pâncreas.

ABSTRACT

Background: Type 1 Diabetes is an immunomediated disease which has been suffering an increase in its incidence. Despite the great advances, its current treatment has incomplete efficacy, because it is uncomfortable and it is associated, for example, to hypoglycaemia and does not avoid completely the late complications. In this way, new alternatives have been studied and replacement of islets of Langerhans, by total pancreatic transplantation, or islet transplantation, is a therapeutic modality that has undergone major changes.

Purpose: To analyse some islet transplant studies and verify its efficacy and applicability in the treatment of Type 1 Diabetes.

Material and Methods: A research was performed to identify articles in database MEDLINE. The following keywords were used: [type 1 diabetes]; [pancreatic transplantation]; [pancreatic islet transplantation]. Another research using reference lists from articles and with language and authors limits was performed.

Results: Nineteen studies, which underwent isolated, islet-kidney or after kidney transplantation, from human donors, in type 1 diabetic patients, were selected. Most of the more recent studies reached 100% of independence of insulin or near, for a temporary period of time after the transplant. Those with longer follow up showed that only 7.5% of the patients remained independent after five years. The partial graft function had better results and it is present in 80% of the patients after five years, with improved metabolic control. The improvement in results was due to developments that have been occurring. The great advances occurred with the introduction of the Edmonton Protocol in 2000, using a glucocorticoid-free immunosuppression. Recently, Kyoto Protocol appeared to improve the use of cadaveric donors. These researchers

experiment for the first time a living-donor islet transplant. Developments also occurred in the islet preparation techniques. However, complications related to the procedure and immunosuppression are still frequent, and the shortage of donors, making the risk-benefit ratio balance essential in the selection of transplant candidates.

Conclusions: Great improvements have occurred in the islet transplantation and what seemed to not succeed, compared with the total transplantation, has become the best option to “cure” Type 1 Diabetes. Despite the findings seem to demonstrate that this strategy can be effective, long term outcomes are not so good. The lack of donors and immunosuppression are the main obstacles, and it has arisen interest in alternative techniques.

KEYWORDS

Complications; Graft Function; Graft Rejection; Immunosuppression; Insulin Independence; Pancreatic Islet Transplantation; Pancreatic Transplantation; Partial Graft Function; Type 1 Diabetes Mellitus.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças ao apoio e colaboração de algumas pessoas que gostaria de agradecer.

Assim, gostaria de expressar, em primeiro lugar, o meu reconhecimento ao Dr. Vítor Branco que, na qualidade de orientador do meu trabalho, me incentivou e, com interesse e disponibilidade, me ajudou a ultrapassar algumas dificuldades do mesmo.

Gostaria, também, de agradecer à minha família pelo apoio e incentivo constantes, especialmente aos meus Pais.

Por último quero agradecer aos meus amigos e colegas de curso pela ajuda sempre prestada, particularmente ao João, à Filipa e à Paula.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- A – Ano/Anos
- ALG (conservam-se siglas anglo-saxónicas) – Globulina Antilinfócito
- Anti-GAD (conservam-se siglas anglo-saxónicas) – Anticorpos Antidescarboxilase do Ácido Glutâmico
- Anti-ICA (conservam-se siglas anglo-saxónicas) – Anticorpos Anticélulas dos Ilhéus Pancreáticos
- AR – Artrite Reumatóide
- ATG (conservam-se siglas anglo-saxónicas) – Globulina Antitimócito
- CMV – Citomegalovírus
- CT – Colesterol Total
- DCCT – *Diabetes Control and Complications Trial*
- EUA – Estados Unidos da América
- FH – Função Hepática
- FIS – Transplante de Fígado e Ilhéus em Simultâneo
- FK 506 - Tacrolimus
- FR – Função Renal
- Hb - Hemoglobina
- HbA1c – Hemoglobina Glicosilada
- HTA – Hipertensão Arterial
- *HYPO score – Hypoglycemic Score*
- IAR – Transplante de Ilhéus Após Rim
- IE/Kg (conservam-se siglas anglo-saxónicas) – Equivalentes de ilhéus por Kilograma (*Islets Equivalents/Kilogramme*)

- IMC – Índice de Massa Corporal
- IPTR – *International Pancreas Transplant Registry*
- ITR – *International Islet Transplant Registry*
- ITU – Infecção Tracto Urinário
- IV- Intra Venosa
- LI – *Lability Index*
- M – Mês/Meses
- MAGE – *Mean Amplitude Glycemic Excursion*
- MMF – Micofenolato de Mofetil
- NIH – *National Institutes of Health*
- OMS – Organização Mundial de Saúde
- Pep C – Peptídeo C
- PET (conservam-se siglas anglo-saxónicas) – Tomografia por Emissão de Prositões
- PFC – Perfluorcarbono
- PIS – Transplante de Pulmão e Ilhéus em Simultâneo
- PP – Polipeptídeo Pancreático
- PTGO – Prova de Tolerância à Glicose Oral
- PVP – Pressão da Veia Porta
- RATG (conservam-se siglas anglo-saxónicas) – Globulina Antitimócito de Coelho
- RIS – Transplante de Rim e Ilhéus em Simultâneo
- RMN – Ressonância Magnética Nuclear
- TA – Tensão Arterial
- TII – Transplante de Ilhéus Isolado
- U – Unidades
- VP – Veia Porta

ÍNDICE GERAL

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

- 1.1 – Introdução ao Tema.....pág. 1
- 1.2 – Transplante de Pâncreas Total.....pág. 5
- 1.3 – Transplante de Ilhéus Pancreáticos.....pág. 9
- 1.4 – Objectivos do Trabalho.....pág. 12

CAPÍTULO II - MATERIAL E MÉTODOS

- 2.1 – Pesquisa Bibliográfica.....pág. 13
- 2.2 – Selecção dos Estudos.....pág. 13

CAPÍTULO III – RESULTADOS.....pág. 15

CAPÍTULO IV – DISCUSSÃO.....pág. 49

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....pág. 72

BIBLIOGRAFIA.....pág. 76

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO III – RESULTADOS

Tabela 3.1 – Características dos Estudos.....pág. 16

Tabela 3.2 – Resultados de Função do Enxerto, Independência de Insulina e Controlo Metabólico após transplante.....pág. 17

Tabela 3.3 – Rejeição Completa do Enxerto e Complicações relacionadas com o Procedimento e com a Imunossupressão.....pág. 19

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

1.1 – Introdução ao Tema

A Diabetes Mellitus é um distúrbio crónico do metabolismo caracterizado por uma deficiência absoluta de secreção de insulina e/ou por um aumento da resistência a esta, causando hiperglicemias inapropriadas (Masharani & Karam, 2001). A insulina é produzida nos ilhéus pancreáticos, conhecidos por ilhéus de Langerhans. Foram identificados em 1869 por Paul Langerhans e foram descritos como pequenas ilhas ou ilhéus rodeados por tecido pancreático exócrino, correspondendo a 2 a 3% do volume total do pâncreas. A circulação destes ilhéus é proveniente da veia porta e são constituídos por células beta, alfa, delta e PP que secretam insulina, glucagon, somatostatina e polipeptídeo pancreático, respectivamente. A glicose estimula as células beta e inibe as células alfa. Enquanto a insulina promove a entrada de glicose nas células dos tecidos e diminui a gliconeogénese hepática, o glucagon estimula principalmente a gliconeogénese hepática perante a presença de hipoglicemia (Robertson, 2004). A pré-pró-insulina, molécula precursora de insulina, é clivada em pró-insulina por enzimas microsomais. A pró-insulina, por sua vez, é clivada por enzimas proteolíticas, convertendo-se em insulina e peptídeo C. Este, não tem actividade biológica, é libertado pelas células beta em quantidades equimolares à insulina e é degradado ou excretado principalmente pelo rim. O peptídeo C tem meia-vida superior à da insulina e é utilizado laboratorialmente para determinar e quantificar a produção de insulina pelo organismo (Masharani & Karam, 2001).

A Diabetes Mellitus constitui uma das principais preocupações a nível mundial e este facto está bem evidenciado nas estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) que previa que em 2000, o número de pessoas com diabetes, a nível mundial, fosse de 171 milhões, aumentando para 366 milhões em 2030 (World Health Organization, 2008). Em Portugal, apesar de não existir nenhum estudo populacional que permite concluir com exactidão a prevalência da Diabetes (Carvalho, 2005), a OMS estimou que, em 2000, 662 mil pessoas viviam com diabetes e que esse número aumentará para mais de 800 mil, em 2030 (World Health Organization, 2008).

A Diabetes Mellitus está associada a um vasto conjunto de complicações devastadoras que aumentam a morbilidade e mortalidade da população, constituindo um dos maiores gastos a nível de saúde nos países ocidentais. Nos EUA, os custos parecem exceder os 174 biliões de dólares. Esta estimativa não inclui, contudo, os gastos sociais associados ao sofrimento e dor causados por esta doença crónica (American Diabetes Association, 2008).

A Diabetes é classificada, pela *American Diabetes Association*, em Tipo 1, Tipo 2, gestacional e outras. Apenas uma minoria, cerca de 10%, sofre de diabetes tipo 1, tendo a grande maioria diabetes tipo 2 (Merani & Shapiro, 2006).

Em relação à Diabetes Mellitus tipo 1, esta está presente em cerca de 5 milhões de pessoas em todo o mundo (Bretzel *et al.*, 2007). É uma doença imunomediada que gera destruição das células beta pancreáticas, resultando na incapacidade de produção de insulina. Estudos demonstraram que os linfócitos T são os responsáveis pela destruição das células beta, através da lise das células alvo, ou através do reconhecimento directo dos antígenos ligados ao complexo *major* de histocompatibilidade, classes I e II, ou através da libertação de citocinas que recrutam macrófagos, resultando em reacções de hipersensibilidade retardada. São expressados

auto-anticorpos que funcionam como marcadores imunológicos, entre os quais se destacam o antidescarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD) e o anticélulas dos ilhéus pancreáticos (anti-ICA). Os indivíduos que apresentam susceptibilidade genética, poderão iniciar um processo de insulite após contacto com alguns factores ambientais, alimentares, tóxicos ou virusais, entrando posteriormente na fase clínica da doença (Carvalho, 2005; Samuel & Cockwell, 2002; Mashanari & Karam, 2001).

O estudo EURODIAB, que envolveu 44 países da Europa, indica um aumento anual de 3 a 4% da taxa de incidência da Diabetes tipo 1. O aumento tem sido verificado mais em crianças com idades compreendidas entre os zero e os quatro anos e foi maior em alguns países da Europa Central e de Leste (EURODIAB ACE study group, 2000).

O objectivo do tratamento da diabetes mellitus é alcançar valores de glicemias normais e, com isso, um controlo metabólico rigoroso. Actualmente, a população com diabetes tipo 1 é tratada com dieta e insulino-terapia intensiva.

O *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT), um estudo multicêntrico realizado nos EUA e Canadá em pessoas com Diabetes tipo 1 recém diagnosticadas, mostrou que um controlo glicémico rigoroso, com terapêutica intensiva, atrasa e reduz de forma significativa as complicações tardias da diabetes (Carvalho, 2005; The Diabetes Control and Complications Trial Research Group, 1993). Contudo, a auto-disciplina rigorosa em relação à dieta e estilos de vida pode ter como consequências um aumento do peso corporal, reacções adversas à insulina e hipoglicemias severas ameaçadoras à vida (Sutherland *et al.*, 2001). Por outro lado, mesmo no grupo DCCT com tratamento intensivo, a média de HbA1c permaneceu 1% acima do normal e alguns indivíduos desenvolveram complicações secundárias mesmo com níveis de HbA1c moderadamente elevadas (Samuel & Cockwell, 2002; Sutherland *et al.*, 2001).

Deste modo, e apesar dos rápidos e excepcionais avanços no tratamento da diabetes tipo 1, estes não fornecem a cura e têm algumas complicações, pelo que novos esforços estão a ser implementados no sentido de encontrar o tratamento ideal (Vinik *et al.*, 2004)

A reposição dos ilhéus de Langerhans, seja por transplante total, ou por transplante dos ilhéus, é a modalidade terapêutica que mais se aproximou da “cura” (Carvalho, 2005; Bretzel *et al.*, 1999). É a melhor opção para substituir a função endócrina do pâncreas em pacientes com Diabetes tipo 1 (Nicoluzzi *et al.*, 2003) e foi a única terapia que demonstrou eficácia para um controlo metabólico correcto, conseguindo valores fisiológicos normais de HbA1c e induzindo um estado normoglicémico com independência insulínica (Sutherland *et al.*, 2001), evitando os episódios de hipoglicemias e injeções múltiplas diárias de insulina (Bretzel *et al.*, 2007). Sendo a diabetes tipo 1 causada por uma destruição das células beta dos ilhéus pancreáticos, conduzindo a uma ausência total de insulina, é de esperar que o transplante de pâncreas possa conduzir à cura da doença ao repor estas células, permitindo um bom controlo glicémico na ausência de administração de insulina externa. Contudo, a problemática da falta de doadores em alguns países e a necessidade de tratamento imunossupressor, com todos os seus riscos inerentes, são os principais entraves para a implementação deste tipo de tratamento a larga escala. Por isso, durante muitos anos o transplante pancreático foi praticamente implementado a pacientes com doença renal terminal com necessidade de transplante renal ou a pacientes já com terapêutica imunossupressora devido a transplante renal realizado previamente. De facto, o transplante de pâncreas seria idealmente realizado em pacientes sem complicações tardias da diabetes, contudo são poucos os que o realizam em pacientes recém diagnosticados, uma vez que a imunossupressão, apesar dos rápidos avanços,

ainda tem efeitos indesejáveis e nem todos os pacientes com diabetes irão desenvolver complicações (Sutherland *et al.*, 2001). Por isso, os transplantes de pâncreas isolados têm sido realizados sobretudo em pacientes com dificuldade em manter um bom controlo metabólico e/ou desenvolvem hipoglicemias severas que não as detectam por já terem neuropatia (Carvalho, 2005).

Existem diferentes categorias de transplante de pâncreas. Como já referido, o transplante pode ser total ou apenas dos ilhéus pancreáticos. Ambos podem ser realizados sozinhos, em pacientes previamente submetidos a transplante de rim ou em simultâneo com o transplante de rim em pacientes com Insuficiência Renal já estabelecida (Bretzel *et al.*, 2007; Ming & Chen, 2007).

1.2 - Transplante de Pâncreas Total

O papel do transplante de pâncreas total no tratamento da Diabetes teve um desenvolvimento drástico durante a última década do século XX (Sutherland *et al.*, 2001; Sutherland *et al.*, 1998). O primeiro transplante total de pâncreas, realizado por Kelly *et al.*, ocorreu em 1966 na Universidade de Minnesota e o primeiro transplante realizado com dadores vivos ocorreu em 1979 na mesma Universidade (Demartines *et al.*, 2005; Sutherland *et al.*, 2001). Até ao início da década de 80, os estudos desenvolvidos demonstravam baixo sucesso deste procedimento e grande aumento das taxas de complicações cirúrgicas e rejeições irreversíveis. A partir de meados da década de 80 novas técnicas cirúrgicas e estratégias anti-rejeição surgiram, aumentando as taxas de sobrevivência dos enxertos (Demartines *et al.*, 2005). E mais recentemente, devido às melhorias na preservação, técnicas do procedimento e novos agentes

imunossuppressores, as taxas de rejeição e complicações reduziram substancialmente (Ming & Chen, 2007). O número de transplantes aumentou drasticamente a partir dessa data e principalmente na década de 90, tendo ocorrido cerca de 23000 transplantes, entre 16 de Dezembro de 1966 e 31 Dezembro de 2004 (Ming & Chen, 2007; Gruessner & Sutherland, 2005).

O transplante de pâncreas combinado com o transplante de rim foi a categoria mais utilizada no passado, correspondendo a 83% dos transplantes de pâncreas totais realizados (Ming & Chen, 2007), e é actualmente utilizada como prática de rotina (Sutherland *et al.*, 2001). É o tratamento de escolha em pacientes seleccionados com diabetes tipo 1 e doença renal terminal. Estes pacientes, uma vez que já vão ter que ser sujeitos à imunossupressão por realizarem transplante renal, apresentam vantagem em realizarem também o transplante de pâncreas. Por outro lado, o novo rim transplantado beneficiaria se o paciente estivesse “curado” da diabetes (Sutherland *et al.*, 2001).

Uma outra categoria também utilizada é o transplante de pâncreas em pacientes previamente submetidos a transplante de rim. Corresponde a 12% do total de transplantes de pâncreas total realizados (Ming & Chen, 2007).

O transplante total de pâncreas isolado tem sido menos utilizado (5% do total) (Ming & Chen, 2007) devido aos riscos da imunossupressão, tendo estado normalmente indicado apenas naqueles com um mau controlo metabólico, por apresentarem mais vantagens do que riscos (Sutherland *et al.*, 2001). Contudo, devido ao surgimento de novos agentes imunossuppressores mais selectivos, tem tido um grande crescimento, podendo ser alargada a população diabética com critérios para este procedimento. Em 1996, Bartlet *et al.*, da Universidade de Maryland, realizaram um estudo, que comparou os resultados do transplante de pâncreas total isolado e do transplante de pâncreas em simultâneo com o rim, e demonstraram uma eficácia equivalente para os dois tipos de

transplante (Bartlett *et al.*, 1996). De facto, em ambos, a sobrevivência do enxerto é excelente e esse aumento do sucesso está dependente primeiramente de uma melhoria das técnicas cirúrgicas e posteriormente, como já referido, ao desenvolvimento de novos agentes imunossupressores (Ming & Chen, 2007; Gruessner & Sutherland, 2005). Entre 1988 e 2003, uma análise sobre os transplantes de pâncreas nos EUA foi realizada e demonstrou uma melhoria progressiva dos resultados. A sobrevivência do enxerto após um ano, para o transplante em simultâneo com o rim, foi de 75% em 1988/1989 e de 85% em 2002/2003. A taxa de sobrevivência do enxerto para o transplante de pâncreas após transplante prévio de rim passou de 55% para 78% e para o transplante de pâncreas isolado subiu de 45% para 77% (Gruessner & Sutherland, 2005).

Existem limitações esperadas do transplante total, como a falta de dadores, os riscos de uma cirurgia *major*, a imunossupressão prolongada que aumenta o risco de infecções ou o desenvolvimento de doenças oncológicas, ou simplesmente uma recidiva da doença no órgão transplantado. A detecção precoce da rejeição é particularmente difícil, impedindo a actuação atempada para reverter o processo. Outra limitação é o facto de, até recentemente, as complicações estabelecidas não regredirem significativamente com a normalização dos níveis de glicose (Vinik *et al.*, 2004). Os pacientes com nefropatia frequentemente também apresentam outras complicações, como retinopatia e neuropatia. Nesse sentido, a principal vantagem em realizar o transplante simultâneo de rim e pâncreas é o aumento adicional de qualidade de vida devido não só à não necessidade de diálise, mas também à independência de insulina (Sutherland *et al.*, 2001). Alguns estudos mais recentes, contudo, parecem demonstrar alguma melhoria das complicações em pacientes transplantados, como é o caso do estudo de Coppelli *et al.*, da Universidade de Pisa, que apresentaram, em 2005, os resultados de um estudo que demonstrou o sucesso do transplante de pâncreas isolado,

através da normalização dos valores de glicemia e a melhoria da nefropatia em pacientes com diabetes tipo 1 (Coppelli *et al.*, 2005).

Existem várias técnicas cirúrgicas possíveis para o transplante de pâncreas total. O manejo da secreção exócrina e complicações iniciais com a drenagem dessa secreção têm influenciado as taxas de sucesso do procedimento (Ming & Chen, 2007). Três técnicas foram mais utilizadas: drenagem entérica, drenagem urinária e injeção ductal (Sutherland *et al.*, 2001). A primeira a ser utilizada foi a drenagem entérica, que devido a uma série de complicações, foi substituída em muitos centros pela drenagem urinária. Esta pareceu uma boa alternativa, uma vez que diminuiu o derrame e contaminação das anastomoses entéricas com pouca lesão da mucosa da bexiga. A maior vantagem é a possibilidade de detecção precoce de rejeição através da determinação dos níveis de amilase na urina e pH (Ming & Chen, 2007). Contudo, uma vez que este procedimento está associado a uma série de complicações urológicas e devido ao grande avanço nas melhorias das técnicas cirúrgicas, a drenagem entérica tem tido novamente importância (Ming & Chen, 2007; Demartines *et al.*, 2005).

Em relação à drenagem endócrina, esta pode ser portal ou sistêmica (Demartines *et al.*, 2005). A drenagem sistêmica tem sido a mais utilizada (Ming & Chen, 2007; Gruessner & Sutherland, 2005), contudo, a drenagem portal parece apresentar mais vantagens por ser mais fisiológica, aumentar o metabolismo hepático da glicose, diminuir a resistência à insulina e evitar as complicações metabólicas da hiperinsulinemia sistêmica (Ming & Chen, 2007; Demartines *et al.*, 2005). Contudo, de acordo com dados do *International Pancreas Transplant Registry* (IPTR), as taxas de sobrevivência e de rejeição foram semelhantes entre ambos os procedimentos, mostrando a necessidade de realização de mais estudos para poder apoiar esta vantagem teórica da drenagem portal (Demartines *et al.*, 2005).

1.3 - Transplante de Ilhéus Pancreáticos

Relativamente ao transplante de ilhéus pancreáticos, este tem sido a grande aposta na “cura” da diabetes, uma vez que, apesar do transplante total de pâncreas poder tornar os pacientes insulino-independentes, a morbidade do processo e mortalidade perioperativa ainda é elevada (Bretzel *et al.*, 2007; Matsumoto *et al.*, 2007). Em contraste, o transplante de ilhéus não envolve uma cirurgia *major*, não obriga a anestesia geral, nem está relacionado com complicações relacionadas com enzimas exócrinas (Merani & Shapiro, 2006; Calne, 2005; Robertson, 2004). Neste procedimento, o pâncreas obtido a partir de um dador, é digerido através de enzimas (colagenases), de modo a separar os ilhéus do restante tecido exócrino. Os ilhéus são purificados por centrifugação por gradiente de densidade (Ficoll ou outro contraste radiológico não iónico) para remover o restante tecido exócrino (Merani & Shapiro, 2006; Robertson, 2004). A solução de Wisconsin, da Universidade de Wisconsin, foi introduzida como um meio transportador, em 1989, e mais recentemente, em 2002, surgiu um método de duas camadas onde o pâncreas é armazenado entre uma camada de solução de Wisconsin e uma camada de PFC (Perfluorcarbono) em gelo com oxigenação constante a 95% (Merani & Shapiro, 2006). As células são injectadas, com maior frequência, em perfusão percutânea na veia porta do fígado do paciente receptor, ficando alojadas nos ramos da veia porta, com anestesia local e passando a secretar insulina (Serup *et al.*, 2001). A infusão também pode ser feita noutras estruturas vasculares, como a artéria mesentérica, e existem outros locais onde os ilhéus podem ser potencialmente implantados, como o baço, a cápsula renal, testículos, cérebro, cavidade peritoneal e omento, contudo, o fígado, é de longe o mais utilizado (Robertson, 2004). O transplante de ilhéus pancreáticos tornou-se alvo de maior atenção em 1972, quando

Paul E. Lacy realizou transplante de ilhéus em roedores (Ballinger, 1972, citado por Merani & Shapiro, 2006), e em 1990, Scharp *et al.* (Scharp *et al.*, 1990, citado por Merani & Shapiro, 2006), relataram um caso de independência de insulina durante cerca de um mês, num paciente com diabetes tipo 1, mas só recentemente os resultados têm sido mais encorajadores, após o estudo apresentado por Shapiro *et al.*, da Universidade de Alberta, em Edmonton, onde apresentaram um novo protocolo (Shapiro *et al.*, 2000). A história do transplante de ilhéus pancreáticos já remonta desde 1894, quando o Dr. Williams e o Dr. Harsant, em Bristol, apresentaram o primeiro relatório de um estudo de transplante primitivo de ilhéus para o tratamento de um paciente com cetoacidose diabética, utilizando porções de pâncreas de ovelhas, com rejeição rápida do enxerto (Williams, 1984, citado por Merani & Shapiro, 2006). Alguns desenvolvimentos ocorreram, entretanto, em relação à xenotransplantação e foi aceite que o porco, devido às semelhanças com a espécie humana, seria o animal potencialmente mais indicado como fonte de ilhéus pancreáticos. Contudo, trata-se de uma espécie diferente e reacções destrutivas mediadas imunologicamente após o transplante poderiam ocorrer (Calne, 2005), para além de questões éticas inerentes a este tipo de procedimento (Bretzel *et al.*, 2007). Hering, em 2003, demonstrou resultados encorajadores de transplante de ilhéus porcinos em primatas, utilizando imunossupressão forte, trazendo novamente a questão dos riscos da imunossupressão superarem os benefícios (Wijkstrom *et al.*, 2003, citado por Calne, 2005).

Segundo o *International Islet Transplant Registry* (ITR), 1049 pacientes foram sujeitos a transplante de ilhéus em todo o mundo entre Janeiro de 1990 e Dezembro de 2005 (Bretzel *et al.*, 2007).

A rejeição do enxerto transplantado é determinada pela obtenção dos níveis de peptídeo C que, como já referido, é formado durante a clivagem da pró-insulina para

formar insulina. A determinação de níveis praticamente indetectáveis associados a uma pioria do controlo glicémico e a um aumento das necessidades diárias de insulina fazem o diagnóstico de rejeição do enxerto transplantado (Merani & Shapiro, 2006) e são os parâmetros utilizados pelos estudos existentes.

Como já referido, para prevenir a rejeição do enxerto transplantado é necessário a utilização de agentes imunossuppressores. Nos estudos mais antigos, principalmente na década de 90, a associação de ciclosporina A (inibidor da calcineurina) e azatioprina ou esteroides era a mais utilizada. Entretanto, a combinação que se tornou mais popular foi a associação de tacrolimus (FK506), sirolimus e daclizumab. Com a introdução destes novos agentes mais selectivos, a necessidade de utilização de esteroides e ciclosporina foi evitada, apresentando vantagens, devido ao potencial efeito diabetogénico destes fármacos (Ming & Chen, 2007; Merani & Shapiro, 2006; Demartines *et al.*, 2005; Sutherland *et al.*, 2001; White *et al.*, 2000). Apesar das vantagens evidentes destes novos agentes, ainda existem muitos efeitos secundários que limitam este processo (Bretzel *et al.*, 2007).

Apesar dos resultados encorajadores de alguns destes estudos, existem ainda muitas limitações. Para além do problema da rejeição do enxerto, obrigando a uma imunossupressão prolongada, a independência de insulina diminuída a longo prazo (Merani & Shapiro, 2006; Robertson, 2004) e ainda algumas dificuldades encontradas no isolamento dos ilhéus são situações que precisam de ser melhoradas (Robertson, 2004). Também se relatou o risco de hemorragia, hipertensão portal e trombose da veia porta como potenciais complicações (Robertson, 2004). Outra das limitações mais importantes é a escassez de dadores (Robertson, 2004), que é particularmente evidente neste tipo de transplante, uma vez que muitos defendem a utilização de células de múltiplos dadores por cada paciente receptor (Shapiro *et al.*, 2000).

O transplante de ilhéus pancreáticos suscitou especial interesse por ser ainda pouco desenvolvido e pouco trabalhado.

O transplante de ilhéus tem sido a grande aposta no futuro do transplante pancreático, uma vez que evita as complicações relacionadas com a cirurgia *major* necessária para realizar o transplante total. Apesar de menos realizado até a data, um grande desenvolvimento tem ocorrido nos últimos anos, pelo que será o tipo de transplante desenvolvido e analisado de forma detalhada neste trabalho.

O transplante de pâncreas, particularmente o de ilhéus pancreáticos, está ainda longe de alcançar o patamar dos restantes transplantes de órgãos, mas tem sido uma grande aposta na procura da “cura” da diabetes (Vinik *et al.*, 2004), uma doença crónica com elevados custos financeiros, sociais e emocionais (American Diabetes Association, 2008). Por estes motivos, foi o tema escolhido para a realização deste trabalho.

1.4 - Objectivos do Trabalho

O presente trabalho tem como objectivo avaliar uma técnica de tratamento da Diabetes tipo 1, o transplante de ilhéus pancreáticos, utilizando, para isso, a experiência publicada. Pretende-se encontrar, deste modo, os seus benefícios e complicações, discutir os seus resultados e verificar a sua eficácia e aplicabilidade clínica no tratamento da Diabetes tipo 1.

Assim, vários estudos, que realizaram transplante de ilhéus pancreáticos em diabéticos tipo 1 a partir de dadores humanos, foram seleccionados e através dos seus resultados, pretendeu-se verificar e analisar os principais desenvolvimentos ocorridos nos últimos anos em relação a este tipo de transplante.

CAPÍTULO II - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 – Pesquisa Bibliográfica

Realizou-se uma pesquisa online para identificar artigos relevantes na base de dados MEDLINE. Foram utilizadas as seguintes combinações de palavras: [type 1 diabetes]; [pancreatic transplantation]; [pancreatic islet transplantation]. Apenas foram incluídos artigos em Inglês, Português e Espanhol. Para além desta, foi necessária a pesquisa a partir das referências de artigos consultados e também foi realizada pesquisa utilizando limites, tendo sido procurados outros estudos a partir de autores dos estudos encontrados.

2.2 – Selecção de Estudos

A selecção dos estudos sobre transplante de ilhéus pancreáticos foi realizada após leitura do resumo e, em alguns casos, após a leitura integral do artigo.

Foram incluídos estudos realizados em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1, com duração superior a cinco anos, submetidos a transplante de ilhéus isolado, em simultâneo com o rim e/ou após o transplante renal, a partir de dadores humanos. Nos estudos de transplante de ilhéus isolado foram incluídos aqueles que utilizaram pacientes com mau controlo metabólico e/ou com hipoglicemias severas não percebidas. Nos estudos de transplante simultâneo de rim e ilhéus ou de transplante de ilhéus após transplante renal prévio, os pacientes apresentavam doença renal terminal ou já se

encontravam sujeitos a imunossupressão. Foram incluídos apenas os estudos que abordavam os resultados e aplicabilidade clínica do transplante de pâncreas, sendo excluídos aqueles que se dedicavam a abordagens laboratoriais ou que não reflectiam os objectivos deste trabalho. Deste modo, apenas foram seleccionados estudos que incluíam os seguintes resultados: número ou percentagem de pacientes com independência de insulina logo após o transplante e após algum tempo de seguimento; número ou percentagem de pacientes com função de enxerto, com níveis de peptídeo C positivo; controlo metabólico, incluindo valores de HbA1c, glicemias, *Mean Amplitude Glycemic Excursion* (MAGE) e em alguns estudos a Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO), antes e depois do transplante; complicações relacionadas com o procedimento e com a imunossupressão e as taxas de rejeição. Os estudos seleccionados que cumpriam os critérios de inclusão são estudos realizados entre 1996 até 2006. Três estudos foram incluídos, apesar de não cumprirem por completo os critérios de inclusão, por serem considerados relevantes e importantes para a realização da análise. Um estudo incluía, na sua população alvo, um paciente com Diabetes Mellitus há cerca de um ano e um paciente realizou um transplante de ilhéus pancreáticos após transplante de fígado. Um outro estudo incluía um paciente que realizou transplante de ilhéus após transplante de pulmão. Um dos estudos mais recentes incluía um paciente com Diabetes Mellitus secundária a pancreatite, não apresentando autoimunidade. Foram construídas tabelas na tentativa de uniformizar os resultados, de modo a poder compará-los entre si.

CAPÍTULO III - RESULTADOS

As características dos 19 estudos seleccionados encontram-se resumidas na tabela 3.1. Os estudos foram publicados entre 1996 e 2006. Onze estudos foram realizados na América do Norte, sete foram realizados na Europa e Japão e um dos estudos foi realizado em simultâneo por vários centros. Apenas um estudo é retrospectivo, os restantes são ensaios clínicos e, destes, dois são aleatorizados. O número de pacientes que fizeram parte do grupo de estudo variou desde seis a 65 elementos. Os estudos incluíam pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 há mais de cinco anos (excepto um estudo que também incluiu um elemento com diabetes há cerca de um ano), com controlo metabólico deficiente e/ou com vários episódios de hipoglicemias severas não percebidas e/ou com doença renal terminal com necessidade de transplante renal e/ou já em imunossupressão devido a transplante renal previamente realizado. Em 12 estudos, os pacientes foram sujeitos a transplante de ilhéus pancreáticos isolados e nos restantes ou foram sujeitos a transplante de ilhéus em simultâneo com o rim ou após transplante de rim. Num estudo também foi realizado um transplante em simultâneo com o fígado e noutro em simultâneo com o pulmão. O número de ilhéus utilizado varia de estudo para estudo e também as unidades de apresentação, sendo nuns apresentado em número de ilhéus e noutros em IE/Kg, Equivalentes de Ilhéus/Kilograma (*Islet Equivalents/kilogramme*), uma medida que relaciona o número de ilhéus com o peso corporal do receptor (Shapiro *et al.*, 2000). Os ilhéus transplantados foram provenientes de dadores em morte cerebral, cadáveres e um estudo também utilizou um dador vivo.

Após análise de todos os estudos, os seus resultados foram extraídos e organizados em três tabelas (tabelas 3.1, 3.2 e 3.3).

Tabela 3.1 – Características dos Estudos									
Estudo	Universidade/ Hospital	Tipo	Ano	Nº pacientes	Tipo transplante	Idade (Anos)	Nº ilhéus (média/paciente)	Dadores	
Luzi <i>et al.</i>	Milão	Ensaio clínico	1996	15	3 RIS 11 IAR 1 FIS	30-53	180000-1294125 ilhéus	Cadáveres	
Alejandro <i>et al.</i>	Miami	Ensaio clínico	1997	8	7 IAR; 1 RIS	29-41	478000-1271000 ilhéus (8318-21185 IE/Kg)	Cadáveres 1 a 5 dadores	
Secchi <i>et al.</i>	Milão	Ensaio clínico	1997	20	8 RIS; 13 IAR	40,1±1	3461-15945 IE/Kg	Cadáveres	
Keymeulen <i>et al.</i>	Bruxelas e Helsinqia	Ensaio clínico	1998	7	7 IAR	34-52	2100-5300 IE/Kg	Morte Cerebral	
Bretzel <i>et al.</i>	Giessen	Ensaio clínico	1999	26	14 IAR 12 RIS	40,3±2,1 38,1±2,4	8732±1105 IE/Kg 5414±733 IE/Kg	1,6 dadores 1 dador	
Oberholzer <i>et al.</i>	Genebra	Ensaio clínico	2000	13	4 IAR, 8 RIS; 1 PIS		198720-863000 ilhéus (5625-8539 IE/Kg)	Cadáveres 1 a 3 dadores	
Shapiro <i>et al.</i> (2000)			2000	7	TII	44	11546±1604 IE/Kg		
Ryan <i>et al.</i> (2001)			2001	12	TII	40±2,7	857318±43314 ilhéus (>9000 IE/Kg)		
Ryan <i>et al.</i> (2002)	Alberta, Edmonton	Ensaio clínico	2002	17	TII	39,7±2	850035±37911 ilhéus (12530±581 IE/Kg)	Múltiplos dadores	
Ryan <i>et al.</i> (2002)			2003	34	TII	23-59	857468±37496 ilhéus (13000 IE/Kg)	Morte cerebral	
Owen <i>et al.</i> (2003)			2005	65	TII	42,9±1,2	799912±30220 ilhéus (11910±469 IE/Kg)		
Ryan <i>et al.</i> (2005)			2003	9	TII	27-54	8112 IE/Kg (603250 ilhéus) 9282 IE/Kg (616200 ilhéus)	Morte cerebral e Cadáver Dadores múltiplos e único	
Markmann <i>et al.</i>	Pensilvânia	Ensaio clínico	2003	6	TII	39-63	>10000 IE/Kg	Cadáveres	
Hirshberg <i>et al.</i>	Maryland	Ensaio clínico	2003	51	TII	42,1±1,4	?	?	
Ryan <i>et al.</i>	Alberta, Edmonton	Retrospectivo	2004	8	TII	37±3	7271±1035 IE/Kg	Cadáveres Dador único	
Hering <i>et al.</i>	Minnesota, Minneapolis	Ensaio clínico	2005	16	TII	40,8±9,7	934280±209252 ilhéus (13552±2982 IE/Kg)	Cadáveres	
Froud <i>et al.</i>	Miami	Ensaio clínico Aleatorizado	2005	6	TII	44 (5) 27 (1)	?	Cadáveres (5) Dador vivo (1)	
Sassa <i>et al.</i>	Quioto	Ensaio clínico	2006	36	TII	41±2	13473±923 IE/Kg	Morte cerebral	
Shapiro <i>et al.</i>	Boston, Edmonton Miami, Minneapolis Seattle, St.Louis, Genebra, Giessen, Milão	Ensaio clínico Aleatorizado Internacional	2006	8	IAR	46±9,5	6263-12530 IE/Kg	Morte cerebral	
Toso <i>et al.</i>	Genebra	Ensaio clínico	2006	8	IAR	46±9,5	6263-12530 IE/Kg	Morte cerebral	

FIS: Fígado e Ilhéus em Simultâneo; IAR: Ilhéus Após Rim; IE/Kg – *Islets Equivalents/Kilogramme*; PIS: Pulmão e Ilhéus em Simultâneo; RIS: Rim e Ilhéus em Simultâneo; TII: Transplante Ilhéus Isolado

Tabela 3.2 – Resultados de Função do Enxerto, Independência de Insulina e Controle Metabólico após transplante				
Estudo	Seguimento	Função do enxerto	Independência de insulina	Controle metabólico (pacientes com função)
Luzi et al. (1996)	1-24M	8 de 15 (~53%) ficaram com função no enxerto	4 pacientes (~27%) ficaram independentes até entre 1 a 8M após o transplante	- ↓ glicemias - ↓ HbA1c
Alejandro et al. (1997)	Até 6A	8 (100%) com função até 1M, 6 durante >2M e 2 durante >6A	2 pacientes (25%) independentes durante cerca de 1M	- ↓ HbA1c
Secchi et al. (1997)	Até 5A	3 de 20 (15%) com pepC + até 1, 2 e 4 semanas; 8 de 20 (40%) com pepC + mas sem benefício metabólico; 9 de 20 (45%) com função do enxerto durante uma média de 21±7M, com 4 com função até à data do relatório	7 de 20 (35%) alcançaram independência; 3 com duração de 1M; 1 de 7M; 1 de 11M e 1 de 40M (mantendo o último independência até à data do relatório)	- ↓ HbA1c
Keymeulen et al. (1998)	1A	7 (100%) com função por pelo menos 2 semanas; 3 com função >1A	2 de 7 (~29%) alcançaram independência 7M após o transplante e permaneceram até à data do relatório	- ↓ HbA1c - ↓ hipo e hiperglicemias
Bretzel et al. (1999)	3M	dos 24 que completaram, todos (100%) ficaram com função após transplante, 21 (87,5%) até 3M de seguimento	-	- ↓ glicemias em jejum - ↓ HbA1c
Oberholzer et al. (2000)	4M a 63M	13 (100%) com função de enxerto ≥3M; 7 de 11 (~64%) aos 6M de seguimento; 5 de 8 (62,5%) aos 12 M; 3 de 6 (50%) aos 2A; 2 de 3 (~67%) aos 3A e 1 paciente por >5A	2 independentes 2 e 3 meses após o transplante	- ↓ HbA1c
Shapiro et al. (2000)	11,9M (4,4-14,9)	7 (100%) com função até à data do relatório	7 (100%) independentes após o transplante e até à data do relatório	- ↓ glicemias em jejum e pós-prandial - PTGO- 0 com critérios de diabetes, 5 alterações pós-teste e 2 com alterações em jejum - ↓ HbA1c - ↓ MAGE
Ryan et al. (2001)	10,2M (máximo 20M)	100% com função	100% independentes de insulina após o último transplante	- ↓ glicemias jejum e pós-prandial - ↓ hipoglicemias - PTGO: 4 normais, 5 intolerância oral à glicose, 3 diabetes - ↓ HbA1c - ↓ MAGE
Ryan et al. (2002)	20,4M (3,2 a 34,2M)	14 de 17 (~82%) com função até à data do relatório	17 (100%) independentes de insulina após o transplante; 12 de 15 (80%) após 1A do transplante inicial; 9 de 15 (60%) >1A; 4 de 6 (67%) aos 2A	- ↓ HbA1c - ↓ glicemias jejum e pós-prandial - ↓ hipoglicemias e ↓ MAGE - PTGO: 11 com diabetes

Tabela 3.2 (continuação) – Resultados de Função do Enxerto, Independência de Insulina e Controle Metabólico após transplante				
Estudo	Seguimento	Função do enxerto	Independência de insulina	Controle metabólico (pacientes com função)
Owen <i>et al.</i> (2003)	21,5M (máximo 39M)	Dos 26 que completaram o procedimento todos (100%) ficaram com função após o transplante e 23 (88%) tinham função até à data do relatório	Dos 26 que completaram o procedimento todos (100%) ficaram independentes de insulina após o transplante e 21 de 26 (81%) independentes após 1A	-
Ryan <i>et al.</i> (2005)	35,5M (4,1 a 67,8M)	100% com pepC + após transplante e 80% dos pacientes que foram seguidos até aos 5A permaneceram com função	44 de 47 que terminaram procedimento (~94%) ficaram independentes após o transplante e 7,5% dos que foram seguidos até 5A permanecerem independentes	- ↓ HbA1c - ↓ glicemias em jejum e pós prandiais - ↓ HYP0 score e ↓ LI
Markmann <i>et al.</i> (2003)	12M	7 (100%) dos que completaram permaneceram com função até à data do relatório	7 (100%) dos que completaram procedimento ficaram independentes e 6 (~86%) permaneceram por mais de 8M após o transplante	- ↓ HbA1c
Hirshberg <i>et al.</i> (2003)	17-22M	6 (100%) alcançaram função; 5 (~83%) até à data do relatório	4 de 6 (~67%) independentes após transplante; 3 de 6 (50%) por >6semanas após transplante; 3 de 6 (50%) ao 1A de seguimento e 2 pacientes >18M após o transplante	- ↓ HbA1c - ↓ glicemia - ↓ hipoglicemias
Ryan <i>et al.</i> (2004)	-	-	-	- ↓ LI, MAGE e HYP0 score
Hering <i>et al.</i> (2005)	1A	todos (100%) com função após o transplante e 5 (62,5%) >1A	8 (100%) ficaram independentes de insulina e 5 de 8 (62,5%) por > 1A	- ↓ HbA1c - ↓ hipoglicemias - PTGO: 4 normais
Froud <i>et al.</i> (2005)	33±6M	14 dos que completaram procedimento (100%) com função após o transplante e permanência da função nos 11 que mantiveram imunossupressão	14 que terminaram procedimento ficaram independentes de insulina após o transplante(100%); 11 de 14 (79%) ao 1A; 6 de 14 (43%) aos 18M e 8 de 11 (73%) até à data do relatório	- ↓ glicemias em jejum - ↓ MAGE - PTGO em 10 pacientes com 1A de seguimento: 5 normais, 3 com intolerância oral à glicose e 2 com diabetes
Sassa <i>et al.</i> (2006)	11M	-	-	- ↓ MAGE - ↓ HbA1c
Shapiro <i>et al.</i> (2006)	41M (37 a 50M)	70% com função aos 2A	21 de 36 (58%) independentes de insulina após o transplante; 16 de 36 (44%) 1A após último transplante e 1 dos 21 seguidos (~5%) aos 3A	- ↓ glicemias em jejum - ↓ HbA1c - ↓ MAGE
Toso <i>et al.</i> (2006)	24 M (11-34M)	todos (100%) com função após o transplante; 6 de 8 (75%) até à data do relatório	todos (100%) independentes de insulina após o transplante, 5 de 7 (71%) 1A após transplante	- ↓ HbA1c - ↓ MAGE

A – ano/anos; HbA1c – Hemoglobina glicosilada; HYP0 score – Hypoglycemic score; LI – Liability Index; M – mês/meses; MAGE – Mean Amplitude of Glycemic Excursion; PepC – Peptide C; PTGO – Prova de Tolerância à Glicose Oral

Tabela 3.3 – Rejeição Completa do Enxerto e Complicações relacionadas com o Procedimento e com a Imunossupressão						
Estudo	Rejeição Completa		Procedimento		Imunossupressão	
	precoce	tardia	tipo	complicações	tipo	Complicações
Luzi et al. (1996)	7 de 15 ficaram com enxerto não funcional (~47%)		Injecção na VP	não referido	Esteroides Ciclosporina Azatioprina (em 8)	não referido
Alejandro et al. (1997)	2 de 8 (25%)	4 de 8 (50%)	Cateterização percutânea da VP em 2 e veia mesentérica em 6 por laporotomia	↑aminotransferases	OKT3® Esteroides Azatioprina ciclosporina	1 ↑creatinina
Secchi et al. (1997)	3 de 20 (15%); 8 de 20 (40%) com presumida exaustão	5 de 20 (25%)	Acesso da veia mesentérica por laparotomia (7) e VP por via percutânea (13)	1 morte 1 hemorragia	ALG Azatioprina Esteroides Ciclosporina	1 candidíase 1 doença do soro 2 rejeições de rim (↑creatinina) 1 uveíte crónica
Keymeulen et al. (1998)	4 de 7 (~57%)	0	Intra-porta guiado por fluoroscopia	0	ATG (em 3) Ciclosporina Azatioprina Esteroides	0
Bretzel et al. (1999)	3 de 24 (12,5%)		Intra-porta	1 implantação no baço 1 morte	Ciclosporina Esteroides Azatioprina ATG	não referido
Oberholzer et al. (2000)	0	6 de 13 (~46%)	Acesso aorta abdominal e veia mesentérica inferior		Azatioprina (antes 1998) Ciclosporina Esteroides Basiliximab (após 1998)	1 CMV
Shapiro et al. (2000)	0	0	Infusão na VP por via trans-hepática percutânea guiada por fluoroscopia ou ecografia ou ambas	2 hemorragias 1 Trombose ramo de VP	Sirolimus Daclizumab Tacrolimus (baixa dose)	7 Úlceras orais
	0	-		3↑aminotransferases 2 hemorragias (pacientes do estudo anterior)		10 úlceras orais 1 pneumonia e 1 celulite 2 ↑creatinina 4 ↑ TA e 5 ↑ CT
Ryan et al. (2001)				2 bradicardia		2 úlceras orais, 2 náuseas/vômitos, 2 acne e 10 diarreia
Ryan et al. (2002)	0	3 de 17 (~18%)		5 hemorragia 1 trombose parcial da VP 46%↑ Função Hepática		1 artralguas e 1 AR 8 anemia, 6 leucopenia 2 ↑ creatinina e 4 ↑ proteinúria 10 HTA e 15 ↑CT

Tabela 3.3 (continuação) – Rejeição Completa do Enxerto e Complicações relacionadas com o procedimento e com a imunossupressão						
Estudo	Rejeição Completa		Procedimento		Imunossupressão	
	precoce	tardia	tipo	complicações	tipo	Complicações
Owen et al. (2003)	3 de 26 (~12%)		Via percutânea (em 124 de 128 procedimentos) e mini-laparotomia nos restantes	4 hemorragias 2 trombose VP 4 punção tracto biliar 2 episódios vasovagais		não referido
Ryan et al. (2005)	0	20% dos seguidos até aos 5A		15 hemorragia 5 trombose VP 2 punção vesícula 78%↑transaminases 8 esteatose hepática		89% úlceras orais, 60%diarreia, 52% acne, 43%edema periférico ↓ Hb e leucócitos 3pneumonia 1 carcinoma tiróide 8 ↑ da nefropatia ↑ medicação anti-hipertensora e para displipidémia
Markmann et al. (2003)	0	0	Infusão na VP por via trans-hepática percutânea guiada por fluoroscopia ou ecografia	100% ↑ FH	Sirolimus Tacrolimus Daclizumab	~90% úlceras orais >40% edema >50% leucopenia, >60% anemia, >30% trombopenia >50% ↑ lipídios
Hirshberg et al. (2003)	0	1 de 6 (~17%)	Infusão na VP por via trans-hepática percutânea guiada por fluoroscopia ou ecografia	1 trombose VP 1 hemorragia	Sirolimus Tacrolimus Daclizumab	6 úlceras orais, diarreia e anemia 5 edema e fadiga 4 trombocitopenia 2 neutropenia 1 ITU, pneumonite e infecção de pele
Ryan et al. (2004)	4 de 51 (~8%)		não referido	não referido	não referido	não referido
Hering et al. (2005)	0	3 de 8 (37,5%)	Infusão na VP, via trans-hepática percutânea	0	RATG Daclizumab Etanercept MMF Tacrolimus (baixa dose)	5 linfopenia 5 neutropenia 8 úlceras orais
Froud et al. (2005)	0	3 de 14 (~21%)	Infusão na VP, via trans-hepática percutânea	2 hemorragias ↑aminotransferases e 1esteatose hepática ↑PVP em 30/34procedimentos	Sirolimus Tacrolimus Daclizumab	9 linfo/neutropenia 2 ↑ creatinina e 5macroalbuminúria 1 HTA 14 hiperlipidémia outras

Tabela 3.3 (continuação) – Rejeição Completa do Enxerto e Complicações relacionadas com o procedimento e com a imunossupressão						
Estudo	Rejeição Completa		Procedimento		Imunossupressão	
	precoce	tardia	tipo	complicações	Tipo	Complicações
Sassa <i>et al.</i> (2006)	-	-	não referido	não referido	não referido	não referido
Shapiro <i>et al.</i> (2006)	2 de 36 (~6%)	4 de 36 (~11%)	Infusão na VP, via trans-hepática percutânea	9% hemorragias 2 (6%) oclusões parciais VP	Sirolimus Daclizumab Tacrolimus (baixa dose)	92% úlceras 81% anemia 75% leucopenia 64% diarreia 56% cefaleias 53% neutropenia 50% náuseas 42% vômitos 39% acne e fadiga ↑ creatinina
Toso <i>et al.</i> (2006)	0	2 de 8 (25%)	Infusão na VP, via trans-hepática percutânea, guiada por ecografia, com anestesia local	2 hemorragias	Sirolimus Daclizumab Tacrolimus (baixa dose) (pacientes com prednisolona <5mg/dia devido a transplante prévio foram incluídos)	9 infecções 1 trombopenia, 4 anemia, 7 leucopenia 3 edema, 5 diarreia, 1 acne, 7 úlceras orais 3 ↓ FR 4 ↑ CT 2 ↑ anti-hipertensores

A – Ano/Anos; ALG – Globulina Antilinfócito; AR – Artrite Reumatóide; ATG – Globulina Antitimócito; CMV – Citomegalovírus; CT – Colesterol Total; FH - Função Hepática; FR – Função Renal; Hb – Hemoglobina; HTA – Hipertensão Arterial; ITU – Infecção Tracto Urinário; MMF – Micofenolato de Mofetil; OKT3[®] – muromonab CD3; PVP – Pressão da Veia Porta; RATG – Globulina Antitimócito de Coelho; TA – Tensão Arterial; VP - Veia Porta

Foi considerada como havendo função parcial do enxerto quando o paciente apresentava níveis de peptídeo C detectáveis, com melhoria do controlo metabólico, mesmo que não se encontrasse independente de insulina, apesar de as necessidades estarem diminuídas. A função completa foi considerada quando o paciente apresentava um bom controlo metabólico com independência de insulina e foi considerado um paciente com rejeição, quando os valores de peptídeo C se tornaram negativos, após

terem alcançado valores positivos temporariamente, associado a um aumento das necessidades de insulina e a uma piora do controle metabólico. A rejeição tardia foi considerada para a rejeição ocorrida com mais de dois meses após o transplante, por ser a tempo estabelecido em alguns estudos. Os pacientes que nunca chegaram a apresentar função do enxerto foram considerados como tendo apresentado falência primária do enxerto.

Cada um dos estudos está relatado detalhadamente a seguir.

Em 1996, Luzi *et al.*, da Universidade de Milão, mostraram os resultados de um estudo realizado a 15 pacientes, 12 homens e três mulheres, com idades compreendidas entre os 30 e 53 anos e um Índice de Massa Corporal (IMC) entre 20 a 27 Kg/m², que foram sujeitos a transplante de ilhéus pancreáticos. Os quinze pacientes tinham diabetes insulino-dependente de duração entre um e 44 anos e, destes, 11 já haviam sido previamente sujeitos a transplante de rim e três foram sujeitos a transplante de ilhéus em simultâneo com o rim. Os pacientes tinham sido sujeitos a transplante um a 24 meses antes do estudo. Um paciente foi sujeito a transplante em simultâneo com o fígado. Foram transplantados entre 180000 a 1294125 ilhéus, a partir de doadores cadáveres, via veia porta. Os ilhéus foram separados do restante tecido pancreático através da utilização de solução contendo enzimas collagenases e foram purificados com solução de Ficoll. Esta é uma solução de gradiente de densidade utilizada universalmente para a purificação dos ilhéus, contribuindo para os separar do restante tecido pancreático. Todos os pacientes receberam prednisolona e ciclosporina como terapêutica imunossupressora e oito também receberam azatioprina. Dos 15 pacientes, sete (~47%) ficaram com enxerto não funcionante e oito (~53%) foram considerados como tendo enxerto funcionante (peptídeo C > 1,8 ng/mL) e destes, quatro (~27%) alcançaram a

independência de insulina até entre um e oito meses após o transplante. Os pacientes com enxerto funcionante diminuíram as suas necessidades de insulina de $49,5 \pm 4,3$ U/dia para $4,6 \pm 2,2$ U/dia após o transplante (quatro sem insulina). Estes pacientes apresentaram, após transplante, uma média de HbA1c de $6,2 \pm 0,26\%$, uma glicemia em jejum de 117 ± 7 mg/dL e níveis de peptídeo C de $2,8 \pm 0,4$ ng/mL. Os pacientes com enxerto não funcionante viram as suas necessidades de insulina aumentadas de uma média de $53 \pm 7,3$ para 56 ± 7 U/dia após o transplante. A HbA1c após o transplante destes pacientes era de $6,9 \pm 0,45\%$, a glicemia em jejum 227 ± 45 mg/dL e o peptídeo C $0,32 \pm 0,18$ ng/mL. Os pacientes que ficaram com enxerto funcionante receberam doses menores de prednisolona, uma média de $9 \pm 1,1$ mg/dL, comparativamente com o grupo com enxerto não funcionante, que recebeu uma média de $16,2 \pm 3,8$ mg/dL. O grupo com função no enxerto também recebeu maior número de ilhéus, uma média de 722853 ± 98587 ilhéus, em relação ao grupo sem função no enxerto, que recebeu uma média de 640717 ± 153396 ilhéus. Estas diferenças poderão ter influenciado os resultados, apesar de a diferença do número de ilhéus transplantados não ser significativa (Luzi *et al.*, 1996).

Alejandro *et al.* da Universidade de Miami relataram em 1997 um estudo com oito pacientes, de idades compreendidas entre os 29 e 41 anos, com Diabetes Mellitus tipo 1 de duração média de 23 anos (18 a 29 anos), com mau controlo metabólico (HbA1c de $9,1 \pm 1,7\%$) e peptídeo C negativo ($<0,3$ ng/mL), sujeitos a transplante de ilhéus. Destes pacientes, sete já haviam sido previamente sujeitos a transplante de rim (um a 11 anos antes) e um realizou transplante em simultâneo com o rim. A duração máxima de seguimento foi de cerca de seis anos, tendo os pacientes sido submetidos a transplante de ilhéus entre 1990 e 1993. O transplante foi realizado com 8318 a 21185 IE/Kg (478000 a 1271000 ilhéus), a partir de um a cinco doadores cadáveres e a

preservação do pâncreas teve duração média de $7,3\pm 3,4$ horas. Os ilhéus foram separados do restante tecido pancreático utilizando uma solução com enzimas collagenases, foram purificados com a solução de Ficoll e armazenados em solução de Wisconsin. Em dois casos, os ilhéus foram injectados por cateterização percutânea da veia porta e, nos restantes, na veia mesentérica por laparotomia. Foi administrada heparina e os pacientes receberam OKT3[®], metilprednisolona, azatioprina e ciclosporina, como terapêutica imunossupressora. A rejeição do enxerto foi considerada quando os níveis de peptídeo C se tornaram indetectáveis ($<100\text{pmol/l}$) e através dos valores de glicemia e de HbA1c. Dois pacientes (25%) tiveram rejeição do enxerto em um mês. Os restantes seis pacientes permaneceram com enxerto funcionante por mais de dois meses (>60 dias). Destes, quatro pacientes permaneceram com função durante cerca de quatro meses (125 dias), cinco meses (154 dias), um ano (356 dias) e dois anos (756 dias) e os restantes dois pacientes permaneceram com função por mais de seis anos (> 2205 e >2353 dias). Dois pacientes (25%) alcançaram independência de insulina durante 36 e 38 dias, mas apresentaram rejeição posterior. A HbA1c e as necessidades de insulina dos seis pacientes com função do enxerto por mais de dois meses foram significativamente reduzidas de $9,3\pm 1,9\%$ para $6,4\pm 1\%$ e de $0,75\pm 0,15$ para $0,35\pm 0,12$ U/dia, respectivamente. Após a rejeição do enxerto, os níveis subiram para $9,3\pm 1,3\%$ de HbA1c e para $0,57\pm 0,15$ U/dia de insulina. Os pacientes com duração longa do enxerto alcançaram valores de HbA1c normais ou perto do normal na ausência de hipoglicemias severas. O peptídeo C basal, nos seis pacientes, três meses após o transplante, foi de $1,22\pm 0,62$ nmol/L ($3,66\pm 1,86$ ng/mL) em cinco pacientes e $0,30$ nmol/L ($0,90$ ng/mL) noutra paciente. Os valores de peptídeo C em resposta a estímulo foram diminuindo ao longo dos seis anos, contudo a normalização da HbA1c foi alcançada em todos os pacientes com ajustamento da terapia com insulina e nenhum paciente teve

hiperglicemias muito elevadas, cetoacidose ou hipoglicemias severas durante o estudo. Alguns pacientes apresentaram elevação transitória das aminotransferases na altura da realização do transplante, que normalizaram em cerca de 34 dias, e um paciente apresentou elevação da creatinina sérica, tendo sido demonstrado rejeição crónica do enxerto renal através de biopsia (Alejandro *et al.*, 1997).

Também em 1997, Secchi *et al.* da Universidade de Milão realizaram um estudo em 20 pacientes, 12 homens e oito mulheres, com idade média de $40,1 \pm 1$ anos. Os pacientes eram diabéticos insulino-dependentes, com duração média da doença de 25 ± 1 anos e peptídeo C negativo. Os pacientes foram sujeitos a transplante de ilhéus pancreáticos (um paciente realizou dois transplantes) com 3461 a 15945 IE/Kg por paciente, a partir de dadores cadáveres. Sete pacientes receberam os ilhéus na veia mesentérica por laparotomia, com anestesia geral, e os restantes receberam na veia porta por cateterização percutânea, com anestesia local. Oito pacientes realizaram transplante de ilhéus em simultâneo com o rim e 13 após transplante de rim, sendo que um paciente foi submetido a transplante duas vezes. O seguimento destes pacientes ocorreu até cinco anos. Os pacientes receberam cefotaxime e foram submetidos a monitorização da pressão da Veia Porta. A terapia imunossupressora utilizada foi globulina antilinfocítica (ALG), azatioprina, prednisolona e ciclosporina, havendo ajustamento do tratamento nos pacientes previamente transplantados. Um paciente morreu de causa cardíaca horas depois do transplante, sendo excluído do estudo. Neste estudo os autores consideraram que três pacientes (15%) tiveram “rejeição presumida” por falência aguda, irreversível e precoce dos seus enxertos, apresentando níveis de peptídeo C de $0,62 \pm 0,06$ nmol/L ($1,86 \pm 0,18$ ng/mL) após o transplante e ocorrendo uma diminuição do seu valor uma, duas e quatro semanas depois. Dois destes pacientes não receberam terapia com ALG por uveíte crónica e doença do soro e outro teve uma rejeição vascular aguda do enxerto

renal. Oito pacientes (40%) tiveram uma “exaustão presumida do enxerto” porque não apresentaram qualquer benefício metabólico após o transplante, mesmo apresentando valores de peptídeo C de $0,40 \pm 0,02$ nmol/L ($1,20 \pm 0,06$ ng/mL) durante $4,5 \pm 1,5$ meses. Nove pacientes (45%) alcançaram ou independência completa de insulina (sete casos – 35%) ou viram as suas necessidades de insulina reduzidas mais de 50% (dois casos – 10%), com peptídeo C mantido numa média de $0,89 \pm 0,04$ nmol/L ($2,67 \pm 0,12$ ng/dL) por cerca de 21 ± 7 meses de duração (dois a 58 meses). A HbA1c destes pacientes diminuiu de valores entre 4,4 a 10,7% para 4,5 a 7,1% três meses após o transplante. Dos pacientes que alcançaram a independência de insulina, três permaneceram apenas durante um mês, um paciente durante sete meses, dois durante dez e 11 meses e um paciente por mais de 40 meses e mantendo-se independente até à data do relatório. Um total de cinco pacientes apresentou rejeição tardia do enxerto (25%) e apenas quatro (20%) permaneceram com função na altura do relatório, com necessidades de insulina diminuídas 60, 48, 18 e nove meses após. A massa de ilhéus transplantada nos três pacientes com presumida rejeição do enxerto foi de cerca de 9096 ± 2681 IE/Kg, a partir de dadores com idade média de 32 ± 9 anos e com preservação em frio durante $3,5 \pm 0,3$ horas. Nos pacientes com exaustão presumida do enxerto a massa transplantado foi de 7487 ± 1088 IE/Kg, a partir de dadores com idade média de 36 ± 4 anos e com duração da preservação de cerca de $2,5 \pm 0,2$ horas. Finalmente, nos pacientes com função no enxerto, a massa de ilhéus transplantados foi de 11137 ± 907 IE/Kg, a partir de dadores com idade média de 34 ± 4 anos e com $4,6 \pm 1,1$ horas de preservação. Relativamente às complicações relacionadas com o procedimento, para além do paciente que morreu devido a causa cardíaca logo após o transplante, um outro paciente desenvolveu hemorragia peritoneal com recuperação espontânea. Alguns pacientes também desenvolveram complicações relacionadas com a imunossupressão: um paciente

desenvolveu candidíase, um desenvolveu doença do soro, dois apresentaram rejeição do enxerto renal com aumento da creatinina sérica e ainda um outro paciente desenvolveu uveíte crónica (Secchi *et al.*, 1997).

Keymeulen *et al.*, das Universidades de Bruxelas e Helsínquia, relataram em 1998, resultados de um estudo realizado em sete pacientes, cinco homens e duas mulheres, com idades entre os 34 e 52 anos e peso entre 59 a 73 Kg (excluídos pacientes com $IMC > 28 \text{Kg/m}^2$). Os pacientes eram diabéticos insulino-dependentes há mais de 25 anos, com complicações crónicas e peptídeo C negativo, inferior a $0,03 \text{ nmol/L}$ ($< 0,09 \text{ ng/mL}$). Todos os pacientes haviam sido previamente sujeitos a transplante renal. O seguimento destes pacientes ocorreu durante cerca de um ano. Os ilhéus foram obtidos de dadores em morte cerebral, com idades compreendidas entre três e 60 anos, foram sujeitos a cultura e foram armazenados em solução de Wisconsin ou de Histidina. O tempo de isquemia a frio variou entre as três e as 20 horas. Os ilhéus foram separados do restante tecido pancreático utilizando enzimas colagenases e foram centrifugados em solução de Ficoll. Uma massa de 2100 a 5300 IE/Kg foi transplantada em cada paciente através da veia porta, guiado por fluoroscopia, e todos foram submetidos a monitorização da pressão na Veia Porta. Foi continuada imunossupressão com globulina antitimócito (ATG) em três pacientes e em todos os pacientes ciclosporina, azatioprina e metilprednisolona, que já estavam a realizar devido ao transplante renal, mas com algumas adaptações, sem aumentar a dose. Todos os pacientes (100%) ficaram com peptídeo C positivo durante duas semanas, altura em que quatro (~57%) se tornaram negativos (dois com anti-GAD positivo antes do transplante). Os restantes três pacientes permaneceram com valores positivos por mais de um ano e dois deles (~29%) tornaram-se independentes de insulina sete meses após o transplante, com valores de glicemia em jejum e HbA1c normais ou perto do normal. O paciente com sobrevivência do enxerto,

mas sem independência de insulina, diminuiu em cerca de 20% as unidades de insulina diárias e as hipo e hiperglicemias em jejum tornaram-se raras. Nos quatro pacientes com rejeição do enxerto, as necessidades de insulina voltaram para as mesmas unidades antes do transplante, os valores de glicemia em jejum variaram de hipo para hiperglicemia e os valores de HbA1c excederam o limite normal. Nenhuma complicação foi detectada (Keymeulen *et al.*, 1998).

Bretzel *et al.*, da Universidade de Giessen, na Alemanha, relataram em 1999, um estudo com 26 pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 de longa duração, com peptídeo C negativo. Catorze destes pacientes foram submetidos a transplante de ilhéus após transplante renal prévio e 12 foram sujeitos a transplante de ilhéus em simultâneo com o rim. Estes pacientes foram seguidos durante cerca de três meses. Foi utilizado um protocolo que consistia na utilização de ilhéus altamente purificados, com 48 a 72h em cultura e foram transplantados na veia porta. A rejeição completa do enxerto foi definida como negatividade permanente do peptídeo C plasmático ($<0,2\text{ng/ml}$) e na urina de 24 horas ($<2\mu\text{g/dL}$). Dos pacientes que receberam transplante de ilhéus após transplante renal prévio, um recebeu os ilhéus no baço e um morreu por doença miocárdica isquémica recorrente silenciosa. Estes dois pacientes foram excluídos do restante estudo. Os restantes 12 pacientes, nove homens e três mulheres, tinham idade média de $40,3\pm 2,1$ anos, diabetes há cerca de $27,6\pm 1,9$ anos, peso médio de $64,5\pm 1,9$ Kg, IMC médio de $22,3\pm 0,4$ Kg/m² e uma média de $5,5\pm 0,8$ anos após transplante renal. Estes pacientes receberam ciclosporina A, esteroides, globulina antitimócito (ATG) e alguns azatioprina. O número de ilhéus transplantados foi de 573408 ± 83606 ilhéus, correspondente a 8732 ± 1105 IE/Kg, provenientes de 1,6 dadores por receptor. Os 12 pacientes ficaram com peptídeo C positivo ($>0,5$ ng/mL duas semanas depois do transplante). Dois pacientes apresentaram rejeição do enxerto nos dias 16 e 17 e um

paciente apresentou rejeição entre um e três meses depois, estando na altura da realização do relatório, nove pacientes com função no enxerto. O controlo glicémico destes pacientes melhorou, com diminuição dos valores de glicemia em jejum de 175 ± 17 mg/dL, antes do transplante, para 112 ± 10 mg/dL, um mês depois, e 114 ± 18 mg/dL, três meses depois; descida da HbA1c de $8,7\pm 0,3\%$ para $6,5\pm 0,2\%$ e $6,2\pm 0,3\%$, um e três meses depois; aumento do peptídeo C de $0,06\pm 0,02$ para $2,5\pm 0,4$ e $2,1\pm 0,6$ ng/mL, um e três meses depois do transplante e as necessidades de insulina também diminuíram de 49 ± 5 U/dia, antes do transplante, para 37 ± 8 e 29 ± 5 U/dia, um e três meses depois do transplante, respectivamente. Os 12 pacientes que receberam transplante de ilhéus em simultâneo com o rim, quatro homens e oito mulheres, tinham idade média de $38,1\pm 2,4$ anos, diabetes há cerca de $25,9\pm 1,9$ anos, peso médio de $68,6\pm 2,6$ Kg, IMC médio de $23,3\pm 0,9$ Kg/m² e uma média de $2,3\pm 0,4$ anos de duração de tratamento com diálise. Estes pacientes receberam ciclosporina A, esteroides, globulina antitimócito (ATG) e azatioprina. O número de ilhéus transplantados foi de 365890 ± 47250 ilhéus, correspondente a 5414 ± 733 IE/Kg, provenientes de um dador por receptor. Todos os pacientes ficaram com peptídeo positivo ($>0,5$ ng/mL duas semanas depois do transplante) e nenhum paciente apresentou rejeição do enxerto até à data de realização do relatório. O controlo glicémico destes pacientes melhorou, com diminuição dos valores de glicemia em jejum de 241 ± 18 mg/dL, antes do transplante, para 127 ± 11 , um mês depois, e 133 ± 19 , três meses depois; descida da HbA1c de $8,1\pm 0,5\%$ para $6,8\pm 0,3\%$ e $6,2\pm 0,3\%$, um e três meses depois e aumento do peptídeo C de $0,06\pm 0,02$ para $1,7\pm 0,2$ e $1,6\pm 0,3$ ng/mL, um e três meses depois do transplante. Assim, dos 24 pacientes que completaram o procedimento, todos (100%) apresentaram função de enxerto após o transplante, com valores de peptídeo C positivos e 21 pacientes (87,5%) permaneceram até aos três meses de seguimento. Um total de três

pacientes (12,5%) apresentaram rejeição do enxerto, por perderam função após período temporário com níveis de peptídeo C detectáveis, e dois pacientes nunca chegaram a alcançar qualquer forma de função devido às complicações durante o procedimento (Bretzel *et al.*, 1999).

Em 2000, Oberholzer *et al.* da Universidade de Genebra, relataram os resultados de um estudo realizado a 13 pacientes com peptídeo C negativo. Oito pacientes receberam transplante de ilhéus em simultâneo com o rim, um em simultâneo com pulmão (fibrose quística) e quatro já haviam sido previamente sujeitos a transplante renal. Os pacientes foram seguidos entre os quatro e os 63 meses. O número de ilhéus transplantado variou entre 198720 a 863000 ilhéus (5625 a 8539 IE/Kg), a partir de um a três doadores cadáveres, entre os 20 e 65 anos. Alguns ilhéus foram sujeitos a uma isquemia a frio de seis horas de média e foram infundidos após o acesso da aorta abdominal e veia mesentérica inferior. Os ilhéus foram separados do restante tecido pancreático utilizando enzimas colagenases até 1997 e posteriormente foi utilizada Liberase (uma colagenase), foram purificados em solução de Ficoll e armazenados na solução da Universidade de Wisconsin. Os pacientes com transplante antes de 1998 receberam ciclosporina, azatioprina e esteroides. Os pacientes com transplante depois de 1998 receberam basiliximab, ciclosporina e esteroides (metilprednisolona). Todos os pacientes (100%) alcançaram valores de peptídeo C basal acima de 0,3 nmol/L (0,9 ng/mL) por três ou mais meses. Dos 11 pacientes que foram seguidos depois de seis meses após o transplante, sete (~64%) tinham valores normais de peptídeo C e, ao um ano de seguimento, dos oito pacientes seguidos, cinco (62,5%) mantiveram esses valores. Mais de dois anos após o transplante, três dos seis pacientes seguidos (50%) apresentavam função do enxerto, aos três anos dois de três pacientes (~67%) e um paciente manteve função por mais de cinco anos. Seis pacientes (~46%) apresentaram

rejeição tardia do enxerto. O paciente que manteve função por mais de cinco anos (até à data do relatório) foi submetido a transplante de pulmão e ilhéus em simultâneo. Dois pacientes apresentavam valores positivos de anti-GAD antes do transplante e um deles aumentou os seus níveis um ano após o transplante, apresentando rejeição do enxerto aos 26 meses. Nos pacientes previamente sujeitos a transplante de rim diminuíram as suas necessidades de insulina de uma média de 46 U/dia para 22 U/dia três meses após o transplante e permaneceram com 25 U/dia aos seis meses. Os pacientes com transplante de ilhéus em simultâneo com o rim viram as suas doses de insulina inalteradas ou até aumentadas (46 U/dia antes e 64 U/dia depois, excepto um paciente). A HbA1c diminuiu para valores normais em todos os pacientes, sendo que a média diminuiu de 9,1% antes do transplante para 5,5% três meses depois do transplante. Dois pacientes alcançaram independência de insulina, dois e três meses depois do transplante. Um paciente teve infecção por Citomegalovírus e provavelmente foi causa de rejeição de enxerto neste paciente seis meses após o transplante (Oberholzer *et al.*, 2000).

Ainda em 2000, Shapiro *et al.* da Universidade de Alberta, em Edmonton, Canadá, apresentaram o primeiro relatório, após um ano, de um estudo que viria a durar cerca de cinco anos e que apresentou um novo protocolo para o transplante de ilhéus pancreáticos, o protocolo de Edmonton. Neste primeiro relatório, o grupo de investigadores seleccionou sete pacientes, com média de 44 anos (29 a 54 anos), com Diabetes Mellitus tipo 1 com duração média de 35 anos (18 a 50 anos), com peptídeo C <0,48 ng/mL, com instabilidade metabólica, incluindo hipoglicemias severas, e sem doença renal. Os pacientes foram sujeitos a transplante de ilhéus isolado e todos necessitaram de dois transplantes (com intervalo médio de 29 dias depois do primeiro transplante) e um precisou de três (o mais obeso com 93Kg) para se tornarem independentes. Mais do que um dador em morte cerebral foi utilizado, com idade média

de 45 ± 14 anos. As células dos ilhéus foram isoladas do restante tecido pancreático exócrino, introduzindo os ductos num meio com enzimas Liberases, que promovem a digestão do tecido exócrino, e posteriormente os ilhéus foram cuidadosamente dissociados e purificados com solvente de Ficoll. Foram utilizados meios sem proteínas não humanas (xenoproteínas), sendo substituídas por albumina 25% humana. O armazenamento foi realizado com a utilização da solução de Wisconsin e os ilhéus foram transplantados imediatamente após a sua extracção do pâncreas do dador. Uma massa de cerca de 11547 ± 1604 IE/Kg frescos foram infundidos na veia porta através do acesso de via trans-hepática percutânea, guiada por fluoroscopia e após sedação do doente. A pressão da veia porta foi monitorizada. Os pacientes receberam uma terapia imunossupressora sem esteroides, com sirolimus, dose baixa de tacrolimus e daclizumab. Os pacientes também receberam profilaxia com antibióticos intravenosos (vancomicina e imipenem), pentamidina e ganciclovir oral e, ainda, suplementação oral com vitamina E, B6 e A. Todos os pacientes (100%) alcançaram a independência de insulina, após transplante de número suficiente de ilhéus, e permaneceram assim após uma média de 11,9 meses de seguimento (4,4 a 14,9 meses). O paciente que recebeu o menor número de ilhéus precisou temporariamente de insulina (4 a 10 U/dia), em quatro ocasiões durante períodos de doença ou stress, e um segundo paciente também necessitou de insulina (total de 7 U/dia) durante dois dias de doença. A HbA1c diminuiu de uma média de $8,4\pm 0,6\%$ antes do transplante, para $5,7\pm 0,2\%$ após transplante. O peptídeo C era detectável em todos os pacientes três e seis meses após o transplante e esse valor não diminuiu ao longo do seguimento, com uma média de $2,4\pm 0,3$ ng/mL em jejum e $5,7\pm 0,9$ ng/mL pós-prandial, aos três meses, e $2,5\pm 0,2$ ng/mL em jejum e $5,7\pm 0,6$ ng/mL pós-prandial, aos seis meses. A glicemia pós-prandial dos pacientes alcançou uma média de $138,4\pm 37$ mg/dL. Não houveram mais episódios de coma

hipoglicêmico. Este estudo utilizou um índice de labilidade glicêmica, o *Mean Amplitude Glycemic Excursion* (MAGE) para analisar a variação das glicemias durante o dia. Este parâmetro obtém-se determinando os valores de glicemia sete vezes por dia, durante dois dias consecutivos, sendo possível após a sua determinação verificar se o paciente apresenta uma grande variabilidade dos seus valores de glicemias durante o dia. O MAGE diminuiu de 198 ± 32 mg/dL ($11,1\pm 1,8$ mmol/L) para 119 ± 37 mg/dL ($6,7\pm 2,1$ mmol/L), após primeiro transplante, e para 51 ± 30 mg/dL ($2,8\pm 1,7$ mmol/L), após obtenção de independência de insulina. A prova de tolerância oral à glicose (PTGO) realizada em todos os pacientes não identificou nenhum com critérios para diabetes, mas cinco obtiveram valores de 142 a 195 mg/dL, após teste com glicose, e dois tiveram valores superiores a 120 mg/dL em jejum. Dois pacientes desenvolveram hemorragia durante o procedimento com necessidade de transfusão. Relativamente às complicações relacionadas com a imunossupressão, sete pacientes desenvolveram úlceras orais, que resolveram após redução das doses de sirolimus (Shapiro *et al.*, 2000).

Em 2001, Ryan *et al.*, o mesmo grupo de investigadores, mostraram novo relatório, mas agora com mais quatro pacientes, formando um total de 12 pacientes, quatro mulheres e oito homens, com idade média de $40\pm 2,7$ anos, com Diabetes Mellitus tipo 1 de duração média de $29\pm 3,2$ anos, com complicações tardias da diabetes, peptídeo C negativo, com mau controlo metabólico e diminuição da percepção das hipoglicemias. O transplante foi realizado segundo o protocolo já referido, com a mesma imunossupressão e o número de ilhéus transplantado foi de cerca de 857318 ± 43314 (>9000 IE/Kg). Todos precisaram de pelo menos dois transplantes e quatro necessitaram de três. O seguimento teve a duração média de 10,2 meses, sendo o mais longo de 20 meses. Todos (100%) alcançaram a independência de insulina, contudo um paciente não conseguiu com um mínimo de 9000 IE/Kg, teve trombose da

veia porta, que pode ter contribuído para a perda parcial da função do enxerto, mas sem complicações maiores. O controlo glicémico permaneceu estável com níveis de glicemia pré-transplante em jejum de $12,5 \pm 1,9$ mmol/L ($225 \pm 34,2$ mg/dL) e pós-prandial de $20 \pm 2,7$ mmol/L ($360 \pm 48,6$ mg/dL) e níveis pós-transplante de $6,3 \pm 0,3$ mmol/L ($113,4 \pm 5,4$ mg/dL) em jejum e $7,5 \pm 0,6$ mmol/L ($135 \pm 10,8$ mg/dL) pós-prandial. Todos os pacientes passaram a produzir insulina, apresentando valores de peptídeo C de $0,66 \pm 0,06$ nmol/L ($1,98 \pm 0,18$ ng/mL) em jejum e $1,29 \pm 0,25$ nmol/L ($3,87 \pm 0,75$ ng/mL) pós-prandial. A média de HbA1c desceu de $8,3 \pm 0,5\%$ antes do transplante para $5,8 \pm 0,1\%$ depois do transplante. A PTGO realizada na altura do relatório identificou três pacientes com diabetes (dois com hipoglicemiantes orais e um com baixas doses de insulina), cinco com intolerância oral à glicose e quatro com valores normais. O MAGE melhorou com o primeiro transplante, estabilizou depois do último transplante e permaneceu estável durante todo o seguimento. Dois pacientes, já relatados no relatório anterior desenvolveram hemorragia, um paciente teve trombose de um ramo da Veia Porta, com resolução com anticoagulação, e três pacientes tiveram aumento das aminotransferases, mas todos resolveram. A imunossupressão foi responsável pelo desenvolvimento de úlceras orais em dez pacientes, pneumonia num paciente, celulite noutro paciente, dois pacientes aumentaram os seus níveis de creatinina, o que obrigou a substituir o tacrolimus por micofenolato de mofetil, e cinco pacientes tiveram aumento do colesterol, sendo necessário introduzir estatinas em três. Quatro pacientes tiveram um aumento da sua Tensão Arterial, com necessidade de aumentar a terapia anti-hipertensiva (Ryan *et al.*, 2001).

Em 2002 (Ryan *et al.*, 2002), novo relatório foi publicado, agora com um total de 30 pacientes, dos quais 17 seguiram o protocolo de Edmonton. Dos 17 pacientes, dez eram homens e sete eram mulheres, com idade média de $39,7 \pm 2,0$ anos, com Diabetes

Mellitus tipo 1 de duração média de $27,2 \pm 2,8$ anos, peptídeo C negativo, hipoglicemias sem percepção, labilidade do controlo metabólico e alguns tinham complicações tardias. Os 17 pacientes que foram sujeitos a transplante de ilhéus isolado segundo o protocolo de Edmonton, foram seguidos durante uma média de 20,4 meses (3,2 a 34,2 meses) e todos (100%) alcançaram a independência de insulina após o transplante de 12530 ± 581 IE/Kg (850035 ± 37911 ilhéus). Neste relatório, os autores referem a utilização de duas camadas, solução de Wisconsin e PFC (Perfluorcarbono) para o armazenamento de ilhéus. Quinze pacientes foram seguidos durante um ano após o transplante inicial e, destes, 12 (80%) permaneceram independentes de insulina. Com mais de um ano, nove de 15 (60%), e aos dois anos, quatro de seis pacientes (~67%) mantiveram essa independência. Os seis pacientes que voltaram a ficar dependentes de insulina viram reduzidas as suas doses diárias de $0,58 \pm 0,08$ U/Kg/dia para $0,33 \pm 0,1$ U/Kg/dia. Dos seis, três (~18%) ficaram com valores negativos de peptídeo C aos 7,5, 16 e 17 meses após o transplante e, destes, dois apresentaram anti-GAD e anti-ICA positivos. A HbA1c desceu de um valor médio de $8,21 \pm 0,36\%$ para $6,08 \pm 0,77\%$. Até à data do relatório, 14 pacientes mantinham secreção de peptídeo C e 11 estavam independentes de insulina. O controlo glicémico, destes pacientes, permaneceu estável e a labilidade da glicemia e os problemas com hipoglicemias foram corrigidos. A PTGO realizada aos 17 pacientes detectou 11 pacientes com critérios de diabetes. O MAGE desceu de 10,6 mmol/l para 3,3 mmol/l. Durante o procedimento, dois pacientes tiveram bradicardia, cinco tiveram hemorragia, com três a necessitar de transfusão, um paciente desenvolveu trombose parcial da Veia Porta e 46% dos pacientes tiveram um aumento da Função Hepática. O regime imunossupressor causou úlceras orais em dois pacientes, acne em dois, náuseas e vômitos noutros dois, artralgias num paciente e Artrite Reumatóide noutro, diarreia em dez, anemia em oito, leucopenia em seis, aumento da creatinina em

dois, aumento da proteinúria em quatro, hipertensão arterial em dez (nove com necessidade de terapia anti-hipertensora) e aumento do colesterol em 15 (11 com necessidade de estatinas) (Ryan *et al.*, 2002).

Em 2003, os investigadores de Edmonton apresentaram novo relatório (Owen *et al.*, 2003), com um total de 34 pacientes, 20 mulheres e 14 homens, com idades compreendidas entre os 23 e 59 anos, com Diabetes Mellitus tipo 1 de duração média de $25,5 \pm 1,9$ anos (5 a 50), com peptídeo C negativo, com mau controlo glicémico e hipoglicemias recorrentes. O seguimento teve uma duração média de 21,5 meses (com um máximo de 39 meses). A massa de ilhéus transplantada foi de 857468 ± 37496 ilhéus (cerca de 13000 IE/Kg). Dos 26 pacientes que completaram o procedimento até à data do relatório, todos (100%) ficaram independentes de insulina, 21 (81%) com um ano de seguimento. Três dos 26 pacientes (~12%) ficaram com peptídeo C negativo, indicando rejeição do enxerto. Alguns pacientes apresentaram complicações durante o procedimento. Quatro desenvolveram hemorragias, com três a necessitar de transfusão, dois tiveram trombose do segmento da veia porta, com necessidade de anticoagulação, em quatro ocorreu punção do tracto biliar, com melhoria com tratamento conservativo, e dois pacientes sofreram episódios vagovagais, com um a necessitar de administração de atropina (Owen *et al.* 2003).

O último relatório apresentado em 2005 (Ryan *et al.*, 2005), com um total de 65 pacientes, 57% mulheres, com idade média de $42,9 \pm 1,2$ anos, com Diabetes Mellitus tipo 1 com duração média de $27,1 \pm 1,3$ anos, com 80% dos pacientes com hipoglicemias problemáticas, 60% com labilidade no controlo glicémico e quatro pacientes com complicações progressivas. Quarenta e sete pacientes completaram o procedimento e, destes, 44 (~94%) ficaram independentes de insulina e três mantiveram-se dependentes mesmo com infusão de mais do que 16000 IE/Kg, tendo sido considerados como tendo

terminado o procedimento. Os pacientes que completaram o procedimento e ficaram independentes de insulina receberam um total de 799912 ± 30220 ilhéus (11910 ± 469 IE/Kg). Cinco pacientes apenas necessitaram de um transplante, 52 tiveram dois transplantes e 11 precisaram de três transplantes. O tempo médio entre o primeiro e segundo transplante foi de 2,5 meses e entre o segundo e o terceiro foi de 1,8 meses. O seguimento teve uma duração média de 35,5 meses (4,1 a 67,8 meses). Após cinco anos de seguimento, dos pacientes acompanhados cerca de 80% apresentavam peptídeo C positivo (100% após o transplante), mas apenas uma minoria (7,5%) permaneceu independente de insulina. Isto significa que cerca de 20% dos pacientes seguidos até essa data apresentaram rejeição tardia do enxerto. A duração média de independência de insulina foi de cerca de 15 meses e a HbA1c, nesses pacientes, alcançou valores médios de 6,4%. Naqueles que voltaram a necessitar de insulina, mas com peptídeo C positivo, os valores rondaram os 6,7% e nos pacientes com rejeição do enxerto os valores atingiram uma média de 9%. As glicemias nos pacientes com independência de insulina alcançaram valores médios de $6,4 \pm 0,2$ mmol/L ($115,2 \pm 3,6$ mg/dL) em jejum e $8,3 \pm 0,3$ mmol/L ($149,4 \pm 5,4$ mg/dL) pós-prandial. Nos que voltaram a necessitar de insulina, os valores em jejum eram de $7,6 \pm 0,4$ mmol/L ($136,8 \pm 7,2$ mg/dL) e pós-prandial eram $13,2 \pm 0,5$ mmol/L ($237,6 \pm 9$ mg/dL). Os níveis de peptídeo C basal nos pacientes independentes de insulina eram de $0,86 \pm 0,05$ nmol/L ($2,58 \pm 0,15$ ng/mL) e nos pacientes que voltaram a necessitar de insulina eram de $0,49 \pm 0,05$ nmol/L ($1,47 \pm 0,15$ ng/mL). Os níveis de peptídeo C após estimulação eram de $1,62 \pm 0,07$ e $0,93 \pm 0,08$ nmol/L ($4,86 \pm 0,21$ e $2,79 \pm 0,24$ ng/mL) nos pacientes independentes e nos que voltaram a necessitar de insulina, respectivamente. Nos pacientes que voltaram a necessitar de insulina, mas com peptídeo C positivo, as unidades de insulina diárias desceram de $0,66 \pm 0,03$ para $0,34 \pm 0,04$ U/Kg/dia, e nos pacientes com rejeição do enxerto a

necessidade de insulina aumentou de $0,69\pm 0,08$, pré-transplante, para $0,80\pm 0,08$ U/Kg/dia. O *HYPO score* e o LI melhoraram significativamente após o transplante. Durante o procedimento, 15 pacientes desenvolveram hemorragia, com sete a necessitar de transfusão, cinco tiveram trombose da Veia Porta, com necessidade de anticoagulação, dois foram puncionados na vesícula biliar, com resolução com tratamento conservador, e 78% aumentaram as transaminases, com oito a evidenciarem esteatose hepática na Ressonância Magnética. A imunossupressão causou úlceras orais em 89% dos pacientes, diarreia em 60%, acne em 52%, edema periférico em 43%. A média leucócitos e de Hemoglobina diminuiu, com 8% dos pacientes a necessitarem de eritropoietina. Três pacientes desenvolveram pneumonia e um paciente teve carcinoma da tiróide. Oito pacientes tiveram progressão da nefropatia e ocorreu um aumento das necessidades de medicação anti-hipertensora e para a dislipidemia. Cinco pacientes tiveram que passar a utilizar sirolimus e micofenolato de mofetil como agentes imunossupressores e dois passaram para sirolimus, tacrolimus e micofenolato de mofetil (Ryan *et al.* 2005).

Em 2003, Markmann *et al.*, da Universidade de Pensilvânia, relataram um estudo em nove pacientes, com idades compreendidas entre os 27 e 54 anos, com Diabetes Mellitus tipo 1 com pelo menos cinco anos de duração, caracterizada por hipoglicemias frequentes e labilidade no controlo metabólico. O protocolo utilizado, quer para o isolamento e transplante de ilhéus, quer para a terapia imunossupressora foi o de Edmonton, apenas com a diferença de que em cinco pacientes foi utilizado com sucesso apenas uma infusão e, destes, três foram transplantados a partir de apenas um dador. Nos transplantes realizados a partir de um dador foram utilizados 616200 ilhéus (9282 IE/Kg) e nos transplantes a partir de dois dadores utilizaram 603250 ilhéus (8112 IE/Kg). Os ilhéus foram obtidos a partir de dadores com morte cerebral e um cadáver e

foram infundidos por cateterização da Veia Porta, guiada por fluoroscopia ou ecografia. Sete pacientes completaram o procedimento e todos (100%) ficaram independentes de insulina. Seis pacientes (~86%) permaneceram por mais de oito meses após o transplante. Um paciente aguarda segundo transplante e outro teve de ser afastado por ter que interromper imunossupressão por ter traumatismo com ferida no pé de difícil cicatrização. O paciente (~14%) que voltou a necessitar de insulina exógena apresentou perda de função do enxerto cerca de oito meses após o transplante, evidenciado pela descida do peptídeo C, mas este permaneceu acima de zero e o paciente apenas voltou a necessitar de cerca de metade da dose de insulina diária antes do transplante, revelando alguma função parcial do enxerto. Dos sete pacientes que ficaram independentes cinco apenas necessitaram de uma infusão e dois precisaram de duas. A HbA1c desceu de valor médio superior 7,5% para valores abaixo de 6,5% até 12 meses após o transplante. Todos os pacientes apresentaram um aumento da função hepática. Cerca de 90% desenvolveu úlceras orais, mais de 40% edema, mais de 50% leucopenia, mais de 60% anemia, mais de 30% trombopenia e mais de 50% aumentaram os níveis de lípidos (Markmann *et al.*, 2003).

Ainda em 2003, Hirshberg *et al.*, de Maryland, apresentaram os resultados de um estudo realizado a seis pacientes, do sexo feminino, com idades compreendidas entre os 39 e 63 anos, com Diabetes Mellitus tipo 1 com duração entre 13 e 50 anos e IMC de $21,7 \pm 3$ Kg/m², com hipoglicemias severas com percepção reduzida. O seguimento teve duração de 17 a 22 meses. Os ilhéus foram obtidos a partir de doadores cadáveres, com idade entre 34 e 64 anos, e IMC entre 19,6 e 34 Kg/m² e duração da isquemia entre 2,6 e 7,5 horas. A massa de ilhéus transplantada foi superior a 10000 IE/Kg por paciente e foi infundida na veia porta, guiada por fluoroscopia e ecografia. Os ilhéus foram separados do restante tecido pancreático utilizando enzimas liberase, foram

purificados com solução de Ficoll e armazenados em solução de Wisconsin. Duas pacientes apenas fizeram um transplante e as restantes fizeram dois transplantes. A imunossupressão utilizada foi semelhante à do protocolo de Edmonton, com sirolimus, tacrolimus e daclizumab. Quatro pacientes (~67%) alcançaram independência de insulina, mas apenas três (50%) a mantiveram por mais de seis semanas após o transplante. Ao um ano de seguimento, as mesmas três (50%) mantinham independência de insulina e uma delas voltou a necessitar de insulina cerca de 18 meses após o transplante, pois teve de interromper imunossupressão devido a complicações. Duas pacientes iniciaram terapia com antidiabéticos orais. A paciente que voltou a precisar de insulina após uma independência até seis semanas depois do segundo transplante, teve que interromper a imunossupressão por ter desenvolvido uma série de complicações. Contudo, actualmente mantém níveis de peptídeo C detectáveis, mais seis meses após a interrupção da imunossupressão. As restantes duas pacientes que nunca chegaram a alcançar independência de insulina, uma teve uma trombose da veia porta e outra teve uma hemorragia intrabdominal, com necessidade de transfusão. Ambas as pacientes apresentaram, contudo, diminuição das necessidades de insulina diárias e valores menores de HbA1c. De uma forma geral, todas as pacientes apresentaram diminuição da HbA1c de $8,2\pm 1,2\%$ antes do transplante e $6,04\pm 0,6\%$ um ano após o transplante e diminuíram a sua glicemia de 183 ± 45 mg/dL antes para 125 ± 22 mg/dL um ano após o transplante. Nenhuma paciente voltou a ter hipoglicemias severas. Uma paciente (~17%) apresentou rejeição completa do enxerto evidenciada por negatividade do peptídeo C e a paciente que voltou a necessitar de insulina aos 18 meses após o transplante apresentou perda quase total da função. Em relação às complicações relacionadas com a imunossupressão, todas as pacientes desenvolveram úlceras orais, diarreia e anemia normocítica. Cinco pacientes desenvolveram edema e fadiga

generalizada, quatro apresentaram trombocitopenia, duas neutropenia severa ($<500/\text{mm}^3$), uma paciente desenvolveu infecção tracto urinário, uma pneumonite intersticial e uma desenvolveu uma infecção de pele a *Pitissporidium* (Hirshberg *et al.*, 2003).

Em 2004, Ryan *et al.* da Universidade de Alberta, em Edmonton, no Canadá, realizaram um estudo retrospectivo. Seleccionaram, de forma aleatória, 100 pacientes de 877 pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1. Dos 100, 51 eram mulheres e 49 eram homens, com idade média de $38,4 \pm 1,3$ anos e duração da diabetes de cerca de $21,5 \pm 1,1$ anos. Estes pacientes foram incorporados no grupo de controlo. Posteriormente, seleccionaram 51 pacientes, 29 mulheres e 22 homens, com idade média de $42,1 \pm 1,4$ anos, duração de Diabetes Mellitus tipo 1 de cerca de $25,7 \pm 1,4$ anos, previamente sujeitos a transplante de ilhéus. Este estudo introduziu novas medidas, o LI (*Lability Index*) e o *HYPO score*, para estudar a variação dos valores de glicemia dos pacientes e para analisar o número de hipoglicemias e caracteriza-las. O *HYPO score* baseia-se essencialmente na combinação da pontuação de quatro semanas de determinações de glicemias e relatos dos pacientes. São também registados os valores baixos de glicemias ($<3\text{mmol/L}$ ou $<54\text{ mg/dL}$), se são acompanhados de sintomas ou se houve necessidade de ajuda. As pontuações das quatro semanas são obtidas e multiplicadas por 13 para obter o valor para um ano. Posteriormente são somadas, a esse valor, pontuações atribuídas a episódios de hipoglicemias ocorridas no ano anterior. De forma semelhante, o LI é calculado utilizando os valores de glicemias durante quatro semanas, sendo, portanto, um período bastante mais longo do que o utilizado para calcular o MAGE. Foram obtidos os valores de *HYPO score*, LI e MAGE. O grupo sujeito a transplante diminuiu os valores de *HYPO score* de uma média de 1234 ± 184 antes do transplante para valores negligenciáveis após o transplante, diminuiu a média de LI de 497 para 40

mmol/l²/h/semana após o transplante. No grupo de controlo a média de *HYPO score* era 143 e a de LI 223 mmol/l²/h/semana. Os quatro pacientes (~8%) que apresentaram rejeição do enxerto obtiveram valores de 584±155 antes do transplante, 20±4 após o transplante e o mais recente foi de 300±63 mmol/l²/h/semana (Ryan *et al.*, 2004).

Em 2005, Hering *et al.*, da Universidade de Minnesota, Minneapolis, relataram um estudo com oito pacientes, do sexo feminino, com idade média de 37±3 anos (31 a 43 anos), peso 59,7±8,9 Kg (42,1 a 66,9 Kg), IMC de 23±2,6 Kg/m² (18,3 a 25,8 Kg/m²), com Diabetes Mellitus tipo 1 com duração média de 28±7 anos (16 a 35 anos) e uma média de 7,8±5,9 hipoglicemias severas. Os dadores eram cadáveres, com idade média de 39±12 anos, peso 100,6±22,8 Kg e IMC de 34,3±8,3 Kg/m². A massa de ilhéus, a partir de dadores cadáveres, foi transplantada na veia porta, via percutânea trans-hepática e foi de cerca de 7271±1035 IE/Kg, com duração média de isquemia a frio de 6,6±1,7 horas. Os ilhéus foram separados do restante tecido pancreático utilizando enzimas liberase, foram purificados com solução de Ficoll e armazenados em solução de Wisconsin. A imunossupressão utilizada foi constituída por RATG (Globulina Antitimócito de coelho), daclizumab, etanercept e dose reduzida de tacrolimus, gradualmente substituído por micofenolato mofetil um mês após o transplante. Apenas foi utilizado um dador para cada paciente. O seguimento foi de um ano. Todos os pacientes (100%) alcançaram a independência de insulina, com cinco independentes (62,5%) por mais de um ano e os restantes três foram independentes durante 121, 76 e sete dias. A HbA1c passou de valores entre 4,6 a 10,2% antes do transplante para 4,3 a 6,4% após o transplante, em todos os pacientes. Não se registaram mais hipoglicemias severas e o peptídeo C basal alcançou um valor médio de 1,82±0,43 ng/mL. A PTGO realizada aos cinco pacientes com independência por mais de um ano resultou numa média de 133,4±44,2 mg/dL após glicose, com quatro pacientes com

valores inferiores a 140mg/dL. Os três pacientes (37,5%) que voltaram a necessitar de insulina apresentaram rejeição do enxerto mais de 177, 207 e 330 dias após o transplante e dois deles tinham anti-GAD e anti-ICA positivos antes do transplante. Nenhuma complicação relacionada com o procedimento ocorreu. Cinco pacientes desenvolveram linfopenia, cinco desenvolveram neutropenia e todos desenvolveram úlceras orais (Hering *et al.*, 2005).

Ainda em 2005, Froud *et al.*, da Universidade de Miami, apresentaram os resultados de um ensaio clínico aleatorizado, realizado em 16 pacientes, sete homens e nove mulheres, com idade média de $40,8 \pm 9,7$ anos (24 a 59 anos), com peso médio de $69,5 \pm 12,6$ Kg, IMC de $24,8 \pm 1,7$ Kg/m², com Diabetes Mellitus tipo 1 com duração de cerca de $26,9 \pm 12,4$ anos, com hipoglicemias sem percepção. O seguimento teve uma duração média de 33 ± 6 meses. Os ilhéus foram obtidos a partir de doadores cadáveres, com idade entre 15 e 65 anos e foram infundidos na veia porta, via percutânea transepática, numa média de 934280 ± 209252 ilhéus (13552 ± 2982 IE/Kg). Apenas um paciente necessitou de um único transplante, tendo os restantes sido sujeitos a dois. Os ilhéus foram separados do restante tecido pancreático utilizando uma solução de enzimas liberase, foram purificados com solução de Ficoll e armazenados numa solução de duas camadas com solução de Wisconsin e PFC (Perfluorcarbono). A imunossupressão utilizada consistiu em tacrolimus, sirolimus e daclizumab. Dois tiveram que interromper o procedimento devido a complicações severas (12,5%), sendo excluídos do estudo. Catorze pacientes completaram o procedimento e todos (100%) alcançaram a independência de insulina. Após um ano de seguimento, 11 de 14 (~79%) mantiveram independência e seis de 14 (~43%) aos 18 meses. Dos oito que ficaram dependentes de insulina, cinco realizaram novo transplante e dois alcançaram novamente a independência de insulina, sendo que na data do relatório, oito de 11

(73%) se encontravam ainda com independência de insulina e três com unidades de insulina mais baixas (diminuição de 51,5 para 21,3 U/dia). A duração média da independência foi de $381 \pm 110,8$ dias. Todos os pacientes (14 pacientes) apresentavam valores positivos de peptídeo C ($1,4 \pm 0,4$ ng/mL) três meses após o transplante. Até à data do relatório, 11 pacientes apresentavam função do enxerto completa ou parcial, significando que ocorreu uma taxa de cerca de 21% (três de 14) de rejeição tardia, por interrupção da imunossupressão. Dois dos pacientes que reintroduziram insulina tornaram-se anti-GAD positivos após o transplante. Relativamente à glicemia em jejum, dos 11 pacientes com independência de insulina com um ano de seguimento, cinco apresentaram valores inferiores a 100 mg/dL e seis apresentaram valores entre 100 e 126 mg/dL. A PTOG realizada a dez pacientes com um ano de seguimento, foi normal em cinco, com intolerância oral à glicose em três e dois tinham critérios de diabetes. Ocorreu normalização do MAGE. Relativamente às complicações relacionadas com o procedimento, dois pacientes desenvolveram hemorragia, com um deles a necessitar de transfusão, ocorreu aumento transitório das aminotransferases, um paciente desenvolveu esteatose hepática e ocorreu aumento da pressão da veia porta em 30 dos 34 procedimentos realizados. A imunossupressão causou linfopenia e neutropenia em nove pacientes, dois pacientes aumentaram os seus níveis de creatinina, um paciente aumentou a Tensão Arterial, 14 pacientes desenvolveram hiperlipidémia e cinco desenvolveram macroalbuminúria. Outras complicações ocorreram como úlceras orais, edema periférico, insónia, tremor, ansiedade, cefaleias, supressão da medula óssea, anormalidades electrolíticas e anormalidades ginecológicas (Froud *et al.*, 2005).

Também em 2006, Sassa *et al.*, da Universidade de Quioto, relataram um estudo em seis pacientes. Cinco destes pacientes, três mulheres e dois homens, tinham idade média de 44 anos (36 a 58 anos), com Diabetes Mellitus tipo 1 com duração média de

21 anos (14 a 29 anos) e peptídeo C negativo (<0,1 ng/mL). Todos os pacientes tinham hipoglicemias severas não detectadas e ameaçadoras à vida. Estes pacientes receberam transplante de ilhéus a partir de doadores cadáveres. Uma paciente, de 27 anos, tinha desenvolvido diabetes após uma pancreatite 12 anos antes e recebeu transplante a partir de dador vivo (mãe da paciente). Neste estudo foi utilizado o protocolo de Quioto nos pacientes que receberam transplante a partir de cadáveres. Este protocolo foi criado para reduzir o tempo de isquemia ao máximo do pâncreas de doadores cadáveres. Para isso, o pâncreas foi imediatamente retirado do dador logo após a sua morte, através da introdução de um cateter de duplo balão antes da paragem cardíaca. Outras diferenças foram a utilização de ulinastatina durante o processo de isolamento e a utilização de iodixanol em vez da solução de Ficoll para a purificação dos ilhéus. Os objectivos deste estudo foram demonstrar o controlo metabólico dos pacientes após o transplante único de ilhéus, utilizando doadores cadáveres e dador vivo. Foram determinados os valores de MAGE, HbA1c e unidades de insulina diárias antes e um mês depois do transplante. O MAGE desceu de 8,5 mM para 3,3 mM, a HbA1c desceu de 7,9% para 5,4%, as necessidades de insulina basal diminuíram de 0,31 para 0,18 U/Kg/dia e após estímulo diminuíram de 0,28 para 0,21 U/Kg/dia (Sassa *et al.*, 2006).

Em 2006, Shapiro *et al.* apresentaram o primeiro ensaio clínico aleatorizado internacional utilizando o protocolo de Edmonton, com nove centros internacionais (seis da América do Norte e três da Europa). Um total de 36 pacientes seleccionados (quatro em cada centro), com idade média de 41 ± 2 anos, Diabetes Mellitus tipo 1 com duração média de 27 ± 2 anos, peso de $61,6 \pm 1$ Kg, IMC de 22 Kg/m^2 e com hipoglicemias recorrentes (97%), labilidade glicémica (56%) e complicações progressivas (53%), foram sujeitos a transplante de ilhéus pancreáticos (um a três transplantes por paciente). Os ilhéus foram obtidos a partir de doadores com morte cerebral, entre os 15 e 70 anos de

idade, com um máximo de horas de preservação em isquemia a frio de 12 horas e foram transplantados uma média de 13473 ± 923 IE/Kg por paciente. A imunossupressão utilizada foi a preconizada pelo protocolo de Edmonton. Um total de 21 pacientes (58%) alcançou independência de insulina, 16 (44%) permaneceu um ano após o último transplante e apenas um de 21 pacientes (~5%) seguidos aos três anos, permaneceu independente. Um ano após o transplante, dez pacientes mantinham função parcial do enxerto e dez sem função completa do enxerto (28%). Destes últimos, quatro nunca chegaram a apresentar função (falência primária), dois apresentaram rejeição precoce do enxerto (~6%) e quatro não continuaram o tratamento (~11%). O peptídeo C permaneceu superior a 0,3 ng/mL em 70% dos pacientes dois anos após o transplante. Os pacientes com independência de insulina mantiveram valores de glicemia em jejum abaixo de 140 mg/dL, diminuição de MAGE e HbA1C abaixo de 6,5%. Durante o procedimento, ocorreram hemorragias em sete dos 77 procedimentos (9%), com necessidade de transfusão em quatro casos e laporotomia em um caso, e dois pacientes (6%) desenvolveram oclusões parciais da veia porta, com resolução com anticoagulação. Em relação à imunossupressão, 92% dos pacientes desenvolveram úlceras orais, 81% anemia, 75% leucopenia, 64% diarreia, 56% cefaleias, 53% neutropenia, 50% náuseas, 42% vômitos, 39% acne e fadiga e ocorreu um aumento da creatinina, associado em alguns casos a aumento da albuminúria (Shapiro *et al.*, 2006).

Também em 2006, Toso *et al.*, da Universidade de Genebra, relataram um estudo realizado em oito pacientes, cinco mulheres e três homens, com idade média de $46 \pm 9,5$ anos, com Diabetes Mellitus tipo 1 com duração média de $34,4 \pm 7,2$ anos, com $61,6 \pm 13$ Kg e IMC $23,8 \pm 2,8$ Kg/m², com peptídeo C negativo, com complicações progressivas e cinco pacientes com mau controle metabólico. Todos tinham hipoglicemias sem percepção. Todos os pacientes haviam sido previamente sujeitos a

transplante de rim bem sucedido. Este estudo teve como objectivo experimentar o protocolo de Edmonton em pacientes sujeitos previamente a transplante renal. Contudo, os autores utilizaram uma combinação de enzimas, Liberase e Neutral Protease, para a digestão do tecido pancreático. Uma massa de 6263 IE/Kg foram infundidos por transplante e 12530 IE/Kg por dois transplantes. Foram infundidos por cateterização da veia porta, guiada por ecografia e com anestesia local. Os ilhéus foram obtidos de doadores em morte cerebral, com idade média de 38 ± 10 anos, peso 72 ± 13 Kg, IMC de $24\pm 3,3$ Kg/m², com duração média de isquemia a frio de 9 ± 2 horas. A imunossupressão utilizada foi a do regime do protocolo de Edmonton, mas pacientes com prednisolona diária ≤ 5 mg por dia do transplante de rim também foram incluídos. O objectivo primário era a independência de insulina um ano após o transplante e o secundário era diminuir as necessidades de insulina diárias, manter peptídeo C positivo e obter um bom controlo metabólico, com diminuição da HbA1c, MAGE. Os oito pacientes alcançaram a independência de insulina por pelo menos três meses depois do transplante inicial (100%). Destes, um voltou a necessitar de insulina aos três meses, outro aos dez meses e ainda outro aos 19,5 meses após o primeiro transplante. Assim, dos sete pacientes que foram seguidos até um ano após o transplante, cinco permaneceram independentes (71%). Dois pacientes (25%) apresentaram rejeição do enxerto e um permaneceu com função parcial. Um dos pacientes que rejeitou apresentou também diminuição da função renal, tendo já antes do transplante valores de clearance de creatinina diminuídos (< 50 mL/min). Nos seis pacientes com função do enxerto, a HbA1c diminuiu de $7,7\pm 0,6\%$ para inferior ou igual a $6,5\%$ após o transplante, o peptídeo C permaneceu positivo (> 166 pmol/L) e o MAGE diminuiu para níveis inferiores a 3 mmol/L, com excepção dos dois pacientes que apresentaram rejeição do enxerto. Durante o procedimento ocorreram duas hemorragias, com um dos pacientes a necessitar de laparotomia de

emergência. Devido ao regime imunossupressor, nove pacientes desenvolveram infecções (quatro infecções do tracto urinário, duas infecções do tracto respiratório, uma micose vaginal, um herpes anal e um febre de origem desconhecida), um desenvolveu trombocitopenia, quatro desenvolveram anemia, sete leucopenia, três edema, cinco diarreia, um acne, sete úlceras orais e quatro pacientes aumentaram níveis de colesterol e três a tensão arterial. Para além do paciente que apresentou perda da função do enxerto renal, um paciente que já tinha microalbuminúria antes do transplante, aumentou os seus níveis e outro paciente desenvolveu microalbuminúria depois do transplante (Toso *et al.*, 2006).

CAPÍTULO IV - DISCUSSÃO

O transplante de ilhéus pancreáticos tem sofrido recentemente grandes alterações e o que parecia não ter grande sucesso, em comparação com o transplante de pâncreas total, tem-se tornado na melhor opção para uma possível “cura” da Diabetes Mellitus tipo 1 e para a diminuição de todos os problemas relacionados com ela, como as complicações tardias e gastos com estes pacientes (White *et al.*, 2000). Os resultados apresentados parecem demonstrar que esta estratégia pode ser eficaz, mas alguns cuidados têm de ser considerados antes de poder ser recomendada, particularmente com possíveis complicações relacionadas com o procedimento e com a imunossupressão e a existência de uma taxa de rejeição ainda elevada a longo prazo.

Algumas limitações foram encontradas no agrupamento e análise dos resultados devido à heterogeneidade dos estudos. Isso fez-se sentir principalmente em relação ao número de pacientes, valores de peptídeo C a partir dos quais se consideram positivos para determinar se os doentes têm função parcial do enxerto e, sobretudo, no agrupamento de dados de percentagem de pacientes com independência de insulina e função parcial ou perda completa do enxerto ao longo do seguimento pós-transplante. Alguns estudos só consideram que os pacientes alcançaram independência de insulina quando esta permaneceu pelo menos durante quatro semanas (Ryan *et al.*, 2005), o que altera alguns resultados sendo, por isso, a comparação entre estudos não muito correcta. Por outro lado, o facto de haver poucos ensaios clínicos aleatorizados diminui a fiabilidade dos resultados. Uma outra limitação encontrada é o facto de, nos estudos mais antigos, três deles utilizavam uma população classificada como tendo diabetes insulino-dependente e um estudo incluía população com peptídeo C negativo. Este facto poderá justificar-se porque os estudos adoptaram a classificação antiga de Diabetes

Mellitus, sendo que o mais provável é que essa população fosse, de facto, diabética tipo 1. Contudo, esse facto não pôde ser apurado, tornando os resultados menos fiáveis e a comparação entre estudos menos correcta.

Foi considerado como objectivo primário a euglicemia e um bom controlo metabólico sem necessidade de administração de insulina exógena. O objectivo secundário será uma melhoria do controlo metabólico, através de um enxerto com função parcial, isto é, com peptídeo C positivo mas com dependência de insulina, apesar de as doses serem menores que antes do transplante.

Da análise geral dos resultados, em relação ao objectivo primário dos estudos seleccionados (tabela 3.2), é possível verificar que houve uma melhoria significativa dos resultados após o primeiro relatório do ensaio clínico de Shapiro *et al.*, em 2000, com 100% dos pacientes a ficarem independentes de insulina e com um bom controlo metabólico, permanecendo dessa forma após algum tempo decorrido depois do transplante (Shapiro *et al.*, 2000). Antes dessa data nenhum dos estudos realizados, entre 1996 e 2000, apresentou resultados tão positivos, sendo o número de pacientes com independência de insulina menos de metade do número total de pacientes que participou no estudo e com uma redução significativa desse número após algum tempo de seguimento. Após Shapiro, os resultados de percentagem de independência foram todos superiores a 50%, sendo na maioria 100% ou muito próxima desse resultado. A excepção foi o estudo de Hirshberg *et al.* (2003), com cerca de 67% independentes, e o estudo internacional de Shapiro *et al.* (2006) com 58% independentes após o transplante. Cerca de um ano de seguimento demonstrou também uma melhoria significativa no cumprimento do objectivo primário, tendo a maioria dos estudos mantido a percentagem de independência de insulina acima de 50%. A excepção foi novamente a do ensaio clínico aleatorizado internacional (Shapiro *et al.*, 2006),

realizado em 2006, que apresentava 44% dos seus pacientes com independência de insulina após um ano de seguimento, sendo, mesmo assim, muito superior ao alcançado pelos investigadores antes de Shapiro. Foi possível encontrar-se uma causa para o resultado não tão favorável deste estudo, uma vez que foram apresentados os resultados de cada um dos centros que participaram nele e verificou-se que alguns deles não tinham ainda qualquer tipo de experiência no campo da transplantação de ilhéus pancreáticos, apresentando, por isso, resultados menos satisfatórios (Shapiro *et al.*, 2006). Apesar desta melhoria dos resultados, a permanência de independência de insulina a longo prazo ainda é muito baixa. Este facto foi demonstrado por Ryan *et al.* (2005), que após cinco anos de seguimento de alguns pacientes sujeitos a transplante de ilhéus, apenas 7,5% permaneceram independentes de insulina, e o estudo internacional de 2006 (Shapiro *et al.*, 2006), após três anos de seguimento apenas um dos 21 pacientes (~5%) seguidos permaneceu independente. Um resultado mais favorável, dentro dos estudos com seguimento mais longo, foi o de Froud *et al.* (2005), que, após 33 meses de seguimento, oito dos 11 (73%) pacientes que foram seguidos até à data mantinham-se independentes de insulina, o que pode ser justificado pelo facto deste grupo de investigadores não ter desistido de alcançar bons resultados e cinco dos pacientes, que voltaram a depender de insulina, foram novamente sujeitos a transplante e dois deles voltaram a apresentar função completa do enxerto com independência de insulina. Os resultados insatisfatórios a longo prazo levantam dúvidas acerca do sucesso deste tipo de transplante, contudo, também permitem constatar que a função completa a longo prazo é possível ser alcançada apesar de ser ainda num número baixo de pacientes.

Relativamente à função parcial do enxerto, esta foi alcançada por muitos pacientes, sendo este valor já bastante elevado nos estudos mais antigos. Contudo, a

função do enxerto nesses estudos acaba por ser perdida algum tempo após o transplante. Nos estudos mais recentes a função de enxerto permaneceu mesmo após um longo período após o transplante, como se verificou no estudo de Ryan *et al.* (2005) que demonstraram que os valores de peptídeo C podem manter-se positivos por um período tão longo como o de cinco anos, como o que aconteceu com 80% dos seus pacientes, apesar de a maioria já não se encontrar independente de insulina. De forma semelhante, no estudo internacional (Shapiro *et al.*, 2006), 70% dos pacientes apresentavam peptídeo C positivo aos dois anos de seguimento. Estes resultados permitem concluir que apesar de a função completa do enxerto ser difícil de manter ao longo do tempo, a função parcial parece ser mais fácil de permanecer viável por períodos mais longos e em maior número de pacientes. Este facto associado a um bom controlo metabólico e à diminuição das necessidades de insulina, permite concluir que, o cumprimento do objectivo secundário traduz-se num benefício para estes pacientes que tinham um mau controlo da doença antes da realização do transplante.

Para analisar os resultados do controlo metabólico, a maioria dos estudos utilizou a determinação dos valores de HbA1c e glicemias em jejum e/ou pós prandiais. Nos estudos mais recentes, novas variáveis foram utilizadas para caracterizar melhor este controlo glicémico. Muitos estudos utilizaram a PTGO, para determinar a existência de diabetes ou intolerância oral à glicose nos pacientes após o transplante de ilhéus. Outros utilizaram, também, o MAGE (*Mean Amplitude of Glycemic Excursion*), um índice de labilidade glicémica, que surgiu em estudos mais antigos (desde 1970) (Ryan *et al.*, 2004), mas que, nos estudos seleccionados, só os mais recentes o utilizaram com mais frequência (tabela 3.2). Um outro sistema foi criado por Ryan *et al.* (2004), da Universidade de Alberta, em Edmonton, uma vez que o sistema antigo, de determinação de MAGE, apresentava alguns problemas, entre os quais, a ausência de

um estudo mais alargado utilizando esta medida. Por outro lado, este valor é apenas obtido durante dois dias, sendo portanto incompleto, uma vez que não traduz a variação durante períodos mais longos. Então, este grupo de investigadores criou o *HYPO score*, uma pontuação que permite a quantificação da extensão do problema de hipoglicemias, e o LI (*Lability Index*), baseado nas variações de glicemias por um período bastante mais longo do que o utilizado para calcular o MAGE (Ryan *et al.*, 2004). No estudo retrospectivo de 2004, realizado por Ryan *et al.*, no qual foi utilizado este novo sistema nos pacientes antes e depois de serem sujeitos a transplante e no grupo de controlo, foi possível verificar que, quer o *HYPO score*, quer o LI, fornecem uma indicação objectiva da severidade dos problemas de hipoglicemias e labilidade glicémica, respectivamente, revelando apresentarem vantagens em relação ao MAGE, como já referido (Ryan *et al.*, 2004). Estas medidas, que permitem ter acesso às variações de glicemia dos pacientes, são muito importantes, uma vez que a HbA1c isolada apenas dá informação relativamente ao controlo médio da glicemia, nos últimos três a quatro meses, fornecendo um resultado que traduz uma média de múltiplos valores, não sendo possível determinar se esses valores são constantes rondando um determinado valor ou se são muito abaixo ou muito acima de um valor médio.

Assim, tendo em consideração apenas o controlo metabólico (objectivo secundário), este foi alcançado mais facilmente do que a independência de insulina em todos os estudos. Mesmo antes de 2000, vários estudos já demonstravam um benefício significativo no controlo metabólico dos pacientes, através da normalização dos valores de HbA1c e das glicemias em jejum e/ou pós prandiais. Este benefício foi alcançado, como já referido, não só por todos os pacientes que alcançaram independência de insulina, mas também pelos pacientes que, apesar de ainda dependentes desta, apresentaram função parcial do enxerto, isto é, peptídeo C com valores positivos. Todos

os estudos que utilizaram o valor de MAGE para avaliar a labilidade do controlo metabólico, viram este valor diminuído nos pacientes com função do enxerto (completa e parcial) em relação ao valor obtido antes do transplante. Antes do transplante os vários estudos apresentavam um valor de MAGE dos seus pacientes que variava entre 8,5 a 11 mmol/L e, após o transplante, este valor diminuiu significativamente para valores entre 2,8 e 3,3 mmol/L, demonstrando uma grande melhoria no controlo glicémico, pois os seus valores de glicemia foram mais constantes. Em relação ao *HYPO score* e LI, dos estudos seleccionados, apenas foi utilizado por Ryan *et al.* (2004) e no último relatório dos investigadores de Edmonton (Ryan *et al.*, 2005), da mesma universidade. Verificou-se também uma diminuição destes parâmetros nestes estudos. No estudo retrospectivo de Ryan *et al.* (2004), o *HYPO score*, bastante elevado nos pacientes antes do transplante, de cerca de 1234 ± 184 (143 no grupo de controlo), diminuiu para valores negligenciáveis, podendo-se concluir que estes pacientes deixaram de apresentar hipoglicemias severas após o transplante. O LI também diminuiu consideravelmente de 497 (223 no grupo de controlo) para 40 mmol/l²/h/semana. Contudo, nos pacientes que apresentaram rejeição do enxerto este valor voltou a subir para níveis de cerca de 300 mmol/l²/h/semana, demonstrando que o controlo metabólico correcto apenas é obtido pelos pacientes com função parcial ou completa do enxerto. Por fim, alguns estudos também utilizaram a PTGO, determinada nos pacientes alguns meses após o transplante. A utilização deste parâmetro veio demonstrar que, apesar de uma franca melhoria no controlo metabólico dos pacientes após o transplante, muitos continuavam a apresentar alterações nesta prova. No estudo de Shapiro *et al.*, em 2000, cinco dos sete pacientes apresentaram alterações após o teste e dois apresentaram alterações dos valores em jejum, apesar de todos se encontrarem independentes de insulina (Shapiro *et al.*, 2000). O mesmo grupo de investigadores, no relatório de 2001, apresentou resultados piores,

havendo três pacientes com critérios de diabetes e cinco com intolerância oral à glicose, de um total de 12 pacientes (Ryan *et al.*, 2001). Em 2002, o número de diabéticos subiu para 11 pacientes, de um total de 17 (Ryan *et al.*, 2002). Isto demonstra que estes pacientes, mesmo após transplante de ilhéus bem sucedido, com aparente função do enxerto, apresentam ainda alterações a nível de resposta dos ilhéus a elevações de glicemia induzidas.

Neste sentido, alguns estudos dedicaram-se às determinações laboratoriais relativamente à função das células dos ilhéus pancreáticos e à sua resposta em relação às elevações e descidas de glicemia. Verificou-se que, apesar de em todos os estudos seleccionados a população alvo deixar de apresentar ou reduzir o número de hipoglicemias, outras investigações foram desenvolvidas e demonstraram que os ilhéus implantados no fígado, apesar de apresentarem boa supressão da insulina em resposta às hipoglicemias induzidas em relação ao grupo de controlo, são incapazes de produzir, ou, se produzem, é apenas parcialmente, hormonas de contrarregulação (como o glucagon). Contudo as células alfa parecem não estarem danificadas e serem capazes de libertar glucagon, apesar de não haver essa resposta (Rickels *et al.*, 2006; Rickels *et al.*, 2005; Robertson, 2004; Paty *et al.*, 2002). Em alguns dos estudos seleccionados (Toso *et al.*, 2006; Hering *et al.*, 2005; Ryan *et al.*, 2002; Ryan *et al.*, 2001), foram também determinados os valores de peptídeo C e insulina após prova de tolerância à glicose intravenosa. Os pacientes após transplante apresentaram uma melhoria destes valores, significando que os ilhéus pancreáticos apresentam resposta com libertação de insulina após prova com glicose IV. Contudo, os valores ainda permanecem baixos comparados com os valores dos grupos de controlo com pessoas saudáveis. Conclui-se, portanto, que os ilhéus transplantados apesar de apresentarem função, libertando insulina ou glucagon conforme os níveis de glicemia, estes ainda permanecem muito baixos comparados com

os alcançados pelos grupos de controlo. Por outro lado, o facto de a resposta do glucagon à hipoglicemia estar longe de ser normal nos pacientes após transplante de ilhéus, aumenta o risco de hipoglicemias quando estes pacientes recomeçam a utilizar insulina exógena novamente (Ryan *et al.*, 2005).

Em relação à rejeição, esta pode ocorrer de forma precoce ou de forma tardia, que nesta análise foi considerada como ocorrendo por mais de dois meses após o transplante. A rejeição é definida como uma reacção imunológica de um receptor contra um enxerto ou um transplante que acaba por não ser aceite. Neste trabalho foi considerada rejeição quando os níveis de peptídeo C se tornaram indetectáveis, significando perda de função completa do enxerto após função por período temporário. Apenas no estudo de Luzi *et al.* (1996) foi impossível distinguir se o número de pacientes com peptídeo C indetectável foi devido a rejeição ou se os pacientes nunca chegaram a apresentar qualquer tipo de função do enxerto (falência primária). E neste estudo, no de Owen *et al.* (2003) e no de Ryan *et al.* (2004) não foi possível saber se a rejeição foi precoce ou tardia. Da análise dos resultados, pode-se constatar que as taxas de rejeição são menores nos estudos mais recentes, particularmente depois do estudo de Shapiro *et al.*, em 2000. Essa redução verificou-se sobretudo nas taxas de rejeição precoce, alcançando quase todos os estudos valores de 0%. Uma vez mais, a excepção foi o estudo internacional (Shapiro *et al.* 2006), no qual dois dos seus pacientes (~6%) tiveram rejeição precoce do enxerto, estando contudo abaixo dos valores alcançados pelos estudos mais antigos. Uma vez que essa forma de rejeição está principalmente relacionada com número de ilhéus transplantados, com a técnica de purificação, preparação ou isolamento e/ou com a imunidade do hospedeiro, poder-se-á concluir que provavelmente se passou a infundir cada vez mais o número de ilhéus necessários e/ou ocorreram melhorias na técnica de preparação dos ilhéus ou da supressão da imunidade,

como discutido posteriormente. Relativamente às taxas de rejeição tardia, estas, apesar de terem diminuído após o estudo do grupo de Edmonton, mantiveram-se ainda com valores significativos, com três estudos com valores superiores a 20% (Toso *et al.*, 2006; Froud *et al.*, 2005; Hering *et al.*, 2005). Antes do estudo de 2000 de Shapiro *et al.*, a soma das taxas de rejeição precoce e tardia alcançou, na maioria, valores perto ou superiores a 50%, enquanto que nos estudos mais recentes isso não se verificou. O estudo realizado por Alejandro *et al.*, em 1997, chegou a alcançar 75% sendo que a rejeição ocorreu em seis dos oito pacientes que participaram neste estudo (Alejandro *et al.*, 1997). Apenas Bretzel *et al.* (1999), da Universidade de Giessen, em 1999, alcançaram valores bastante mais baixos, antes de 2000, com apenas três dos 24 pacientes (12,5%) que completaram o procedimento a apresentarem rejeição. Os próprios investigadores referem a utilização de uma nova técnica mais refinada de transplante, podendo ser a possível responsável pelo sucesso deste estudo. Mas que marcadores clínicos poderão indicar uma possível rejeição do enxerto? Nesta análise foi considerado como tendo rejeição completa do enxerto, todo o paciente que apresentasse valores de peptídeo C não detectáveis, acompanhado de aumento das necessidades de insulina e mau controlo metabólico, com subida das glicemias e HbA1c. Contudo, estas formas de monitorização da função do enxerto não fornecem informação com rapidez, sendo que podem não se encontrar alteradas nas fases iniciais de rejeição. Esse atraso no diagnóstico impossibilita qualquer tipo de medida que pudesse reverter o processo de rejeição. A RMN com contraste, o PET, utilizando anticorpos específicos das células beta ou agentes farmacológicos, e técnicas ópticas, utilizando marcadores metabólicos, são técnicas que foram propostas e que poderão ajudar a aceder à função do enxerto (Merani & Shapiro, 2006). Froud *et al.* (2005) foi um dos estudos que utilizou a RMN, realizada anualmente, mostrando o caso de um paciente que acabou por voltar a

necessitar de insulina exógena e que apresentava lesões parenquimatosas difusas no fígado, com deposição de gordura. Contudo, um marcador clínico, não invasivo, que detectasse a rejeição nas suas fases iniciais e/ou mesmo antes de esta ocorrer, seria o procedimento ideal, sendo utilizado de forma rotineira e facilitando o acesso a pacientes que vivem longe dos centros dedicados ao transplante de ilhéus (Merani & Shapiro, 2006).

Para tentar perceber o porquê da melhoria dos resultados, quer a nível do aumento da percentagem de independência de insulina e controlo metabólico, quer na redução das taxas de rejeição, é necessário perceber os protocolos e procedimentos utilizados pelos estudos e avaliar as principais diferenças que foram ocorrendo ao longo do tempo.

Assim, antes do estudo revolucionador de Shapiro, os centros dos estudos seleccionados, entre 1996 e 2000, relataram os resultados de estudos realizados em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 utilizando a imunossupressão convencional e ilhéus humanos purificados a partir de doadores cadáveres. Apenas Keymeulen *et al.* (1998) referem ter utilizado doadores em morte cerebral. Todos os estudos realizaram transplante de ilhéus em pacientes já previamente sujeitos a transplante de rim ou em simultâneo com este e dois estudos também o realizaram em simultâneo com o fígado e com o pulmão. Este facto, justifica-se, pois até esta data, o transplante de ilhéus ainda tinha um sucesso muito baixo, sendo mais vantajoso quando realizado em pacientes que já se encontravam ou iriam necessitar de imunossupressão.

Shapiro *et al.* (2000), da Universidade de Alberta, de Edmonton, apresentaram os resultados de um novo protocolo, o protocolo de Edmonton, sendo ele o provável responsável pela melhoria tão significativa dos resultados. Foi utilizado em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1, sem doença renal, sujeitos a transplante de ilhéus isolado

e que sofriam de hipoglicemias severas e indetectáveis e/ou de um mau controlo metabólico. Este protocolo apresentou uma série de alterações em relação aos até então utilizados e parece ter trazido uma nova esperança no transplante de ilhéus pancreáticos, tendo a partir dessa data evoluído muito e sendo cada vez mais utilizado (Merani & Shapiro, 2006). Muitas das alterações ocorreram relativamente à imunossupressão e outras foram baseadas na evidência que tempos longos de isquemia estão associados a resultados piores.

Seguidamente analisar-se-ão as principais alterações introduzidas por este protocolo.

Em relação à técnica de isolamento e cultura dos ilhéus pancreáticos, o protocolo de Edmonton utiliza uma solução de enzimas Liberase para dissociar os ilhéus do restante tecido pancreático, a solução de Ficoll para purificá-las e a solução da Universidade de Wisconsin para armazená-las. Nenhum meio com xenoproteínas foi utilizado, de modo a evitar os anticorpos que facilitam a destruição de células (Shapiro *et al.*, 2000). Na maioria dos restantes estudos realizados posteriormente, o método utilizado foi semelhante. De facto, métodos de isolamento do pâncreas endócrino têm vindo a melhorar significativamente e de forma rápida nas últimas três décadas (Merani & Shapiro, 2006). Em 1989, Camillo Ricordi introduziu a “Ricordi Chamber” para otimizar e controlar a digestão pancreática e é actualmente utilizada universalmente (Ricordi *et al.*, 1989, citado por Merani & Shapiro, 2006). A solução de gradiente de densidade de Ficoll (polissacarídeo hidrofílico), também utilizada universalmente, foi introduzida para purificar os ilhéus, contribuindo para a separação do restante tecido pancreático durante o processo de centrifugação (Merani & Shapiro, 2006). Foi relatado que a contaminação por endotoxinas, das preparações contendo colagenases, poderiam ser responsáveis pela falência do enxerto (Vargas *et al.*, 1998). Assim, a utilização de

reagentes com baixos níveis de endotoxinas, incluindo as Liberase-HI e mais recentemente Liberase-CI, como opções de enzimas para digerir o pâncreas dador de forma a separar os ilhéus do tecido exócrino, juntamente com a introdução de procedimentos automatizados demonstrou ser mais eficaz, sem comprometer a viabilidade dos ilhéus (Merani & Shapiro, 2006), podendo ser uma das várias razões para o maior sucesso de Edmonton e dos estudos subsequentes. Seguindo a mesma linha de pensamentos, verificou-se que, a maioria dos estudos antes de Shapiro, não refere a utilização de nenhum tipo de selecção de enzimas colagenases, nem de qualquer forma de purificação destas. Apenas a partir do estudo de Oberholzer *et al.*, em 2000, é que os autores referem a utilização de solução de Liberasas nos pacientes transplantados a partir de 1997. Mais recentemente (2005), Bucher *et al.*, demonstraram que se forem utilizadas enzimas combinadas, o número de ilhéus funcionantes recolhidos por tecido pancreático é maior do que se for utilizada a liberase sozinha (Bucher *et al.*, 2005, citado por Merani & Shapiro, 2006). No estudo de Toso *et al.*, em 2006, uma combinação de enzimas, Liberase e Neutral Protease, foram utilizadas com sucesso, podendo ter contribuído para os bons resultados deste estudo, com 100% dos seus pacientes independentes de insulina após o transplante e 71% após um ano de seguimento. A solução da Universidade de Wisconsin foi introduzida por volta de 1989, como um meio de transporte dos ilhéus do laboratório para o seu destino, melhorando muito a conservação dos ilhéus e possibilitando um armazenamento por períodos mais longos (até 26h) sem prejuízo da sua viabilidade (Merani & Shapiro, 2006). Mais recentemente, um método de armazenamento mais eficaz surgiu, consistindo no armazenamento do pâncreas dador em duas camadas, uma de solução de Wisconsin e outra de PFC (Perfluorocarbono) no gelo com perfusão de oxigénio a 95%, aumentando a viabilidade dos ilhéus (Merani & Shapiro, 2006). Desta forma, o enxerto pancreático é

perfundido directamente por oxigénio, produzindo ATP continuamente (Matsumoto *et al.*, 2007). Esta técnica foi utilizada por alguns dos estudos seleccionados como o de Froud *et al.* (2005) e vem referenciado a partir do terceiro relatório dos investigadores de Edmonton (Ryan *et al.*, 2002), com bons resultados. Mais recentemente, a Universidade de Quioto, ao apresentar um novo protocolo, defende, entre outras coisas, a utilização de ulinastina, um inibidor da tripsina e também um anti-inflamatório, durante o processo de isolamento. Para além disso, também defende a utilização de uma solução de purificação, o iodixanol, em vez da solução de Ficoll, usada desde 1991, devido à baixa actividade de endotoxinas e baixa viscosidade, parecendo ser menos prejudicial para os ilhéus (Matsumoto *et al.*, 2007). Estas alterações vieram pôr em causa o que até então era universalmente aceite, tendo apresentado sucesso nos seus resultados, relativamente ao controlo metabólico dos seus pacientes (Sassa *et al.*, 2006), apesar de o tempo de seguimento ser ainda muito baixo.

Uma outra alteração proposta no protocolo de Edmonton é em relação ao número de ilhéus transplantados por paciente. Este protocolo defende que um mínimo de 10000 IE/kg devem ser transplantados, sendo o que está actualmente aceite (Merani & Shapiro, 2006). Até então o número mínimo de ilhéus pancreáticos que deveria ser infundido ainda não tinha sido devidamente definido, apesar de em estudos como o de Alejandro *et al.* (1997), se verificar que já havia a preocupação de infundir o número maior possível de ilhéus. Após os resultados dos estudos anteriores terem demonstrado taxas de rejeição e de independência de insulina muito aquém do desejável, principalmente comparado com o transplante de pâncreas total, o número de ilhéus pancreáticos baixo foi apontado como uma possível causa para a perda de função do enxerto. Esse facto foi justificado mais tarde pela destruição de grande parte dos ilhéus quando são implantados no fígado, provavelmente devido a reacções inflamatórias

imediatas mediadas pelos vasos sanguíneos (Ryan *et al.*, 2005), ou devido a complicações no procedimento, como trombose. No estudo realizado pelo grupo de investigadores de Milão (Luzi *et al.*, 1996), já era possível verificar que os pacientes que ficaram com função do enxerto receberam um número maior de ilhéus pancreáticos, podendo sugerir a importância deste facto para o sucesso do transplante. Também o estudo de Secchi *et al.* (1997) mostrou que os pacientes que ficaram com função do enxerto tinham recebido maior número de ilhéus em relação aos que apresentaram rejeição e aos que apresentaram exaustão do enxerto. Muitas vezes, a infusão do número de ilhéus mínimo, necessita ser alcançada através de mais do que um procedimento. De facto, nos estudos mais recentes, os investigadores chegam mesmo a realizar três transplantes de ilhéus por paciente e isso demonstrou ser eficaz através dos resultados mais satisfatórios. Contudo, Markmann *et al.* (2003) mostraram que cinco dos sete pacientes que alcançaram independência de insulina apenas necessitaram de um transplante. Froud *et al.* (2005) chegaram a infundir novamente ilhéus em pacientes que perderam a sua função do enxerto, após um período de independência de insulina. Assim, algumas questões ficam por ter respostas. Qual é o tempo mínimo de espera para se optar por um novo transplante, após terem sido infundidos o número mínimo de ilhéus aceites? Como conjugar isso, sabendo que a reenervação e neovascularização dos ilhéus foi demonstrada demorar entre quatro a oito semanas a estabelecer-se nos roedores (Luzi *et al.*, 1996)? Quando se deve desistir e aceitar que determinado paciente não alcançará mais função do enxerto por mais massa de ilhéus e infusões seja sujeito? As respostas a estas questões não estão bem definidas e explicadas nos estudos existentes.

O grupo de Edmonton defende a utilização de múltiplos dadores para atingir um mínimo total de 10000 IE/Kg (Shapiro *et al.*, 2000). E já antes do aparecimento deste

protocolo alguns estudos já utilizavam mais do que um dador por cada receptor (Oberholzer *et al.* 2000; Alejandro *et al.* 1997). Contudo, apesar da eficácia comprovada após a adopção desta estratégia, o problema de falta de dadores apresenta um obstáculo para a utilização de mais do que um dador por paciente. Os avanços na purificação, isolamento e preparação dos ilhéus pancreáticos aumentam o número de células obtidas por dador, aumentando o rendimento destes procedimentos (Merani & Shapiro, 2006). Hering *et al.* (2005) demonstraram que o transplante de cerca de 7271 IE/Kg obtidos apenas de um único dador cadáver foi suficiente para obter sucesso no transplante de ilhéus pancreáticos, com 100% dos pacientes a atingirem a independência de insulina e 62,5% permaneceram dessa forma após mais de um ano de seguimento. Contudo, Ryan *et al.* (2005) afirmam que esse sucesso, apesar de ser muito importante, deveu-se ao facto do grupo de investigadores de Minnesota apresentarem algumas diferenças no seu estudo, entre as quais, a selecção mais rigorosa de dadores, de receptores e substituição de tacrolimus por micofenolato de mofetil um mês depois do transplante. Apesar destas diferenças, Hering *et al.* (2005) colocaram em causa a necessidade de utilizar mais do que um dador, sendo um passo importante para o desenvolvimento e avanço do transplante de ilhéus.

Um outro aspecto importante é o relacionado com as características dos dadores, incluindo a idade e o índice de massa corporal estarem significativamente relacionados com o aumento da função dos ilhéus (Merani & Shapiro, 2006). A preocupação da selecção dos dadores parece ser maior nos estudos mais recentes e de facto verificou-se que, no estudo do grupo de Minnesota (Hering *et al.*, 2005) que utilizaram apenas um único dador, e que foi mais selectivo e rigoroso na selecção dos dadores pancreáticos, utilizando dadores com idade inferior a 50 anos e com um IMC superior a 27 kg/m², alcançou sucesso no transplante de ilhéus pancreáticos, com 100% dos pacientes a

ficarem independentes de insulina e 62,5% com mais e um ano de seguimento, como já referido. Parece haver concordância que quanto maior o IMC do dador e quanto menor a idade, maior o número de ilhéus obtidos. É aceite que dadores obesos fornecem um número maior de ilhéus do que dadores com IMC menor (Matsumoto *et al.*, 2007). Antigamente, os dadores mais idosos eram considerados melhores do que os dadores mais jovens para o isolamento de ilhéus, contudo, estudos recentes confirmam que os dadores jovens têm vantagens, desde que as preparações dos ilhéus ocorram segundo um processo de elevada qualidade. Isto é baseado no facto de uma maior percentagem de ilhéus estar imersa no parênquima acinar neste tipo de dadores (Matsumoto *et al.*, 2007).

O grupo de Edmonton sugere a utilização de dadores em morte cerebral, pois isso significaria diminuição da isquemia a que as células pancreáticas estariam sujeitas. Contudo, estudos recentes como o de Sassa *et al.* (2006), Froud *et al.* (2005), Hering *et al.* (2005) e Hirshberg *et al.* (2003), demonstraram que também é possível obter sucesso com dadores cadáveres, desde que técnicas de preparação de células e diminuição dos tempos de isquemia sejam tidos em consideração. No Japão, é difícil utilizar dadores em morte cerebral para o transplante de ilhéus, por isso foram desenvolvidos processos para que o transplante a partir de cadáveres ou dadores vivos ocorresse com sucesso (Matsumoto *et al.*, 2007). Para isso criaram um novo protocolo, o protocolo de Quioto, que assegura um tempo mínimo de isquemia do pâncreas dador (Matsumoto *et al.*, 2007). Sassa *et al.* (2005), da Universidade de Quioto, trouxeram a novidade do transplante a partir de dadores vivos na transplantação de ilhéus pancreáticos, apesar de já ser prática no transplante de pâncreas total. Estes investigadores realizaram um transplante numa paciente a partir de um dador vivo, tendo a paciente ficado independente de insulina. Contudo, esta paciente adquiriu a sua diabetes após uma

pancreatite crónica o que significa que não apresentava autoimunidade típica da Diabetes tipo 1 capaz de destruir as células dos ilhéus transplantados. Apesar disso, este estudo veio encorajar a investigação neste campo, que significaria, por um lado, mais células obtidas por dador, pois estes não se encontram nas condições adversas dos dadores cadáveres ou em morte cerebral, e por outro, a redução do problema de falta de dadores (Merani & Shapiro, 2006).

Por último, e talvez a alteração mais importante proposta pelo grupo de Edmonton, diz respeito à imunossupressão. Antes do grupo de Edmonton, os fármacos mais utilizados foram os corticosteroides, ciclosporina e azatioprina. Como já referido, este grupo defende a utilização de imunossupressão livre de corticosteroides de forma a evitar os efeitos diabetogénicos destes. Da mesma forma, a ciclosporina veio a ser demonstrada como tendo também um potencial diabetogénico (Merani & Shapiro, 2006). No estudo realizado por Luzi *et al.* (1996), nos pacientes com função do enxerto foram utilizadas doses menores de prednisolona, podendo sugerir que quando os esteroides não são utilizados ou o são em doses menores, o sucesso do transplante é maior. O novo regime proposto inclui o daclizumab, o sirolimus e baixas doses de tacrolimus. O daclizumab, um anticorpo monoclonal anti-CD25, é utilizado como profilaxia contra rejeição aguda sem aumentar o risco de desenvolvimento de infecção por citomegalovirus (CMV) ou outras infecções invasivas ou linfomas pós-transplante. Este fármaco é dado imediatamente antes do transplante e todas as 2 semanas depois do transplante num total de cinco doses. O tacrolimus (FK 506), um inibidor da calcineurina, inibe, conseqüentemente, a IL-2 e a activação de células T, reduzindo a rejeição aguda e provavelmente a perda de função tardia do enxerto. O sirolimus (rapamicina) previne a proliferação de células T. Estes fármacos combinados e com baixa dose de tacrolimus, parecem providenciar uma imunossupressão adequada, com

diminuição da ocorrência de complicações, como a HTA, diabetes e nefrotoxicidade (Samuel & Cockwell, 2002). Contudo, o sirolimus e o tacrolimus apresentam efeitos secundários conhecidos, como, náuseas, úlceras orais, diarreia, obstipação, fadiga, anemia, neutropenia, edema, acne, hipertensão e dislipidemia (Merani & Shapiro, 2006). De facto, todos estes efeitos secundários foram observados em todos os estudos que utilizaram estes fármacos, levando por vezes à necessidade de suspender a imunossupressão, o que condicionou rejeição já esperada do enxerto e consequentemente insucesso do procedimento. Assim, constata-se que a própria imunossupressão pode contribuir para um agravamento das complicações crónicas da diabetes, causando agravamento de dislipidemia ou aumento da necessidade de estatinas, aumento de tensão arterial ou aumento da necessidade de fármacos anti-hipertensores, e sobretudo um aumento dos níveis de creatinina, tendência para uma diminuição da clearance de creatinina e, em alguns, aumento de proteinúria. Nos estudos que realizaram transplante de ilhéus em simultâneo com o rim ou em pacientes já com enxerto renal, verificou-se que alguns dos pacientes que apresentaram rejeição do enxerto pancreático também apresentaram perda de função do enxerto renal, como aconteceu no estudo de Alejandro *et al.* (1997), Secchi *et al.* (1997) e no estudo mais recente de Toso *et al.* (2006). Este facto estará certamente relacionado com os efeitos nefrotóxicos da imunossupressão e poderá haver uma relação possível entre a rejeição de ambos os enxertos. Os dados em relação às complicações tardias da diabetes são incompletos (Merani & Shapiro, 2006), contudo, Fiorina *et al.* (2003), numa análise retrospectiva, demonstraram benefício cardiovascular e na função endotelial após transplante de pâncreas em pacientes com diabetes tipo 1 previamente sujeitos a transplante de rim. A imunossupressão a longo prazo também está associada ao aumento do risco de infecção e de certas malignidades, como é o caso dos síndromes

linfoproliferativos pós-transplante, mas nenhum paciente dos estudos seleccionados apresentou essa complicação. Hering *et al.* (2005) também utilizaram com sucesso RATG (globulina antitimócito do coelho), um anticorpo policlonal, MMF (Micofenolato de Mofetil) e o OKT3[®] (Muromonab CD3), um anticorpo monoclonal, podendo ter sido uma das causas para o sucesso deste grupo de investigadores que realizaram transplante de ilhéus com uma massa inferior à recomendada e apenas utilizando um dador. O RATG juntamente com um outro agente anti-CD52 (alentuzumab) foram considerados essenciais no caso dos transplantes que ocorrem com anticorpos elevados no receptor (Merani & Shapiro, 2006). De facto, novas estratégias de imunossupressão e farmacoterapias têm sido desenvolvidas, uma vez que, apesar dos novos agentes imunossupressores terem demonstrado vantagens, os pacientes ainda apresentam muitas complicações, sendo uma das principais causas de rejeição tardia do enxerto, pois muitos pacientes acabam por ter que abandonar a imunossupressão. Sassa *et al.* (2006) chegaram mesmo a demonstrar que o tacrolimus e o sirolimus suprimem a libertação de insulina induzida pelos níveis de glicemia, ao inibir a glucocinase (tacrolimus) e por isso torna-se necessário o surgimento de novos agentes imunossupressores menos tóxicos para as células beta.

Os resultados destes estudos, permitiram concluir os grandes avanços alcançados no campo da transplantação de ilhéus, contudo, esses resultados continuam muito pouco satisfatórios a longo prazo. Assim, e de acordo com as alterações que foram ocorrendo ao longo dos estudos desenvolvidos, algumas causas para a rejeição tardia do enxerto foram consideradas. Para além das já referidas, como a imunossupressão, o número de ilhéus insuficiente, técnicas de purificação e isolamento dos ilhéus, tempo de isquemia prolongado do pâncreas do dador e as próprias características dos dadores, outras foram procuradas. Assim, uma outra causa considerada para essa rejeição, é o facto de estes

pacientes apresentarem uma doença auto-imune, sendo muito provável que uma recorrência dessa autoimunidade, que apesar dos avanços da imunossupressão não é totalmente travada, possa destruir as células transplantadas com o passar do tempo. Alguns estudos procuraram verificar esse facto, como foi o caso, por exemplo, do grupo Edmonton (Ryan *et al.*, 2002) e Hering *et al.* (2005) que constataram que dos três pacientes que ficaram com peptídeo C negativo, dois apresentavam anticorpos anti-GAD e anti-ICA positivos. E no estudo de Froud *et al.* (2005) ficou demonstrado que dois dos pacientes que reintroduziram insulina tornaram-se anti-GAD positivos após o transplante. Já Keymeulen *et al.* (1998) e Oberholzer *et al.* (2000) tinham constatado esta relação ao verificarem que os pacientes que acabaram por apresentar rejeição do enxerto, alguns tinham anti-GAD positivo antes do transplante. Outras causas possíveis para a perda de função seriam a exaustão do enxerto e o facto de os ilhéus serem transplantados num meio não fisiológico, como é o caso do fígado. Apesar de existirem outros locais possíveis para o transplante de ilhéus, o fígado foi o mais utilizado devido ao sucesso alcançado. Contudo, este local tem algumas desvantagens, como a trombose da Veia Porta e o surgimento de hipertensão portal, que condicionariam, por exemplo, perda de muitos dos ilhéus transplantados (Robertson, 2004). Para além disso, o facto dos ilhéus se encontrarem num local exposto a um ambiente de toxinas e a medicamentos potencialmente prescritos (inclusive os agentes imunossupressores utilizados), provenientes do tracto gastrointestinal e conduzidos pela veia porta, também é um factor que condiciona a perda de função e destruição dos ilhéus (Robertson, 2004). Tendo em vista estes problemas, é aceitável que novos locais não hepáticos sejam considerados para o transplante de ilhéus. Em modelos animais foram experimentados outros locais com sucesso, como é o caso do omentum e da cavidade peritoneal (Robertson, 2004).

Relativamente às complicações relacionadas com o procedimento estas também têm influência na aceitação do enxerto por parte do receptor. Os estudos mais recentes utilizam, na maioria, a infusão de ilhéus na Veia Porta, por via trans-hepática percutânea, guiada por ecografia ou fluoroscopia e com eficácia comprovada, como demonstrado pelo grupo de Edmonton no seu relatório de 2003 (Owen *et al.*, 2003). Nos estudos mais antigos, a infusão através do acesso da veia mesentérica e aorta abdominal também foi utilizado e, muitos deles, ainda utilizaram a laparotomia com alguma frequência. Apesar de as novas técnicas cirúrgicas por cateterização de Veia Porta parecerem constituir um processo menos invasivo e, inclusive, sem necessidade de anestesia geral (Toso *et al.*, 2006), este procedimento ainda é acompanhado por algumas complicações, sendo a punção da via biliar, a hemorragia intra-abdominal e a trombose da veia porta as principais. De facto, o processo de infusão de ilhéus na veia porta está associado a uma resposta inflamatória imediata com activação da cascata de coagulação e a um aumento da degradação dos produtos de fibrina e, por isso, começou-se a utilizar heparina profiláctica, sendo esta depois a responsável pelas hemorragias intra-abdominais (Meloche, 2007). Estas complicações podem condicionar perda dos ilhéus transplantados e conseqüentemente perda de alguma função do enxerto, como demonstrado no estudo de Ryan *et al.* (2001) e no estudo de Hirshberg *et al.* (2003). Contudo, apesar de frequentes, estas complicações foram facilmente resolvidas na maioria dos estudos, o que permite concluir que existe alguma vantagem nos procedimentos mais recentes.

Apesar de as taxas de independência de insulina a longo prazo estarem muito longe do desejado e as de rejeição tardia ainda não serem satisfatórias, estas são, nos estudos mais recentes, abaixo de 40%, o que significa que, apesar de serem ainda poucos os que permanecem independentes, mais de 50% mantêm alguma função parcial

do enxerto e consequentemente isso contribuiu para um maior controlo metabólico destes pacientes, diminuindo o medo das hipoglicemias e com necessidade de insulina exógena em doses menores. Tratando-se de pacientes com um mau controlo metabólico, o transplante de pâncreas parece apresentar benefício nestes pacientes, mesmo sendo apenas um benefício secundário.

Deste modo, e porque em pacientes que não apresentam estas características, o risco seria maior que o benefício, o transplante de ilhéus pancreáticos estará indicado apenas para pacientes específicos. Na medida em que existem boas alternativas ao transplante de ilhéus, como os novos métodos modernos de insulino-terapia intensiva, entre os quais as bombas infusoras, leva-nos analisar criticamente qualquer nova intervenção mais arriscada (Naftane & Harlan, 2004). Para além disso, trata-se de uma doença não fatal, com tratamento actual muito efectivo (Naftane & Harlan, 2004), havendo necessidade de verificar se o paciente não vai simplesmente trocar a insulino-terapia pela terapia imunossupressora, ambas vitalícias, mas a última associada aos seus riscos inerentes (Nicoluzzi *et al.*, 2003).

Neste sentido, *NIH Clinical Islet Transplantation Consortium*, em 2005, definiu quais seriam os candidatos com indicação para transplante de ilhéus isolado. Assim, o candidato ideal seria todo o paciente que tivesse diabetes mellitus tipo 1, peptídeo C negativo pós-estimulação (<0,3 ng/mL), monitorização intensiva das glicemias (três ou quatro vezes por dia), um ou mais episódios de hipoglicemias problemáticas e diminuição da percepção das hipoglicemias ou labilidade glicémica marcada (Merani & Shapiro, 2006). Estes critérios não se aplicam a pacientes que são submetidos a transplante de ilhéus em simultâneo com o rim ou que já foram previamente sujeitos a transplante renal. Apesar de a maioria deles apresentar um mau controlo metabólico, a principal característica que apresentam, e que é critério para realização deste tipo de

transplante, é o facto de terem ou já terem tido doença renal terminal com necessidade de transplante renal, estando por isso invariavelmente sujeitos aos riscos da imunossupressão. De facto, dos estudos seleccionados que realizaram transplante de ilhéus não isolado, apesar da maioria apresentar mau controlo metabólico, inclusivamente com hipoglicemias sem percepção, alguns dos pacientes apresentavam HbA1c normais ou muito próximas do normal.

Para que o transplante de ilhéus pancreáticos possa ser alargado a uma população maior, novos desenvolvimentos têm de ocorrer, principalmente no surgimento de uma imunossupressão mais segura e sem efeitos secundários.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

O transplante de ilhéus pancreáticos com sucesso continua ser um processo relativamente novo. Contudo, foi a modalidade terapêutica associada a menos complicações que mais se aproximou da “cura” da Diabetes Mellitus tipo 1, uma doença crónica que acarreta elevados custos financeiros, sociais e emocionais.

Os estudos realizados demonstraram que este tipo de transplante providencia claros benefícios para pacientes com diabetes mellitus tipo 1 com mau controlo metabólico, ao melhorar as variações de valores de glicemia e diminuindo as hipoglicemias problemáticas, enquanto alcançam valores de HbA1c normais.

Embora a independência de insulina tenha sido alcançada por um número cada vez maior de pacientes, isto tem tendência a diminuir a longo prazo. Desde 2000, a percentagem de independência de insulina alcançou os 100%, ou muito próximo desse valor, contudo os estudos com seguimento mais longo, como o de Ryan *et al.* (2005), mostraram que apenas 7,5% dos pacientes com cinco anos de seguimento mantinham essa independência.

Progressos substanciais têm ocorrido em relação à preparação, isolamento, purificação e transporte dos ilhéus pancreáticos. A introdução do protocolo de Edmonton, em 2000, trouxe uma nova esperança para o transplante de ilhéus, defendendo, entre outros, a utilização de imunossupressão sem glucocorticoides, mas muitas limitações têm de ser ultrapassadas. Este protocolo preconiza também a utilização de múltiplos dadores para cada paciente, o que agrava ainda mais o problema de falta de dadores em alguns países. Mas, em 2005, Hering *et al.* demonstraram que o transplante de ilhéus pode ser realizado com sucesso utilizando apenas um único dador, ao alcançarem percentagens de 100% de pacientes com independência de insulina após

o transplante e 62,5% independentes por mais de um ano. Investigadores da Universidade de Quioto apresentaram um novo protocolo para a utilização com sucesso de doadores cadáveres, diminuindo o tempo de isquemia do tecido pancreático. Os mesmos investigadores experimentaram, pela primeira vez, o transplante de ilhéus com sucesso a partir de um dador vivo.

Factores como o número de ilhéus transplantados e características dos doadores também começaram a ter cada vez mais importância para determinar o sucesso deste tipo de transplante.

Desenvolvimentos têm ocorrido em relação à imunossupressão, com a utilização de novos agentes, sem a necessidade de fármacos diabetogénicos, contudo, muitos efeitos secundários ainda ocorrem, condicionando interrupção do tratamento imunossupressor e mostrando a necessidade do desenvolvimento de uma imunossupressão mais segura e com menos efeitos secundários. Novas intervenções e farmacoterapias têm vindo a ser desenvolvidas mas ainda sem aplicação prática.

Assim, os problemas encontrados após o transplante têm vindo a diminuir nos últimos anos, contudo, um equilíbrio entre a razão risco-benefício permanece essencial na selecção dos candidatos para o transplante. O candidato ideal para o transplante de ilhéus isolado é aquele que tem diabetes mellitus tipo 1, que realiza uma monitorização intensiva, com um ou mais eventos de hipoglicemia severa e redução da percepção das hipoglicemias ou labilidade glicémica marcada. Este tipo de paciente tem benefícios evidentes em realizar o transplante, pois mesmo que não alcance a independência de insulina a longo prazo e esteja sujeito aos riscos da imunossupressão, como ocorre na maioria dos resultados, o transplante permitir-lhe-á alcançar um controlo glicémico mais estável, pois a função parcial de enxerto é mais facilmente alcançada a longo prazo. Isso ficou claramente demonstrado no estudo de Ryan *et al.* (2005), 80% dos

pacientes com seguimento de cinco anos mantinham função do enxerto, com peptídeo C com valores detectáveis. Estes critérios não se aplicam para os pacientes que vão ser ou já foram sujeitos a transplante renal, pois a sua principal característica é o facto de estarem sujeitos a imunossupressão e que, por isso, são seleccionados para realizarem também o transplante de pâncreas.

Na tentativa de ultrapassar algumas das principais limitações, estão a ser realizados diversos estudos experimentais para expandir o número de células de ilhéus pancreáticos, para utilizar células estaminais embrionárias pluripotentes ou adultas multipotentes (Merani & Shapiro, 2006). O mais promissor é a geração de células beta produtoras de insulina a partir dos ductos pancreáticos, contudo, novas pesquisas e investigações têm de ser realizadas, assim como problemas éticos ultrapassados, antes destes novos procedimentos poderem ter aplicabilidade clínica e poderem tornar-se numa fonte ilimitada de células beta (Liao *et al.*, 2007; Serup *et al.*, 2001).

A outra alternativa para ultrapassar as limitações do transplante, é a encapsulação das células beta (Fernandes *et al.*, 2007). Este tipo de transplante oferece a possibilidade de não ser necessário a terapia imunossupressora ou apenas introduzi-la de forma temporária. Estas cápsulas semipermeáveis permitem que haja libertação de insulina e acesso da glicose a estas células sem que ocorra infiltração e destruição pelo sistema imune do receptor (Fernandes *et al.*, 2007; Vinik *et al.*, 2004). Esta tecnologia tem pois um enorme potencial clínico no tratamento da diabetes, contudo, ainda não é aplicado em larga escala devido à fragilidade mecânica, área de superfície limitada e necessidade de um procedimento cirúrgico elaborado. Por outro lado, na maioria dos estudos a longevidade das células apresentava uma duração limite, tornando o tempo de semi-vida num aspecto que requer reflexão (Fernandes *et al.*, 2007).

Apesar de muitos obstáculos ainda terem que ser ultrapassados, os novos desenvolvimentos que têm ocorrido parecem tornar muito provável que os resultados clínicos do transplante de ilhéus vão continuar a apresentar uma melhoria exponencial nos próximos tempos, conduzindo a que este tipo de transplante seja cada vez mais utilizado e a uma escala mais alargada.

BIBLIOGRAFIA

ALEJANDRO, R., R. LEHMANN, C. RICORDI *et al.* 1997. Long-Term Function (6 Years) of Islet Allografts in Type 1 Diabetes. *Diabetes*, **46**, pp. 1983-1989.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. 2008. Economic Costs of Diabetes in the U.S. in 2007, *Diabetes Care*, **31** (3), pp. 596-615.

ATKINSON, M.A. e G.S. EISENBARTH, 2001. Type 1 Diabetes: New Perspectives on Disease Pathogenesis and Treatment. *The Lancet*, **351**, pp. 221-229.

BARTLETT, S.T., E.J. SCHWEITZER, L.B. JOHNSON *et al.* 1996. Equivalent Success of Simultaneous Pancreas Kidney and Solitary Pancreas Transplantation: A Prospective Trial of Tacrolimus Immunosuppression with Percutaneous Biopsy. *Annals of Surgery*, **224** (4), pp. 440-452.

BERTUZZI, F. e C. RICORDI, 2007. Prediction of Clinical Outcome in Islet Allograft Transplantation. *Diabetes Care*, **30** (2), pp. 410-417.

BERTUZZI, F., A. SECCHI e V. DI CARLO, 2004. Islet Transplantation in Type 1 Diabetic Patients. *Transplantation Proceedings*, **36**, pp. 603-604.

BRETZEL, R.G., D. BRANDHORST, H. BRANDHORST *et al.* 1999. Improved Survival of Intraportal Pancreatic Islet Cell Allografts in Patients with Type-1 Diabetes

Mellitus by Refined Peritransplant Management. *Journal of Molecular Medicine*, **77**, pp. 140-143.

BRETZEL, R.G., H. JAHR, M. ECKHARD *et al.* 2007. Islet Cell Transplantation Today. *Langenbeck's Archives of Surgery*, **392**, pp. 239-253.

CALNE, R. 2005. Cell Transplantation for Diabetes. *Philosophical Transactions of The Royal Society B*, **360**, pp. 1769-1774.

CAPOCASALE, E., N. BUSI, M.P. MAZZONI *et al.* 2007. Simultaneous Kidney-Pancreas Transplantation: the Parma Center Experience. *Acta Bio Medica*, **78**, pp. 123-127.

CARVALHEIRO, M. 2005. *25 Perguntas Frequentes Diabetes Mellitus*, Parte I. Lisboa: Permanyer Portugal.

COPPELLI, A., R. GIANNARELLI, F. VISTOLI *et al.* 2005. The Beneficial Effects of Pancreas Transplant Alone on Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care*, **28** (6), pp. 1366-1370.

DEMARTINES, N., M. SCHIESSER, P. CLAVIEN, 2005. An Evidence-Based Analysis of Simultaneous Pancreas-Kidney and Pancreas Transplantation. *American Journal of Transplantation*, **5**, pp. 2988-2697.

DEVENDRA, D., E. LIU, G.S. EISENBARTH, 2004. Type 1 Diabetes: Recent Developments. *British Medical Journal*, **328**, pp. 750-754.

EURODIAB ACE STUDY GROUP. 2000. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe, *The Lancet*, **355**, pp. 873-876.

FERNANDES, J., D. FERREIRA e B. SARMENTO, 2007. Microencapsulação de Células β , Uma Abordagem Terapêutica em Progresso. *Revista Portuguesa de Diabetes*, **2** (3), pp. 5-14.

FIORINA, P., F. FOLLI, F. BERTUZZI *et al.* 2003. Long-Term Beneficial Effect of Islet Transplantation on Diabetic Macro-/Microangiopathy in Type 1 Diabetic Kidney-Transplanted Patients. *Diabetes Care*, **26** (4), pp. 1129-1136.

FONTAIN, M.J. e W. FAN, 2003. Islet Cell Transplantation as a Cure for Insulin Dependent Diabetes: Current Improvements in Preserving Islet Cell Mass and Function. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, **2** (2), pp. 170-179.

FRADA, J.J.C. 1999. *Guia Prático para a Elaboração e Apresentação de Trabalhos Científicos*. Lisboa: Edições Cosmos.

FRANK, A., S. DENG, X. HUANG *et al.* 2004. Transplantation for Type 1 Diabetes: Comparison of Vascularized Whole-Organ Pancreas With Isolated Pancreatic Islets. *Annals of Surgery*, **240** (4), pp. 631-643.

FROUD, T., C. RICORDI, D.A. BAIDAL *et al.* 2005. Islet Transplantation in Type 1 Diabetes Mellitus Using Cultured Islets and Steroid-Free Immunosuppression : Miami Experience. *American Journal of Transplantation*, **5**, pp. 2037-2046.

GRUESSNER, A.C. e D.E.R. SUTHERLAND, 2005. Pancreas Transplant Outcomes for United States (US) and non-US cases as Reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) as of June 2004. *Clinical Transplantation*, **19** (4), pp. 433-455.

GRUESSNER, R.W.G., D.E.R. SUTHERLAND e A.C. GRUESSNER, 2004. Mortality Assessment for Pancreas Transplants. *American Journal of Transplantation*, **4**, pp. 2018-2026.

HERING, B.J., R. KANDASWAMI, J.D. ANSITE *et al.* 2005. Single-Donor, Marginal-Dose Islet Transplantation in Patients With Type 1 Diabetes. *The Journal of the American Medical Association*, **293** (7), pp. 830-835.

HIRSHBERG, B., K.I. ROTHER, B.J. DIGON *et al.* 2003. Benefits and Risks of Solitary Islet Transplantation for Type 1 Diabetes Using Steroid-Sparing Immunosuppression. *Diabetes Care*, **26** (12), pp. 3288-3295.

HOGAN, A., A. PILEGGI e C. RICORDI, 2008. Transplantation: Current Developments and Future Directions; The Future of Clinical Islet Transplantation as a Cure for Diabetes. *Frontiers in Bioscience*, **13**, pp. 1192-1205.

KEYMEULEN, B., Z. LING, F.K. GORUS *et al.* 1998. Implantation of Standardized Beta-Cell Grafts in a Liver Segment of IDDM Patients: Graft and Recipient Characteristics in Two Cases of Insulin-Independence Under Maintenance Immunosuppression for Prior Kidney Graft. *Diabetologia*, **41**, pp. 452-459.

LIAO, Y.H.T., C.B. VERCHERE e G.L. WARNOCK, 2007. Adult Stem or Progenitor Cells in Treatment for Type 1 Diabetes: Current Progress. *Canadian Journal of Surgery*, **50** (2), pp. 137-142.

LUZI, L., B.J. HERING, C. SOCCI *et al.* 1996. Metabolic Effects of Successful Intraportal Islet Transplantation in Insulin-dependent Diabetes Mellitus. *The Journal of Clinical Investigation*, **97** (11), pp. 2611-2618.

MARKMANN, J.F., S. DENG, X. HUANG *et al.* 2003. Insulin Independence Following Isolated Islet Transplantation and Single Islet Infusions. *Annals of Surgery*, **237** (6), pp. 741-750.

MASHANI, U. & J.H. KARAM. 2001. Pancreatic Hormones & Diabetes Mellitus. In: F.S. GREENSPAN & D.G.N. GARDNER, (eds). *Basic & Clinical Endocrinology*, 6^a edição, São Francisco: McGraw-Hill, pp. 623-630, 633-636.

MATSUMOTO, S., H. NOGUSHI, B. NAZIRUDDIN *et al.* 2007. Improvement of Pancreatic Islet Isolation for Transplantation. *Baylor University Medical Center Proceedings*, **20** (4), pp. 357-362.

MELOCHE, M.R. 2007. Transplantation for Treatment of Type 1 Diabetes. *World Journal of Gastroenterology*, **13** (47), pp. 6347-6355.

MERANI, S. e A.M.J. SHAPIRO, 2006. Current Status of Pancreatic Islet Transplantation. *Clinical Science*, **110**, pp. 611-625.

MING, C. e Z.K. CHEN, 2007. Progress in Pancreas Transplantation and Combined Pancreas-Kidney Transplantation. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, **6** (1), pp. 17-23.

NAFTANEL, M.A. e D.M. HARLAN, 2004. Pancreatic Islet Transplantation, *Public Library of Science Medicine*, **1** (3), pp. 198-201.

NICOLUZZI, J.E., C.W. MARMANILLO e J.C. REPKA, 2003. Transplante Simultâneo de Pâncreas-Rim em Portador de Diabetes Mellitus Tipo 1 com Insuficiência Renal Crônica. Experiência Inicial do Hospital Angelina Caron. *Arquivos Brasileiros Endocrinologia & Metabolismo*, **47** (3), pp.243-247.

OBERHOLZER, J., F. TRIPONEZ, R. MAGE *et al.* 2000, Human Islet Transplantation: Lessons from 13 Autologous and 13 Allogeneic Transplantations, *Transplantation*, **69** (6), pp. 1115-1123.

ONKAMO, P., S. VÄÄNÄNEN, M. KARVONEN e J. TUOMILEHTO, 1999. Worldwide Increase in Incidence of Type I Diabetes ± The Analysis of the Data on Published Incidence Trends. *Diabetologia*, **42**, pp. 1395-1403.

OWEN, R.J.T., E.A. RYAN, K. O'KELLY *et al.* 2003. Percutaneous Transhepatic Pancreatic Islet Cell Transplantation in Type 1 Diabetes Mellitus: Radiologic Aspects. *Radiology*, **229** (1), pp. 165-170.

PATY, B.W., E.A. RYAN, A.M.J. SHAPIRO *et al.* 2002. Intrahepatic Islet Transplantation in Type 1 Diabetic Patients Does Not Restore Hypoglycemic Hormonal Counterregulation or Symptom Recognition After Insulin Independence. *Diabetes*, **51**, pp. 3428-3434.

PETRUZZO, P., N. LEFRANCOIS, C. BERTHILLOT *et al.* 2008. Impact of Pancreatic Venous Drainage Site on Long-term Patient and Graft Outcome in Simultaneous Pancreas-Kidney Transplantation. *Clinical Transplantation*. **22**, pp.107-112.

RICKELS, M.R., M.H. SCHUTTA, R. MUELLER *et al.* 2005. Islet Cell Hormonal Responses to Hypoglycemia After Human Islet Transplantation for Type 1 Diabetes. *Diabetes*, **54**, pp. 3205-3211.

RICKELS, M.R., M.H. SCHUTTA, R. MUELLER *et al.* 2006. Glicemic Thresholds for Activation of Counterregulatory Hormone and Symptom Responses in Islet Transplant Recipients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **92** (3), pp. 873-879.

ROBERTSON, R.P. 2004. Islet Transplantation as a Treatment for Diabetes – A Work in Progress. *New England Journal of Medicine*, **350** (7), pp. 694-705.

ROTHER, K.I. e D.M. HARLAN, 2004. Challenges Facing Islet Transplantation for the Treatment of Type 1 Diabetes Mellitus. *The Journal of Clinical Investigation*, **114** (7), pp. 877-883.

RYAN, E.A., B.W. PATY, P.A. SENIOR *et al.* 2005. Five-Year Follow-Up After Clinical Islet Transplantation. *Diabetes*, **54**, pp. 2060-2069.

RYAN, E.A., J.R.T. LAKEY, B.W. PATY *et al.* 2002. Successful Islet Transplantation. *Diabetes*, **51**, pp. 2148-2157.

RYAN, E.A., J.R.T. LAKEY, R.V. RAJOTTE *et al.* 2001. Clinical Outcomes and Insulin Secretion After Islet Transplantation With the Edmonton Protocol. *Diabetes*, **50**, pp.710-719.

RYAN, E.A., T. SHANDRO, K. GREEN *et al.* 2004. Assesment of the Severity of Hypoglycemia and Glycemic Lability in Type 1 Diabetic Subjects Undergoing Islet Transplantation. *Diabetes*, **53**, pp. 955-962.

SAMUEL, T. e P. COCKWELL, 2002. Islet Cell Transplantation. *Journal of The Royal Society of Medicine*, **95**, pp.31-33.

SASSA, M., K. FUKUDA, S. FUJIMOTO *et al.* 2006. A Single Transplantation of the Islets Can Produce Glycemic Stability and Reduction of Basal Insulin Requirement. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **73**, pp. 235-240.

SECCHI, A., C. SOCCI, P. MAFFI *et al.* 1997. Islet Transplantation in IDDM Patients. *Diabetologia*, **40**, pp. 225-241.

SERRANO, P. 1996. *Redacção e Apresentação de Trabalhos Científicos*. Lisboa: Relógio d'Água.

SERUP, P., O.D. MADSEN e T. MANDRUP-POULSEN, 2001. Islet and Stem Cell Transplantation for Treating Diabetes. *British Medical Journal*, **322**, pp. 29-32.

SHAPIRO, A.M.J., C. RICORDI, B.J. HERING *et al.* 2006. International Trial of the Edmonton Protocol for Islet Transplantation. *The New England Journal of Medicine*, **355** (13), pp. 1318-1330.

SHAPIRO, A.M.J., J.R.T. LAKEY, E.A. RYAN *et al.* 2000. Islet Transplantation in Seven Patients with Type 1 Diabetes Mellitus Using a Glucocorticoid-Free Immunosuppressive Regimen. *The New England Journal of Medicine*, **343** (4), pp. 230-238.

SUTHERLAND, D.E.R., A.C. GRUENNER e R.W.G. GRUENNER, 1998. Pancreas Transplantation: A review. *Transplantation Proceedings*, **30**, pp. 1940-1943.

SUTHERLAND, D.E.R., R.W.G. GRUENNER e A.C. GRUENNER, 2001. Pancreas Transplantation for Treatment of Diabetes Mellitus. *World Journal of Surgery*, **25**, pp. 487-496.

THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP.

1993. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-term Complications in Insulin-dependent Diabetes Mellitus. *The New England Journal of Medicine*, **329** (14), pp. 977-986.

TOSO, C., R. BAERTSCHIGER, P. MOREL *et al.* 2006. Sequential Kidney/Islet Transplantation: Efficacy and Safety Assessment of a Steroid-Free Immunosuppression Protocol. *American Journal of Transplantation*, **6**, pp. 1049-1058.

VARGAS, F., M. VIVES-PI, N. SOMOZA *et al.* 1998. Endotoxin Contamination May Be Responsible For The Unexplained Failure Of Human Pancreatic Islet Transplantation1. *Transplantation*, **65** (5), pp. 722-727.

VINIK, A.I., D.T. FISHWICK e G. PITTENGER, 2004. Advances in Diabetes for the Millennium: Toward a Cure for Diabetes. *Medscape General Medicine*, **6** (3s).

WHITE, S.A., M.L. NICHOLSON e B.J. HERING, 2000. Can Islet Cell Transplantation Treat Diabetes? Small studies show promise, now multicentre trials are going ahead. *British Medical Journal*, **321**, pp. 651-652.

WILD, S., G. ROGLIC, A. GREEN *et al.* 2004. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the Year 2000 and Projections for 2030. *Diabetes Care*, **27** (5), pp. 1047-1053.

World Health Organization. 2008. Diabetes Programme. Country and Regional data [online]. [Consultado em 10 Maio 2008]. Disponível na World Wide Web: http://www.who.int/diabetes/facts/world_figures/en/.