

ȘCOALA DOCTORALĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

# Sisteme predictive a evoluției pacienților cu transplant renal

Doctorand **Gheorghită, Iacob**

Conducător de doctorat Prof. Dr. **Mihai, Lucan**

# CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	13
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	
<b>1. Evaluarea donatorului</b>	17
1.1. Introducere	17
1.2. Evaluarea clinică	17
1.3. Factori de risc pentru donatorul viu	18
1.4. Factori de risc pentru donator cu potențial defavorabil asupra primitorului	20
1.5. Contraindicațiile donării	22
<b>2. Evaluarea primitorulu</b>	23
2.1. Starea clinică și momentul transplantării	24
2.2. Vârsta primitorului	24
2.3. Riscul infecțios post-transplant	25
2.4. Riscul recidivei bolii primare renale	27
2.5. Riscul recurenței afecțiunii renale în boli sistemice	28
2.6. Riscul cancerului	28
2.7. Alți factori de risc	30
2.8. Aspecte psihosociale	31
<b>3. Factori prognostici pentru evoluția transplantului renal</b>	33
3.1. Categorii de factori prognostici post-transplant	33
3.2. Factori prognostici datorati donatorului	34
3.3. Factori prognostici datorati primitorului	34
<b>4. Sisteme informatice de asistare decizională</b>	35
4.1. Sisteme informatice	35
4.2. Sisteme de asistare decizională	36
4.3. Inteligența artificială	41
<b>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</b>	
<b>1. Ipoteza de lucru</b>	45
<b>2. Obiectivele tezei</b>	47
<b>3. Metodologia generală</b>	49
3.1. Metode statistice de evaluare a semnificației prognostice	49
3.2. Metode statistice de evaluare a factorilor de risc	52
3.3. Metode informatice de implementare a unui sistem de gestiune a bazelor de date cu funcțiuni de raportare în timp real	55

3.4. Clasificarea Banff pentru diagnosticul rejetului umoral	56
3.5. Tehnici de procesare pentru evaluarea histopatologică a punctiilor biopsie renale	58
<b>4. Implementarea unui sistem informatic prognostic pentru pacienții cu transplant renal.</b>	<b>63</b>
4.1. Introducere	63
4.2. Ipoteza de lucru	63
4.3. Material și metodă	63
4.3.1. Setul de parametri înregistrați în baza de date	64
4.3.1. Implementarea calculului supraviețuirii în timp real	66
4.4. Rezultate	68
4.5. Discuții	79
4.6. Concluzii	81
<b>5. Semnificația C3d în evaluarea biopsiei grefei renale în perioada inițială post-transplant.</b>	<b>83</b>
5.1. Introducere	83
5.2. Obiectiv	83
5.3. Material și metodă	84
5.3.1. Indicația biopsiei renale	84
5.3.2. Evaluarea histopatologică	84
5.3.3. Evaluarea imunohistochimică	84
5.3.4. Cazuistică	86
5.3.5. Metodologie	86
5.4. Rezultate	86
5.5. Discuții	89
5.6. Concluzie	90
<b>6. Riscul cancerului post-transplant.</b>	<b>91</b>
6.1. Introducere	91
6.2. Obiectiv	91
6.3. Material și metodă	91
6.4. Rezultate	94
6.4.1. Cancerul de novo localizat la nivelul grefei renale	96
6.4.2. Tratamentul carcinomului cu celule renale clare localizat la nivelul grefei renale	99
6.4.3. Tratamentul bolii limfoproliferative cu afectarea grefei renale	100
6.5. Discuții	100
6.6. Concluzii	102
<b>7. Discuții generale</b>	<b>103</b>

<b>8. Concluzii generale</b>	109
<b>9. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei</b>	111
<b>REFERINȚE</b>	113

**Cuvinte cheie:** transplant renal, factori predictivi, Riscul cancerului, rejetul umoral acut.

## INTRODUCERE

Transplantul renal, cu excepția celui între gemenii univitelini se realizează cu încălcarea compatibilității imunologice. Testele actuale evaluează predominant sistemul major de histocompatibilitate (HLA), grupul sanguin și statusul Rh. Pentru a menține răspunsul imun sub control, au fost dezvoltate scheme terapeutice imunosupresoare care blochează în principal recunoașterea imună și colaborarea pentru dezvoltarea seriilor limfocitare efectoare.

Pe lângă sistemul imun există mulți alți factori care condiționează durata de funcționare a grefei renale:

- factori biologici intrinseci grefei cum ar fi vârsta donatorului, calitatea grefei prelevate, existența necrozei tubulare acute, durata de la prelevare la transplant, preexistența patologiei renale la nivelul grefei,
- factori deletori datorati donatorului cum ar fi transmiterea de infecții virale,
- factori patologici ai primitorului cum ar fi patologia care a condus la pierderea grefei și riscul implicit al recidivei bolii de bază la nivelul grefei renale,
- riscurile asociate imunosupresiei cum ar fi afectarea cardiovasculară prin proliferarea intimei arteriolare sau arteriale și apariția de neoplazii prin efectele secundare ale imunosupresiei.

Succesul transplantului este condiționat multifactorial, depinzând atât de calitatea grefei și implicit stare de sănătate a donatorului cât și de statusul primitorului, de boala care a dus la pierderea rinichilor nativi dar și de starea biologică ca urmare a consecințelor sistemice ale insuficienței renale.

Logica formală este limitativă în fața multifactorialității iar evaluarea rezultatelor trebuie realizată permanent. Identificarea și implementarea unor instrumente informatice capabile să realizeze evaluări prognostice în timp real, pornind de la rezultatele activității curente este un deziderat dificil de realizat.

Cândva, inteligența umană va fi devansată de inteligența artificială dar până atunci ar fi foarte util să putem răspunde astăzi la o întrebare simplă: “Cum va evolua pacientul meu?”.

## 1. Ipoteza de lucru

Estimarea apariției unui eveniment considerat definitiv al unei evoluții, rămâne o problemă de șansă. Curba de supraviețuire este exemplul tipic pentru probabilitatea de producere al unui eveniment. Chiar și pentru un lot de pacienți cu prognostic favorabil, chiar dacă majoritatea pacienților vor supraviețui peste 90% la 5 ani, unii dintre ei vor deceda chiar și în primul an. Acest exemplu poate să însemne că, cel puțin în domeniul medical, realitățile sunt cu mult mai complexe decât nivelul de cunoaștere și în special cu nivelul de percepție a realității dat de investigațiile derulate.

Pe de altă parte, tratamentul se realizează în mod particular pentru fiecare instituție, atât în ceea ce privește protocoalele de evaluare și tratament cât și în ceea ce privește abilitățile personalului medical.

Bolile cronice vor conduce mai devreme sau mai târziu la decesul pacientului, adesea după o lungă perioadă marcată de dizabilități chiar majore. Această categorie de pacienți care au dreptul constituțional la viață, vor consuma resurse financiare și logistice importante care trebuie folosite rațional. Un gest terapeutic major la un pacient cu risc crescut, poate necesita multiple alte gesturi terapeutice extrem de costisitoare, adesea dintr-o evaluare inițială limitată.

Un alt aspect este cel al percepției. Utilizarea protocoalelor de investigație va permite ca toți pacienții să fie priviți în mod unitar dar în cazul pacienților cu afecțiuni cronice, boala nu mai este niciodată localizată ci generalizată iar gradul de afectare al celorlalte organe va fi întotdeauna variabil. În plus, dovezile medicale acumulate sunt datorate nivelului actual al cunoașterii, în egală măsură cu nivelul actual tehnologic dar fiecare din ele vor fi supuse revizuirii permanente.

Conceptual, orice studiu trebuie să se încadreze pe regula o ipoteză – o concluzie. Această manieră de abordare este consecventă cu rigorile științifice dar, adesea, rezultatele obținute sunt dificil de transpus în realitate pentru un motiv foarte simplu: realitatea este întotdeauna multifactorială iar variabilitatea individuală depășește cu mult capacitățile de procesare chiar folosind cele mai sofisticate sisteme informatice.

Ceea ce rămâne în final este întrebarea privind prognosticul pacientului pe care tocmai l-am tratat sau urmează să îl tratăm. Cum va evolua? Care sunt riscurile la care este expus.

Realizarea unui sistem informatic care să asiste decizia medicală pare o încercare dificilă. În mod real este supusă unor dificultăți majore în special pentru

bolile care necesită o urmărire de lungă durată, care excede cu mult rata la care se schimbă protocoalele de evaluare și tratament, adică exact filtrul prin care privim acești pacienți.

Cu toate acestea, realizarea unui sistem informatic capabil de a furniza în timp real informații prognostice pentru factori de risc individuali sau multifactorial precum și încadrarea prognostică a unui pacient dat este fezabilă. Pe de o parte, sistemele informatice în general au evoluat la performanțe care altă dată păreau ficțiune, în același timp devenind resurse accesibile financiar. Personalul medical realizează încărcarea datelor în mod sistematic datorită implementării sistemelor informatice de către furnizorii de servicii medicale, implementare realizată cu scop predominant managerial, adică tot de asistare a deciziei, de data aceasta economice.

Din păcate, majoritatea furnizorilor de sisteme informatice de spital o realizează în manieră monopolistă folosind baze de date proprietare, cu funcții de export de date limitat la bunăvoința producătorului software'ului și chiar cu interfețe utilizator neprietenoase sau complicate.

Totuși, utilizarea unor software-uri care să permită utilizatorului designul individualizat permite realizarea de sisteme informatice inteligente.

Implementarea tehnicilor de grupare asistată, a rețelilor neuronale sau a unor tehnici complexe de analiză statistică este nu doar fezabilă ci și capabilă să crească eficiența actului medical.

Desigur că tehnicile de inteligență artificială sunt inutile în absența unor tehnici de evaluare nu doar adecvată ci mai ales relevantă pentru boala pacientului. Identificarea unor astfel de teste care să prezinte semnificație prognostică individual sau în asociere cu alte rezultate, este o cerință permanentă.

## **2. Obiectivele tezei**

### **2.1. Obiectiv general**

Realizarea unui sistem informatic capabil să furnizeze în timp real informații prognostice pentru pacienții care au urmat transplant renal, cu caracteristici care să îl facă utilizabil în activitatea curentă, cu o interfață adecvată utilizatorului obișnuit.

### **2.2. Obiective specifice**

Elaborarea caracteristicilor informatice și statistice ale sistemului informatic prognostic.

Implementarea funcției de evaluare în timp real unifactorială și multifactorială a semnificației prognostice a diferiților parametri utilizați în evaluarea pacienților.

Implementarea funcției de încadrare prognostică individualizată pentru un pacient dat.

Evaluarea de factori prognostici histopatologici pentru disfuncția de grefă.

Evaluarea de factori de risc pentru cancerul post-transplant.

## **4. Implementarea unui sistem informatic prognostic pentru pacienții cu transplant renal.**

Realizarea unui sistem informatic care să furnizeze informații prognostice pentru un pacient dat este o provocare datorită multiplelor dificultăți care pot fi întâmpinate.

Disponibilitatea unui sistem de gestiune a bazelor de date, versatil și ușor de gestionat de către un utilizator obișnuit este un avantaj pentru dezvoltarea unor structuri informaționale organizate.

Implementarea de sisteme informatice capabile de inteligență artificială este extrem de utilă dar trebuie să fie realizată adecvat tipului de date pe care le prelucreză.

Multe din aceste tehnici de analiză sunt, în prezent, implementate în aplicațiile de calcul statistic. Pe de altă parte, statistica rămâne un important factor de progres gnoseologic cu valoare prognostică.

Standardele de cercetare științifică impun criterii menite să reducă eroarea umană care intervine sine-die atunci când decidem modul în care trebuie diagnosticat și tratat un pacient. Astfel, un studiu trebuie să propună o ipoteză clară iar comparația trebuie să fie inteligent aleasă pentru a măsura existența unei diferențe concordant cu presupunerea formulată în ipoteză. Concluzia dedusă este ulterior extrapolată la activitatea clinică.

Totuși, există numeroase dileme. Prima ar fi că pacienții cu care ne confruntăm sunt parte a unei activități medicale complexe și multifactoriale. De multe ori, realitatea concretă pare a fi cu totul alta decât cea propusă și rezolvată prin studii clinice punctuale.

Se pune întrebarea, în ce măsură putem implementa în timp real elemente de analiză statistică care să permită furnizarea de informații cu valoare prognostică pentru pacientul nostru. Un astfel de răspuns este un răspuns satisfăcător pentru întrebarea cum poate fi informat în cunoștință de cauză pacientul meu, din spitalul meu?

Majoritatea sistemelor de gestiune a bazelor de date fac o separație între introducerea datelor și funcțiile de interogare și raportare, cele care ar trebui să furnizeze informații prelucrate statistic. Alegerea unui sistem de gestiune a bazelor de date adecvat este o provocare mai mult academică dar care devine desuetă atunci când

privim funcționalitățile de care poate dispune. Posibilitatea de a dispune de câmpuri calculate și câmpuri sumative poate fi un avantaj.

Într-un sistem flexibil, modul de alcătuire a formularelor de introducere a datelor poate fi ușor modificat, actualizat și completat. Desigur, că implementarea retrospectivă a datelor noi nu este întotdeauna posibilă dar în cazul unei selecții, sistemul este capabil să ignore înregistrările care conțin câmpuri vide.

Supraviețuirea ca metodă de analiză statistică este un instrument prognostic ce își păstrează importanța. Pentru transplantul renal, supraviețuirea grefei și a pacienților sunt doi indicatori prognostici puternici, utilizați ca standard de referință în majoritatea studiilor.

Implementarea calculului în timp real a supraviețuirii grefelor și pacienților se constituie într-un instrument prognostic relevant.

Sistemul utilizează o discriminare de 1 an pentru durata urmăririi sau durata până la producerea evenimentului studiat. Ca urmare, există o ajustare în minus a valorilor de supraviețuire furnizate comparativ cu sistemele dedicate cum este cazul EpiInfo 7 care calculează supraviețuirea prin metoda Kaplan Meyer ajustând probabilitatea de supraviețuire ori de câte ori se produce un eveniment, având o discriminare a intervalului de timp de 1 zi. Ca o consecință a acestei discriminări, se poate constata că sistemul a luat în considerare doar 804 pacienți pentru supraviețuirea pacienților și 814 pentru supraviețuirea grefei din totalul de 918 pacienți aflați înregistrați în baza de date. Diferența este dată de pacienții cenzurați care au fost urmăriți în instituția noastră pentru mai puțin de 1 an și care fie sunt urmăriți în alte centre, fie urmează să se prezinte ulterior la controalele periodice.

Sistemul este capabil să furnizeze curba de supraviețuire imediat după ce o selecție este realizată. În practică, potențialul primitor de greafă renală este înregistrat, după care, pentru a se putea face o evaluare prognostică se realizează selecția pacienților după una sau mai multe caracteristici ale noului pacient. Corespunzător acestei selecții, se obțin cele două curbe de supraviețuire.

În cazul în care sunt selectate caracteristici pe care pacientul le va avea în mod ipotetic, cum ar fi faptul că va primi grefa de la donator cadavru, cu compatibilitate HLA de un anumit tip, sistemul va putea face o simulare a încadrării prognostice.

Sistemul poate fi dezvoltat pentru calculul supraviețuirii pacienților și grefelor în raport cu alt moment de referință cum ar fi momentul primului diagnostic de rejet celular sau umoral.

De asemenea, se poate implementa evaluarea în dinamică a evoluției principalilor parametri cu rol în determinarea funcției grefei la un moment dat cum ar fi creatinina serică, ureea serică sau proteinuria. În această manieră se poate răspunde în timp real care este intervalul de confidență pentru o valoare a creatininei la un număr de ani de la transplant pentru pacienții care au fost transplantați în instituția noastră. Desigur că trebuie stabilite criteriile prin care valorile de creatinină de



urmărire sunt luate în calcul pentru această determinare. În esență criteriile trebuie să răspundă la întrebările legate de relevanța pentru rejet sau pierderea grefei.

## **5. Semnificația C3d în evaluarea biopsiei grefei renale în perioada inițială post-transplant.**

În prezent, diagnosticul rejetului grefei renale este eminent realizat prin evaluarea histopatologică a fragmentelor renale prelevate biptic iar această situație nu s-a schimbat în ciuda progreselor realizate de tehnicile de laborator<sup>147</sup>. Chiar dacă diagnosticul rejetului mediat de anticorpi continuă să fie subiect de discuții<sup>148,149</sup>, clasificarea Banff 07 include un set de criterii histopatologice pentru diagnosticul acestuia un rol central jucând-ul demonstrarea depunerii endoteliale, difuze a C4d<sup>134</sup>.

Semnificația depunerii liniare endoteliale la nivelul capilarelor peritubulare a C4d trebuie realizată în contextul general al activării complementului. Dintre cele trei căi de activare a complementului, activarea prin reacția specifică antigen anticorp este cea care va conduce la activarea C1, ale cărui produși de clivare vor activa C4 cu producerea C4b, care va fi degradat la C4d, compus care se va lega covalent de țesuturi. Dacă, ideală este demonstrarea fixării endoteliale a anticorpilor IgG specific, în practică, această fixare este pasageră și dificil de demonstrat, cu atât mai mult a naturii imunglobulinelor. C4d are o latență mult mai mare la nivelul țesuturilor fiind un indicator important al producerii unei reacții specifice antigen-anticorp<sup>150,151</sup>.

Deși asocierea depunerii difuze a C4d la nivelul endoteliilor și rejetul mediat de anticorpi a fost motivul noii clasificări Banff, biopsiile de protocol și biopsiile grefelor în cazul transplantelor transgrup au demonstrat că expresia C4d nu este singură suficientă pentru diagnosticul rejetului<sup>143,152</sup>.

Pentru producerea efectelor tisulare, este necesară formarea C5b-9 sau a complexului de atac membranar. Din aceste considerente, s-a studiat valoarea demonstrării activării căii comune a complementului în rejetul mediat de anticorpi. C3d a fost demonstrat în capilarele peritubulare la 39-60% din biopsiile la care C4d a fost difuz pozitiv<sup>153</sup>. Corelația diferă, fiind întâlnite cazuri cu C3d pozitiv - C4d negativ, probabil ca o consecință a activării complementului pe calea lectinică<sup>154</sup>.

Spre deosebire de rejetul acut mediat de anticorpi, prezența suferinței tubulare din rejetul celular, necroza tubulară acută sau atrofia tubulară, C3 este pozitiv fie la nivelul membranelor bazale tubulare fie a epiteliiilor tubulare, în ambele situații, originea acestuia fiind celula tubulară renală<sup>155</sup>.

În studiul nostru, pozitivitatea C3d în capilarele peritubulare se corelează înalt semnificativ statistic cu prezența rejetului umoral acut și cu pozitivitatea C4d. Ca factor de prognostic defavorabil, pozitivitatea C3d este asociată cu prezența neutrofilelor în

capilarele peritubulare și cu prezența trombilor. Diferențele sunt înalt semnificativ statistic corelat cu cauzele de disfuncție de grefă.

Un aspect particular observat a fost acela al expresiei C3d la nivelul epiteliului tubilor renali, aspect corelat cu prezența aspectelor de necroză tubulară acută și mai puțin cu rejetul acut mediat de anticorpi. Corelația a fost înalt semnificativă statistic.

Corelația inflamației în capilarele peritubulare a fost mult mai intensă în cazul C3d comparativ cu C4d, aspect care susține valoarea de factor prognostic defavorabil al colorației C3d.

## 6. Riscul cancerului post-transplant.

În ultimii 50 de ani, comunitatea medicală a fost martorul unor progrese remarcabile atât în ceea ce privește medicația imunosupresoare cât și a strategiilor care să conducă la rate crescute a supraviețuirii grefelor și a pacienților. Cu toate acestea, utilizarea de lungă durată a medicației imunosupresoare a relevat multiple efecte adverse care se constituie într-o adevărată provocare pentru clinician.

Utilizarea unei imunosupresii excesive reduce riscul rejetului dar crește riscurile imediate ale infecțiilor cu evoluție defavorabilă dar mai ales riscurile pe termen lung ale apariției cancerului sau a leziunilor vasculare. Tratamentul imunosupresor trebuie să fie dimensionat pentru fiecare pacient astfel încât să răspundă nevoilor specifice ale acestuia în balanță cu riscurile asumate.

Riscul rejetului depinde de multipli factori în raport cu care au fost dezvoltate protocoale individuale de imunosupresie care să asigure controlul riscului de rejet cu un minim de agresivitate.

Medicamentele imunosupresoare moderne au permis prelungirea pe termen lung a supraviețuirii grefei și pacienților dar cu cât supraviețuiesc mai mult, cu atât crește riscul apariției tumorilor maligne sau a bolilor cardio-vasculare. Ca urmare, morbiditatea și mortalitatea post transplant devine din ce în ce mai mult una din limitele transplantului renal<sup>158,159</sup>.

Incidența și prevalența diferitelor forme de cancer variază în limite largi în diferitele raportări. La 10 ani prevalența acestora poate ajunge la 15-20% dintre primitorii de grefă renală, majoritatea acestora fiind tumori cutanate sau boală limfoproliferativă post transplant<sup>156,160</sup>.

Riscul este de 3-5 ori mai mare comparativ cu populația generală, în special pentru pacienții care primesc anticorpi antilinfocitari<sup>157,160</sup>.

Inhibitorii de calcineurină cresc riscul cancerului în timp ce rapamicina a demonstrat efecte anti-proliferative. Datorită acestor efecte, rapamicina este utilizată ca imunosupresor de rezervă pentru conversie și are indicație în sarcomul Kaposi<sup>160</sup>.

Riscul cancerului transmis odată cu grefa renală a crescut odată cu creșterea proporției de grefe de la donator în vârstă care sunt acceptate pentru transplant. Cu toate acestea, riscul apariției cancerului post transplant este multifactorial<sup>158</sup>.

În experiența noastră, rata cancerelor *de novo* post-transplant, pe o perioadă de 10 ani a fost de 9,43%. Deși, utilizarea schemelor imunosupresoare conținând tacrolimus a redus rata rejetului acut la 11,15% față de 19,33% pentru ciclosporină. la 11,15%, a crescut rata cancerelor *de novo* la 10,98% față de 5,93% în cazul ciclosporinei ( $p < 0,0223$ ).

Istoricul de rejet a fost mult mai frecvent la pacienții care au dezvoltat cancer *de novo*, atât pentru cei tratați cu ciclosporină cât și pentru cei tratați cu tacrolimus.

Localizarea cancerului *de novo* la nivelul grefei renale este o situație rară. În experiența noastră, cea mai frecventă situație a fost boala limfoproliferativă post transplant, uneori cu forme strict nodulare.

Ori de câte ori a fost posibil, a fost utilizată chirurgia minim invazivă, conservativă a nefronilor pentru a conserva funcția renală.

Durata medie de la transplant la diagnosticul cancerului *de novo* a fost mai mic în cazul bolii limfoproliferative post transplant în special datorită infecției virale preexistente și secundar imunosupresiei care a permis expresia oncogenelor. În cazul cancerului cu celule renale localizat la nivelul grefei, durata de la transplant la diagnostic a fost mai mare.

Carcinomul cu celule renale apărut pe rinichiul transplantat este mai puțin agresiv comparativ cu cel dezvoltat pe rinichiul nativ. Tratamentul variază în funcție de dimensiunea tumorii și caracteristicile acesteia. Până în prezent, majoritatea cazurilor aveau indicație de explantectomie, oprire a imunosupresiei și reintegrare în programul de dializă. Datorită progreselor înregistrate de chirurgia conservativă a nefronilor, păstrarea unei grefe funcționale este din ce în ce mai fezabilă. Ea poate fi aplicată la pacienți selectați, cu tumori mici, localizate adecvat pentru un abord chirurgical conservativ de organ.

## 8. Concluzii generale

Evaluarea prognostică a pacienților prin implementarea calculului supraviețuirii pacienților și a grefelor renale pe un sistem de gestiune a bazelor de date, cu furnizare de rezultate în timp real, este fezabilă, similară cu rezultatele furnizate de aplicațiile de calcul statistic.

Raportarea în timp real la activitatea curentă permite nu doar evaluarea predictivă dar și managementul medical al cazurilor.

Biopsia grefei renale, atunci când este realizată în condiții optime, este un instrument diagnostic care furnizează informații predictive neegalate de nici o altă modalitate investigațională.

Determinarea imunohistochimică a C3d în biopsia renală este un adjuvant important în setul de colorații utilizate pentru evaluarea biopsiei renale de transplant.

Depunerea C3d în capilarele peritubulare se corelează cu prezența rejetului umoral acut în timp ce expresia la nivelul epiteliilor tubulare se corelează cu leziunile tubulare ischemice.

Utilizarea tacrolimusului crește prevalența cancerului post-transplant la pacienții care au urmat transplant renal.

Inducția cu anticorpi anti-limfocitari este asociată cu creșterea riscului de cancer *de novo* post-transplant.

La pacienți selectați, cu cancer de novo apărut pe grefa renală, tratamentul minim invaziv, conservativ al nefronilor permite controlul bolii și menținerea funcției grefei renale.

## 9. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Lucrarea demonstrează funcționalitatea unui sistem predictiv a evoluției pentru un pacient dat folosind calculului în timp real al supraviețuirii grefelor și pacienților dintr-o bază de date brută, selectând grupul de pacienți transplantați, cu aceleași caracteristici cu ale pacientului dat.

Sunt evaluați factorii predictivi ai evoluției grefei renale pe termen scurt pentru grefele cu disfuncție inițială sau precoce prin determinarea expresiei C3d comparativ cu cea a expresiei C4d. Identifică semnificația expresiei C3d la nivelul capilarelor peritubulare versus expresia C3 la nivelul epiteliului tubular ca marca a suferinței tubulare ischemice.

Evaluează riscul cancerului de novo post-transplant comparativ la pacienții care au urmat imunosupresie cu ciclosporină versus tacrolimus precum și riscul indus de utilizarea anticorpilor anti-limfocitari pentru inducerea imunosupresiei sau tratamentul rejetului.

Evaluează prevalența cazurilor de cancer localizat la nivelul grefei renale și prezintă tratamentul utilizat și evoluția acestora.

## REFERINȚE SELECTIVE

134. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant.* 2008;8(4):753-60

143. Ushigome H, Okamoto M, Koshino K, et al. Findings of graft biopsy specimens within 90 days after ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation compared with ABO-identical and non-identical transplantation. *Clin Transplant*. 2010;24 Suppl 22:16-21
147. Finkelstein FO, Siegel NJ, Bastl C, et al. Kidney transplant biopsies in the diagnosis and management of acute rejection reactions. *Kidney Int*. 1976;10(2):171-8
150. Walport MJ. Complement. First of two parts. *N Engl J Med*. 2001;344(14):1058-66
151. Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med*. 2001;344(15):1140-4
152. Loupy A, Hill GS, Suberbielle C, et al. Significance of C4d Banff scores in early protocol biopsies of kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies (DSA). *Am J Transplant*. 2011;11(1):56-65
153. Haas M, Rahman MH, Racusen LC, et al. C4d and C3d staining in biopsies of ABO- and HLA-incompatible renal allografts: correlation with histologic findings. *Am J Transplant*. 2006;6(8):1829-40
154. Kuypers DR, Lerut E, Evenepoel P, et al. C3D deposition in peritubular capillaries indicates a variant of acute renal allograft rejection characterized by a worse clinical outcome. *Transplantation*. 2003;76(1):102-8
155. Varaganam M, Yaqoob MM, Döhler B, et al. C3 polymorphisms and allograft outcome in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2009;360(9):874-80
156. Lutz J, Heemann U., Tumours after kidney transplantation., *Curr Opin Urol*. 2003;13(2):105-9
157. Dantal J, Pohanka E., Malignancies in renal transplantation: an unmet medical need., *Nephrol Dial Transplant*. 2007;22 Suppl 1:i4-10
158. Kapoor A., Malignancy in kidney transplant recipients., *Drugs*. 2008;68 Suppl 1:11-9
159. Morath C, Mueller M, Goldschmidt H, Schwenger V, Opelz G, Zeier M., Malignancy in renal transplantation., *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(6):1582-8
160. Gutierrez-Dalmau A, Campistol JM., Immunosuppressive therapy and malignancy in organ transplant recipients: a systematic review., *Drugs*. 2007;67(8):1167-98
161. JS Sandhu, A Dhiman, BS Aulakh, P Sandhu, K Saggar, N Sood, NS Khaira Year, Post transplant malignancies - 8 cases observed in a single center: 2005, 4(15) 235
162. London NJ, Farmery SM, Will EJ, Davison AM, Lodge JP., Risk of neoplasia in renal transplant patients., *Lancet*. 1995 12;346(8972):403-6
163. Harris NL, Swerdlow SH, Frizzera G, Knowles DM: Post-transplant lymphoproliferative disorders. in: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds): *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. IARC Press: Lyon, pp. 264-269, 2001
164. American Joint Committee on Cancer.: *AJCC Cancer Staging Manual*. 6th ed. New York, NY: Springer, 2002, pp 323-5
165. Muti G, Cantoni S, Oreste P, Klersy C, Gini G, Rossi V, D'Avanzo G, Comoli P, Baldanti F, Montillo M, Nosari A, Morra E, Post-transplant lymphoproliferative disorders: improved

outcome after clinico-pathologically tailored treatment. Cooperative Study Group on PTLDS.,  
Haematologica. 2002;87(1):67-77

DOCTORAL SCHOOL

PhD Thesis

# Predictive systems of evolution of patients with renal transplantation

PhD student Gheorghiță, **Iacob**

PhD coordinator Prof. Dr. **Mihai, Lucan**

# TABLE OF CONTENTS

<b>INTRODUCTION</b>	13
<b>CURRENT STATE OF KNOWLEDGE</b>	
<b>1. Donor assessment</b>	17
1.1. Introduction	17
1.2. Clinical assessment	17
1.3. Risk factors in living donor	18
1.4. Risk factors in living donor with potentially unfavorable outcome in recipient	20
1.5. Contraindications to living donation	22
<b>2. Recipient assessment</b>	23
2.1. Clinical status and moment of transplantation	24
2.2. Recipient age	24
2.3. Infectious risk post-transplant	25
2.4. Risk of recurrence of primary renal disease	27
2.5. Risk of recurrent renal disease in systemic diseases	28
2.6. Cancer risk	28
2.7. Other risk factors	30
2.8. Psychosocial aspects	31
<b>3. Prognostic factors in evolution of kidney transplantation</b>	33
3.1. Categories of post-transplant prognostic factors	33
3.2. Donor-related prognostic factors	34
3.3. Recipient-related prognostic factors	34
<b>4. Computerized systems of clinical decision</b>	35
4.1. Computerized systems	35
4.2. Clinical decision support software	36
4.3. Artificial intelligence	41
<b>PERSONAL CONTRIBUTION</b>	
<b>1. Hypothesis</b>	45
<b>2. Objectives of the thesis</b>	47
<b>3. General methodology</b>	49
3.1. Statistical methods of assessing the prognostic significance	49
3.2. Statistical methods of assessing the risk factors	52
3.3. Software methods of implementing database management systems with real-time reporting functions	55



3.4. Banff classification for humoral rejection diagnosis	56
3.5. Processing techniques for histopathological assessment of renal biopsies	58
<b>4. Implementation of a prognostic software tool for patients with renal transplant</b>	<b>63</b>
4.1. Introduction	63
4.2. Hypothesis	63
4.3. Material and method	63
4.3.1. The set of parameters registered in the database	64
4.3.1. Implementing the real-time survival estimate	66
4.4. Results	68
4.5. Discussions	79
4.6. Conclusions	81
<b>5. C3d significance in the assessment of renal graft biopsy in early post-transplant period</b>	<b>83</b>
5.1. Introduction	83
5.2. Objective	83
5.3. Material and method	84
5.3.1. Indication for renal biopsy	84
5.3.2. Histopathological assessment	84
5.3.3. Immunohistochemical assessment	84
5.3.4. Patients	86
5.3.5. Methodology	86
5.4. Results	86
5.5. Discussions	89
5.6. Conclusion	90
<b>6. Risk of post-transplant cancer</b>	<b>91</b>
6.1. Introduction	91
6.2. Objective	91
6.3. Material and method	91
6.4. Results	94
6.4.1. De novo malignancy located on the renal graft	96
6.4.2. Treatment of the clear cell renal cell carcinoma located on the renal graft	99
6.4.3. Treatment of the post-transplant lymphoproliferative disorder affecting the renal graft.	100
6.5. Discussions	100
6.6. Conclusions	102
<b>7. General discussions</b>	<b>103</b>

<b>8. General conclusions</b>	109
<b>9. Originality and innovative contributions of the thesis</b>	111
<b>REFERENCES</b>	113

**Key-words** : renal transplantation, predictive factors, risk of cancer, acute humoral rejection.

## INTRODUCTION

Renal transplantation, except if done between identical twins, is performed by overstepping the immunological compatibility. The current tests are chiefly evaluating the major histocompatibility complex (HLA), the blood group and the Rh status. In order to keep the immune response under control, immunosuppressive therapies have been created mostly with the purpose of blocking the immune recognition and collaboration for developing the effector lymphocyte series.

Apart from the immune system, there are many other factors conditioning the duration of renal graft function:

- Graft- related factors such as the age of donor, the quality of harvested graft, the presence of acute tubular necrosis, the duration from harvesting to transplantation, the pre-existent renal graft pathology,
- Donor-related deleterious factors, such as the transmission of viral infections,
- Recipient pathological factors such as the pathology which led to graft loss and the subsequent risk of primary disease recurrence at the level of renal graft
- Risks associated to immunosuppression such as cardiovascular affection through proliferation in arterial or arteriolar intima and neoplasia outbreak because of the side effects of immunosuppression.

Transplantation success is conditioned by multiple factors, depending not only by the quality of graft and, consequently, by the donor and the recipient health status, by the disease which led to native kidney loss but also by the biological status following the systemic consequences of chronic kidney disease.

There are limitations of formal logic as regards the multifactorial reality so the assessment of results must be accomplished permanently. The identification and the implementation of software tools able to obtain real-time prognostic assessments, based on results of the current activity is a hard goal to attain.

One day, artificial intelligence will outpace human intelligence but, for the time being, it should be useful that we answer this elementary question: "How is my patient going to recover?"

## **1. Hypothesis**

It is a matter of chance to predict an event fundamental to an evolution. The survival curve is the typical example for the probability of occurrence of an event. Even for a sample of patients with favorable prognosis, in case that the survival rate will be of 90% for almost all of them after 5 years, still some will die even during the first year. This example might mean that, at least in the medical field, the facts are more diverse than the level of knowledge and especially than the degree of perception of reality indicated by the medical investigations performed.

On the other hand, the treatment is completed independently for each institution, as regards the assessment and treatment protocols but also with respect to the skills of the medical staff.

Sooner or later, chronic diseases will result in patient death, frequently following a long period marked by major impairments. This category of patients having the constitutional right to life will spend important financial and logistical resources which must be used in a reasonable manner. A major therapeutic gesture in a high-risk patient may afterwards require other multiple extremely expensive therapeutical gestures, predominantly resulted from a limited initial assessment.

The perception is another aspect. The use of investigation protocols will allow all patients to be considered as a whole but in case of patients with chronic diseases, the illness is not located anymore but generalized and the degree of affecting the other organs will always vary. In addition, the medical proves acquired are due to the current level of knowledge as well as to the current technological level but each one of them will follow a permanent revision.

Conceptually, any research must follow the rule of one hypothesis- one conclusion. This kind of approach is faithful to scientific rigour but the outcomes hardly ever become a reality for a very simple reason: reality is always multifactorial and the intraindividual variability surpasses by far the processing abilities even by using the most advanced computerized systems.

What remains ultimately is the question regarding the prognostic of the patient we have just treated or we are about to treat. How is he going to recover? What are the risks he is exposed to?

It seems to be a difficult endeavour to implement a clinical decision support software. Indeed, this is subject to major difficulties, particularly for the illnesses requiring a long-term follow-up which goes beyond the rates for which the assessment

and treatment protocols change, that is precisely the screen through which these patients are examined.

Nevertheless, it is feasible to implement a computerized system able to provide real-time prognostic information for individual or multifactorial risk factors as well as a patient prognostic classification. On one hand, the computerized systems have generally developed performances which were formerly considered fictional, becoming, at the same time, affordable resources. The medical staff is systematically introducing data owing to the implementation of the computerized systems by the suppliers of medical services, the implementation being realized mainly for managerial purposes, that is again for decision assistance, this time for the economical aspects.

Using software which allows the user to get a customized design enables the achievement of intelligent computerized systems.

The implementation of assisted group techniques, of neural networks or of complex techniques of statistical analysis is not only feasible but able to increase the efficiency of the medical activity.

Certainly, the artificial intelligence techniques are useless in the absence of the techniques of assessment not only appropriate but mainly relevant for the patient illness. Identifying such tests with prognostic significance, either individually or associated to other results, is a permanent request.

## **2. Objectives of the thesis**

### **2.1. General objective**

Achieving a computerized system able to provide real-time prognostic information for transplanted patients, with features which allow its use in current activity, with an appropriate interface for a common user.

### **2.2. Specific objectives**

Conception of the computerized and statistical features of the prognostic computerized system.

Implementation of the real-time uni- and multifactorial assessment function of the prognostic significance of different parameters used in patients' assessment.

Implementation of the individualized prognostic classification for a given patient.

Assessment of histopathological prognostic factors for graft dysfunction.

Assessment of risk factors for post-transplant cancer.

## **4.Implementation of a computerized prognostic system for patients with renal transplantation**

Taking into account the multiple difficulties that may arise, achieving a computerized system able to provide prognostic information for a given patient is a challenge.

Availability of a multipurpose database management system a common user may easily cope with is an advantage for the development of methodical information structures.

Implementation of computerized systems adapted to artificial intelligence is extremely useful but must be done in accordance with the data type processed.

A large number of these analysis techniques are currently implemented in the applications of statistical calculation. On the other hand, statistics remains an important factor of gnoseological progress with prognostic value.

The scientific research standards impose criteria meant to reduce human error which occurs sine-die when we determine in what way a patient should be diagnosed and treated. Thus, a research must propose a clear hypothesis and the comparison must be smartly chosen in order to measure the existence of a difference consistent with the assumption formulated in the hypothesis. The conclusion inferred is subsequently extrapolated to clinical activity.

Nonetheless, there are multiple dilemmas. The first of them would be that the patients we are confronted with are part of a complex and multifactorial medical activity. In many situations, the phisycal reality seems to be totally different from the one proposed and solved through precise clinical studies.

A question arises, namely to what degree we may implement real-time elements of statistical analysis which authorize the providing of information with prognostic significance for our patient. Such an answer is a satisfactory answer for the question: " How can my patient, from my hospital, be informed, in full knowledge ?

Most database management systems make a distinction between data entering and the interrogation and reporting functions, the ones which should provide statistically processed information. Choosing a suitable database management system is rather an academic challenge but it may become obsolete when considering the functionalities attached to it. The possibility of possessing calculated and sum fields may be an advantage.

In a manageable system, the way of creating the data entry forms may easily be modified, updated and completed. Naturally, it is not always possible to subsequently implement new data but when it comes to selection, the system is able to ignore the records containing blank fields.

Up to now, survival as a method of statistical analysis has been an important prognostic tool. In renal transplantation, graft and patient survival are two strong prognostic indicators used as a benchmark in most researches.

Implementation of the real-time estimate of graft and patient survival becomes a relevant prognostic tool.

The system uses a one-year discrimination for the duration of the follow-up or the duration until the occurrence of the event in question. Consequently, there is an adjustment in minus of the survival values provided, compared to dedicated systems as EpiInfo 7, which estimates survival through Kaplan Meyer method, adjusting the survival probability each time an event occurs, with a one-day discrimination of the time interval. As a consequence of this discrimination, it may be seen that the system has taken into account only 804 patients for the survival of patients and 814 for graft survival out of the total of 918 patients recorded in the database. The difference is given by the censored patients followed-up for less than a year in our institution and who are either followed-up in other centres or are going to come later to periodical follow-ups.

The system is able to provide the survival curve immediately after the selection is made. In practice, the potential renal graft recipient is recorded and afterwards, for the making of a prognostic assessment, the patient selection is done according to one or more features of the new patient. The two survival curves are obtained in accordance with this selection.

In case that the selection comprises hypothetical features of the patient, for instance the fact that the graft comes from a cadaveric donor with a certain type of HLA compatibility, the system will be able to make a simulation of the prognostic classification.

The system might be developed for the estimate of graft and patient survival with other reference point such as the moment of the first diagnosis of cellular or humoral rejection.

Moreover, it might be implemented the assessment of the dynamics in the evolution of certain parameters that play a role in the evaluation of the graft function, such as serum creatinine, serum urea or proteinuria. In this way, a real-time answer may be given with respect to the confidence interval for the value of serum creatinine after a number of years since transplantation has occurred for the transplanted patients in our institution. Undeniably, the criteria through which the follow-up serum creatinine level are taken into account for this evaluation must be established. Basically, the criteria mentioned must respond to the questions related to the relevance for rejection or for graft loss.

## 5. Significance of C3d in the assessment of renal graft biopsy in early post-transplant period

At present, the diagnosis of renal graft rejection is realized entirely through histopathological assessment of the specimens obtained by renal biopsies and this state of facts hasn't changed despite the progress recorded in laboratory techniques.<sup>147</sup> Even though the diagnosis of antibody-mediated rejection continues to be a matter of discussion<sup>148,149</sup>, the Banff 07 classification includes a set of histopathological criteria for this diagnosis, a fact of uttermost importance being the proof of endothelial diffuse deposition of C4d<sup>134</sup>.

The significance of the linear C4d deposition along peritubular capillaries must be achieved in the wider context of complement activation. Out of the three complement pathways, the activation realized through the specific antibody-antigen reaction is the one which will mediate the C1 activation, whose cleavage products will activate the C4 producing C4b which will cleave to C4d, which will anchor tightly to the tissue. If an ideal would be to prove the endothelial binding of IgG antibodies, in practice this binding is temporary and difficult to prove, all the more so as the chemical structure of immunoglobulins. C4d has a greater latency at tissue level as it is an important indicator of the construction of specific antibody-antigen reaction<sup>150,151</sup>.

Although the connection between the diffuse deposition of C4d on endothelium and the antibody mediated rejection was the reason for the new Banff classification, the protocol biopsies and the graft biopsies in case of intergroup transplants have proven that C4d expression is not enough for the rejection diagnosis.<sup>143,152</sup>

For producing tissue effects, the formation of C5b-9 complex or membrane attack complex is required. On account of these facts, the significance of the proof of complement pathway activation in antibody mediated rejection has been studied. C3d was demonstrated in peritubular capillaries for 39-60% of biopsies displaying diffuse C4d positive staining.<sup>153</sup> The correlation varies, as there were cases of C3d positive-C4d negative, probably following the mannose-binding lectin complement activation.<sup>154</sup>

Unlike the antibody mediated acute rejection, the presence of tubulitis found in the cellular rejection, the acute tubular necrosis or the tubular atrophy, C3d is positive either in tubular basement membrane or in tubular epithelium, its origin being in both cases, the tubular renal cell.<sup>155</sup>

In our study, there is a highly significant statistical correlation between the positive value of C3d and the presence of humoral acute rejection as well as the positive value of C4d. As unfavorable prognostic factor, the incidence of positive C3d is associated with the accumulation of neutrophils in peritubular capillaries and with the

presence of thrombi. Highly statistically significant differences correlate with the causes of renal graft dysfunction.

A particular aspect reported was the expression of C3d in renal tubules epithelium which correlated with the aspects of acute tubular necrosis and less with the antibody-mediated acute rejection. The correlation was highly statistically significant.

There was a much stronger correlation of the inflammation in peritubular capillaries in case of C3d compared to C4d, which confirms the value of unfavorable prognostic factor of C3d staining.

## **6. Risk of post-transplant cancer.**

In the past 50 years, the medical community witnessed remarkable progress regarding immunosuppressive medications and also with respect to the strategies which enhance graft and patient increased survival rates. Despite of these, long-term use of immunosuppressants revealed multiple side effects which are a real challenge for the clinician.

An excessive use of immunosuppressants reduces the risk of rejection but increases the early risks of infections with unfavorable evolution but most of all the long-term risks of cancer occurrence or vascular lesions. The immunosuppressive treatment must be adjusted for each patient so as to respond to one's particular needs in balance with the risks assumed.

The risk of rejection depends on numerous factors in relation to which individual immunosuppressive protocols have been developed in order to control the risk of rejection with the lowest aggression.

Modern immunosuppressive drugs have allowed the long-term prolongation of the graft and patient survival but the longer they survive, the higher the risk of developing malignant tumors or cardiovascular diseases. Consequently, the post-transplant morbidity and mortality become more and more one of the limitations of the renal transplantation.<sup>158,159</sup>

The incidence and prevalence of the different types of cancer varies widely in various reports. After 10 years cancer prevalence may affect 15-20% of the renal graft recipients, out of which most are cutaneous tumors or post-transplant lymphoproliferative disorder.<sup>156,160</sup>

The risk is 3 to 5 times higher compared to the general population, especially for the patients receiving antilymphocyte antibodies.<sup>157,160</sup>

Calcineurin inhibitors increase the risk of cancer while rapamycin proved antiproliferative effects. Due to these effects, rapamycin is used as a spare immunosuppressant for conversion and is indicated in Kaposi sarcoma.<sup>160</sup>



The risk of donor-transmitted cancer has increased at the same time as the increase of graft rate from elderly donors. Nevertheless, the risk of post-transplant cancer is multifactorial.<sup>158</sup>

In our experience, the rate of post-transplant *de novo* cancer, for a period of 10 years was of 9,43%. Although the use of immunosuppressive medication containing tacrolimus reduced the acute rejection rate to 11,15% compared to 19,33% for cyclosporine, at the percentage of 11,15% the rate of *de novo* cancers increased to 10,98% compared to 5,93% in the case of cyclosporine ( $p < 0,0223$ ).

The rejection history had a much higher prevalence in patients who developed *de novo* cancers, both for those treated by cyclosporine and those treated by tacrolimus.

The location of *de novo* cancer at renal graft level is a rare case. In our experience, the most frequently occurring case was the post-transplant lymphoproliferative disorder, sometimes strictly in a nodular form.

All times possible, the minimally invasive, conservative surgery was used in order to preserve the renal function.

The average time from transplantation to the diagnosis of *de novo* cancer was lower in case of post-transplant lymphoproliferative disorder mostly on account of the pre-existent viral infection and following the immunosuppression which has allowed the expression of oncogenes. In the case of the renal cell cancer found on graft, the time from transplantation to diagnosis was higher.

The renal cell carcinoma developed on the transplanted kidney is less violent compared with the one developed on the native kidney. The treatment is adapted to the dimension of the tumour and to its particularities. Hitherto, most cases have had indication of explant, cessation of the immunosuppression and reintegration in the dialysis program. It is more and more feasible to maintain a functional graft, due to the progresses achieved in the nephron conservative surgery. It can be applied to selected patients, with small tumours, located in an appropriate place to facilitate an organ-preserving approach.

## 8. General conclusions

The prognostic assessment of the patients through the implementation of the patient and graft survival estimate based on a database management system providing real-time outcomes is feasible, similar to the results provided by the applications of statistical estimation.

The real-time reportation to current activity allows not only the predictive assessment but also the medical management of the cases.

The renal graft biopsy, when performed in optimal conditions, is a diagnosis tool which provides predictive information like no other type of investigation does.

Immunohistochemical assessment of C3d in renal biopsy is an important ancillary in the staining patterns used to assess the renal transplant biopsy.

C3d deposition in peritubular capillaries correlates with the presence of acute humoral rejection while the expression in the tubular epithelium correlates with the tubular ischemic lesions.

The use of tacrolimus increases the incidence of post-transplant cancer in kidney-transplant patients.

Antilymphocyte induction is associated with the increase of the risk of post-transplant *de novo* cancer.

In selected patients with *de novo* cancer on renal graft, the minimally invasive, conservative treatment of nephrons enhances the control of the illness and the maintenance of the renal graft function.

## **9. Originality and innovative contributions of the thesis**

The thesis proves the functionality of a predictive system of evolution for a particular patient by the use of the real-time estimate of graft and patient survival rate from an actual databasis through the selection of transplanted patients having the same features as the given patient.

Predictive factors of the short-term renal graft evolution are assessed for the grafts with early or precocious dysfunction by determining C3d expression in comparison with C4d expression. It identifies the significance of C3d expression in peritubular capillaries in opposition to C3d expression in tubular epithelium as a mark of the tubular ischemic lesions.

It assesses comparatively the risk of post-transplant *de novo* cancer for the patients who have followed cyclosporine immunosuppression versus tacrolimus as well as the risk induced by the use of antilymphocyte- antibody for immunosuppression induction or the rejection treatment.

It assesses the prevalence of cancer located in renal graft and shows the treatment used and their evolution.

## **REFERINȚE SELECTIVE**

134. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant.* 2008;8(4):753-60

143. Ushigome H, Okamoto M, Koshino K, et al. Findings of graft biopsy specimens within 90 days after ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation compared with ABO-identical and non-identical transplantation. *Clin Transplant*. 2010;24 Suppl 22:16-21
147. Finkelstein FO, Siegel NJ, Bastl C, et al. Kidney transplant biopsies in the diagnosis and management of acute rejection reactions. *Kidney Int*. 1976;10(2):171-8
150. Walport MJ. Complement. First of two parts. *N Engl J Med*. 2001;344(14):1058-66
151. Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med*. 2001;344(15):1140-4
152. Loupy A, Hill GS, Suberbielle C, et al. Significance of C4d Banff scores in early protocol biopsies of kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies (DSA). *Am J Transplant*. 2011;11(1):56-65
153. Haas M, Rahman MH, Racusen LC, et al. C4d and C3d staining in biopsies of ABO- and HLA-incompatible renal allografts: correlation with histologic findings. *Am J Transplant*. 2006;6(8):1829-40
154. Kuypers DR, Lerut E, Evenepoel P, et al. C3D deposition in peritubular capillaries indicates a variant of acute renal allograft rejection characterized by a worse clinical outcome. *Transplantation*. 2003;76(1):102-8
155. Varaganam M, Yaqoob MM, Döhler B, et al. C3 polymorphisms and allograft outcome in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2009;360(9):874-80
156. Lutz J, Heemann U., Tumours after kidney transplantation., *Curr Opin Urol*. 2003;13(2):105-9
157. Dantal J, Pohanka E., Malignancies in renal transplantation: an unmet medical need., *Nephrol Dial Transplant*. 2007;22 Suppl 1:i4-10
158. Kapoor A., Malignancy in kidney transplant recipients., *Drugs*. 2008;68 Suppl 1:11-9
159. Morath C, Mueller M, Goldschmidt H, Schwenger V, Opelz G, Zeier M., Malignancy in renal transplantation., *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(6):1582-8
160. Gutierrez-Dalmau A, Campistol JM., Immunosuppressive therapy and malignancy in organ transplant recipients: a systematic review., *Drugs*. 2007;67(8):1167-98
161. JS Sandhu, A Dhiman, BS Aulakh, P Sandhu, K Saggar, N Sood, NS Khaira Year, Post transplant malignancies - 8 cases observed in a single center: 2005, 4(15) 235
162. London NJ, Farmery SM, Will EJ, Davison AM, Lodge JP., Risk of neoplasia in renal transplant patients., *Lancet*. 1995 12;346(8972):403-6
163. Harris NL, Swerdlow SH, Frizzera G, Knowles DM: Post-transplant lymphoproliferative disorders. in: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds): *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. IARC Press: Lyon, pp. 264-269, 2001
164. American Joint Committee on Cancer.: *AJCC Cancer Staging Manual*. 6th ed. New York, NY: Springer, 2002, pp 323-5
165. Muti G, Cantoni S, Oreste P, Klersy C, Gini G, Rossi V, D'Avanzo G, Comoli P, Baldanti F, Montillo M, Nosari A, Morra E, Post-transplant lymphoproliferative disorders: improved

outcome after clinico-pathologically tailored treatment. Cooperative Study Group on PTLDS.,  
Haematologica. 2002;87(1):67-77