

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ

***ROLUL ANTICORPILOR ANTI-RECEPTOR DE TIP 1 AL
ANGIOTENSINEI II ÎN REJETUL MEDIAT UMORAL ȘI
IMPACTUL PE SUPRAVIȚUIREA GREFEI RENALE***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:
ACAD. IOANEL SINESCU

Student-doctorand:
BOGDAN MARIAN SOROHAN

2021

Cuprinsul tezei de doctorat

Lista cu lucrările științifice publicate	5
Lista cu abrevieri și simboluri	6
Introducere.....	9
I. PARTEA GENERALĂ.....	14
1. Aspecte generale ale receptorul de tip 1 al angiotensinei II	14
1.1. Definiție	14
1.2. Structură	14
1.3. Localizare	15
1.4. Activare și mecanisme de semnalizare intracelulară	18
1.4.1. Căi de semnalizare dependente de proteina G	19
1.4.2. Căi de semnalizare independente de proteina G	20
1.5. Rol	21
2. Aspecte generale ale anticorpilor anti-receptor de tip 1 al angiotensinei II în transplantul renal.....	23
2.1. Clasificare și definiție.....	23
2.2. Epidemiologie.....	25
2.3. Mecanisme de formare	29
2.3.1. Rolul procesului de ischemie-reperfuzie	31
2.3.2. Rolul relației aloimunitate-autoimunitate	31
2.3.3. Rolul veziculelor extracelulare	32
2.3.4. Rolul limfocitelor T helper 17	33
2.4. Metode de determinare și valori de cut-off.....	33
3. Mecanisme fiziopatologice și elemente histologice implicate in rețetul grefei renale mediat de anticorpii anti-receptor de tip 1 al angiotensinei II.....	36
3.1. Rețetul în transplantul renal.....	36
3.1.1. Clasificare	37

3.1.2. Aspecte fiziopatologice generale în rejețul mediat celular	39
3.1.3. Aspecte fiziopatologice generale în rejețul mediat umoral	42
3.1.4. Diagnosticul rejețului	45
3.2. Fiziopatologia rejețului mediat de anticorpii anti-receptor de tip 1 al angiotensinei II	55
3.3. Fenotipuri histologice de rejeț asociate cu anticorpii anti-receptor de tip 1 al angiotensinei II ..	57
3.3.1. Rejețul mediat umoral.....	58
3.3.2. Rejețul mediat celular	59
3.3.3. Rejețul vascular	61
4. Funcția greței renale în contextul anticorpilor anti-receptor de tip 1 al angiotensinei II	64
4.1. Funcția greței pe termen scurt	66
4.2. Funcția greței pe termen lung	66
II. CONTRIBUȚII PERSONALE.....	68
5. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	68
5.1. Ipoteza de lucru	68
5.2. Obiectivele generale	69
6. Metodologia generală a cercetării.....	70
6.1. Tipul studiului și populația studiată.....	70
6.2. Sursa și colectarea datelor	71
6.3. Protocol și definiții	72
6.4. Determinarea Ac anti-HLA și anti-RT ₁ AT _{II}	74
6.5. Analiza statistică.....	74
7. Studiul I: Incidența, dinamica și factorii de risc asociați anticorpilor anti-receptor tip 1 al angiotensinei II	76
7.1. Introducere.....	76
7.2. Material și metodă	76
7.2.1. Tipul studiului, lotul de pacienți și variabilele analizate	76
7.2.2. Analiza statistică.....	77

7.3. Rezultate	78
7.3.1. Caracteristicile generale ale pacienților studiați	78
7.3.2. Incidența anticorpilor Ac anti- RT _I AT _{II} , dinamica și relația cu Ac anti-HLA specifici anti-donor.....	82
7.3.3. Caracteristicile pacienților cu Ac anti-RT _I AT _{II} preformați și factorii de risc asociați cu prezența acestora.....	85
7.3.4. Caracteristicile pacienților cu Ac anti-RT _I AT _{II} post-transplant și factorii de risc asociați cu prezența acestora.....	91
7.4. Discuții	104
8. Studiul II. Elemente histopatologice asociate rejetului mediat umoral și statusul funcțional al grefei în prezența anticorpilor anti-receptor tip 1 al angiotensinei II.....	110
8.1. Introducere.....	110
8.2. Material și metodă	111
8.2.1. Tipul studiului și lotul de pacienți	111
8.2.2. Colectarea datelor, biopsia grefei și evaluarea funcției renale	111
8.2.3. Analiza statistică.....	112
8.3. Rezultate	113
8.3.1. Evaluarea leziunilor histopatologice în cadrul rejetului umoral mediat de Ac anti-RT _I AT _{II}	113
8.3.2. Evaluarea dinamicii funcției renale în funcție de statusul Ac anti-RT _I AT _{II}	114
8.3.3. Evaluarea impactului Ac anti-RT _I AT _{II} pe funcția grefei renale	118
8.3.4. Evaluarea impactului Ac anti-RT _I AT _{II} pe supraviețuirea grefei renale	123
8.4. Discuții	131
9. Concluzii și contribuții personale	134
9.1. Concluzii.....	134
9.2. Contribuții personale	137
Bibliografie.....	139

Cuprinsul rezumatului

Lista cu lucrările științifice publicate	7
Lista cu abrevieri și simboluri	8
Introducere.....	10
Metodologia generală a cercetării.....	12
1. Tipul studiului și populația studiată.....	12
2. Sursa și colectarea datelor	12
3. Protocol și definiții	13
4. Determinarea Ac anti-HLA și anti-RT _I AT _{II}	14
5. Analiza statistică.....	14
Studiul I: Incidența, dinamica și factorii de risc asociați anticorpilor anti-receptor tip 1 al angiotensinei II	16
1. Obiective.....	16
2. Material și metodă	16
3. Rezultate	17
3.1. Caracteristicile generale ale pacienților studiați	17
3.2. Incidența anticorpilor Ac anti- RT _I AT _{II} , dinamica și relația cu Ac anti-HLA specifici anti-donor.....	20
3.3. Caracteristicile pacienților cu Ac anti-RT _I AT _{II} preformați și factorii de risc asociați cu prezența acestora.....	20
3.4. Caracteristicile pacienților cu Ac anti-RT _I AT _{II} post-transplant și factorii de risc asociați cu prezența acestora.....	22
4. Discuții	26
Studiul II. Elemente histopatologice asociate rejetului mediat umoral și statusul funcțional al grefei în prezența anticorpilor anti-receptor tip 1 al angiotensinei II.....	30
1. Obiective.....	30
2. Material și metodă	30
3. Rezultate	31
3.1. Evaluarea leziunilor histopatologice în cadrul rejetului umoral mediat de Ac anti-RT _I AT _{II} ..	31
3.2. Evaluarea dinamicii funcției renale în funcție de statusul Ac anti-RT _I AT _{II}	31
3.3. Evaluarea impactului Ac anti-RT _I AT _{II} pe funcția grefei renale	31
3.4. Evaluarea impactului Ac anti-RT _I AT _{II} pe supraviețuirea grefei renale	34

4. Discuții	37
Concluzii și contribuții personale	39
1. Concluzii.....	39
2. Contribuții personale	41
Bibliografie.....	42

Lista cu lucrările științifice publicate

Articole publicate în reviste de specialitate indexate ISI:

1. Sorohan BM, Ismail G, Leca N, Tacu D, Obrișcă B, Constantinescu I, Baston C, Sinescu I. Angiotensin II type 1 receptor antibodies in kidney transplantation: An evidence-based comprehensive review. *Transplant Rev (Orlando)*. 2020 Oct;34(4):100573. doi: 10.1016/j.trre.2020.100573. Epub 2020 Sep 25. PMID: 33002671.
2. Sorohan BM, Ismail G, Berechet A, Obrișcă B, Constantinescu I, Mărunțelu I, Tacu D, Baston C, Sinescu I. The early impact of preformed angiotensin II type 1 receptor antibodies on graft function in a low immunological risk cohort of kidney transplant recipients. *Transpl Immunol*. 2021 Apr 7;66:101389. doi: 10.1016/j.trim.2021.101389.

Lucrări prezentate la manifestări științifice organizate de asociații profesionale naționale și internaționale:

1. Different rejection phenotypes in kidney transplant recipients with positive angiotensin II type 1 receptor antibodies. Bogdan Marian Sorohan, Gener Ismail, Nicolae Leca, Ioanel Sinescu. Oral presentation. Victor Babeș” National Institute of Pathology Annual Scientific Meeting & 13th National Pathology Symposium, 5 – 7 November 2020. Bucharest, Romania.
2. Sorohan BM, Ismail G, Tacu D, Obrișcă B, Constantinescu I, Baston C, Sinescu I. PRETRANSPLANT ANGIOTENSIN II TYPE 1 RECEPTOR ANTIBODIES INFLUENCE GRAFT FUNCTION BUT NOT GRAFT SURVIVAL AT 1 YEAR AFTER KIDNEY TRANSPLANTATION IN A LOW IMMUNOLOGICAL RISK COHORT. Mini-oral presentation. 58th ERA-EDTA.Congress Berlin & Virtual, 5-8 June 2021, Berlin, Germany.

Lista cu abrevieri și simboluri

n- Număr
p- Valoare statistică
r- Coeficient de corelație
Ac anti-HLA- Anticorpi anti-antigen leucocitar uman
Ac anti-RT₁ATII- Anticorpi anti- receptor tip 1 al angiotensinei II
Ac non-HLA- Anticorpi anti-non-antigen leucocitari umani
AM- Antimetabolit
Ang II- Angiotensină II
BCR- Boală cronică de rinichi
BRD- Boală renală diabetică
BRPAD- Boală renală polichistică autozomal dominantă
CI- Interval de încredere
CMV- Citomegalovirus
D- Donator
DAG- Diacilglicerol
DZ- Diabet zaharat
DP- Dializă peritoneală
EC- Extracelular
ELISA- Enzyme-linked immunosorbent assay
GC- Glucocorticoizi
GP- Glomerulopatii
HD- Hemodializă
HIV- Virusul imunodeficienței umane
HLA- Antigen leucocitar uman
HTA- Hipertensiune arterială
HR- Hazard ratio
IC- Intracelular
ICN- Inhibitori de calcineurină

IgG- Imunoglobulină G
IMC- Indice de masă corporală
IMV- Inflamație microvasculară
IS- Imunosupresie
MICA- Major histocompatibility complex class I chain-related protein A
MICB- Major histocompatibility complex (MHC) class I chain-related protein B
MDRD- Modification of Diet in Renal Disease
MHC- Complex major de histocompatibilitate
MFM- Micofenolat mofetil
MFS- Micofenolat sodic
MM- Mismatch
NTI- Nefropatii tubulo-interstițiale
OR- Odds ratio
P- Primitor
RFGe- Rată de filtrare glomerulară estimată
TAC- Tacrolimus
TBC- Tuberculoză
TIC- Timp de ischemie caldă
TIR- Timp de ischemie rece
TLR- Tool-like receptor
TR- Transplant
VHB- Virus hepatitic B
VHC- Virus hepatitic C
Vs- Versus
 α - Semnificație putere statistică
 β - Coeficient regresie liniară
+ - Prezent;
- - Absent;

Introducere

Transplantul renal reprezintă metoda optimă de tratament substitutiv a funcției renale la pacienții cu boală cronică de rinichi în stadiul final, fiind superioară dializei cronice în termeni de calitate a vieții, supraviețuire și cost-eficiență [1,2]. Progresul medical înregistrat în transplantul renal a condus la o creștere semnificativă a supraviețuirii grefei renale pe termen scurt și la o îmbunătățire a acesteia pe termen lung [3]. Rata de supraviețuire a grefei la 10 ani de la momentul transplantului a crescut de la 40.8% la 51% în cazul grefelor provenite de la donator cadavru și de la 55.2% la 69% în cazul grefelor provenite de la donator viu, în perioada 1995-2010 [4,5]. S-a observat un trend descendent și în cazul pierderii grefelor renale excluzând decesul cu grefă funcțională, până la 23.5% pentru transplantul de la donator cadavru, respectiv 16% pentru cel de la donator viu [4,5]. În România, tratamentul de substituție al funcției renale se bazează majoritar pe hemodializă, comparativ cu media europeană, dar transplantul renal a înregistrat o ascensiune semnificativă [6]. Conform Agenției Naționale de Transplant, între anii 2005 și 2019, în România au fost efectuate 3303 transplanturi renale, în majoritatea cazurilor (61.6%) grefele provenind de la donatori cadavru și în numai 38.4% de la donatori în viață [7].

În pofida creșterii semnificative a supraviețuirii grefei pe termen scurt, îmbunătățirea supraviețuirii pe termen lung rămâne o provocare [3]. Principalul factor de risc imunologic care limitează succesul transplantului renal pe termen lung este reprezentat de rejetul mediat umoral [8]. În decursul timpului, anticorpii direcționați împotriva moleculelor complexului major de histocompatibilitate (Ac anti-HLA) au fost considerați singurii factori de risc responsabili pentru apariția formelor de rejet mediat umoral. Însă, în ultimele două decade a început să fie recunoscută importanța anticorpilor direcționați împotriva unor antigene care nu aparțin complexului major de histocompatibilitate, denumiți Ac non-HLA [9–11]. Dintre aceștia, Ac anti-RT₁AT_{II} au produs cel mai mare interes în domeniul transplantului renal [10,12]. Prevalența acestora variază între 2.1% și 59% [12]. Mecanismele fiziopatologice incomplet cunoscute prin care operează acești anticorpi în injuria grefei, dovezile limitate, uneori contradictorii, legate de epidemiologie, metodele de detecție, asocierea cu fenotipuri diferite de rejet și funcția grefei, obținute din studiile anterioare au lăsat neclarificată importanța acestor anticorpi la pacienții transplantați renal și au limitat utilizarea lor de rutină în practica medicală curentă [12].

Lipsa datelor cu privire la rata de rejet, funcția și supraviețuirea grefei pe termen scurt și lung la populația de pacienți transplantați renal din România, importanța actuală a subiectului, împreună cu rezultatele contradictorii din literatură privind rolul Ac anti-RT₁AT_{II} în transplantul renal au stat la baza motivației alegerii temei de cercetare. Formularea ipotezei de cercetare a luat în considerare unele din observațiile reliefate în studiile anterioare, dar a fost adaptată populației studiate și practicii centrului de transplant de unde au fost recrutați pacienții incluși în studiul doctoral. Pe baza aspectelor menționate, în cadrul cercetării doctorale ne-am propus să evaluăm pentru prima dată prezența și importanța Ac anti-RT₁AT_{II} pe un eșantion de pacienți transplantați renal, într-unul din cele mai mari centre de transplant din România și să aducem o contribuție în domeniu, oferind un răspuns la o parte din incertitudinile semnalate în studiile anterioare.

În partea generală a lucrării doctorale au fost punctate principalele aspecte de interes din domeniul abordat, sub forma unei sinteze actualizate, fiind descrise noțiuni generale despre receptorul tip 1 al angiotensinei II (RT₁AT_{II}) și Ac anti-RT₁AT_{II} în transplantul renal, potențialele mecanisme fiziopatologice prin care anticorpii produc injuria grefei renale și încadrarea fenotipurilor histologice de rejet în prezența acestor anticorpi. Nu în ultimul rând, au fost expuse date epidemiologice privind funcția și supraviețuirea grefei sub influența acestor anticorpi. Partea specială a cercetării doctorale a fost structurată în 2 studii. Primul studiu și-a propus să abordeze aspectele epidemiologice ale Ac anti-RT₁AT_{II} pre- și post-transplant, să ofere o imagine în dinamică a evoluției acestor anticorpi și să stabilească o potențială relație de cauzalitate cu Ac anti-HLA, pe o populație de pacienți cu risc imunologic relativ redus. De asemenea, în cadrul primului studiu au fost evaluați factorii de risc asociați cu prezența Ac anti-RT₁AT_{II}, împreună cu capacitatea lor prognostică. Cel de al doilea studiu s-a focalizat pe evaluarea aspectelor histopatologice în contextul rejetului mediat umoral și a rolului prognostic al Ac anti-RT₁AT_{II} asupra funcției și supraviețuirii grefei renale.

Metodologia generală a cercetării

1. Tipul studiului și populația studiată

Pentru evaluarea obiectivelor a fost realizat un studiu prospectiv, observațional, unicentric, în care au fost incluși 67 de pacienți adulți transplantați renal consecutiv în perioada 1 octombrie 2018- 1 octombrie 2019, în Centrul de Uronefrologie și Transplant Renal al Institutului Clinic Fundeni. Perioada de urmărire a fost cuprinsă între 1 octombrie 2018 și 1 aprilie 2021. Criteriile de excludere au fost reprezentate de vârsta < 18 ani, prezența contraindicațiilor absolute pentru transplant și non-compliance la protocolul de studiu(Figura 1).

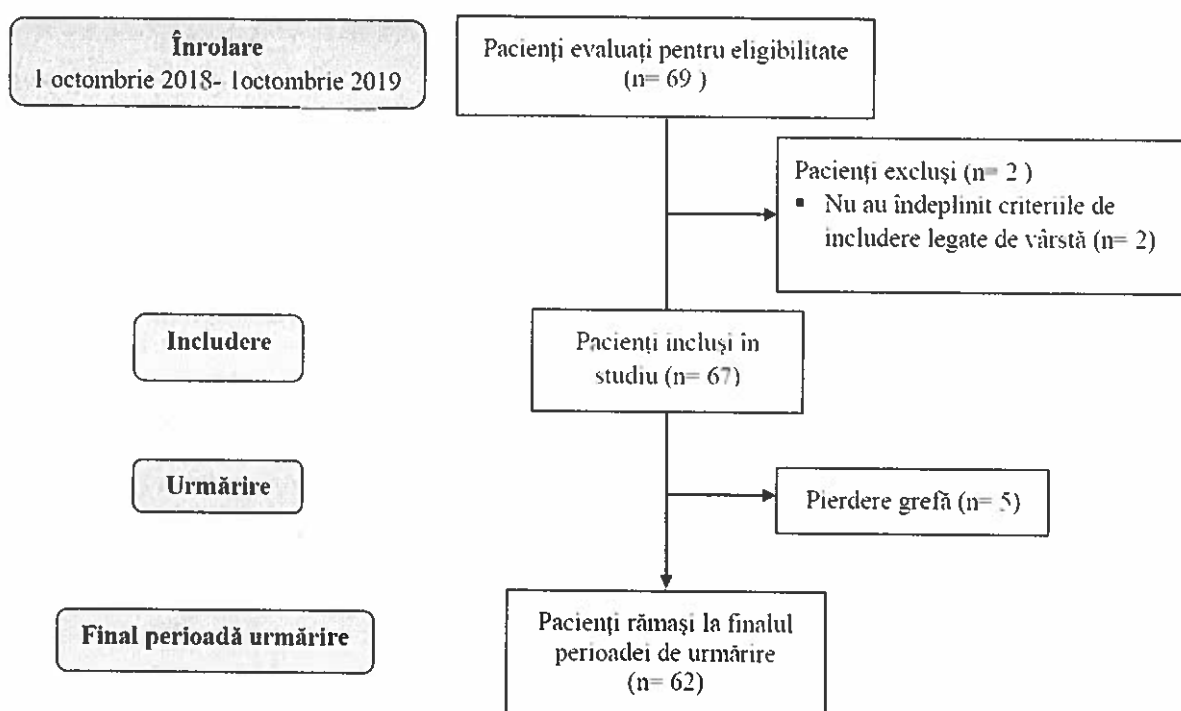


Figura 1. Diagramă privind înrolarea, includerea și urmărirea pacienților

2. Sursa și colectarea datelor

Colectarea datelor la momentul transplantului și post-transplant, pe parcursul perioadei de urmărire, s-a realizat din foile de observație, dosarele de transplant ale pacienților și din sistemul informatic Hipocrat.

Variabilele de interes în cadrul temei de doctorat au fost divizate în 4 categorii:

- Variabile asociate primitorului
- Variabile asociate donatorului
- Variabile asociate transplantului
- Variabile legate de complicații

3. Protocol și definiții

Etapa premergătoare transplantului a presupus testarea compatibilității între primitor și donator prin determinarea grupului sanguin AB0, testarea crossmatch-ului prin metoda Luminex, tipizarea sistemului HLA și a anticorpilor citotoxici. Pe parcursul perioadei de urmărire au fost efectuate evaluări clinice, paraclinice de laborator și imagistice la intervale regulate de timp, conform protocolului centrului de transplant. În cadrul protocolului de studiu au fost cuantificate datele clinice și paraclinice obținute la momentul transplantului și ulterior la 1, 3, 6, 12, 18 și 24 de luni post-transplant, în funcție de perioada individuală de urmărire a fiecărui pacient (**Figura 2**).

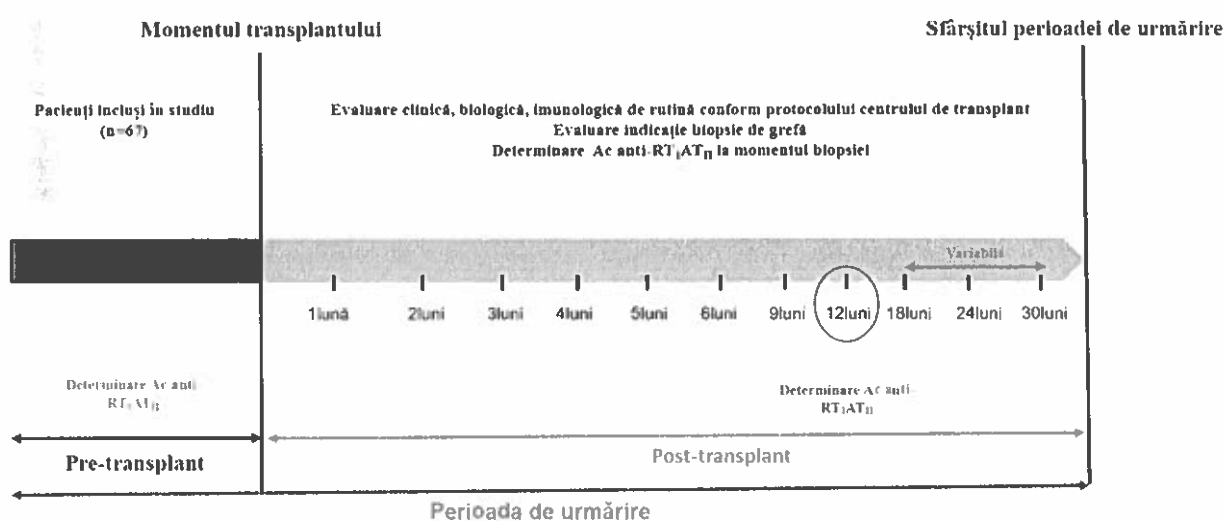


Figura 2. Diagrama protocolului de studiu

Evaluarea funcției grefei s-a realizat prin determinarea creatininei serice și estimarea ratei de filtrare glomerulară pe baza acestora, utilizându-se formula *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD). Funcția întârziată a grefei a fost definită ca disfuncție a grefei apărută în

primele 7 zile post-transplant ce a necesitat temporar hemodializă. Pierderea grefei s-a definit ca scăderea ireversibilă a RFG $< 15 \text{ ml/min/1.73 m}^2$, oricând de la momentul transplantului, ce a impus introducerea pacientului în program cronic de hemodializă sau re-transplant. Rejetul a fost definit și clasificat conform criteriilor Banff 2017 pe baza parametrilor histopatologici și serologici [13]. Mortalitatea a fost definită ca orice deces survenit pe parcursul perioadei de urmărire.

În evaluarea indicației de biopsie a grefei s-au luat în considerare creșteri inexplicabile ale creatininei serice $> 25\%$ față de valoarea inițială, modificări cu debut spontan sau persistente ale markerilor de leziune ai rinichiului (hematurie, proteinurie) sau dezvoltarea unor sindroame renale.

4. Determinarea Ac anti-HLA și anti-RT₁AT_{II}

Testarea Ac anti-HLA s-a realizat pentru toți pacienții la momentul transplantului și pe parcursul perioadei de urmărire la intervale regulate, utilizând detecția bazată pe tehnica Luminex.

Testarea Ac anti-RT₁AT_{II} s-a realizat anterior implantării grefei pentru toți pacienții incluși în studiu, în dinamică la interval de 12 luni post-transplant pentru cei care aveau greă funcțională la acel moment și la cei cu indicație de biopsie. Pentru identificarea și măsurarea Ac anti-RT₁AT_{II} s-a folosit un kit ELISA cantitativ (Celltrend, Luckenwalde, Germany), iar pragul de pozitivitate ales pentru detecție a fost $> 10 \text{ U/ml}$.

5. Analiza statistică

Variabilele continue parametrice au fost exprimate ca medie și deviație standard, cele continue non-parametrice ca mediană și interval interquartile, în timp ce variabilele categorice au fost descrise ca procent. Analiza comparativă a variabilelor s-a realizat cu ajutorul testului t student în cazul variabilelor continue parametrice, testului Mann-Whitney U în cazul celor continue non-parametrice, testului Wilcoxon atunci când s-au comparat valori ale variabilelor continue în cadrul aceluiași grup la momente diferite și testul hi-pătrat pentru variabile categorice. Analiza de corelație bivariată realizată cu ajutorul testelor Spearman și Pearson (inclusiv varianta Point Biserial Correlation) pentru identificarea variabilelor asociate cu Ac anti-RT₁AT_{II} preformați. Analiza de regresie logistică binară a fost utilizată pentru identificarea

determinanților clinico-biologici asociați cu dezvoltarea Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant. Pentru testarea capacității de predicție individuală a Ac anti-RT₁AT_{II} asupra funcției grefei la diferite intervale de timp au fost create modele de regresie liniară. Analiza de regresie tip Cox a fost folosită pentru identificarea factorilor de risc asociați cu pierderea grefei. Pentru ilustrarea ratei de supraviețuire a grefei au fost utilizate curbele Kaplan-Meier, iar pentru compararea ratelor de supraviețuire între două grupuri diferite s-a folosit testul Log-Rank. Valoarea p-ului < 0.05 a fost considerată semnificativă statistic.

Analiza statistică și reprezentarea grafică a variabilelor a fost realizată cu ajutorul programelor SPSS versiunea 26.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA), Stata versiunea 14 (Statistical Software 14. College Station, TX: StataCorp LLC) și GraphPad Prism versiunea 9 (© 1995-2021 GraphPad Software, LLC).

Studiul I: Incidența, dinamica și factorii de risc asociați anticorpilor anti-receptor tip 1 al angiotensinei II

1. Obiective

- Analiza incidenței Ac anti-RT₁AT_{II} pre-transplant (preformați) și post-transplant (persistenți și de novo) la 12 luni.
- Evaluarea dinamicii Ac anti-RT₁AT_{II} pe parcursul perioadei de urmărire și a relației cu Ac anti-HLA.
- Analiza factorilor de risc asociați cu dezvoltarea Ac anti-RT₁AT_{II}.

2. Material și metodă

În acest studiu prospectiv, observațional, de tip cohortă au fost incluși toți cei 67 de pacienți adulți transplantați în perioada 1 octombrie 2018- 1 octombrie 2019, în Centrul de Chirurgie Urologică și Transplant Renal, din cadrul Institutului Clinic Fundeni, urmăriți pentru o perioadă mediană de 23.5 luni (21.0-27.5).

Pentru analiza parametrilor asociați cu prezența Ac anti-RT₁AT_{II} preformați, lotul a fost divizat în funcție de prezența sau absența acestora. De asemenea, pentru analiza descriptivă, dar și pentru identificarea factorilor de risc, lotul de pacienți a fost divizat în funcție de statusul Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant (categorie generală) și ulterior în mod specific în funcție de statusul Ac anti-RT₁AT_{II} formați de novo. La analiza comparativă s-a utilizat testul hi-pătrat pentru variabilele categorice, testul t-student pentru cele continue parametrice și testul Mann-Whitney-U pentru cele continue non-parametrice.

Analiza de identificare a variabilelor asociate cu prezența Ac anti-RT₁AT_{II} preformați s-a rezumat la efectuarea unei analize de corelație bivariată, având în vedere strângerea datelor la același moment. Au fost selectate variabilele pre-transplant ale primitorului și au fost corelate cu titrul de Ac anti-RT₁AT_{II} preformați. Variabila reprezentată de titrul de Ac anti-RT₁AT_{II} a fost continuă non-parametrică, astfel s-a folosit testul Spearman pentru corelațiile cu variabilele continue și point biserial correlation (Pearson) pentru a analiza asocierea cu variabile categorice. Coeficientul de corelație a fost raportat ca r , fiind considerată o corelație slabă la o valoare $r < 0.3$, moderată la valoare cuprinsă între 0.3-0.7 și puternică la > 0.7 .

Analiza identificării factorilor de risc pentru Ac anti-RT₁AT_{II} formați post-transplant și în mod distinct, de novo, s-a bazat pe analiză de regresie logistică univariată și multivariată. În construirea modelului de regresie logistică, variabila dependentă binară a fost reprezentată de Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant în primul model și Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant de novo în cel de al doilea model, iar variabilele independente au constatat în toți parametrii care au avut un $p < 0.15$ la analiza comparativă între subgrupuri. În etapa de analiză multivariată a fost încorporată metoda de selecție Backward. Pentru a arăta puterea de predicție a factorilor de risc, s-a realizat o analiză de probabilitate, rezultatele fiind exprimate ca sensibilitate, specificitate, likelihood ratio pozitiv (LR+), likelihood ratio negativ (LR-), valoare predictivă pozitivă (VPP+), valoare predictivă negativă (VPN-) și acuratețe.

3. Rezultate

3.1. Caracteristicile generale ale pacienților studiați

Caracteristicile generale ale lotului studiat sunt descrise în **Tabelul I**. Cei 67 de pacienți incluși în studiu au avut o vârstă medie de 41.3 ± 10.3 ani, genul masculin a fost majoritar (59.7% vs 40.3%), iar valoarea medie a IMC-ului (23.1 ± 3.0 kg/m²) a catalogat pacienții ca fiind normoponderali. Principala etiologie identificată a bolii cronice de rinichi a fost reprezentată de glomerulopatii (26.9%). Principala metodă de substituție a funcției renale utilizată anterior transplantului a fost HD (82.1%). Privitor la comorbidități, 92.5% dintre pacienți erau hipertensivi, 7.5% diabetici, aproximativ 1/3 fumători activi sau foști fumători, iar din punct de vedere infecțios 13.4% aveau infecție cronică cu VHB, 9% cu VHC și 7.5% prezentau istoric de TBC.

Vârstă medie a donatorilor a fost de 50 ± 15.5 ani, 52% dintre aceștia au aparținut genului masculin, iar majoritatea grefelor au provenit de la donator cadavru (65.7%).

Datele referitoare la caracteristicile generale asociate transplantului au arătat un TIR median de 705 (120- 960) minute și un grad de nepotrivire primitor-donator mai mare de 4 MM întâlnit la 31.3% din cazuri. Regimul imunosupresor de inducție cel mai des utilizat a constatat în anticorpi anti-receptor de IL-2 (83.6%), toți pacienții primind ca imunosupresie de menținere tripla terapie bazată pe inhibitori de calcineurină, antimetabolit și glucocorticoizi. Dintre inhibitorii de calcineurină, tacrolimusul cu eliberare imediată a fost mai frecvent folosit decât cel cu eliberare prelungită (57.2% vs 42.8%).

Funcția întârziată a grefei (10.4%) și pierderea grefei (7.5%) au fost principalele

complicațiile observate după un timp median de urmărire de 23.5 luni (21.0-27.5). Pe parcursul perioadei de urmărire nu a fost evidențiat niciun caz de rețet dovedit prin biopsie și niciun caz de deces.

Tabelul I. Caracteristicile generale ale lotului studiat și ale pacienților cu Ac anti-RT₁AT_{II} preformați

Variable	Total pacienți (n=67)	Ac anti-RT ₁ AT _{II} (+) pre-TR(n=7)	Ac anti-RT ₁ AT _{II} (-) pre-TR(n=60)	Valoare p
Caracteristicile primitorului				
Vârsta (medie, ani)	41.3± 10.3	43.7± 13.7	41.1± 10.2	0.53
Genul (%)				0.34
Masculin	40 (59.7%)	3 (42.9%)	37 (61.7%)	
Feminin	27 (40.3%)	4 (57.1%)	23 (38.3%)	
Grupul sangvin (%)				0.26
O	23 (34.3%)	4 (57.1%)	19 (31.7%)	
A	22 (32.8%)	2 (28.6%)	20 (33.3%)	
B	13 (19.4%)	0 (0%)	13 (21.7%)	
AB	9 (13.4%)	1 (14.3%)	8 (13.3%)	
IMC (medie, kg/m ²)	23.1± 3.0	23.5± 3.9	23.1± 2.9	0.73
HTA (%)	62 (92.5%)	6 (85.7%)	56 (93.3%)	0.50
DZ (%)	5 (7.5%)	1 (14.3%)	4 (6.7%)	0.50
Fumător activ/ fost fumător (%)	18 (26.9%)	1 (14.3%)	17 (28.3%)	0.40
Infecție VHB (%)	9 (13.4%)	1 (14.3%)	8 (13.3%)	0.94
Infecție VHC (%)	6 (9%)	1 (14.3%)	5 (8.3%)	0.60
Istoric TBC (%)	5 (7.5%)	1 (14.3%)	4 (6.7%)	0.50
Istoric alergie (%)	11 (16.4%)	0 (0%)	11 (18.3%)	0.21
Istoric transfuzie sangvină (%)	29 (43.3%)	4 (57.1%)	25 (41.7%)	0.43
TR anterior (%)	6 (9%)	0 (0%)	6 (10%)	0.50
HD (%)	55 (82.1%)	6 (85.7%)	49 (81.7%)	0.78
DP (%)	2 (3%)	0 (0%)	2 (3.3%)	0.78
Durată dializă (mediană, luni)	20 (3-40)	20 (5- 84)	20.5 (2.2- 39.5)	0.68
TR preemptiv (%)	10 (14.9%)	1 (14.3%)	9 (15%)	0.96
Cauza bolii cronice de rinichi (%)				0.76
GP	18 (26.9%)	2 (28.6%)	16 (26.7%)	
BRD	3 (4.5%)	1 (14.3%)	2 (3.3%)	
BRPAD	10 (14.9%)	1 (14.3%)	9 (15%)	
NTI	11 (16.4%)	0 (0%)	11 (17.4%)	
Alte cauze	2 (3%)	0 (0%)	2 (3.3%)	
Cauze necunoscute	23 (34.3%)	3 (42.9%)	20 (33.3%)	
Colesterol moment TR (medie, mg/dl)	183.6±38.1	184.5± 38.2	183.58± 38.4	0.95
Trigliceride moment TR (mediană, mg/dl)	116 (81- 151)	121 (85- 151.2)	115 (77.4- 150)	0.68
Glicemie moment TR (medie, mg/dl)	90.1±18.3	94.9± 19.9	89.5± 18.2	0.46
Uree moment TR (mediană, mg/dl)	124 (93- 172)	108 (81- 141)	125 (94-175)	0.22
Creatinină 24h post-TR (mediană, mg/dl)	3.9 (1.8- 6.5)	3.6 (1.5- 8.3)	4.1 (1.8- 6.3)	0.66
RFG _e 24h post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)	15.8 (9.9- 37.8)	15.3 (7.1- 38.4)	16.8 (10.1- 37.1)	0.52
Creatinină 1 lună post-TR (mediană, mg/dl)	1.6 (1.3- 1.9)	1.7 (1.1- 2.2)	1.6 (1.3- 1.9)	0.84
RFG _e 1 lună post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)*	47.2 (39.6- 55.3)	41.8 (31.2- 54.8)	47.4 (39.6- 56)	0.45
Creatinină 3 luni post-TR (mediană, mg/dl)*	1.6 (1.3- 1.9)	1.5 (1.1- 2.1)	1.6 (1.3- 1.9)	0.55
RFG _e 3 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)**	44.5 (36.3- 57.7)	45.7 (33.1- 60.5)	44.5 (35.9- 57.9)	0.93
Creatinină 6 luni post-TR (mediană, mg/dl)**	1.4 (1.2- 1.7)	1.6 (0.8- 2.2)	1.4 (1.2- 1.6)	0.82

RFGe 6 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)**	50.6 (43.4- 62.7)	55.8 (32.1- 99.9)	51.0 (44.0- 62.4)	0.65
Creatinină 12 luni post-transplant (mediană, mg/dl)**	1.3 (1.1- 1.7)	1.8 (1.1- 2.4)	1.3 (1.1- 1.6)	0.15
RFGe 12 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)**	54 (40.6 – 65.9)	35 (29.8- 55.2)	56.1 (41.3- 66.5)	0.02 ^a
Creatinină 18 luni post-TR (mediană, mg/dl)**	1.4 (1.1- 1.8)	1.5 (1.0-1.9)	1.4 (1.2- 1.7)	0.75
RFGe 18 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)**	48.4 (38.2- 56.6)	42.2 (36.4- 59.6)	49.1 (38.4-56.2)	0.66
Creatinină 24 luni post-TR (mediană, mg/dl)***	1.3 (1.1- 1.7)	1.6 (1.0- 2.2)	1.3 (1.2- 1.6)	0.84
RFGe 24 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)***	51.5 (41.2- 59.6)	45.0 (30.5- 58.8)	51.5 (41.6- 62.7)	0.47
Caracteristicile donatorului				
Vârsta (medie, ani)	50 ± 15.5	63.1± 10.1	48.5± 15.4	0.01 ^a
Genul (%)				0.78
Masculin	35 (52.2%)	4 (57.1%)	31 (51.7%)	
Feminin	32 (47.8%)	3 (42.9%)	29 (48.3%)	
Tipul donatorului (%)				0.73
Cadavru	44 (65.7%)	5 (71.4%)	39 (65%)	
Viu	23 (34.3%)	2 (28.6%)	21 (35%)	
Caracteristici asociate transplantului				
TIR (mediană, minute)	705 (120- 960)	740 (75- 832)	695 (126- 975)	0.94
TIC (medie, minute)	28.9 ± 3.8	30.4± 4.4	28.7± 3.7	0.27
Nr. mismatch-uri ≥ 4 (%)	21 (31.3%)	5 (71.4%)	16 (26.7%)	0.02 ^a
Ac anti-HLA specifici anti-donor preformați (%) [#]	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
Ac anti-HLA specifici anti-donor de novo (%)	1 (1.5%)	0 (0%)	1 (1.7%)	
Tratament IS de inducție (%)	6 (10.4%)			0.39
Globulină anti-timocit		2 (28.6%)	9 (15%)	
Anticorpi anti-receptor IL-2		5 (71.4%)	51 (85%)	
Tratament IS de menținere (%)				0.24
ICN				
TAC eliberare imediată	39 (57.2%)	6 (85.7%)	32 (55%)	
TAC eliberare prelungită	28 (42.8%)	1 (14.3%)	27 (45%)	
AM				0.76
MFS	60 (89.6%)	7 (100%)	53 (88.3%)	
MFM	7 (10.4%)	0 (0%)	7 (11.7%)	
Nivel tacrolinemic (C0)				
1 lună (medie, ng/ml)	14.3± 3.3	16.3 ± 3.3	14.1 ± 3.2	0.08
3 luni (medie, ng/ml)	11.8± 3.6	11.1± 2.1	11.9± 3.8	0.56
6 luni (medie, ng/ml)	8.4± 1.8	9.1± 0.5	8.4± 1.8	0.36
12 luni (medie, ng/ml)	7.2± 2	7.3 ± 0.4	7.2± 2.1	0.88
18 luni (medie, ng/ml)	6.8± 2.0	6.7± 0.8	6.9± 2.1	0.16
24 luni (medie, ng/ml)	6.3± 1.2	6.8± 1.4	6.3± 1.1	0.30
Status CMV (%)				0.70
IgG+(P), IgG+(D)	61 (91%)	7 (100%)	54 (90%)	
IgG+(P), IgG-(D)	1 (1.5%)	0 (0%)	4 (6.6%)	
IgG-(P), IgG+(D)	4 (6%)	0 (0%)	1 (1.7%)	
IgG-(P), IgG-(D)	1 (1.5%)	0 (0%)	1 (1.7%)	
Complicații asociate transplantului				
Funcție întârziată a grefei (%)	7 (10.4%)	1 (14.3%)	6 (10%)	0.73
Rejet al grefei (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
Pierderea grefei (%)	5 (7.5%)	1 (14.3%)	4 (6.7%)	0.50
Deces (%)	0 (0%)	0(0%)	0(0%)	-

3.2. Incidența anticorpilor Ac anti- RT₁AT_{II}, dinamica și relația cu Ac anti-HLA specifici anti-donor

Frecvență pre-transplant a Ac anti-RT₁AT_{II} a fost de 10.4%, în timp ce incidență post-transplant a fost de 25.8%. După divizarea Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant în două subcategorii, s-a observat o incidență a Ac anti- RT₁AT_{II} persistenți de 6.5% și a Ac anti-RT₁AT_{II} de novo de 19.3%. Evaluarea în dinamică a pacienților cu Ac anti-RT₁AT_{II} preformați a obiectivat faptul că 4 din cei 7 primitori cu anticorpi preformați (57.1%) au menținut un titru pozitiv la 12 luni post-transplant, la alți 2 pacienți a avut loc o seroconversie negativă (28.6%) și un pacient și-a pierdut grefa în primele 3 luni de la momentul transplantului (Figura 3).

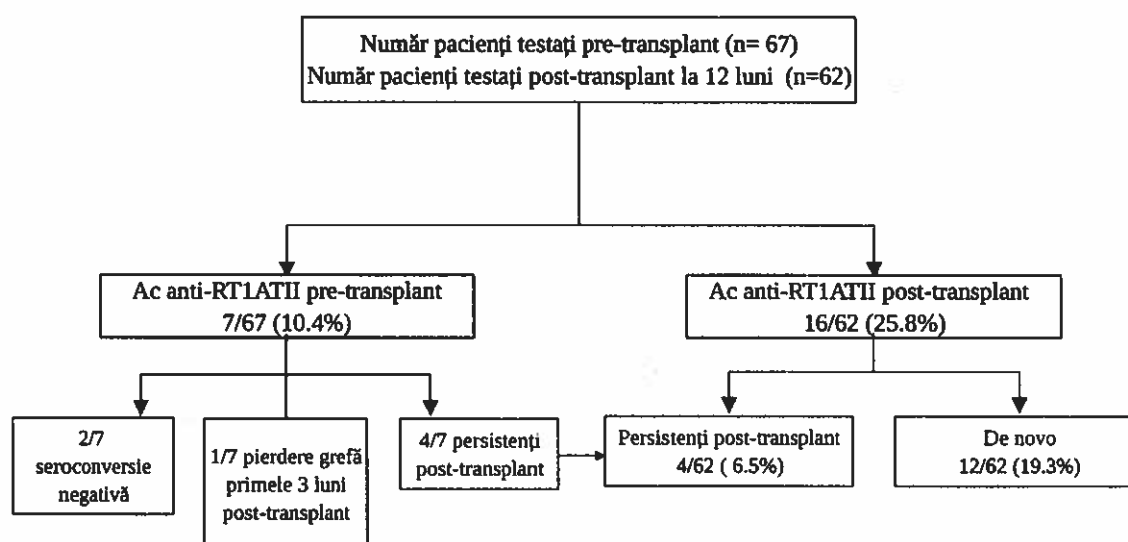


Figura 3. Incidența Ac anti-RT₁AT_{II} pre-transplant și la 12 luni post transplant

Niciun pacient nu a prezentat Ac anti-HLA specifici anti-donor, iar post-transplant a fost identificat un singur pacient cu Ac anti-HLA de novo, fără a asocia Ac anti-RT₁AT_{II} preformați sau dezvoltați post-transplant.

3.3. Caracteristicile pacienților cu Ac anti-RT₁AT_{II} preformați și factorii de risc asociați cu prezența acestora

Pacienții cu Ac anti-RT₁AT_{II} preformați au avut o funcție a grefei semnificativ mai degradată la 12 luni post-transplant în rândul pacienților cu anticorpi preformați [35 ml/min/1.73m² (29.8- 55.2) vs 56.1 ml/min/1.73m² (41.3- 66.5), p=0.02], au beneficiat de grefe provenite de la donatori semnificativ mai vârstnici (63.1± 10.1 vs 48.5± 15.4 ani, p= 0.01) și au

prezentat un nivel mediu tacrolinemiei mai ridicat la 1 lună post-transplant (16.3 ± 3.3 vs 14.1 ± 3.2 ng/ml, $p=0.08$), comparativ cu pacienții fără anticorpi preformați. De asemenea, procentul cazurilor cu ≥ 4 MM au fost semnificativ mai frecvent observate în acest grup de pacienți (71.4% vs 26.7%, $p=0.02$). Cu toate că funcția întârziată și pierderea grefei au fost întâlnite într-o proporție mai mare în grupul pacienților cu Ac anti-RT₁AT_{II} preformați (14.3% vs 10%, $p=0.73$; respectiv 14.3% vs 6.7%, $p=0.50$), nu a existat o diferență semnificativă între grupul cu și fără anticorpi preformați (Tabelul I).

Prezența Ac anti-RT₁AT_{II} preformați nu a fost influențată de factori demografici, comorbidități, etiologia bolii cronice de rinichi, modalitatea de supleere a funcției renale anterior transplantului, statusul infecțios, statusul alergic, condițiile de imunizare determinate de sarcină sau transfuzie sangvină, dislipidemie, hiperglicemie sau valori crescute ale ureei (Tabelul II).

Tabelul II. Analiză de corelație bivariată între titrul Ac anti-RT₁AT_{II} preformați și variabilele primitorului

Caracteristicile primitorului	Coeficient de corelație (r)	Valoare p
Vârsta	0.12	0.33
Genul	-0.12	0.29
Grupul sangvin	0.02	0.85
IMC	-0.10	0.38
HTA	0.04	0.74
DZ	0.08	0.50
Fumător activ/fost fumător	0.11	0.36
Infecție VHB	0.06	0.60
Infecție VHC	0.06	0.59
Istoric tuberculoză	0.15	0.22
Istoric alergie	0.14	0.25
Istoric sarcină	0.04	0.71
Istoric transfuzie sangvină	0.05	0.68
Transplant renal anterior	0.05	0.70
Hemodializă	0.03	0.80
Durată dializă	0.06	0.63
Transplant renal preemptiv	0.003	0.98
Cauza bolii cronice de rinichi	-0.06	0.63
Colesterol seric	0.12	0.31
Trigliceride serice	0.07	0.54
Nivel seric glucoză	0.03	0.77
Uree	0.12	0.30

3.4. Caracteristicile pacienților cu Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant și factorii de risc asociați cu prezența acestora

Caracteristicile pacienților cu Ac anti-RT₁AT_{II} formați post-transplant și specifici de novo la 12 luni post-transplant sunt prezentate în **Tabelul III**. Numărul total de pacienți analizați pentru acest obiectiv al studiului a fost de 62, după ce 5 subiecți au pierdut ireversibil funcția grefei în primele 3 luni post-transplant.

Pacienții cu Ac anti-RT₁AT_{II} au avut o mediana a duratei petrecute în dializă anterior transplantului de aproximativ 2 ori mai mare [33 luni (5.2-90.7) vs 15 luni (1.0- 30.2), $p=0.09$], etiologia BCR reprezentată de glomerulopatii a fost de 2 ori mai frecventă (43.7% vs 21.7%, $p=0.30$), și un nivel mediu al tacrolinemiei la 3 luni post-transplant mai ridicat a (13.3 ± 5.0 vs 11.4 ± 3.0 , $p=0.08$), decât pacienții cu anticorpi negativi post-transplant. Proporția cazurilor cu $\geq 4\text{MM}$ (56.3 % vs 26.1%, $p=0.02$) a fost semnificativ mai frecvent observată, iar tratamentul imunosupresor de inducție bazat pe globulină anti-timocit (43.7% vs 8.7%, $p=0.003$) și cel de menținere bazat de tacrolimus cu eliberare imediată (87.5% vs 45.7%, $p=0.004$) au fost semnificativ mai utilizate în grupul de pacienți cu anticorpi pozitivi post-transplant. În mod asemănător, în rândul pacienților cu anticorpi formați de novo, s-a observat o utilizare semnificativ mai mare a inducției bazată pe globulină anti-timocit (41.7% vs 12%, $p=0.03$) și a imunosupresiei de menținere cu tacrolimus cu eliberare imediată (83.3% vs 50%, $p=0.02$). Deopotrivă, nivelul mediu al tacrolinemiei la 3 luni post-transplant a fost semnificativ mai ridicat în rândul pacienților cu anticorpi de novo (13.9 ± 5.6 vs 11.4 ± 2.9 ng/ml, $p=0.04$) (**Tabelul III**).

Tabelul III. Distribuția și analiza comparativă a pacienților în funcție de statusul Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant și al Ac anti-RT₁AT_{II} formați de novo

Variabile	Ac anti-RT ₁ AT _{II} (+) post-TR (n=16)	Ac anti-RT ₁ AT _{II} (-) post-TR (n=46)	Val. p	Ac anti-RT ₁ AT _{II} (+) de novo (n=12)	Ac anti-RT ₁ AT _{II} (-) de novo (n=50)	Val. p
Primitor						
Vârsta (medie, ani)	41.7 $\pm$ 10.9	40.6 $\pm$ 10.4	0.73	41.5 $\pm$ 11.3	40.7 $\pm$ 10.3	0.83
Genul (%)			0.17			0.52
Masculin	7 (43.8%)	29 (63%)		6 (50%)	30 (60%)	
Feminin	9 (56.3%)	17 (37%)		6 (50%)	20 (40%)	
Grupul sangvin (%)			0.18			0.16
O	4 (25%)	19 (41.4%)		1 (8.3%)	22 (44%)	
A	4 (25%)	15 (32.6%)		3 (33.4%)	15 (30%)	

<i>B</i>	6 (37.5%)	6 (13%)		6 (50%)	6 (12%)	
<i>AB</i>	2 (12.5%)	6 (13%)		1 (8.3%)	7 (14%)	
IMC (medie, kg/m ²)	22.8± 2.7	23.2± 2.9	0.56	22.4± 1.8	23.2± 3.0	0.76
HTA (%)	15 (93.8%)	42 (91.3%)	0.75	12 (100%)	45 (90%)	0.25
DZ (%)	2 (12.5%)	2 (4.3%)	0.28	2 (16.7%)	2 (4%)	0.14
Status fumător (%)	2 (12.5%)	13 (28.3%)	0.18	2 (16.7%)	13 (26%)	0.48
Infecție VHB (%)	2 (12.5%)	6 (13%)	0.95	1 (8.3%)	7 (14%)	0.58
Infecție VHC (%)	1 (6.3%)	4 (8.7%)	0.75	1 (8.3%)	4 (8%)	0.97
Istoric TBC(%)	2 (12.5%)	3 (6.5%)	0.46	2 (16.7%)	3 (6%)	0.26
Istoric alergie (%)	2 (12.6%)	9 (19.6%)	0.51	2 (16.7%)	9 (18%)	0.91
Istoric transfuzie sangvină(%)	8 (50%)	18 (39.1%)	0.44	5 (41.7%)	21 (42%)	0.98
TR anterior (%)	2 (12.6%)	3 (6.5%)	0.25	2 (16.3%)	3 (6%)	0.11
HD(%)	15 (93.8%)	35 (76.1%)	0.12	11 (91.7%)	39 (78%)	0.24
DP (%)	0 (0%)	2 (4.3%)	0.72	0 (0%)	2 (4%)	0.78
Durată dializă (mediană, luni)	33 (5.2-90.7)	15 (1.0- 30.2)	0.09	33 (4.5- 90.7)	15.5 (1.7- 31)	0.23
TR preemptiv (%)	1 (6.3%)	9 (19.6%)	0.17	1 (8.3%)	9 (18%)	0.38
Cauza BCR (%)			0.30			0.36
<i>GP</i>	7 (43.7%)	10 (21.7%)		6 (50%)	11 (22%)	
<i>BRD</i>	1 (6.3%)	1 (2.2%)		1 (8.3%)	1 (2%)	
<i>BRPAD</i>	1 (6.3%)	8 (17.4%)		1 (8.3%)	8 (16%)	
<i>NTI</i>	0 (0%)	3 (6.5%)		0 (0%)	3 (6%)	
<i>Alte cauze</i>	1 (6.3%)	8 (17.3%)		1 (8.3%)	8 (16%)	
<i>Cauze necunoscute</i>	6 (37.4%)	16 (34.8%)		3 (25.1%)	10 (38%)	
Creatinină 24h post-TR (mediană, mg/dl)	3.7 (1.5- 6.2)	3.5 (1.9- 5.7)	0.74	4.4 (1.2- 6.2)	3.5 (1.9-5.7)	0.70
RFGe 24h post- TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)	15.9 (10.8- 37.6)	21(10.2-38.4)	0.91	15.7(10.8- 48.3)	20.7 (10.2-38.4)	0.71
Creatinină 1 lună post-TR (mediană, mg/dl)	1.5 (1.1-1.7)	1.6 (1.3-1.9)	0.22	1.5 (1.1- 1.7)	1.6 (1.3-1.9)	0.24
RFGe 1 lună post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)	48.4 (41.5-62.0)	46.2 (39.2- 54.7)	0.33	48.4 (42.4- 62)	46.2 (39.2- 54.7)	0.26
Creatinină 3 luni post-TR (mediană, mg/dl)	1.5(1.1-1.7)	1.6 (1.3- 2.0)	0.17	1.5 (1.1-1.7)	1.6 (1.3-2)	0.15
RFGe 3 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)	50 (37.9- 59.4)	43.4 (35.5- 57.7)	0.24	50.1 (37.7- 59.4)	43.4 (36.2-57.7)	0.27
Creatinină 6 luni post-TR (mediană,mg/dl)	1.4 (1.1- 1.5)	1.4 (1.2-1.7)	0.34	1.4 (1.1- 1.5)	1.4 (1.2- 1.8)	0.46
RFGe 6 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)	54.1 (42.6- 68.0)	50 (43.6- 62.6)	0.46	54.1 (42.6- 66.4)	50.3 (43.6- 62.7)	0.71
Creatinină 12 luni post-TR (mediană, mg/dl)	1.3 (0.9-1.7)	1.4 (1.2-1.9)	0.38	1.3 (0.9- 1.6)	1.4 (1.2- 1.9)	0.24
RFGe 12 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)	53.4 (39.2-75.9)	54 (40.6-64.6)	0.67	60.6 (42.4- 77.1)	54 (40-64.7)	0.26
Creatinină 18 luni post-TR (mediană, mg/dl)	1.4 (1.0-1.9)	1.4 (1.2- 1.7)	0.57	1.5 (1.0- 2.2)	1.4 (1.2- 1.7)	0.95
RFGe 18 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)	44.9 (31.6- 64.7)	49.0 (38.7- 54.8)	0.89	44.9 (28.6- 70.8)	49.1 (38.3- 55.3)	0.79
Creatinină 24 luni post-TR (mediană, mg/dl)*	1.3 (1.1- 1.8)	1.3 (1.1- 1.7)	0.79	1.3 (1.1- 1.7)	1.3 (1.1- 1.8)	0.74
RFGe 24 luni post-TR (mediană, ml/min/1.73 m ²)*	51.2 (34.7- 66.2)	51.7 (41.7- 59.3)	0.98	51.2 (38.1- 68.3)	51.7 (40.1- 58.7)	0.71
Ac specifici anti-HLA preformați (%)	0 (0%)	0 (0%)	-	0 (0%)	0 (0%)	-
Ac anti-RT _I AT _{II} preformați (%)	4 (25%)	2 (4.3%)	0.02^a	0 (0%)	6 (12%)	0.25
Donator						
Vârsta (medie, ani)	51.4± 17.3	48.6± 15	0.55	48.6± 18.4	49.5± 14.9	0.86

Genul (%)			0.56			0.52
<i>Masculin</i>	9 (56.3%)	22 (47.8%)		7 (58.3%)	24 (48%)	
<i>Feminin</i>	7 (43.7%)	24 (52.2%)		5 (41.7%)	26 (52%)	
Tipul donatorului (%)			0.57			0.76
<i>Cadavru</i>	11 (68.8%)	28 (60.9%)		8 (66.7%)	31 (62%)	
<i>Viu</i>	5 (31.3%)	18 (39.1%)		4 (33.3%)	19 (38%)	
Caracteristici TR						
TIR (mediană, minute)	712.5 (148.2-997.5)	643.5 (110.5-894.7)	0.74	705 (140.7-1046)	666.5 (110.5-805.7)	0.46
TIC (medie, minute)	29.5± 3.9	28.6± 3.9	0.43	28.9± 4.1	28.5± 3.2	0.76
Nr. mismatch-uri ≥ 4 (%)	9 (56.3%)	12 (26.1%)	0.02^a	6 (50%)	15 (30%)	0.14
Tratament IS de inducție(%)			0.003^a			0.03^a
<i>Globulină anti-timocit</i>	7 (43.7%)	4 (8.7%)		5 (41.7%)	6 (12%)	
<i>Anticorpi anti-receptor IL-2</i>	9 (56.3%)	42 (91.3%)		7 (58.3%)	44 (88%)	
Tratament IS de menținere (%)						
ICN						
<i>TAC eliberare imediată</i>	14 (87.5%)	21 (45.7%)	0.004^a	10 (83.3%)	25 (50%)	0.02^a
<i>TAC eliberare prelungită</i>	2 (12.5%)	25 (54.3%)		2 (16.7%)	25 (50%)	
AM						
<i>MFS</i>	14 (87.5%)	42 (91.35)	0.66	10 (83.3%)	46 (92%)	0.71
<i>MFM</i>	2 (12.5%)	4 (8.7%)		2 (16.7%)	4 (8%)	
Nivel tacrolinemie (C0)						
<i>1 lună (medie, ng/ml)</i>	14.9± 4.4	13.9± 2.8	0.19	14.2± 4.4	14.2± 3.0	0.94
<i>3 luni (medie, ng/ml)</i>	13.3±5.0	11.4± 3.0	0.08	13.9± 5.6	11.4± 2.9	0.04^a
<i>6 luni (medie, ng/ml)</i>	8.7± 1.8	8± 1.7	0.22	8.5± 2.0	8.1± 1.8	0.57
<i>12 luni (medie, ng/ml)</i>	7.8± 1.9	7.1± 1.5	0.16	7.6± 2.0	7.3± 1.6	0.55
<i>18 luni (medie, ng/ml)</i>	7.2± 3.4	6.7± 1.2	0.35	7.7± 3.9	6.6± 1.2	0.12
<i>24 luni (medie, ng/ml)</i>	6.2± 1.0	6.4± 1.3	0.61	6.0± 1.0	6.4± 1.2	0.30
Status CMV (%)			0.20			0.15
<i>IgG+(P), IgG+(D)</i>	15 (93.8%)	41 (89.1%)		11 (91.7%)	45 (90%)	
<i>IgG+(P), IgG-(D)</i>	0 (0%)	4 (8.7%)		0 (0%)	4 (8%)	
<i>IgG-(P), IgG+(D)</i>	1 (6.3%)	0 (0%)		1 (8.3%)	0 (0%)	
<i>IgG-(P), IgG-(D)</i>	0 (0%)	1 (2.2%)		0 (0%)	1 (2%)	
Complicații TR						
Funcție întârziată a grefei (%)	0 (0%)	2 (4.3%)	0.27	0 (100%)	2 (4%)	0.34
Rejet al grefei (%)	0 (0%)	0 (0%)	-	0 (0%)	0 (0%)	-
Pierdere grefei (%)	0 (0%)	0 (0%)	-	0 (0%)	0 (0%)	-
Val.- valoare;						
*31/62 de pacienți au atins perioada de urmărire de 24 de luni post-transplant						

Pentru identificarea factorilor de risc asociați cu dezvoltarea Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant și de novo, la 12 luni de la implantarea grefei, au fost realizate două modele separate de regresie logistică binară. În cadrul primului model, analiza de regresie logistică multivariată, a arătat faptul că numărul de MM ≥ 4 (OR= 4.71, 95% CI: 1.11-20.01, p=0.03), tratamentul de inducție cu globulină anti-timocit (OR= 7.40, 95% CI: 1.46- 37.40, p= 0.01) și tratamentul de menținere cu tacrolimus cu eliberare imediată (OR= 7.52, 95% CI: 1.31- 43.07, p= 0.02) reprezintă factori de risc independenți pentru formarea Ac anti-RT₁AT_{II} la 12 luni post-transplant (**Tabelul IV**).

Tabel IV. Model de regresie logistică binară pentru identificarea factorilor de risc asociați cu apariția Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant la 12 luni

Variabile	Regresie logistică univariată			Regresie logistică multivariată		
	OR	95% CI	Valoare p	OR	95% CI	Valoare p
HD	4.71	0.55-39.85	0.15	-	-	-
Durată HD	1.004	0.99-1.01	0.33	-	-	-
Ac anti-RT ₁ AT _{II} preformați	7.33	1.19- 44.96	0.03^a	-	-	-
MM ≥4	3.64	1.11-11.93	0.03^a	4.71	1.11-20.01	0.03^a
Tratament inducție globulină anti-timocit	8.16	1.96- 33.91	0.004^a	7.40	1.46- 37.40	0.01^a
Tratament menținere TAC cu eliberare imediată	8.33	1.69- 40.91	0.009^a	7.52	1.31- 43.07	0.02^a
Nivel TAC 3 luni post-TR	1.41	0.42- 4.75	0.57	-	-	-

În cadrul celui de al doilea model, analiza de regresie multivariată a demonstrat faptul că tratamentul de inducție cu globulină anti-timocit reprezintă singurul factor de risc asociat semnificativ cu prezența Ac anti-RT₁AT_{II} de novo la 12 luni post-transplant (OR= 5.30, 95% CI: 1.30- 22.00, p=0.02) (Tabelul V).

Tabel V. Model de regresie logistică binară pentru identificarea factorilor de risc asociați cu apariția Ac anti-RT₁AT_{II} de novo la 12 luni post-transplant

Variabile	Regresie logistică univariată			Regresie logistică multivariată		
	OR	95% CI	Valoare p	OR	95% CI	Valoare p
TR anterior	3.13	0.64-8.41	0.19	-	-	-
DZ	4.80	0.60- 38.23	0.13	-	-	-
MM ≥ 4	2.33	0.64-8.41	0.19	-	-	-
Tratament inducție globulină anti-timocit	5.23	1.20-21.80	0.02^a	5.30	1.30- 22.00	0.02^a
Tratament menținere TAC cu eliberare imediată	5.00	0.99- 25.10	0.05	-	-	-
Nivel TAC >10 ng/ml la 3 luni post-TR	1.22	0.32-4.63	0.76	-	-	-

Capacitatea de predicție a factorilor de risc identificați pentru estimarea riscului de a dezvolta Ac anti-RT₁AT_{II} la 12 luni post-transplant este reprezentată în Tabelul VI. Prezența unui număr ≥ 4MM a avut o sensibilitate redusă, specificitate acceptabilă și o acuratețe de 69.3%. Tratamentul de inducție cu globulină anti-timocit a prezentat o acuratețe de 79%, o

specificitate ridicată, dar o sensibilitate redusă pentru producția apariției anticorpilor post-transplant și specific de novo, în timp de utilizarea tacrolimusului cu eliberare imediată a avut sensibilitate buna, dar specificitate si acuratețe scăzută.

Tabelul VI. Capacitatea predictivă a factorilor de risc identificați pentru estimarea riscului de formare a anticorpilor la 12 luni post-transplant

	Ac anti-RT _I AT _{II} post-transplant (12 luni)			Ac anti-RT _I AT _{II} de novo (12 luni)
	MM ≥ 4	Inducție globulină anti-timocit	Menținere TAC eliberare imediată	Inducție globulină anti- timocit
	<i>Valoare (95% CI)</i>			
Sensibilitate	56.2% (29.8- 80.2%)	43.7% (19.7- 70.1%)	87.5% (61.6- 98.4%)	41.7% (15.2- 72.3%)
Specificitate	73.9% (58.8- 85.7%)	91.3% (79.2- 97.6%)	54.3% (39.0- 69.1%)	88.0% (75.7- 95.5%)
LR +	2.1 (1.1- 4.1)	5.0 (1.7- 14.9)	1.9 (1.3- 2.7)	3.5 (1.3- 9.5)
LR -	0.6 (0.3- 1.1)	0.6 (0.4- 0.9)	0.2 (0.06-0.9)	0.6 (0.4- 1.1)
VPP	42.8% (28.1- 58.9%)	63.6% (37.0- 83.8%)	40.0% (31.6- 49%)	45.5% (23.4- 69.5%)
VPN	82.9% (73.0- 89.7%)	82.3% (75.0- 87.9%)	92.6% (76.9- 97.9%)	86.3% (79.4- 91.1%)
Acuratețe	69.3% (56.3- 80.4%)	79.0% (66.8- 88.3%)	62.9% (49.7- 74.8%)	79.0% (66.8- 88.3%)

4. Discuții

Datele obținute referitoare la incidența anticorpilor, se încadrează în intervalul raportat în literatură, cuprins între 2.1%-59% [12]. Un aspect remarcat este legat de frecvența mai mică a Ac anti-RT_IAT_{II} preformați în cadrul studiului doctoral, decât cea descrisă în unele din studiile anterioare care au utilizat un cut-off > 10 U/ml (15.7%-48.5%) [14–17]. O posibilă explicație pentru această diferență ar putea fi dată de gradul scăzut de imunizare al pacienților, comparativ cu cel observat în aceste studii. Valori relativ asemănătoare ale frecvenței anticorpilor preformați au fost raportate în studiul lui Hernandez-Mendez (11.7%) și în cel realizat de Cuevas (12%), cu mențiunea că au fost folosite valori de cut-off mai mari, de ≥ 17U/ml, respectiv > 30U/ml. Incidența anticorpilor post-transplant identificată în studiul doctoral se regăsește în aceeași tendință cu cea raportată de Lefaucheur (27.3%) și mai mare decât cea observată de Lee (9.4%), la aceeași valoare de cut-off (> 10U/ml), dar ambele studii au analizat un număr mai mare de pacienți [18,19]. Referitor la incidența Ac anti-RT_IAT_{II} de novo, rezultatele sunt

similare cu cele publicate de Gareau și colaboratorii (16%), cu mențiunea faptului că 53.8% din pacienții cu anticorpi de novo din acest studiu asociau și Ac anti-HLA specifici anti-donor preformați.

De la momentul determinării inițiale, statusul anticorpilor preformați a urmat 2 traiecte principale: persistența post-transplant în cazul a 4 pacienți (57.1%) și seroconversia negativă în cazul a 2 pacienți (28.6%). În mod similar, Taniguchi a observat într-un studiu longitudinal realizat pe 351 de pacienți transplantați, că 58% din cei 60 de pacienți cu Ac anti-RT_IAT_{II} preformați au avut anticorpi persistenți post-transplant, iar la 42% dinamica a condus către seroconversie negativă [20]. De asemenea, Fuss a evidențiat pe un număr de 6 pacienți cu anticorpi preformați că 67% au avut un titru persistent pozitiv post-transplant și la 23% s-a observat seroconversie negativă [21].

La niciunul dintre pacienții din cadrul studiului nu au fost identificați Ac anti-HLA specifici anti-donor pre-transplant, în timp ce post-transplant numai un singur pacient a dezvoltat anticorpi direcționați către moleculele MHC de clasă II, după 15 luni de urmărire, serologia acestuia fiind negativă pentru Ac anti-RT_IAT_{II} preformați sau formați de novo. Astfel, nu a putut fi stabilită o relație între Ac anti-RT_IAT_{II} și Ac anti-HLA. Riscul imunologic relativ redus al cohortei analizate ar putea argumenta absența Ac anti-RT_IAT_{II}. Dintre factorii care ar fi putut favoriza apariția Ac anti-HLA preformați în lotul studiat, transfuziile sangvine (< 5), sarcinile și transplantul anterior au fost prezente la 43.2%, 23%, respectiv 9% din pacienți. Dintre factorii care ar fi putut influența formarea Ac anti-HLA de novo, procentul de pacienți cu >6 mismatch-uri, lipsa de complianță la tratament și evenimente inflamatorii/infecțioase au fost rar întâlnite.

În cadrul studiului am demonstrat faptul că prezența Ac anti-RT_IAT_{II} preformați nu se corelează cu factori demografici, comorbidități, etiologia BCR, modalitatea de supleere a funcției renale anterior transplantului, statusul infecțios, statusul alergic, condițiile de imunizare determinate de sarcină sau transfuzie sangvină, dislipidemie, hiperglicemie sau valori crescute ale ureei. Rezultatele sunt relativ asemănătoare cu cele obținute de Banasik și colaboratorii săi. Pe de altă parte, rezultatele sunt în opoziție cu cele descrise de Kim care a identificat o corelație negativă a anticorpilor preformați cu vârsta primitorului, diabetul zaharat și durata dializei sau cu cele observate de Philogene conform cărora vârsta scăzută a primitorului, genul masculin, numărul transplanturilor anterioare și prezența glomerulosclerozei focale și segmentale se asociază semnificativ cu prezența anticorpilor pre-transplant [22,23]. De asemenea, nu am

observat nicio diferență în ceea ce privește prezența anticorpilor preformați, din punct de vedere al bolii de bază, contrar dovezilor lui Cuevas care a demonstrat într-un studiu anterior faptul că pacienții cu anticorpi pre-transplant > 30 U/ml au avut mai frecvent nefrită lupică ca boală de bază [24].

Factorii de risc independenți asociați cu Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant identificați au fost numărul ≥ 4 MM, tratamentul de inducție cu globulină anti-timocit și tratamentul de menținere cu tacrolimus cu eliberare imediată. Dintre aceștia, tacrolimusul cu eliberare imediată și globulina anti-timocit au oferit un risc de apariție al anticorpilor mai mare de 7 ori, având o putere predictivă bună în termeni de sensibilitate, specificitate și acuratețe. În ceea ce privește anticorpii de novo, singurul factor de risc independent identificat a fost tratamentul de inducție cu globulină anti-timocit, de asemenea cu o capacitate predictivă bună. Studiile care au analizat factorii de risc pentru apariția Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant sunt limitate, iar studiul doctoral efectuat raportează pentru prima dată variabilele menționate anterior ca factori de risc, împreună cu capacitatea lor predictivă, într-o populație de pacienți transplantați renal. Relația dintre numărul de mismatch-uri și probabilitatea de apariție a Ac anti-HLA specifici anti-donor este direct proporțională, un număr > 4 MM crescând semnificativ riscul de apariție al anticorpilor [25]. În schimb, relația dintre numărul de MM și formarea Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant este necunoscută. Aceasta poate fi intermediată de prezența Ac anti-HLA specifici anti-donor la nivelul grefei, chiar și în absența lor în ser la momentul dozării și pune în evidență rolul legăturii dintre aloimunitate și autoimunitate în determinarea injuriei endoteliale și formarea anticorpilor [26]. Fenomenul de legare și sechestrare al anticorpilor în interiorul grefei, împreună cu dozarea la intervale distincte pot explica prezența tranzitorie în ser a anticorpilor și probabilitatea de a nu fi identificați uneori [27]. Astfel, în cazul studiului efectuat, relația cauzală dintre numărul de MM și formarea de Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant poate fi explicată și de absența Ac anti-HLA din ser. Totuși, lipsa unei dovezi histologice limitează confirmarea acestor argumente în cazul de față, rămânând doar la statutul de supoziție. Relația cauzală dintre utilizarea globulinei anti-timocit și prezența Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant pare surprinzătoare la prima vedere, dat fiind rolul pe care îl are în depleția inclusiv a limfocitelor B și implicat în producția de anticorpi, dar și rolul protector asupra endoteliului [28]. Pe de altă parte, inducția cu timoglobulină produce o depleție completă a limfocitelor T reglatorii și întârzie repopularea acestora la distanță [29]. Există dovezi conform cărora limfocitele T reglatorii CD4⁺ CD25⁺

dețin un rol important în menținerea self-toleranței și prevenția fenomenelor autoimune [30]. Astfel, utilizarea tratamentului cu globulină anti-timocit poate favoriza apariția mecanismelor de autoimunitate și, împreună cu condițiile proinflamatorii care cresc expresia tisulară de neoepitopi, poate contribui la formare de Ac anti-RT₁AT_{II} după transplant. Relația dintre tacrolimusul cu eliberare rapidă și formarea Ac anti-RT₁AT_{II} nu a mai fost descrisă în literatură. Există diferențe farmacologice între cele două forme de tacrolimus care pot influența eficacitatea sau apariția reacțiilor adverse. În perioada precoce post-transplant, stabilizarea unui nivel terapeutic optim al tacrolinemiei se obține mai eficient utilizând preparatul cu eliberare prelungită, dar pe termen lung nu există diferențe. Formula cu eliberare imediată, care necesită administrarea în două prize, poate determina mai frecvent episoade de oscilație ale nivelului în afara limitelor terapeutice, mai ales în perioada precoce post-transplant [31]. Astfel, atingerea rapidă a unor concentrații maxime, poate conduce la apariția toxicității asociate tacrolimusului, în special a nefrotoxicității. Aceasta se datorează efectului toxic endotelial, responsabil de disfuncția endotelială și dezechilibrului dintre producția de factori vasodilatatori (oxid nitric, prostaglandine) și vasoconstrictori (endotelină, tromboxan), la care se adaugă creșterea tonusului simpatic. Toxicitatea endotelială a tacrolimusului poate favoriza expunerea antigenelor criptice, precum RT₁AT_{II}, și secundar formarea de Ac anti-RT₁AT_{II}.

Studiul II. Elemente histopatologice asociate rejetului mediat umoral și statusul funcțional al grefei în prezența anticorpilor anti-receptor tip 1 al angiotensinei II

1. Obiective

- Evaluarea leziunilor histopatologice în cadrul rejetului umoral mediat de Ac anti-RT₁AT_{II}
- Evaluarea dinamicii funcției grefei renale în funcție de statusul Ac anti-RT₁AT_{II}
- Evaluarea impactului Ac anti-RT₁AT_{II} pe funcția grefei renale
- Evaluarea impactului Ac anti-RT₁AT_{II} pe supraviețuirea grefei renale

2. Material și metodă

Studiul a inclus același nucleu de pacienți incluși și în primul studiu. Au fost realizate doar biopsii la indicație, biopsiile de protocol nefiind incluse în practica centrului de transplant. A fost luat în considerare doar rejetul dovedit histologic. La pacienții care au efectuat biopsie la indicație, evaluarea fragmentelor bioptice s-a realizat în imunofluorescență, microscopie optică și microscopie electronică. Interpretarea biopsiilor s-a efectuat de către un singur nefropatolog, iar diagnosticul histopatologic și scorificarea s-au realizat pe baza clasificării Banff 2017.

Pentru evaluarea impactului Ac anti-RT₁AT_{II} asupra funcției renale au fost realizate modele de regresie liniară la diferite intervale de timp, în cadrul cărora s-au făcut ajustări pentru covariabile. În analiza efectuată la 3, 6, 12 și 18 luni au fost incluși 62 de pacienți, deoarece 5 și-au pierdut grefa în primele 3 luni, iar pentru evaluarea funcției grefei la 24 de luni au fost incluși doar cei 31 de pacienți care au atins perioadă de urmărire completă, restul fiind în curs de urmărire. Pentru evaluarea impactului Ac anti-RT₁AT_{II} pe supraviețuirea grefei a fost efectuată analiză de regresie Cox, în care variabila dependentă a fost pierderea grefei. Reprezentarea grafică a fost realizată sub forma curbelor de supraviețuire Kaplan-Meier, utilizând ca eveniment de interes pierderea grefei. Semnificația statistică a diferențelor dintre curbe s-a calculat cu ajutorul testului Log-Rank.

3. Rezultate

3.1. Evaluarea leziunilor histopatologice în cadrul rejetului umoral mediat de Ac anti-RT₁AT_{II}

În cadrul lotului analizat a fost realizată o singură biopsie, la un pacient cu proteinurie de rang nefrotic persistentă, la 10 luni de la momentul transplantului. Biopsia de grefă a evidențiat diagnosticul de nefropatie membranoasă stadiul I, cu leziuni de glomeruloscleroză și arterioscleroză, fără să fie observate argumente histologice pentru rejetul mediat umoral. Din punct de vedere imunologic, la momentul transplantului și al efectuării biopsiei de grefă, nu au fost identificați Ac anti-HLA sau Ac anti-RT₁AT_{II} preformați, respectiv de novo. În cadrul evaluării de la 12 luni, Ac anti-HLA s-au menținut cu status negativ, dar Ac anti-RT₁AT_{II} au avut o valoare de 10.5 U/ml. La momentul biopsiei a fost evaluat și titrul anticorpilor anti-receptor de fosfolipază A2, acesta fiind negativ.

3.2. Evaluarea dinamicii funcției renale în funcție de statusul Ac anti-RT₁AT_{II}

RFGe mediană în primele 24-48h post-transplant a fost de 15.8 ml/min/1.73m² (9.9- 37.8), ulterior a înregistrat un trend ascendent până la 12 luni post-transplant când s-a observat o valoare mediană de 54 ml/min/1.73m² (40.6 – 65.9). Evoluția la 18 și 24 de luni post-transplant a arătat o scădere a funcției grefei cu 4.6 ml/min/1.73m² (p<0.001), respectiv cu 2.5 ml/min/1.73m²(p=0.07) (**Figura 4A**).

Comparând evoluția RFGe în grupurile cu și fără anticorpi preformați, se observă o scădere semnificativă statistic a funcției grefei la 12 luni post-transplant în grupul pacienților cu comparativ cu cei fără anticorpi [35 ml/min/1.73m² (29.8- 55.2) vs 56.1 (41.3- 66.5), p=0.02]. Deși RFGe se menține scăzută în grupul pacienților cu anticorpi preformați și la 18 și 24 luni, dar nu semnificativ față de valoarea din grupul pacienților fără anticorpi (**Figura 4B**).

Nu au fost identificate diferențe semnificative în ceea ce privește funcția grefei la 12, 18 și 24 de luni, post-transplant în funcție de statusul Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant și specific de novo determinați la 12 luni post-transplant (**Figura 4C și 4D**).

3.3. Evaluarea impactului Ac anti-RT₁AT_{II} pe funcția grefei renale

În vederea construirii modelelor de regresie liniară pentru evaluarea capacității predictive individuale a Ac anti-RT₁AT_{II} asupra funcției grefei la 12,18 și 24 de luni post-transplant au

fost selectate o serie de variabile cu rol de covariate, pentru care s-au efectuat ajustări în modele de regresie multivariată.

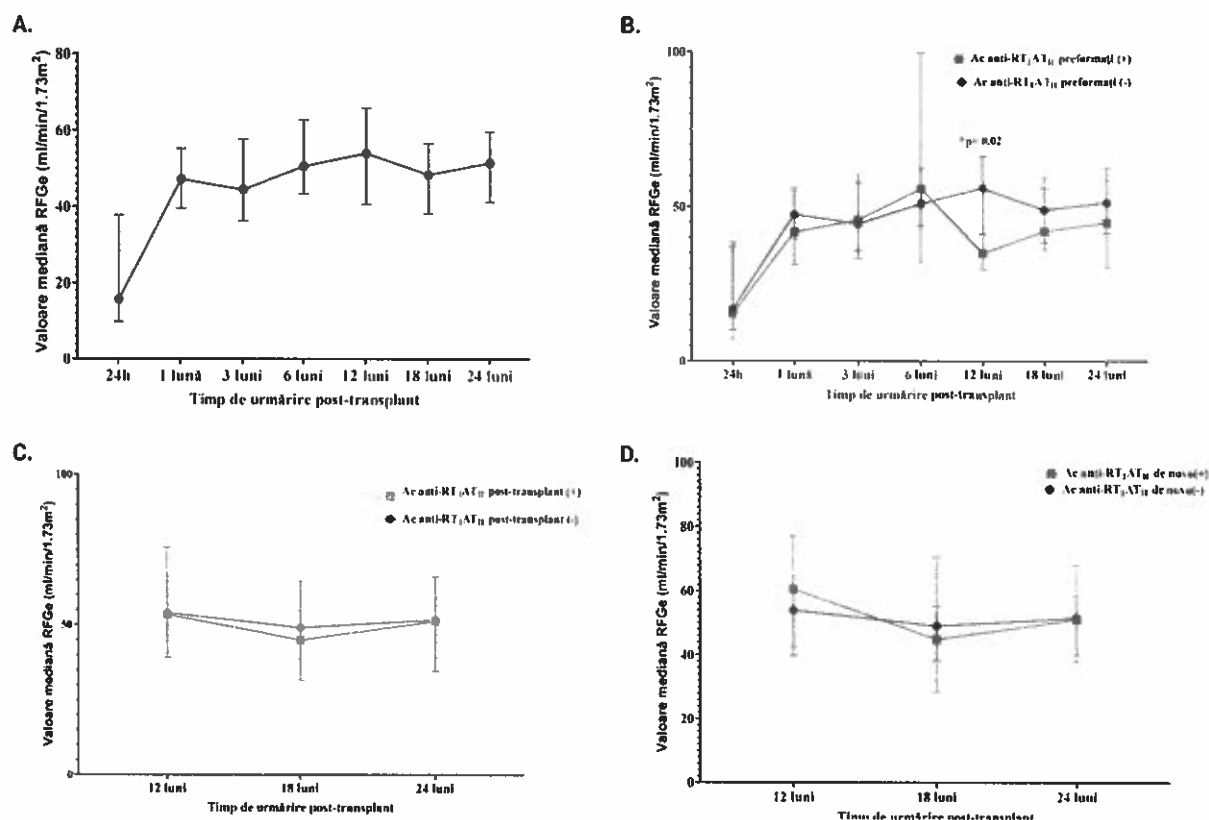


Figura 4. Evoluția funcției renale la nivelul întregului lot și în funcție de statusul Ac anti-RT₁AT_{II}

Conform modelelor 1,2 și 3 de regresie liniară multivariată Ac anti- RT₁AT_{II} preformați, dar nu post-transplant sau de novo, reprezintă un determinant semnificativ al funcției grefei la 12 luni post-transplant, producând o scădere a RFGe cu 15.4 ml/min/1.73m² (β : 15.39, 95% CI: -30.49 - -0.30, p=0.04) (**Tabelul VII**). Pentru a crește acuratețea, a fost creat un model de regresie liniară integrat ce a inclus toate cele 2 categorii de anticorpi (Modelul 4). În urma analizei acestui model s-a observat ca Ac anti- RT₁AT_{II} preformați rămân un determinant semnificativ al funcției grefei la 12 luni post-transplant, independent de prezența anticorpilor post-transplant, inclusiv a celor formați de novo (**Tabelul VIII**).

Tabel VII. Model de regresie liniară pentru evaluarea impactului Ac anti-RT₁AT_{II} preformați, post-transplant și de novo asupra funcția grefei la 12 luni post-transplant

Tip model	Variabile	Regresie liniară univariată (model neajustat)			Regresie liniară multivariată (model ajustat)		
		Coefficient β	95% CI	Valoare p	Coefficient β	95% CI	Valoare p
Model 1	Ac anti-RT ₁ AT _{II} preformați	-15.02	-30.35- 0.30	0.05	-15.39	-30.49 - -0.30	0.04 ^a
Model 2	Ac anti-RT ₁ AT _{II} post-TR	4.48	-6.13- 15.19	0.40	2.78	-8.24- 13.82	0.61
Model 3	Ac anti-RT ₁ AT _{II} de novo	8.93	-2.67- 20.53	0.12	4.97	-6.77- 16.72	0.39

Tabel VIII. Model integrat de regresie liniară multivariată pentru evaluarea impactului Ac anti-RT₁AT_{II} asupra funcția grefei la 12 luni post-transplant

Model 4	Regresie liniară multivariată (model ajustat)		
	Coefficient β	95% CI	Valoare p
Variabile			
Ac anti-RT ₁ AT _{II} preformați	-17.21	-32.97 - -0.45	0.04 ^a
Ac anti-RT ₁ AT _{II} post-TR	13.99	-16.91- 44.90	0.36
Ac anti-RT ₁ AT _{II} de novo	-10.76	-43.90- 22.37	0.51
Model ajustat pentru următoarele variabile: primitor (vârstă, gen, IMC, RFG _e la 24h post-TR, HD, durata HD, Ac anti-RT ₁ AT _{II} post-transplant, Ac anti-RT ₁ AT _{II} de novo), donator (vârstă, gen, tip), transplant (tacrolinemie la 1, 3, 6, 12 luni);			

Analiza de regresie adresată efectului determinant al anticorpilor asupra RFG_e la 18 și 24 de luni a relevat faptul că atât Ac anti-RT₁AT_{II} preformați, cât și Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant, inclusiv cei de novo, nu influențează valoarea funcției grefei la intervalul de timp menționat (Tabelele IX și X).

Tabel IX. Model de regresie liniară multivariată pentru evaluarea Ac anti-RT_IAT_{II} ca determinant pentru funcția grefei la 18 luni post-transplant

Model 5	Regresie liniară multivariată (model ajustat)		
	Coefficient β	95% CI	Valoare p
Variabile			
Ac anti-RT _I AT _{II} preformați	4.75	-9.92- 19.42	0.51
Ac anti-RT _I AT _{II} post-TR	5.01	-11.35- 21.39	0.53
Ac anti-RT _I AT _{II} de novo	-9.60	-26.86- 7.66	0.26
Model ajustat pentru următoarele variabile: primitor (vârstă, gen, IMC, RFG _e la 24h post-TR, RFG _e la 12 luni post-TR, HD, durata HD, Ac anti-RT _I AT _{II} post-transplant, Ac anti-RT _I AT _{II} de novo), donator (vârstă, gen, tip), transplant (tacrolinemie la 1, 3, 6, 12, 18 luni);			

Tabel X. Model de regresie liniară multivariată pentru evaluarea Ac anti-RT_IAT_{II} ca determinant pentru funcția grefei la 24 luni post-transplant

Model 6	Regresie liniară multivariată (model ajustat)		
	Coefficient β	95% CI	Valoare p
Variabile			
Ac anti-RT _I AT _{II} preformați	4.75	-9.92- 19.42	0.51
Ac anti-RT _I AT _{II} post-TR	5.01	-11.35- 21.39	0.53
Ac anti-RT _I AT _{II} de novo	-9.60	-26.86- 7.66	0.26
Model ajustat pentru următoarele variabile: primitor (vârstă, gen, IMC, RFG _e la 24h post-TR, RFG _e la 12 luni post-TR, HD, durata HD, Ac anti-RT _I AT _{II} post-transplant, Ac anti-RT _I AT _{II} de novo), donator (vârstă, gen, tip), transplant (tacrolinemie la 1, 3, 6, 12, 18, 24 luni);			

3.4. Evaluarea impactului Ac anti-RT_IAT_{II} pe supraviețuirea grefei renale

Incidența pierderii grefei renale în cadrul studiului efectuat a fost de 7.5%. Timpul median de la momentul transplantului până la pierderea grefei a fost de 33 de zile (13-87.5). Cele două etiologii incriminate au fost sepsisul cu punct de plecare renourinar (3/5 cazuri) și tromboza de arteră renală (2/5 cazuri). Pacienții din grupul cu pierdere a grefei au prezentat un IMC semnificativ mai mare (26.5 ± 2 vs 22.8 ± 2.9 ani, $p=0.007$), o mediană a timpului petrecut în dializă mai mare [36 (31.5- 91) vs 17 (2.0- 40.5) luni, $p=0.05$], o valoare mediană a creatininei în primele 48h post-transplant semnificativ mai mare [8.1 (6- 12.2) vs 3.6 (1.8- 5.7) mg/dl, $p=0.004$] și un TIR semnificativ mai mare [1005 (794- 1192.5) vs 681.5 (110- 937.5) minute,

$p=0.01$], comparativ cu pacienții din grupul cu greață funcțională. De asemenea, toți pacienții cu pierdere a grefei au prezentat și funcție întârziată a grefei (100% vs 3.2%, $p<0.001$) în primele 7 zile post-transplant (**Figura 5A-D**).

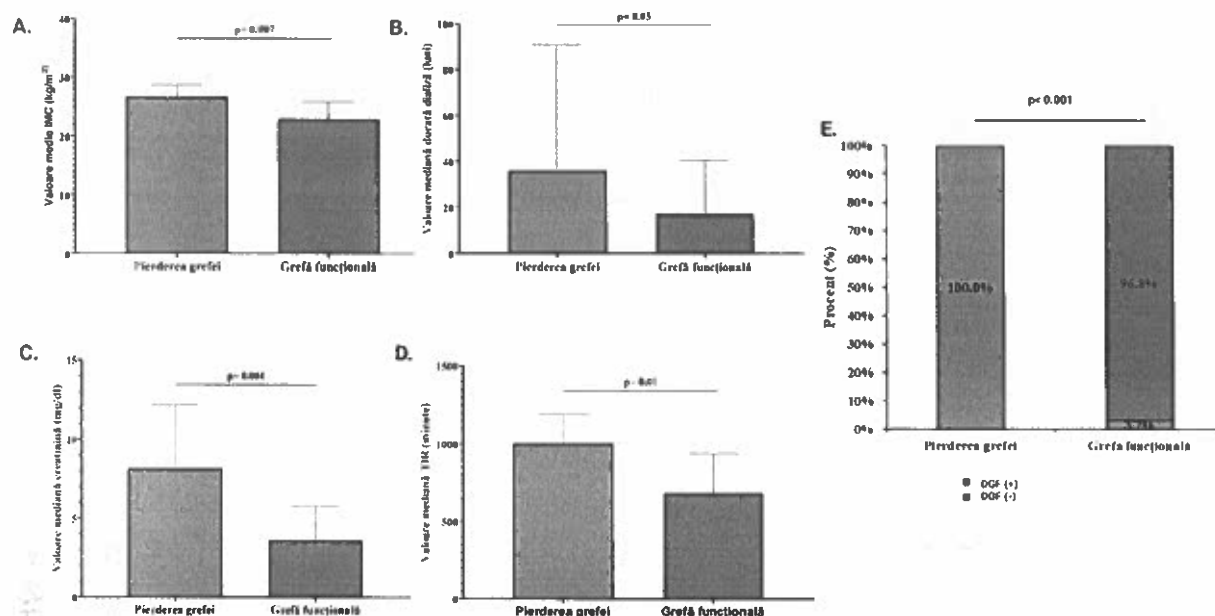


Figura 5. Caracteristicile pacienților cu pierderea grefei

Având în vedere faptul că toate cazurile de pierdere a grefei au survenit în primele 3 luni post-transplant, modelul de regresie Cox pentru testarea Ac anti-RT₁AT_{II} ca potențiali determinanți asupra pierderii/supraviețuirii grefei, a inclus doar subtipul de Ac anti-RT₁AT_{II} preformați, anticorpii post-transplant fiind evaluați la 12 luni post-transplant consecutiv producerii evenimentului de interes. În urma analizei de tip Cox multivariată, singura variabilă care a prezentat un trend de asociere cu pierderea grefei a fost funcția întârziată a grefonului în primele 7 zile post-transplant (HR=18.48, 95% CI: 0.59-57.10, $p=0.09$), în timp ce prezența Ac anti-RT₁AT_{II} preformați nu a fost identificată ca un factor de risc pentru pierderea grefei (HR=1.36, 95% CI: 0.10-14.09, $p=0.80$) (**Tabelul XI**).

Tabel XI. Analiză de regresie tip Cox pentru identificarea factorilor de risc asociați cu pierderea grefei

Variabile	Regresie univariată tip Cox			Regresie multivariată tip Cox		
	HR	95% CI	Val. p	HR	95% CI	Val. p
IMC primitor	1.44	1.07- 1.94	0.01 ^a	0.98	0.49-1.95	0.96
Creatinină 24-48h post-TR	1.44	1.11 -1.87	0.005 ^a	1.27	0.78-2.05	0.32
TIR	1.004	1.001- 1.007	0.03 ^a	1.002	0.99-1.008	0.60
Funcție întârziată a grefei	52.92	5.83-479.67	<0.001 ^a	18.48	0.59-57.10	0.09
Ac anti- RT ₁ AT _{II} preformați > 10 U/mL	2.07	0.23-18.52	0.51	1.36	0.10-14.09	0.80

Rata de supraviețuire a grefei renale identificată la nivelul întregului lot a fost de 95.5% la 1 lună, 92.5% la 3 luni, menținându-se la această valoare la 6, 12, 18 și 24 de luni post-transplant, timpul de urmărire median al pacienților fiind de 23.5 luni (21.0-27.5) (**Figura 6A**). Evaluarea ratei de supraviețuire a grefei conform statusului Ac anti-RT₁AT_{II} a reflectat o supraviețuire de 95% la 1 lună și 93.3% la 3, 6, 12, 18 și 24 de luni post-transplant în cazul pacienților fără Ac anti-RT₁AT_{II} preformați, respectiv 85.7% la intervalele de timp menționate în rândul pacienților cu Ac anti-RT₁AT_{II} preformați, fără evidențierea unei diferențe semnificative statistic (Log-Rank test, p=0.49) (**Figura 6B**).

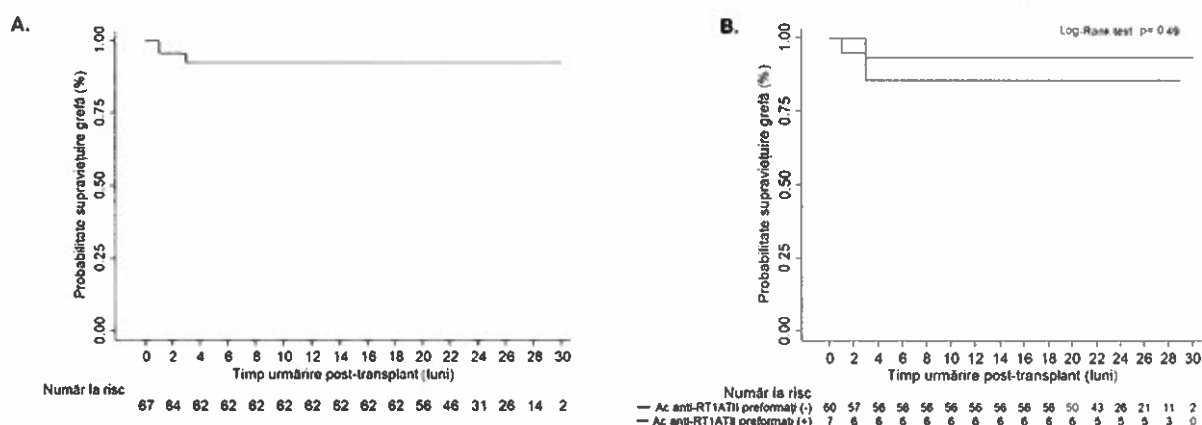


Figura 6. Supraviețuirea grefei la nivelul întregului lot (A), respectiv în funcție de statusul Ac anti-RT₁AT_{II} preformați (B)

4. Discuții

Abordarea diagnostică a rejetului în Centrului de Uronefrologie și Transplant Renal din Institutul Clinic Fundeni se bazează strict pe efectuarea biopsiilor la indicație, biopsiile de protocol nefiind practicate. Acest considerent împreună cu gradul de imunizare scăzut al pacienților și durata relativ scurtă de urmărire pot explica parțial lipsa rejetului în lotul analizat. Astfel, rezultatele obținute în studiul nostru se alătură unei serii de observații provenite din studii anterioare, în care nu s-a dovedit o asociere între prezența acestor anticorpi și apariția rejetului mediat umoral sau celular. Un alt aspect care ar putea să justifice aceste diferențe poate deriva și din design-ul diferit al studiilor. Un studiu prospectiv, precum cel realizat în cadrul cercetării doctorale, poate limita apariția numărului de evenimente în timp ce unul retrospectiv poate supraestima evenimentele datorită riscului mare de bias de selecție. Singura biopsie realizată la indicație, în cadrul studiului, a arătat un diagnostic de nefropatie membranoasă, la momentul respectiv neexistând Ac anti-RT₁AT_{II}, dar aceștia au fost identificați ulterior, la 2 luni de la momentul biopsiei. Cronologia evenimentelor pune în evidență mai degrabă potențialul rol al anticorpilor ca marker lezional, apăruiți consecutiv leziunilor produse de nefropatia membranoasă.

O observație evidențiată în cadrul studiului ține de asocierea Ac anti-RT₁AT_{II} preformați cu o degradare semnificativă a funcției grefei la 12 luni post-transplant. Mai mult, Ac anti-RT₁AT_{II} preformați au fost identificați ca factor de risc independent pentru funcția scăzută a grefei la 12 luni post-transplant. Astfel, studiul nostru confirmă impactul negativ precoce al Ac anti-RT₁AT_{II} preformați pe funcția grefei la 12 luni post-transplant, observat în studii anterioare [32,33]. Impactul anticorpilor asupra funcției renale a fost evaluat în absența rejetului dovedit prin biopsie. Rezultatele obținute sunt asemănătoare cu cele publicate de Pearl, care a evidențiat o funcție a grefei semnificativ mai scăzută la pacienții cu Ac anti-RT₁AT_{II} pozitivi pe parcursul primilor 2 ani post-transplant, în absența leziunilor de rejet [34]. Mecanismul fiziopatologic potențial implicat în scenariul degradării funcției renale la pacienți cu Ac anti-RT₁AT_{II}, în absența rejetului, poate fi mediat de continuumul reprezentat de inflamație și fibroză, stimulat de acțiunea anticorpilor la nivelul RT₁AT_{II} [34,35]. Desigur, o concluzie finală nu poate fi trasată în lipsa efectuării biopsiei de grefă.

Incidența pierderii grefei în lotul analizat a fost de 7.5%, aceasta survenind în primele 90 de zile de la momentul implantării, iar principalele 2 cauze au fost reprezentate de infecții și

tromboze ale arterei renale. Ac anti-RT₁AT_{II} nu au fost asociați cu pierderea sau supraviețuirea grefei pe parcursul perioadei de urmărire. Experiențele anterioare, din cadrul studiilor cu timp de urmărire cuprins între 12-36 de luni, au arătat anumite date similare cu cele observate în cadrul studiului doctoral. Banasik a identificat o supraviețuire a grefei asemănătoare (85%) cu cea observată de noi la pacienții cu Ac anti-RT₁AT_{II} preformați (85.7%) la 12 luni post-transplant, dar, spre deosebire de studiul nostru, aceasta a fost semnificativ mai scăzută decât în cazul pacienților fără anticorpi [32]. Malheiro a identificat o supraviețuire a grefei mai scăzută în cazul acestor pacienți, de ~80% la 12 luni și 75% la 24 luni-post-transplant[17]. Giral a demonstrat în studiul său că nu există diferențe în termeni de pierdere sau supraviețuire a grefei în primii 3 ani de urmărire post-transplant între pacienții cu și fără anticorpi preformați [16]. De asemenea, Gareau nu a observat nicio diferență în ceea ce privește supraviețuirea grefei în primii 2 ani post-transplant [36]. Studiile cu timp de urmărire > 5 ani au dovedit un impact negativ semnificativ pe supraviețuirea grefei în cazul pacienților cu Ac anti-RT₁AT_{II} pozitivi. Astfel, impactul Ac anti-RT₁AT_{II} asupra supraviețuirii grefei poate fi influențat de timpul de urmărire și numărul de pacienți înrolați.

Concluzii și contribuții personale

1. Concluzii

Transplantul renal rămâne metoda electivă de tratament substitutiv a funcției renale la pacienții cu boală cronică de rinichi în stadiul final, fiind superioară dializei cronice, dar succesul acestei proceduri este grevat în principal de apariția formelor de rejet mediat umoral. Implicarea Ac anti-RT₁AT_{II} în fiziopatologia rejetului a determinat un interes major, dar dovezile limitate și uneori contradictorii, legate de prevalență, valorile prag utilizate pentru detecție, asocierea cu fenotipuri diferite de rejet și funcția grefei au limitat implementarea lor în practica medicală. Cu toate acestea, acumularea de date privind Ac anti-RT₁AT_{II} la pacienții transplantați renal provenite din studii heterogene și evidențierea particularităților la nivel populațional poate oferi o abordare complementară a riscului imunologic și poate contribui la implementarea lor în practică. Cercetarea doctorală s-a focalizat pe caracterizarea epidemiologică a Ac anti-RT₁AT_{II}, analiza factorilor de risc asociați, evaluarea aspectelor histopatologice în contextul rejetului mediat umoral și a rolului prognostic al acestor anticorpi asupra funcției și supraviețuirii grefei renale, pentru prima dată, pe un lot de pacienți transplantați renal în România, în cadrul Centrului de Uronefrologie și Transplant Renal al Institutului Clinic Fundeni.

În cadrul primului studiu doctoral, analizând o cohortă de 67 de pacienți transplantați renal cu risc imunologic relativ scăzut și folosind o valoare de cut-off pentru pozitivitatea anticorpilor > 10 U/ml, am demonstrat faptul că 10.4% dintre aceștia prezintă Ac anti-RT₁AT_{II} preformați și am observat o incidență a Ac anti-RT₁AT_{II} la 12 luni post-transplant de 25.8%. Subcategoria de novo a Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant a fost raportată cu o incidență de 19.3%, în timp ce anticorpii persistenți au fost observați la numai 6.5% dintre pacienți. Evaluarea dinamicii Ac anti-RT₁AT_{II} a arătat că 57.1% dintre pacienții cu anticorpi preformați au avut un titru persistent post-transplant și 28.6% au prezentat seroconversie negativă. Nu a fost stabilită o relație cronologică sau fiziopatologică cauzală între Ac anti-RT₁AT_{II} și Ac anti-HLA specifici anti-donor. Am demonstrat faptul că prezența anticorpilor preformați nu este influențată de factori demografici, comorbidități, etiologia bolii cronice de rinichi, modalitatea de supleere a funcției renale anterioră transplantului, statusul infecțios, factorii clasici pro-imunizanți, dislipidemie, hiperglicemie sau de valorile crescute ale ureei pre-transplant. Referitor la factorii de risc

asociați dezvoltării Ac anti-RT_IAT_{II} post-transplant am arătat faptul că utilizarea tacrolimusului cu eliberare imediată, tratamentul de inducție cu globulină anti-timocit și un număr ≥ 4 MM între primitor și donator reprezintă factori de risc independenți pentru dezvoltarea anticorpilor post-transplant. În mod particular, utilizarea globulinei anti-timocit a fost sigurul factor de risc independent asociat cu formarea Ac anti-RT_IAT_{II} de novo. Capacitatea prognostică a acestor factori de risc a reflectat o putere predictivă cu o acuratețe bună.

În cadrul celui de al doilea studiu doctoral, analizând aceeași cohortă de pacienți, nu a fost identificat niciun caz de rejet dovedit histologic pe parcursul perioadei de urmărire. Astfel, caracterizarea leziunilor histopatologice de rejet mediate de Ac anti-RT_IAT_{II} și rolul acestor anticorpi în rejetul umoral nu au putut fi demonstrate. Evoluția RFG_e în funcție de statusul Ac anti-RT_IAT_{II} a reflectat faptul că prezența anticorpilor preformați se asociază cu o funcție a grefei semnificativ mai degradată la 12 luni post-transplant. În mod contrar, prezența Ac anti-RT_IAT_{II} post-transplant nu a influențat dinamica funcției grefei. Mai mult, Ac anti-RT_IAT_{II} preformați, dar nu și cei post-transplant, au fost identificați ca predictori independenți ai funcției grefei, producând o scădere semnificativă a RFG_e cu 15.4 ml/min/1.73m² la 12 luni post-transplant. Incidența pierderii grefei în cadrul acestui studiu a fost de 7.5%, pierderea ireversibilă a funcției renale la acești pacienți având avut loc în primele 90 de zile post-transplant, secundar unor complicații infecțioase sau trombozelor de arteră renală. Deși cu impact pe funcția grefei la 12 luni, prezența Ac anti-RT_IAT_{II} preformați nu a fost identificată ca factor de risc pentru pierderea grefei. Nu a fost observată o diferență semnificativă a ratei de supraviețuire a grefei în funcție de statusul Ac anti-RT_IAT_{II} preformați. Concluzionând, Ac anti-RT_IAT_{II} preformați reprezintă un determinant important al funcției grefei la 12 luni post-transplant, dar nu influențează pierderea sau supraviețuirea grefei în primele 24 de luni post-transplant, în timp ce Ac anti-RT_IAT_{II} dezvoltați post-transplant nu influențează niciunul din end-point-urile menționate anterior.

Studiul doctoral prezintă anumite limitări care pot influența apariția evenimentelor de interes: numărul relativ mic de pacienți înrolați, desfășurarea unicentrică, timpul scurt de urmărire, riscul imunologic mai scăzut al pacienților decât în alte studii și efectuarea biopsiilor strict la indicație. În acest context, impactul semnificativ al Ac anti-RT_IAT_{II} preformați asupra funcției grefei, în lipsa rejetului dovedit histologic, trebuie interpretat cu atenție. Studiul nu oferă informații despre dinamica Ac anti-RT_IAT_{II} detectați la 12 luni post-transplant, aceasta urmând

a fi evaluată în cadrul analizei post-doctorale la 24, 36 și 48 de luni pentru toți pacienții care ating aceste intervale de urmărire.

Evaluarea imunologică centrată strict pe detecția Ac anti-HLA oferă o imagine incompletă asupra riscului imunologic și a probabilității de a dezvolta rejet sau al degradării funcției grefei. Implementarea screening-ului pentru determinarea Ac anti-RT₁AT_{II} preformați la candidații primitori va contribui la o evaluare complementară a riscului imunologic. Testarea serologică, împreună cu efectuarea biopsiilor de protocol la pacienții cu anticorpi pozitivi poate individualiza atitudinea terapeutică, respectiv ar putea preveni injuria grefei mediată de acești anticorpi. De asemenea, evaluarea la intervale regulate a Ac anti-RT₁AT_{II} post-transplant poate identifica pacienții la risc de a dezvolta rejet sau disfuncție de grefă și impune o urmărire riguroasă a funcției renale. Aceste abordări ar putea aduce un real beneficiu în ceea ce privește funcția și supraviețuirea grefei pe termen scurt și lung.

2. Contribuții personale

Cercetarea doctorală a adus o serie de contribuții proprii domeniului investigat. Studiul realizat în cadrul cercetării doctorale este primul care evaluează Ac anti-RT₁AT_{II} pe un eșantion de pacienți transplantați renal din România. De asemenea, design-ul prospectiv al studiului a oferit posibilitatea unei monitorizări cu acuratețe superioară, a redus supraestimarea incidenței Ac anti-RT₁AT_{II} și a riscului de bias de selecție în ceea ce privește pacienții și evenimentele de interes. Utilizarea unor metode de analiză statistică avansată, a crescut puterea statistică a factorilor de risc identificați. O altă particularitate evidențiată în cadrul studiului doctoral a fost reprezentată de identificarea Ac anti-RT₁AT_{II} preformați ca determinant independent al degradării semnificative a funcției grefei la 12 luni post-transplant, în absența rejetului dovedit histologic. Deopotrivă, utilizarea globulinei anti-timocit, utilizarea tacrolimusului cu eliberare imediată și un număr ≥ 4 MM au fost descrise pentru prima dată ca factori de risc independenți pentru dezvoltarea anticorpilor post-transplant. În plus, folosirea unei analize de predicție a crescut acuratețea capacității prognostice a factorilor de risc identificați. Un alt aspect distinct, neraportat până la acest moment, a fost asocierea dintre prezența Ac anti-RT₁AT_{II} de novo și nefropatia membranoasă, cronologia evenimentelor subliniind mai degrabă potențialul rol al anticorpilor ca marker lezional, apăruți consecutiv leziunilor produse de nefropatia membranoasă.

Bibliografie

- [1]. Tonelli M, Wiebe N, Knoll G, Bello A, Browne S, Jadhav D, et al. Systematic review: Kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant.* 2011;11(10):2093–109.
- [2]. Axelrod DA, Schnitzler MA, Xiao H, Irish W, Tuttle-Newhall E, Chang SH, et al. An economic assessment of contemporary kidney transplant practice. *Am J Transplant.* 2018;18(5):1168–76.
- [3]. Coemans M, Süsal C, Döhler B, Anglicheau D, Giral M, Bestard O, et al. Analyses of the short- and long-term graft survival after kidney transplantation in Europe between 1986 and 2015. *Kidney Int.* 2018;94(5):964–73.
- [4]. Hart A, Smith JM, Skeans MA, Gustafson SK, Stewart DE, Cherikh WS, et al. OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report: Kidney. *Am J Transplant.* 2017;17:21–116.
- [5]. Hart A, Lentine KL, Smith JM, Miller JM, Skeans MA, Prentice M, et al. OPTN / SRTR 2019 Annual Data Report : Kidney. *Am J Transplant.* 2021;21(S2):21–137.
- [6]. Mircescu G, Gârneață L. Raportul anual al Registrului Renal Român.Tratamentul Substitutiv Renal În România. 2013;76. Available from: <https://www.spcaroldavila.ro/wp-content/>
- [7]. Raport statistic al Agenției Naționale de Transplant [Internet]. Agenția Națională de Transplant. Available from: <https://www.transplant.ro/Statistica.aspx>
- [8]. Parajuli S, Aziz F, Garg N, Panzer SE, Joachim E, Muth B, et al. Histopathological characteristics and causes of kidney graft failure in the current era of immunosuppression. *World J Transplant.* 2019 Oct;9(6):123–33.
- [9]. Opelz G. Non-HLA transplantation immunity revealed by lymphocytotoxic antibodies. *Lancet.* 2005;365(9470):1570–6.
- [10]. Kamburova EG, Kardol-Hoefnagel T, Wisse BW, Joosten I, Allebes WA, van der Meer A, et al. Development and Validation of a Multiplex Non-HLA Antibody Assay for the Screening of Kidney Transplant Recipients. *Front Immunol.* 2018;9(December):3002.
- [11]. Tait BD, Süsal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary AA, Claas FHJ, et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and Non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation.* 2013;95(1):19–47.

- [12]. Sorohan BM, Ismail G, Leca N, Tacu D, Obrișcă B, Constantinescu I, et al. Angiotensin II type 1 receptor antibodies in kidney transplantation: An evidence-based comprehensive review. *Transplant Rev.* 2020;34(4).
- [13]. Haas M, Loupy A, Lefaucheur C, Roufosse C, Glotz D, Seron D, et al. The Banff 2017 Kidney Meeting Report: Revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials. *Am J Transplant.* 2018;18(2):293–307.
- [14]. Deltombe C, Gillaizeau F, Anglicheau D, Morelon E, Trébern-Launay K, Le Borgne F, et al. Is pre-transplant sensitization against angiotensin II type 1 receptor still a risk factor of graft and patient outcome in kidney transplantation in the anti-HLA Luminex era? A retrospective study. *Transpl Int.* 2017;30(11):1150–60.
- [15]. Min JW, Lee H, Choi BS, Park CW, Yang CW, Kim YS, et al. Clinical impact of pre-transplant antibodies against angiotensin II type I receptor and major histocompatibility complex class I-related chain a in kidney transplant patients. *Ann Lab Med.* 2018;38(5):450–7.
- [16]. Giral M, Foucher Y, Dufay A, Van Huyen JPD, Renaudin K, Moreau A, et al. Pretransplant sensitization against angiotensin II type 1 receptor is a risk factor for acute rejection and graft loss. *Am J Transplant.* 2013;13(10):2567–76.
- [17]. Malheiro J, Tafulo S, Dias L, Martins LS, Fonseca I, Beirão I, et al. Deleterious effect of anti-angiotensin II type 1 receptor antibodies detected pretransplant on kidney graft outcomes is both proper and synergistic with donor-specific anti-HLA antibodies. *Nephrology (Carlton).* 2019 Mar;24(3):347–56.
- [18]. Lefaucheur C, Viglietti D, Bouatou Y, Philippe A, Pievani D, Aubert O, et al. Non-HLA agonistic anti-angiotensin II type 1 receptor antibodies induce a distinctive phenotype of antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients. *Kidney Int.* 2019;96(1):189–201.
- [19]. Lee H, Kim J Il, Moon IS, Chung BH, Yang CW, Kim Y, et al. Investigation of serum angiotensin II type 1 receptor antibodies at the time of renal allograft rejection. *Ann Lab Med.* 2015;35(3):314–20.
- [20]. Taniguchi M, Rebellato LM, Cai J, Hopfield J, Briley KP, Haisch CE, et al. Higher risk of kidney graft failure in the presence of anti-angiotensin II Type-1 receptor antibodies.

- Am J Transplant. 2013;13(10):2577–89.
- [21]. Fuss A, Hope CM, Deayton S, Bennett GD, Holdsworth R, Carroll RP, et al. C4d-negative antibody-mediated rejection with high anti-angiotensin II type I receptor antibodies in absence of donor-specific antibodies. *Nephrology*. 2015;20(7):467–73.
 - [22]. Kim D, Gimferrer I, Warner P, Nelson K, Sibulesky L, Bakthavatsalam R, et al. Preformed Angiotensin II Type-I Receptor Antibodies Are Associated With Rejection After Kidney Transplantation: A Single-Center, Cohort Study. *Transplant Proc* [Internet]. 2018;50(10):3467–72. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2018.05.022>
 - [23]. Philogene MC, Zhou S, Lonze BE, Bagnasco S, Alasfar S, Montgomery RA, et al. Pre-transplant Screening for Non-HLA Antibodies: Who should be Tested? *Hum Immunol*. 2018;79(4):195–202.
 - [24]. Cuevas E, Arreola-Guerra JM, Hernández-Méndez EA, Salcedo I, Castelán N, Uribe-Uribe NO, et al. Pretransplant angiotensin II type I-receptor antibodies are a risk factor for earlier detection of de novo HLA donor-specific antibodies. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;31(10):1738–45.
 - [25]. Kosmoliaptsis V, Gjorgjimajkoska O, Sharples LD, Chaudhry AN, Chatzizacharias N, Peacock S, et al. Impact of donor mismatches at individual HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ loci on the development of HLA-specific antibodies in patients listed for repeat renal transplantation. Vol. 86, *Kidney International*. 2014. p. 1039–48.
 - [26]. Cardinal H, Dieudé M, Hébert MJ. The emerging importance of Non-HLA autoantibodies in kidney transplant complications. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(2):400–6.
 - [27]. Kohei N, Tanabe T, Horita S, Omoto K, Ishida H, Yamaguchi Y, et al. Sequential analysis of donor-specific antibodies and pathological findings in acute antibody-mediated rejection in a rat renal transplantation model. *Kidney Int* [Internet]. 2013;84(4):722–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2013.117>
 - [28]. Mohty M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia*. 2007;21(7):1387–94.
 - [29]. Sewgobind VDKD, Kho MML, Van Der Laan LJW, Hendrikx TK, Van Dam T, Tilanus HW, et al. The effect of rabbit anti-thymocyte globulin induction therapy on regulatory

- T cells in kidney transplant patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(5):1635–44.
- [30]. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, et al. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: Their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev*. 2001;182(7):18–32.
 - [31]. Banas B, Krämer BK, Krüger B, Kamar N, Undre N. Long-Term Kidney Transplant Outcomes: Role of Prolonged-Release Tacrolimus. *Transplant Proc* [Internet]. 2020;52(1):102–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2019.11.003>
 - [32]. Banasik M, Boratyńska M, Kościelska-Kasprzak K, Kamińska D, Bartoszek D, Zabińska M, et al. The influence of non-HLA antibodies directed against angiotensin II type 1 receptor (AT1R) on early renal transplant outcomes. *Transpl Int*. 2014;27(10):1029–38.
 - [33]. Hernández-Méndez EA, Arreola-Guerra JM, Morales-Buenrostro LE, Ramírez JB, Calleja S, Castelán N, et al. Pre-transplant angiotensin II type 1 receptor antibodies: A risk factor for decreased kidney graft function in the early post-transplant period? *Rev Investig Clin*. 2014;66(3):218–24.
 - [34]. Pearl MH, Zhang Q, Palma Diaz MF, Grotts J, Rossetti M, Elashoff D, et al. Angiotensin II Type 1 receptor antibodies are associated with inflammatory cytokines and poor clinical outcomes in pediatric kidney transplantation. *Kidney Int* [Internet]. 2018;93(1):260–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2017.06.034>
 - [35]. Bjerre A, Tangeraas T, Heidecke H, Dragun D, Dechend R, Staff AC. Angiotensin II type 1 receptor antibodies in childhood kidney transplantation. *Pediatr Transplant*. 2016;20(5):627–32.
 - [36]. Gareau AJ, Wiebe C, Pochinco D, Gibson IW, Ho J, Rush DN, et al. Pre-transplant AT1R antibodies correlate with early allograft rejection [Internet]. Vol. 46, *Transplant Immunology*. Elsevier B.V; 2018. 29–35 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trim.2017.12.001>

