

**UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER**  
**FACULTÉS DE MÉDECINE**

---

ANNÉE 2015

2015 TOU3 1563

**THÈSE**

**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

**MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE**

Présentée et soutenue publiquement  
par

**David MILONGO**

Le 17 septembre 2015

**Apport de la protéomique urinaire dans la recherche de  
facteurs prédictifs d'insuffisance rénale chronique chez le  
patient transplanté hépatique : étude prospective.**

Directeur de thèse : Pr Nassim KAMAR

**JURY**

Monsieur le Professeur	Lionel ROSTAING	Président
Monsieur le Professeur	Dominique CHAUVEAU	Assesseur
Monsieur le Professeur	Nassim KAMAR	Assesseur
Monsieur le Docteur	David RIBES	Assesseur
Monsieur le Docteur	Stanislas FAGUER	Suppléant
Monsieur le Docteur	Jean-Loup BASCANDS	Membre invité



**PARTIE I : Importance de la fonction rénale chez le patient transplanté hépatique : de l'inscription sur liste de greffe au suivi postopératoire. Revue de la littérature**

LISTE DES ABBREVIATIONS.....	17
INTRODUCTION.....	18
<b>I. Fonction rénale à l'inscription sur liste de greffe hépatique.....</b>	<b>18</b>
a. Variété des atteintes rénales chez le patient cirrhotique	
b. Difficultés d'évaluation de la fonction rénale chez le patient cirrhotique	
c. Importance de la fonction rénale dans l'accès à la greffe hépatique	
<b>II. Atteintes rénales après transplantation hépatique.....</b>	<b>24</b>
a. L'insuffisance rénale aiguë	
b. L'insuffisance rénale chronique et terminale	
<b>III. Impact de la fonction rénale sur la mortalité.....</b>	<b>28</b>
<b>IV. Facteurs prédictifs de dysfonction rénale.....</b>	<b>29</b>
a. Facteur de risque de dysfonction rénale et de progression vers l'insuffisance rénale terminale	
b. Marqueurs prédictifs de dysfonction rénale	
<b>V. Prévention de l'IRC post transplantation.....</b>	<b>37</b>
a. Facteurs de risques cardiovasculaires	
b. Gestion du traitement immunosuppresseur	
<b>VI. La greffe combinée Foie-Rein.....</b>	<b>41</b>
CONCLUSION.....	44
REFERENCES.....	45

**PARTIE II : Pretransplant urinary proteome analysis does not predict development of chronic kidney disease after liver transplantation.**

RESUME EN FRANÇAIS..... 56

ORIGINAL ARTICLE..... 58

**Abstract**

**Background and aims**

**Patients and methods**

**Results**

**Discussion**

**Acknowledgements**

**References**

**ANNEXES**

**PARTIE I :**

Importance de la fonction rénale chez le patient transplanté hépatique :  
de l'inscription sur liste de greffe au suivi postopératoire.

Revue de la littérature

## LISTE DES ABBREVIATIONS

ADQI: Acute Dialysis Quality Initiative

AKIN: Acute Kidney Injury Network

CKD-EPI: Chronic Kidney Disease EPIdemiology collaboration

CystC : Cystatine C

DFG: Débit de filtration glomérulaire

EER : épuration extrarénale

IAC: International Club of Ascites

ICN : inhibiteurs de la calcineurine

IMC : Index de Masse Corporelle

IRA : insuffisance rénale aigue

IRC : insuffisance rénale chronique

IRT : insuffisance rénale terminale

MDRD: Modification of Diet in Renal Disease

MELD: Model for End-Stage Liver Disease

MMF: mycophénolate mofetil

mTor: mammalian target of rapamycin

NASH : stéatose hépatique non alcoolique

Pcr : créatinine sérique

RIFLE: Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage kidney disease

RRI : Indice de risque rénal

TIPS : Transjugular intrahepatic portosystemic shunt

UNOS: United Network for Organ Sharing

VHC: virus de l'hépatite C

## **INTRODUCTION**

Quelle que soit sa cause, l'évolution naturelle de la cirrhose est marquée par l'apparition de complications en rapport avec l'insuffisance hépatocellulaire et l'hypertension portale. Parmi celles-ci, l'insuffisance rénale.

Elle apparaît comme très polymorphe tant sur le plan étiologique que dans son pronostic. Son évolution peut-être insidieuse ou rapidement progressive, et aboutir à une dysfonction modérée ou sévère. Aucun consensus n'est admis sur ses modalités d'évaluation comme sur sa prise en charge.

Alors que la transplantation hépatique permet la correction des complications liées à la cirrhose, il ne semble pas y avoir de récupération de la fonction rénale. Au contraire, on observe fréquemment une progression de l'insuffisance rénale avec de lourdes conséquences à court et long termes sur la survie des patients greffés.

Dans cette revue de la littérature, nous aborderons les nouveaux concepts de diagnostic permettant de classer la dysfonction rénale chez le cirrhotique. Nous évaluerons l'évolution de la fonction rénale après transplantation hépatique orthotopique avec donneur cadavérique et son impact sur la mortalité et identifierons les facteurs impliqués dans cette évolution péjorative.

Enfin, nous exposerons les principes de prévention de l'insuffisance rénale et proposerons une prise en charge de celle-ci après transplantation hépatique.

### **I. Fonction rénale à l'inscription sur liste de greffe hépatique**

#### **a. Variété des atteintes rénales chez le patient cirrhotique**

Dans la plupart des cas, les patients cirrhotiques ne développent pas un seul type d'atteinte rénale mais une combinaison associant des atteintes rénales fonctionnelles et organiques glomérulaires, tubulo-interstitielles et/ou vasculaires [1, 2].

L'estimation du caractère réversible de ces lésions ainsi que du potentiel de récupération reste un challenge pour les cliniciens. La néphropathie à IgA, la glomérulonéphrite membrano-proliférative, la hyalinose segmentaire et focale et la nécrose tubulaire aiguë associée à la fibrose interstitielle, sont les lésions histologiques

rénales les plus fréquemment mises en évidence chez le cirrhotique même chez les patients à fonction rénale et sédiment urinaire normaux [2].

Sur ces lésions peuvent se rajouter des lésions liées au terrain (ou comorbidités) et aux conséquences de la cirrhose.

En effet, les troubles du métabolisme glucidique sont fréquents dans cette situation : 30 à 70 % des cirrhotiques ont un trouble de la glycorégulation du fait d'une résistance à l'insuline. Des lésions histologiques de néphropathie diabétique sont fréquemment décrites et sont associées à une moins bonne fonction rénale et une protéinurie plus importante.

A l'inverse, on observe une moindre proportion de lésions vasculaires du fait d'une pression artérielle normale ou basse, secondaire au débit cardiaque élevé et à la faible résistance vasculaire périphérique [3].

Par ailleurs les patients cirrhotiques sont sujets à des variations anormales de l'hémodynamique intra rénale à l'origine du syndrome hépato-rénal.

La physiopathologie sous-tend une production endothéliale excessive de NO associée à une insuffisance de production dans le rein, conduisant à une vasodilatation splanchnique, une hypovolémie relative, à l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone, la vasoconstriction artérielle rénale et enfin à la réduction du débit sanguin rénal [4, 5].

En s'appuyant sur ces observations de l'hémodynamique rénale, Mindikoglu et al., proposent de classer les atteintes rénales en 5 stades selon le degré de sévérité, en fonction du débit de filtration glomérulaire (DFG) et du débit plasmatique rénal chez le cirrhotique [6].

Ainsi, Il différencie les patients avec un pré syndrome hépato-rénal (stade I) caractérisés par un DFG normal ou subnormal et un débit plasmatique rénal réduit de ceux, avec un syndrome hépato-rénal type I ou II (stade II) qui ont une baisse du DFG et du débit plasmatique rénal engendrant respectivement des atteintes rénales fonctionnelles aiguës ou chroniques (Annexe I A).

b. Difficultés d'évaluation de la fonction rénale chez le patient cirrhotique

i. Estimation du DFG

Les outils d'évaluation de la fonction rénale se basant sur le dosage de la créatinine sérique restent imparfaits chez ce type de patients.

Une augmentation de la créatinine sérique est souvent un indicateur tardif de lésions rénales.

De plus, les patients cirrhotiques ont un taux basal abaissé de créatinine sérique en raison d'une plus faible masse musculaire, d'une réduction de la production hépatique de créatinine et potentiellement d'une augmentation de la sécrétion tubulaire d'origine iatrogène [7].

En conséquence la mesure de la clairance de la créatinine urinaire, les formules d'estimation du DFG utilisant la créatinine tel que la formule de Cockcroft-Gault ou l'équation MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) surestiment le DFG chez les patients atteints de cirrhose [8-12].

Le gold standard des méthodes d'évaluation de la fonction rénale demeure l'analyse de la clairance de marqueurs exogènes tels que l'inuline, l'iothalamate ou l'iohexol qui sont les méthodes de mesures avec la meilleure précision. Malheureusement ces techniques restent exigeantes, longues, coûteuses et non aisément utilisables en pratique clinique.

Le MDRD à 4 variables et le CKD-EPI (Chronic Kidney Disease EPIdemiology collaboration) sont les équations d'estimation du DFG actuellement les plus utilisées [13, 14]. Pourtant, la plupart des études chez le patient cirrhotique montrent que ces 2 équations surestiment le véritable DFG de 10 à 15 ml/min/1,73m<sup>2</sup> [7, 11, 15]. En prenant les stades avancés de dysfonction rénale (DFG inférieur à 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>), Francoz et al., ont mis en évidence une grande surestimation du DFG (+20-25 ml/min/1,73m<sup>2</sup>) par les formules MDRD-4 et CKD-EPI [15].

Le MDRD à 6 variables intégrant l'âge, l'ethnie (Caucasien versus Afro-Américain), le sexe, la créatinine sérique, l'albumine sérique et l'urée sanguine, est la plus précise des équations d'estimation du DFG basée sur la créatinine sérique chez le patient cirrhotique stable [16]. En effet il surestime à un moindre degré le DFG chez le cirrhotique avec DFG <60ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (+6 ml/min/1,73m<sup>2</sup> en moyenne) et sous-estime le DFG (-9 ml/min/1,73m<sup>2</sup>) pour des valeurs de fonction rénale normales. Cependant l'âge avancé, l'hyponatrémie, l'ascite et la perfusion d'albumine peuvent être

source de discordance (8,6% des cas) entre le DFG estimé et mesuré. Ainsi, cette équation ne peut pas s'appliquer chez le cirrhotique décompensé.

La cystatine C appartient à la superfamille des inhibiteurs de la cystéine-protéase. Elle est produite par l'ensemble des cellules nucléées de l'organisme et joue un rôle protecteur en limitant les destructions tissulaires dues aux enzymes relarguées lors de la mort cellulaire.

De part ses propriétés de molécule librement filtrée et non réabsorbée ou sécrétée au niveau rénal et de son indépendance vis-à-vis de la masse musculaire, de l'âge et du sexe, la cystatine C semble être la molécule de choix chez le patient atteint de cirrhose.

En 2012, Inker et al., propose une nouvelle estimation du DFG basée sur le dosage de la cystatine C seule (CKD-EPI-cystC) ou en combinaison avec la créatinine sérique (CKD-EPI-Pcr-cystC)[17].

Sur la base des différentes études récentes avec méthodes de dosage standardisées, les performances des équations d'estimation du DFG basée sur la cystatine C apparaissent supérieures à celles basées sur la créatinine sérique chez le patient présentant une cirrhose avancée (moins de biais et plus de précision) même si ces performances sont plus faibles que celles rapportées dans la cohorte non cirrhotique de validation de l'équation [18, 19].

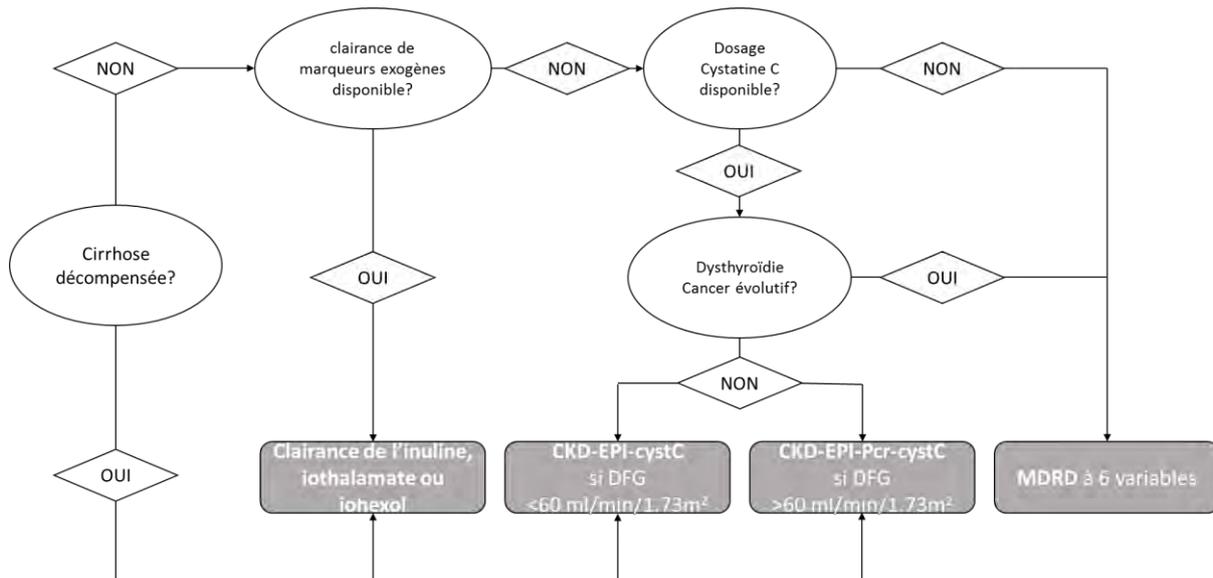
De plus, ces équations ont l'avantage d'être indépendantes de la présence et de l'importance de l'ascite et de la sévérité de la maladie hépatique estimée par le score de MELD (Model for End-Stage Liver Disease) [18, 20].

CKD-EPI-cystC a la meilleure performance si le DFG est inférieur à 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> mais tend à surestimer la sévérité de la dysfonction rénale lorsque DFG est supérieur à 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>.

CKD-EPI-Pcr-cystC montre les meilleures performances pour des DFG normaux (>90 ml/min/1,73m<sup>2</sup>) ou pour les baisses modérées de DFG (60-90 ml/min/1,73m<sup>2</sup>).

Les taux de cystatine C peuvent malgré tout varier indépendamment du DFG dans certaines situations telles que l'utilisation de corticoïdes, la thyrotoxicose ou le cancer évolutif [21]. Il existe également des variations intra individuelles de cystatine C équivalentes aux variations de créatinine [22].

Au regard de la littérature, nous proposons un algorithme décisionnel pour le choix des méthodes d'estimation ou de mesure de la fonction rénale chez le patient cirrhotique basé sur la précision de l'évaluation de la fonction rénale.



**Figure 1 : algorithme décisionnel pour le choix des méthodes d'estimation ou de mesure de la fonction rénale chez le patient cirrhotique** basé sur la précision de l'évaluation de la fonction rénale.

## ii. Utilité de l'évaluation de l'hémodynamique rénale

Les patients porteurs de cirrhose sont sujets à une modification des volumes de distribution et à des variations de l'hémodynamique rénale rendant difficile l'interprétation de la clairance de marqueurs exogènes. Le syndrome hépato-rénal s'accompagne d'une vasoconstriction rénale réflexe pouvant être documentée par échographie doppler [23].

Chez le cirrhotique en décompensation oedémato-ascitique, il est noté une augmentation des index de résistance précédant l'altération biologique de la fonction rénale [24]. Le traitement de la décompensation de cirrhose ou la transplantation hépatique permet la régression des index de résistance [25]. Le doppler pourrait donc être un outil utile pour identifier les patients avec dysfonction rénale précoce, clarifier les mécanismes de la dysfonction rénale et aider à la prise en charge thérapeutique des anomalies de l'hémodynamique rénale.

Récemment, Mindikoglu et al. ont proposé une évaluation de l'hémodynamique rénale chez le cirrhotique par la mesure du débit rénal plasmatique et des index de résistance rénale [26]. En cas de cirrhose décompensée, il observe une baisse du débit plasmatique rénale et une augmentation des index de résistance rénale qui précèdent et sont corrélés à la baisse du DFG mesuré.

### c. Importance de la fonction rénale dans l'accès à la greffe hépatique

Le score MELD (Model for End-Stage Liver Disease) est un système de notation permettant d'évaluer la gravité d'une maladie hépatique chronique.

Initialement développé pour prédire le pronostic vital à trois mois d'une chirurgie de shunt intra-hépatique par voie transjugulaire (TIPS), il est aujourd'hui un score de risque de mortalité des patients sur liste d'attente de transplantation hépatique à partir de donneur cadavérique. Ce score est principalement utilisé depuis février 2002 par le réseau United Network for Organ Sharing (UNOS) et Eurotransplant pour hiérarchiser la répartition des transplants hépatiques. Plus le score MELD est élevé, plus le patient sera prioritaire pour la greffe.

Il intègre les valeurs de la bilirubine totale sérique, de la créatinine sérique et de l'INR selon la formule suivante :

$$MELD = 3,78 \times \ln(\text{bilirubinémie (mg/dL)}) + 11,2 \times \ln(\text{INR}) + 9,57 \times \ln(\text{créatininémie (mg/dL)}) + 6,43$$

Contrairement au score Child-Pugh, le score de MELD prend en compte la créatinine sérique qui en est une composante importante. En conséquence, depuis la mise en place de ce score, la proportion de patient cirrhotique avec une insuffisance rénale au moment de la greffe augmente au cours du temps [27].

Cependant l'utilisation de la créatinine sérique dans la formule MELD présente quelques limites.

En effet, il existe deux méthodes de mesure de la créatinine, enzymatique ou colorimétrique. Cette dernière sous-estime les valeurs de la créatinine lorsque la bilirubine sérique est élevée. De ce fait, la méthode enzymatique est préférable pour la mesure de la créatinine et son utilisation dans la formule du MELD [28].

De même, des divergences interindividuelles entre les créatinines sériques existent malgré des fonctions rénales identiques. La différence naturelle de créatinine sérique observée entre les femmes et les hommes n'est pas prise en compte dans le score de MELD. En conséquence, pour un même score de MELD les femmes auront une moins bonne fonction rénale et un moins bon pronostic [29]. Les mêmes différences sont observées selon l'ethnie [30].

De manière intéressante, Finkenstedt et al. ont comparé une formule MELD basée sur la créatinine à une formule MELD basée sur la cystatine C. La substitution de la créatinine

par la cystatine C n'améliore pas le pouvoir prédictif du MELD sur la mortalité à court terme même si la différence de sexe semble moins prononcée avec le score de MELD basé sur la cystatine C [31]. Une étude comparant le MELD corrigé par le DFG estimé selon la formule MDRD a montré des résultats similaires sur l'estimation de la mortalité [32].

## II. Atteintes rénales après transplantation hépatique

La dysfonction rénale est fréquente après une transplantation hépatique. Cependant, les données sur l'histoire naturelle de la fonction rénale après la transplantation hépatique sont très hétérogènes. Il est communément admis qu'en moyenne le DFG décline rapidement dans la première année puis se stabilise ou décroît plus progressivement par la suite (Annexe IC) [33-36].

### a. L'insuffisance rénale aiguë (IRA)

En période post opératoire, l'IRA est une complication fréquente. Cependant le manque de critères diagnostiques consensuels est responsable d'une variabilité de son incidence en fonction des études.

En 2004, la 2<sup>e</sup> conférence de consensus du groupe ADQI (Acute Dialysis Quality Initiative) a établi la classification RIFLE (Risk of kidney dysfunction, Injury to the kidney, Failure of kidney function, Loss of kidney function, and End-stage kidney disease) basée sur les modifications du DFG et de la diurèse, adoptée en 2010 par l'IAC (International Club of Ascites) pour le patient cirrhotique quelle que soit la cause de l'insuffisance rénale.

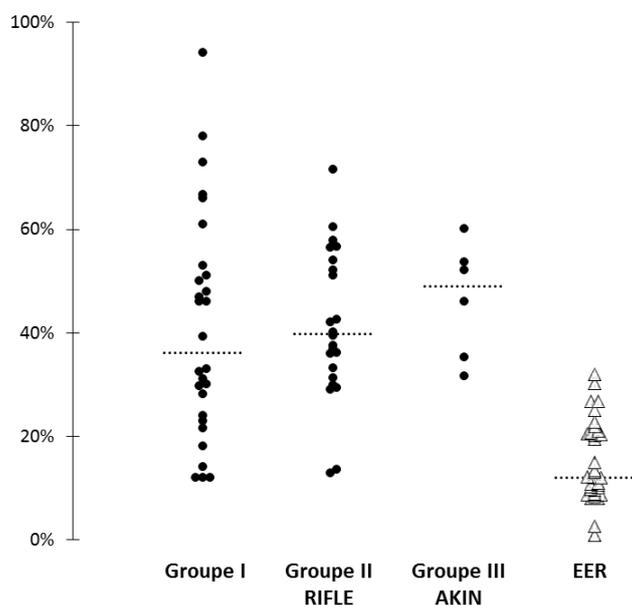
En 2011, le groupe AKIN (Acute Kidney Injury Network) a affiné les critères RIFLE pour donner naissance à la classification AKIN (Annexe I.B). Par ces critères plus sensibles, elle prend en compte des défaillances rénales moins sévères et par conséquent augmente l'incidence de l'IRA [37]. Le comité ADQI-IAC, suggère l'utilisation des critères AKIN chez le cirrhotique pour le diagnostic d'IRA [4].

A travers la plateforme de recherche informatique PubMed, nous avons répertorié dans la littérature, l'ensemble des études observationnelles évaluant l'incidence de l'IRA en postopératoire chez le patient transplanté hépatique.

Nous avons sélectionné 64 études observationnelles entre 1985 et 2015 correspondant à ces critères [37-92]. Nous avons classé ces études en 3 catégories en fonction de leurs critères diagnostiques de l'IRA : les études évaluant l'IRA selon les critères AKIN (groupe III : médiane année publication 2013), selon les critères RIFLE (groupe II : médiane année publication 2012) et un dernier groupe utilisant d'autres critères (groupe I : médiane année publication 2004).

Comme on peut s'en apercevoir il existe une grande variabilité d'incidence de l'IRA en fonction des études et celle-ci est plus grande pour le groupe I et II que pour le groupe III. Par ailleurs on observe une incidence moyenne de l'IRA qui augmente avec les nouveaux critères diagnostiques établis.

Ceci s'explique par une meilleure sensibilité des critères les plus récents de diagnostic d'IRA ; cependant on ne peut exclure un effet période avec une modification des pratiques au cours du temps. Par exemple, Leithead et al. mettent en évidence que l'utilisation croissante de greffons hépatiques marginaux est associée à une incidence accrue d'IRA [47].



**Figure 2 : Incidence de l'insuffisance rénale aiguë et de la prise en charge en épuration extrarénale (EER) après transplantation hépatique.** 64 études entre 1985 et 2015 évaluant l'insuffisance rénale aiguë selon les critères AKIN, RIFLE ou autres.

Actuellement, on estime qu'en moyenne 50% dans patients transplantés hépatiques vont développer une IRA en période post opératoire. Parmi ces patients, 15% nécessiteront une épuration extrarénale.

95% des IRA se développent dans les 7 jours suivant la greffe et sont habituellement attribuées à un MELD élevé, à la présence d'une ascite ou à une hypotension per opératoire prolongée [62].

L'IRA tardive apparaissant après la première semaine post-opératoire est principalement associée à des complications infectieuses, une reprise chirurgicale, un retard ou l'absence de reprise de fonction hépatique.

Le taux de récupération après IRA avec ou sans nécessité d'épuration extra rénale est estimé entre 60 et 80% [50, 51]. Cette récupération semble associée à l'existence d'un syndrome hépato-rénal pré greffe et peut survenir, de quelques jours à plusieurs mois après l'opération.

## b. L'insuffisance rénale chronique et terminale

### i. Incidence

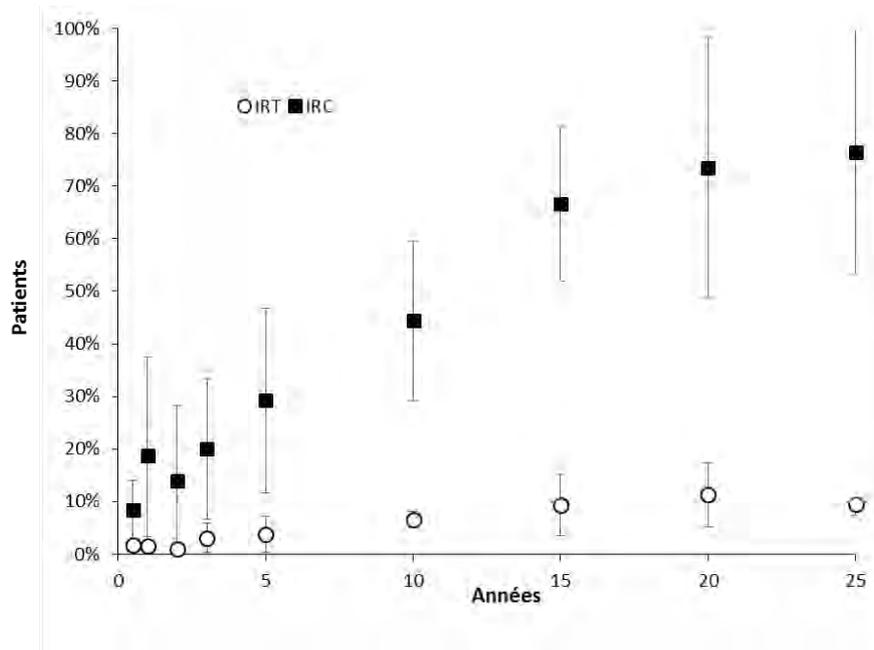
La survenue d'une insuffisance rénale chronique (IRC) est fréquente après transplantation d'organe principalement lors des greffes hépatique et intestinale [93].

Nous avons recensé 45 études observationnelles entre 1990 et 2014 évaluant l'incidence de l'IRC en post transplantation hépatique [33-36, 41, 46, 50, 57, 69, 75, 77, 88, 92-123].

Elle survient chez 10% à 80% des patients greffés. Cette grande variabilité s'explique par des définitions, des méthodes de mesures et une durée de suivi inhomogènes entre les études. En effet, certaines utilisent le taux de créatinine tandis que d'autres s'appuient sur des seuils ou de variations du DFG.

Pour y remédier, nous avons répertorié pour chaque étude le pourcentage de patients développant une maladie rénale chronique au cours du temps, quel que soit le critère d'IRC utilisé, auquel nous avons soustrait le pourcentage de patients avec IRC avant transplantation. Nous constatons que l'incidence de la maladie rénale chronique augmente de manière constante avec le temps mais semble se stabiliser avec un plateau à partir de 20 ans après la greffe.

A 1 an post greffe, en moyenne 19% des patients développent une IRC contre 29 et 74 % respectivement à 5 ans et 15 ans post greffe. De même, l'incidence de l'IRT évolue dans le même sens au cours du temps (en moyenne, 4 et 12% respectivement à 5 ans et 15 ans post greffe).



**Figure 3 : Incidence de l'insuffisance rénale chronique et terminale au cours du temps.**

#### ii. Apport de l'histologie

Peu d'études se sont intéressées aux lésions rénales chez le transplanté hépatique insuffisant rénal chronique. L'analyse histologique des biopsies rénales chez ces patients confirme que les lésions rénales sont nombreuses, variées, complexes et multifactorielles.

Contrairement aux lésions histologiques rénales du patient cirrhotique, il est retrouvé peu de lésions glomérulaires primitives spécifiques (néphropathie à IgA, glomérulonéphrite membranoproliférative cryoglobulinémique, microangiopathie thrombotique ou glomérulonéphrite extracapillaire).

La majeure partie des atteintes sont des lésions, vasculaires, de nécrose tubulaire aiguë ou glomérulaires aspécifiques (épaississement de la membrane basale glomérulaire, élargissement fibreux des axes mésangiaux, lésions de hyalinose segmentaire et focale, glomérulosclérose nodulaire diabétique ou effacement des podocytes constaté en microscopie électronique) [124].

Dans 15 à 50% des cas s'associent des lésions secondaires à la toxicité des anticalcineurines caractérisées au niveau histologique par une hyalinose artériolaire nodulaire ou une fibrose interstitielle en bande [125]. De rares cas de glomérulonéphrite extra membraneuse, de néphropathie à dépôts d'oxalates ou de néphropathie à BK virus, ont été également décrits [126, 127].

La grande variabilité des lésions observées en post transplantation ainsi qu'une plus faible représentation des lésions histologiques pré greffe, suggère la survenue de nouveaux évènements toxiques pour le rein [124].

Compte tenu de l'importance des lésions aspécifiques en post greffe, l'évaluation histologique constitue un challenge dans sa quantification des lésions. Dans de précédentes études, nous avons proposé d'évaluer le pourcentage de pains à cacheter, de nécrose tubulaire aiguë et selon la classification de Banff, la fibrose interstitielle (ci), l'atrophie tubulaire (ct) et l'épaississement intimal (cv) [99, 128].

De la même manière, Kubal et al. proposent un score histologique pronostique basé sur la gradation semi quantitative des lésions histologiques telles que l'inflammation, l'atrophie tubulaire, la fibrose interstitielle, l'épaisseur intimal et l'épaississement des axes mésangiaux. Il a montré que ce score histologique est fortement corrélé à la survie rénale.

Il est intéressant de constater que des lésions histologiques sévères telles que celles de la glomérulosclérose, l'endartérite fibreuse et la fibrose interstitielle ont été observées même chez les patients avec fonction rénale normale ( $DFG \geq 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ) [99].

### **III. Impact de la fonction rénale sur la mortalité**

Les causes majeures de mortalité après greffe hépatique sont, la dysfonction hépatique, les tumeurs malignes, les causes cardiovasculaires, les infections et l'insuffisance rénale.

La mortalité par atteinte du greffon, caractérisée par la récurrence de la maladie hépatique et le rejet chronique ou aigu, représente moins d'un tiers des décès [129]. La plupart des études rapportent une relation forte entre l'insuffisance rénale et la survie des patients [27, 112].

En période pré transplantation, la dysfonction rénale est un facteur prédictif indépendant de mortalité immédiate et à long-terme, proportionnel au degré de sévérité de l'atteinte rénale [130-132]. L'élévation de la créatinine s'accompagne également d'une moins bonne survie chez les patients transplantés hépatiques [70, 73, 113].

L'IRA post opératoire est un facteur de mauvais pronostic conduisant à une augmentation de la mortalité à court terme ( $\leq 1$  an) de manière exponentielle avec le stade de l'IRA (risque relatif de décès de 2,55 à 3,2 selon les études) [62, 133].

De la même façon, la nécessité d'épuration extra rénale en post opératoire s'associe à un sur-risque de mortalité [44, 81].

L'IRC post transplantation hépatique est un facteur de risque indépendant de mortalité à court et long-terme. Dans une méta analyse, Fabrizi et al., démontrent que la survenue d'une IRC après transplantation hépatique majore le risque de mortalité de 4,35 fois [134]. En transplantation d'organe en général, le risque de mortalité est 4,55 fois plus élevé en cas de survenue d'IRC [93].

De façon générale, on peut retenir que la dysfonction rénale pré et post transplantation hépatique est responsable d'un risque accru de mortalité compris entre 2,5 et 7,5 fois, et ce d'autant plus si la dysfonction rénale est sévère ou si elle nécessite une épuration extrarénale et également en cas d'apparition tardive (> 1 an après la transplantation) [129].

Plus récemment, Allen et al. ont mis en place un modèle d'évaluation du risque de mortalité basé sur le DFG mesuré ou estimé et sur les valeurs de la créatinine dans une cohorte de 1 211 transplantés hépatiques suivis pendant 25 ans (Annexe I.D). À partir d'une baisse du DFG mesuré en dessous de 60ml/min/1,73m<sup>2</sup>, la mortalité augmente exponentiellement (risque relatif de décès augmentant jusqu'à 5,5 fois). En utilisant la créatinine on retrouve une courbe en U avec un sur-risque de mortalité pour des valeurs extrêmes (< 0,75 et > 2 mg/dL) [35].

#### **IV. Facteurs prédictifs de dysfonction rénale**

##### **a. Facteurs de risque de dysfonction rénale et de progression vers l'insuffisance rénale terminale**

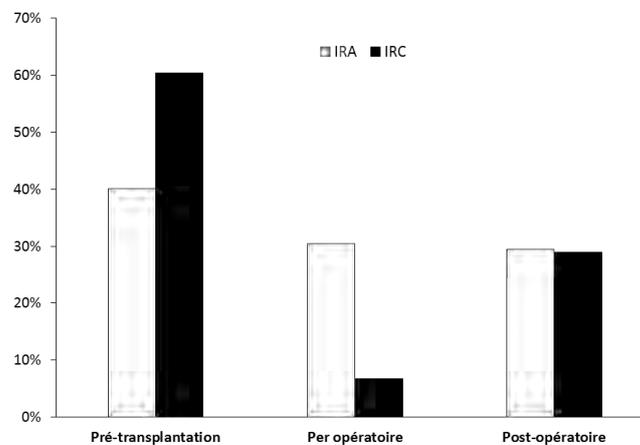
La dysfonction rénale après transplantation hépatique est multifactorielle. Habituellement les facteurs de risque de dysfonction rénale post transplantation hépatique se classent en trois groupes :

- facteurs de risque pré greffe : la cirrhose ou ses complications.
- facteurs de risque péri opératoires : qualité du greffon hépatique, acte opératoire.
- facteurs de risque post opératoires : traitements immunosuppresseurs, suites opératoires.

Nous avons recensé ces facteurs prédictifs par analyse uni ou multivariée à partir de 98 études observationnelles publiées entre 1996 et 2015 [27, 33, 34, 36, 37, 39-60, 62-64, 66-72, 74, 81, 86-90, 92-106, 108-116, 123-125, 128, 131, 132, 135-153].

De manière intéressante, la proportion de facteurs de risque pré-transplantation, per et post opératoires est différente selon l'atteinte rénale aiguë ou chronique.

En effet, les évènements pré transplantation semblent influencer préférentiellement la survenue d'atteinte rénale chronique tandis que les évènements per opératoires sont responsables d'IRA.



**Figure 3 : Comparaison des proportions des facteurs de risque pré-transplantation, per opératoire et post-opératoire intervenant dans l'apparition d'une IRA ou IRC.**

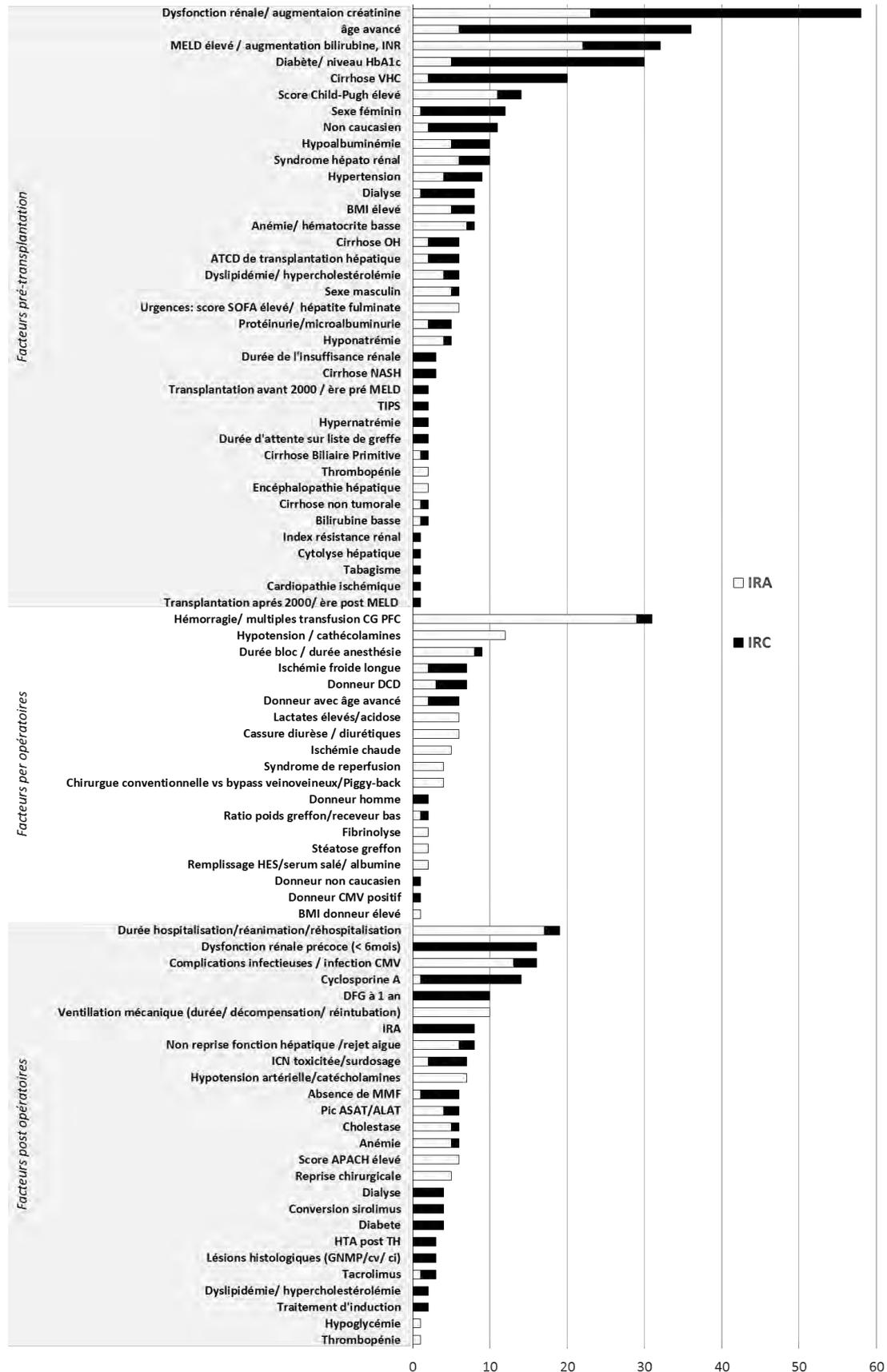


Figure 4 : Recensement des facteurs de risque pré-transplantation, per opératoire et post-opératoire d'IRA ou IRC en fonction du nombre d'études les citant.

## i. Facteurs de risque pré transplantation

## - Facteurs rénaux intrinsèques

Le niveau de fonction rénale avant transplantation, estimé par la créatinine ou le DFG, est un paramètre déterminant sur l'évolution de la fonction rénale en post greffe [41, 44, 46, 64, 66, 70, 77, 93, 94, 97, 98, 101, 104, 105, 112, 136, 137, 140-143].

En effet, l'altération de la fonction rénale au moment de la transplantation est un facteur de risque indépendant de développement d'IRA ou IRC en post greffe, d'autant plus important que la durée de la dysfonction rénale prégreffe est prolongée [94, 107, 134]. De manière intéressante, Edmund et al ont mis en évidence que les patients avec atteinte rénale avant greffe (DFG<60ml/min/1,73m<sup>2</sup>) peuvent présenter une amélioration de la fonction rénale à M3 mais restent à haut risque d'IRC avancée (DFG <30ml/min/1,73m<sup>2</sup>) à 5 ans. Par ailleurs, plus le DFG initial est altéré, plus la dysfonction rénale surviendra rapidement [111].

De même, une protéinurie, une microalbuminurie, des Index de résistance élevés sont associés à un plus grand risque de dysfonction rénale après greffe hépatique [54, 103, 113].

## - Facteurs liés au terrain

Le sexe féminin est retrouvé dans certaines études comme facteur de risque d'IRC post greffe hépatique comme en transplantation cardiaque et pulmonaire [36, 46, 93, 94, 104, 123, 139]. Une explication possible serait une sensibilité féminine accrue à la toxicité des inhibiteurs de la calcineurine.

En revanche, l'IRA post opératoire est plutôt associée au sexe masculin [43, 60, 62, 69]. Les facteurs de risque cardiovasculaires tel que l'âge avancé, le diabète, un Index de Masse Corporelle (IMC) élevé, l'hypertension artérielle, la dyslipidémie et le tabagisme sont également associées au déclin de la fonction rénale après transplantation hépatique [88, 93, 101, 102, 105, 109, 146].

## - Facteurs liés à la maladie causale

Le risque de développer une dysfonction rénale est associée au type de cirrhose hépatique. En effet, seules les cirrhoses virales hépatite C (VHC), les stéatoses hépatiques non alcooliques (NASH), les cirrhoses alcooliques et les cirrhoses biliaires

primitives sont reconnus comme des facteurs de risques de dysfonction rénale post greffe [33, 36, 92-94, 140, 141, 147, 149].

Les mécanismes par lesquels le VHC affecte la fonction rénale à court terme et long terme ne sont pas clairement compris. Les infections VHC compliquées de glomérulonéphrite membranoproliférative sont associées à un moins bon DFG avant transplantation. Par ailleurs, il est constaté en post greffe une augmentation de la répllication virale à l'introduction des traitements immunosuppresseurs et une incidence accrue de diabète qui peuvent participer à la dégradation de la fonction rénale.

De la même façon, la sévérité de la cirrhose caractérisée par un score de MELD ou de Child-Pugh élevé, une hypoalbuminémie, un syndrome hépato-rénal, une encéphalopathie hépatique ou la nécessité de mise en place d'un TIPS est associé à la fois au développement d'une IRA et au risque de progression vers IRC [42, 44, 52, 87, 90, 100, 103, 113, 131, 132, 140, 148].

De manière intéressante, les cirrhoses compliquées de carcinome hépatocellulaire développent moins de dysfonction rénale en post greffe [68, 114]. Cette dernière donnée peut s'expliquer par un accès à la transplantation sans cirrhose décompensée.

#### ii. Facteurs de risque per opératoires

Le développement d'une IRA est principalement influencé par les facteurs per opératoires.

Les collapsus ou hémorragies per opératoires associés à l'hypovolémie réduisent la perfusion rénale et augmentent le risque d'IRA [37, 39, 40, 46, 47, 63, 64, 66, 68].

Le temps de clampage veineux est également responsable d'une congestion rénale, d'une baisse, du débit sanguin, de la contractilité, des résistances périphériques responsable d'instabilité hémodynamique et de lésions rénales aiguës supplémentaires [45, 58, 60].

Peu de facteurs per opératoires ont un impact sur l'évolution vers l'IRC. Cependant, la qualité du greffon semble influencer la fonction rénale à long terme. En effet, un greffon hépatique de donneur de sexe masculin non caucasien d'âge avancé, CMV positif et une ischémie froide prolongée sont à risque d'IRC post greffe [27, 108, 146, 147].

iii. Facteurs de risque post transplantation

Plusieurs études ont montré l'importance du monitoring du DFG la première année post opératoire car il permet la détection des patients à risque d'IRC à long terme.

En effet, la survenue d'IRA post greffe dans les 6 premiers mois ou à 1 an après la greffe sont est associée à la progression de la maladie rénale chronique à 5 ans ou plus [34, 72, 88, 94, 95, 98, 102, 106].

Nous avons pu mettre en évidence qu'une élévation de la créatinine très précoce entre J3 et J5, n'entrant pas dans les critères insuffisamment sensibles d'IRA, était corrélée à une moins bonne fonction rénale à 6 mois ou 1 an [92, 149].

Les facteurs de risque cardiovasculaires tels que l'hypertension artérielle, la dyslipidémie et le diabète peuvent être présents avant greffe mais peuvent également apparaître après transplantation, principalement en lien avec les traitements immunosuppresseurs (Inhibiteur de la calcineurine, Inhibiteur de mTOR, corticoïdes). Ces facteurs de risques cardiovasculaires persistants après la greffe favorisent la progression de la maladie rénale chronique [88, 97, 114, 124, 128].

Le choix du traitement immunosuppresseur est également déterminant dans la prévention de la dégradation de la fonction de la fonction rénale (cf infra) [103, 104, 107, 112, 114].

Les facteurs de risque post opératoires d'IRA sont représentés par des marqueurs de gravité de l'état du patient tels que la ventilation mécanique, la durée d'hospitalisation ou de réanimation, les complications infectieuses, l'instabilité hémodynamique ou encore le score APACH II élevé [37, 49, 51, 62, 86].

On retrouve en post opératoire l'importance de la fonction hépatique puisque l'absence de reprise de fonction, le rejet aigu, la cholestase ou le pic de cytolyse sont prédictifs de la survenue d'une IRA [57, 68, 132].

b. Marqueurs prédictifs de dysfonction rénale

Ces 10 dernières années, de nouveaux concepts se sont focalisés sur la mise en place et la détection de marqueurs non invasifs de néphrotoxicité. Ces marqueurs permettent d'identifier avant transplantation ou au stade précoce post greffe, les patients à haut risque de dysfonction rénale et ainsi adapter au mieux les protocoles d'immunosuppression [154].

## i. Model de prédiction de l'IRC à long terme

Giusto et al. ont mis en place et validé un modèle de prédiction de l'IRC 12 mois après transplantation hépatique, basé sur une analyse de régression prenant en compte le DFG, l'HTA et les épisodes d'infections sévères [97]. Ce modèle est limité par un nombre restreint de variables contrastant avec l'ensemble des facteurs de risques identifiés à ce jour.

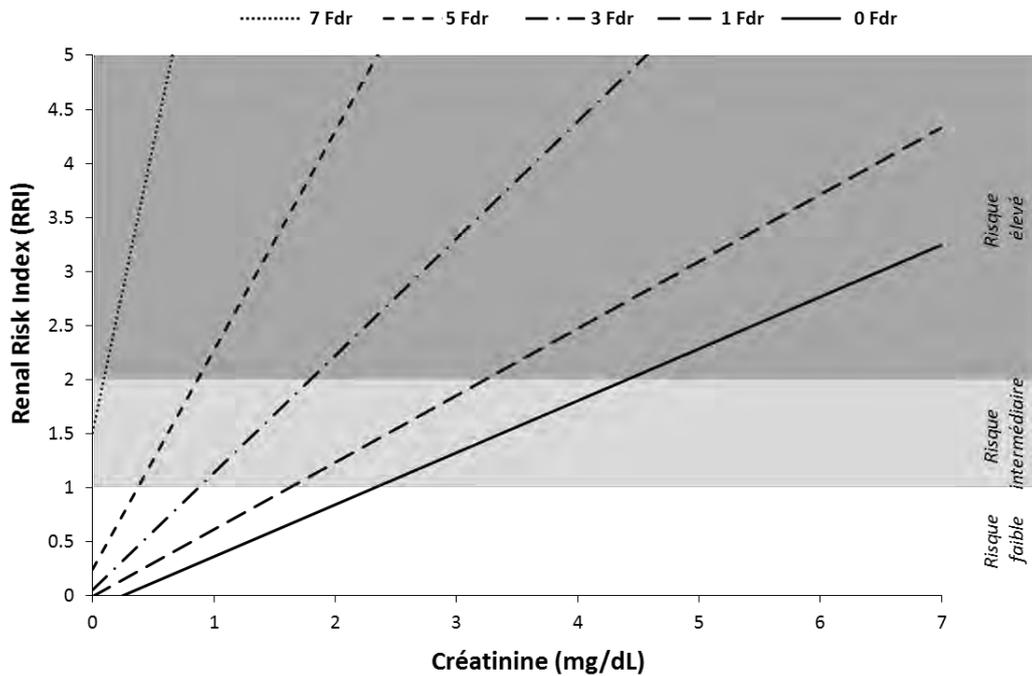
En se basant sur une cohorte de 39611 patients transplantés hépatiques, Israni et al., proposent un modèle de prédiction d'IRT dans les 6 premiers mois ou dans les 5 ans après transplantation hépatique.

Ce modèle prend en compte davantage de variables telles que l'âge, les antécédents de diabète, de cancer ou de dialyse, l'origine ethnique, le statut hépatite C, l'IMC, l'index de risque du donneur, les dosages d'albumine, de bilirubine et de créatinine sérique. Il offre l'avantage d'aider les cliniciens dans leurs décisions grâce à de meilleures informations prédictives de risque [143]. Cependant devant la complexité du modèle et la non prise en compte des facteurs de risques post greffe, ce modèle semble difficilement utilisable en pratique clinique.

Dans la même lignée, Sharma et al proposent un Indice de risque rénal (RRI disponible sur le site <https://rri.med.umich.edu/>) qui décrit le risque d'insuffisance rénale terminale (IRT) après transplantation hépatique. Il permet d'estimer l'incidence cumulative de l'IRT à 1,3 et 5 ans post-transplantation hépatique en prenant en compte l'âge, le BMI, l'ethnie, le statut UNOS du patient, la présence d'un TIPS et des paramètres biologiques tels que la créatinine, la bilirubine, l'albumine et la natrémie [115].

En utilisant le modèle de Sharma, nous proposons une analyse simplifiée de prédiction à long terme d'IRC et de progression vers l'insuffisance rénale terminale.

Cette analyse prend en référence un patient cirrhotique de 40 ans sans facteurs de risque d'IRC. Elle propose une classification en 3 niveaux du risque d'IRT en fonction des dosages de la créatinine. Cette stratification du risque d'IRT est basée sur l'Indice de risque rénal (RRI). Chacun facteurs de risques proposés par Sharma sont à prendre en compte dans cette analyse car modifiant la pente de la courbe et augmentant la probabilité d'IRT.



**Figure 5 : Analyse simplifiée de prédiction de l'évolution vers l'insuffisance rénale terminale basée sur l'index de risque rénal en fonction du taux de créatinine et des facteurs de risques. D'après les calculs du RRI selon Sharma et al. 2013.**

## ii. Utilité des Biomarqueurs

Près de 30 marqueurs de lésions rénales aiguës (principalement tubulaires) ont été étudiés pour la détection précoce, le diagnostic différentiel et le pronostic d'insuffisance rénale aiguë. Ils peuvent être dosés dans le sang ou dans les urines. Parmi les plus prometteurs, sont recensées l'interleukine 18 (IL-18), la kidney injury molecule 1 (KIM-1), la liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) et la neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL).

Chez le patient cirrhotique, une élévation de ces biomarqueurs semble davantage associée à des lésions structurelles rénales plutôt qu'à une atteinte fonctionnelle [155, 156]. Ils sont même considérés dans certaines études comme des facteurs prédictifs d'IRA après transplantation hépatique. Cependant, aucune corrélation n'a été montrée avec le développement d'IRC après transplantation.

Contrairement aux biomarqueurs urinaires, les biomarqueurs plasmatiques semblent plus adaptés à la prédiction d'IRC à court terme. Aberg et al., ont montré qu'un dosage plasmatique de NGAL > 260 µg/l avant transplantation hépatique augmente de 18 fois le risque de dysfonction rénale à 3 mois.

Levitsky et al. ont précédemment analysé la protéomique plasmatique chez 342 patients ayant un DFG normal avant transplantation. Ces auteurs ont constaté l'existence d'une association entre un profil protéomique plasmatique et le développement de la maladie rénale chronique après transplantation [144].

## V. Prévention de l'IRC post transplantation

La prévention de l'IRC après transplantation hépatique doit être considérée comme une priorité du fait de son impact majeur sur la morbi-mortalité. Un monitoring étroit et une prise en charge précoce des facteurs de risque modifiables permettent de prévenir la progression de l'IRC et la survenue d'IRT.

### a. Facteurs de risques cardiovasculaires

Les facteurs de risques cardiovasculaires sont très fréquents chez les patients transplantés hépatiques.

Le stade de cirrhose est défini par un état d'hyper métabolisme associé à une résistance à l'insuline. C'est la normalisation de cet hyper métabolisme, associée à des perturbations du métabolisme des lipoprotéines et des glucides qui semblent à l'origine du statut post-transplantation à haut risque cardiovasculaire.

Les médicaments immunosuppresseurs jouent également un rôle majeur dans le développement de ces facteurs de risques. Ils sont responsables d'hypertension artérielle, d'une diminution de la production et de la sécrétion de l'insuline et d'une majoration du taux de cholestérol et de triglycérides.

L'hypertension, le diabète et la dyslipidémie sont associés au déclin de la fonction rénale après transplantation hépatique. Par conséquent, leur contrôle strict est nécessaire en pré et post-transplantation permettant ainsi de limiter le déclin de la fonction rénale [46].

L'Hyperuricémie, complication fréquente post transplantation d'organe, semble corrélée au développement de l'IRC. Le traitement par allopurinol permet une réduction significative de la créatinine après transplantation hépatique [107, 157].

## b. Gestion du traitement immunosuppresseur

Les inhibiteurs de la calcineurine (ciclosporine et tacrolimus), constituent la pierre angulaire du traitement immunosuppresseur en transplantation d'organes malgré leur néphrotoxicité.

Cette néphrotoxicité chronique est caractérisée par une hyalinose artériolaire aboutissant à une variété de lésions tubulo-interstitielles et glomérulaires, de mécanisme essentiellement ischémique. L'absence de spécificité des lésions rend difficile le diagnostic histologique de néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine (ICN).

La survie du greffon hépatique n'étant que partiellement impactée par le rejet aigu, les pratiques actuelles évoluent vers une réduction progressive de l'exposition des patients aux ICN en greffe hépatique [129].

Les stratégies utilisées pour minimiser la toxicité rénale des ICN incluent la réduction ou le sevrage complet des ICN par l'ajout de mycophénolate mofetil (MMF) ou d'inhibiteur de mTor (mammalian target of rapamycin).

Un schéma basé sur un traitement d'induction (Basiliximab ou sérum antilymphocytaire) avec introduction retardée des anticalcineurines peut être également proposé.

L'utilisation de ciclosporine a été considérée dans plusieurs études observationnelles comme à plus haut risque de dégradation de la fonction rénale que le tacrolimus [93, 97, 100, 103, 108, 112]. Il est aujourd'hui admis que le tacrolimus permet une amélioration de la survie du patient et la prévention du rejet aigu après transplantation hépatique par rapport à la ciclosporine. Il augmenterait en revanche le risque de diabète post-transplantation[158].

Dans une revue de la littérature et méta-analyse portant sur 32 essais contrôlés randomisés et 32 études observationnelles, Rodríguez-Perálvarez et al., ont pu déterminer que des concentrations résiduelles réduites de tacrolimus (6-10 ng/ml) dans le premier mois après la transplantation hépatique sont associées à moins de dysfonction rénale à 1 an (RR = 0,51), sans influence significative sur le rejet aigu par rapport aux concentrations résiduelles recommandées de tacrolimus (> 10 ng/ml)[159].

Du fait de l'absence de néphrotoxicité, le MMF a montré des effets protecteurs sur la fonction rénale dans les stratégies de réduction ou sevrage des ICN en transplantation

hépatique [100, 114, 160-164]. L'utilisation de MMF en monothérapie semble par contre s'accompagner d'un risque plus élevé de rejet [161, 163, 165, 166].

Plusieurs études ont démontré un effet favorable de l'éverolimus dans la préservation de la fonction rénale. La réduction ou sevrage des ICN avec introduction précoce [167-172] ou retardée [65, 173, 174] d'éverolimus sont associés à une amélioration de la fonction rénale (augmentation du DFG entre +5 et +10ml/min/1,73m<sup>2</sup>) sans risque ajouté de rejet.

En revanche le bénéfice d'une stratégie de réduction des ICN par l'ajout de sirolimus semble actuellement controversé. Plusieurs études ne retrouvent pas d'amélioration significative de la fonction rénale sous sirolimus mais cependant un risque de rejet, de sepsis ou de mortalité plus important [175-179].

Des régimes d'immunosuppression sans corticoïdes sont souhaitables dans certaines situations telles que le diabète, l'hypertension, le syndrome métabolique, l'obésité ou encore chez les enfants.

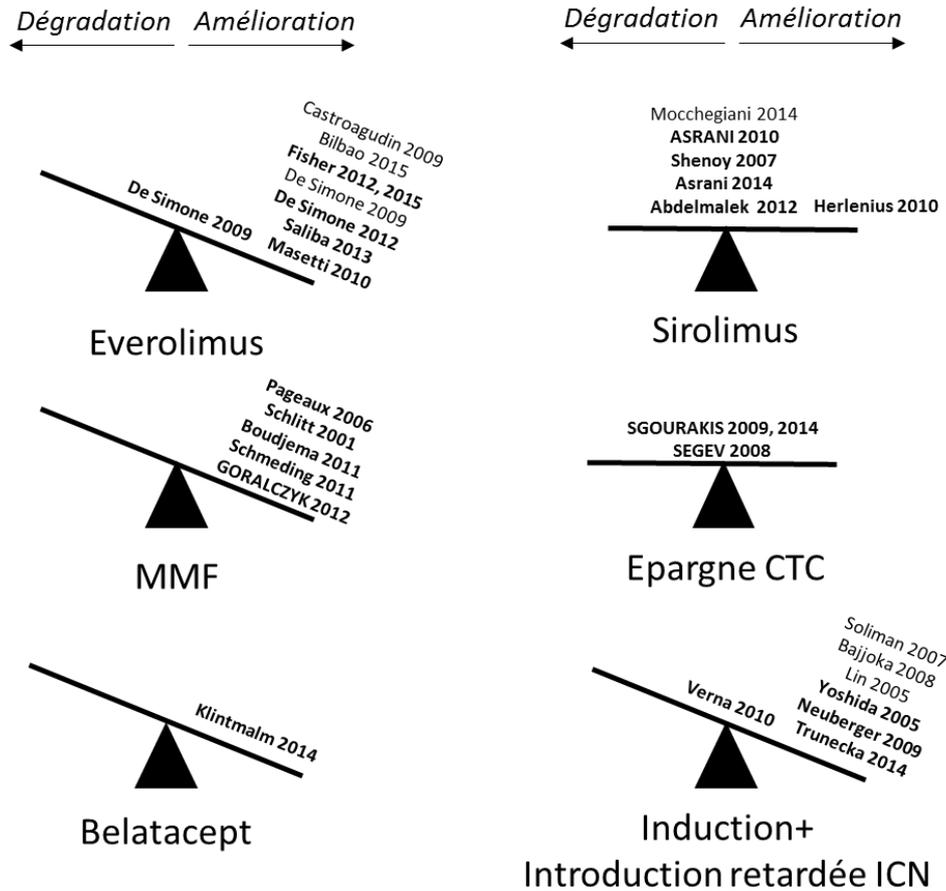
Deux méta-analyses affirment qu'un régime d'immunosuppression chez le transplanté hépatique sans corticothérapie n'a aucune incidence sur la fonction rénale, la survie des patients ou du greffon hépatique à court et long terme [180, 181].

Le léger sur-risque de rejet dans un régime d'immunosuppression sans corticoïdes est controversé. Par ailleurs, il s'annule lorsque les corticoïdes sont remplacés par une autre association de traitements immunosuppresseurs. L'intérêt majeur d'un régime sans corticoïdes semble lié à ses bénéfices en termes d'apparition de diabète de novo, d'infection au cytomégalovirus ou sur le taux de cholestérol [181].

Peu d'études se sont intéressées au traitement par belatacept en transplantation hépatique. Récemment, Klintmalm et al., dans une essai randomisé contrôlé ont montré un taux supérieur de décès, rejet, perte du greffon hépatique et d'infections virales et fongiques lors d'une immunosuppression par Belatacept et MMF par rapport à un régime d'immunosuppression associant du Tacrolimus et du MMF. Ceci a conduit à l'arrêt prématuré de l'étude et ce malgré une amélioration du DFG estimé à 1 an de +15-34 ml/min/1,73m<sup>2</sup> [182].

Des traitements immunosuppresseurs d'induction tels que le sérum anti-lymphocytaire et le basiliximab peuvent être utilisés afin de retarder l'introduction des anticalcineurines notamment chez les patients à haut risque d'insuffisance rénale. Trois des 4 essais contrôlés randomisés montrent que l'introduction retardée des ICN après

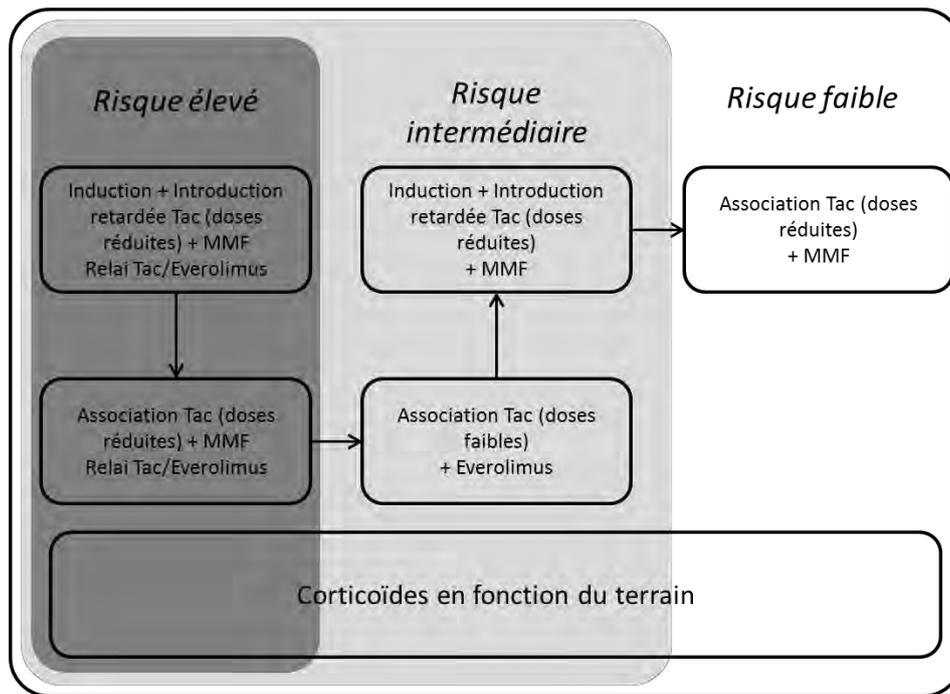
induction par basiliximab est bénéfique sur la fonction rénale et n'a pas d'impact sur l'incidence des rejets [183-187].



*En gras: études randomisées contrôlées*  
*En majuscule: Méta-analyses*

**Figure 6: Revue des principales études sur les régimes possibles d'immunosuppression en transplantation hépatique et leurs effets sur la fonction rénale par rapport à un traitement immunosuppresseur standard.**

Au regard des données de la littérature nous proposons un choix d'utilisation des traitements immunosuppresseurs à adapter au risque de dysfonction rénale et d'insuffisance rénale terminale. Ce choix de traitement est indépendant du risque immunologique.



**Figure 7 : Proposition de choix du traitement immunosuppresseur d'entretien en fonction du risque d'évolution vers la maladie rénale chronique et l'insuffisance rénale terminale.**

## VI. La greffe combinée Foie-Rein.

Avec l'augmentation de l'incidence de l'insuffisance rénale chez le patient en attente de greffe hépatique, on assiste à une poussée de la chirurgie combinée Foie-rein. La difficulté dans le choix d'une greffe combinée est liée à la complexité d'évaluation de la dysfonction rénale chez le cirrhotique et son caractère réversible.

En effet, Hmoud et al., ont montré que parmi les patients inscrits sur liste pour une greffe combinée mais ne bénéficiant en définitif d'une greffe hépatique seule, 33% vont récupérer une fonction rénale avec un  $DFG > 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  [188].

Le bénéfice en termes de survie d'une greffe combinée foie-rein reste actuellement incertain. Certaines études ont montré un avantage de la greffe combinée sur la survie des patients alors que d'autres n'ont montré aucune supériorité [189, 190].

Cependant il s'agit pour la plupart d'études monocentriques observationnelles menées sur de faibles effectifs. Très récemment, Sharma et al., ont montré sur 5609 patients bénéficiant d'une greffe combinée ou d'une greffe hépatique isolée que la survie à 5 ans chez les patients dialysés avant transplantation était similaire dans les 2 groupes. Il est

en revanche noté une amélioration marginale de la survie en faveur de la greffe combinée chez les patients non dialysés au moment de la greffe (+ 3,7 mois concentrés essentiellement la première année). Cela s'explique par une meilleure qualité des greffons rénaux et hépatiques lors des greffes combinées [191].

Enfin, il a été montré que la survie des greffons rénaux dans les greffes séquentielles Foie puis Rein était similaire que dans les greffes combinées et qu'elle était meilleure lors des greffes rein seul [192].

Compte tenu du manque de données fiables concernant l'efficacité de la greffe combinée par rapport à la greffe hépatique isolée ou même la greffe séquentielle, il n'est pas prudent de considérer une greffe combinée chez des patients ayant une dysfonction rénale au moment de la transplantation avec éventuelles possibilités de récupération. Dans le contexte actuel de pénurie d'organes et compte tenu du pool croissant d'insuffisants rénaux terminaux dont la mortalité augmente avec le temps, l'utilisation exclusive des greffons de qualité semble difficilement envisageable.

Afin de limiter les indications de greffe combinée et d'uniformiser les pratiques de chaque centre, un comité d'experts a publié en 2012 les 3<sup>e</sup> recommandations pour la greffe combinée Foie-Rein chez le patient cirrhotique inscrit sur liste d'attente [193]. Il considère que la greffe combinée foie-rein est à envisager en cas d'IRC selon les critères NKF-K/DOQI associée à :

- un DFG  $\leq$  40ml/min selon MDRD6  $\leq$  30ml/min selon clairance au iothalamate
- ou une protéinurie  $\geq$  à 2g/j
- ou une biopsie rénale avec une glomérulosclérose  $>$ 30% et fibrose interstitielle  $>$ 30%
- ou une maladie métabolique.

Parallèlement à ces indications, la greffe combinée Foie-Rein est aussi à envisager pour les patients avec une IRA persistante au moins 4 semaines associée à :

- une IRA stade 3 définie selon les critères AKIN
- ou un DFG  $\leq$  35ml/min selon MDRD 6
- ou  $\leq$  25ml/min selon clairance au iothalamate

Il est également rappelé que les décisions de greffes combinées chez des patients avec dysfonction rénale initiale doivent être déterminées en prenant en considération les facteurs de risque de progression de l'insuffisance rénale.

La stratification du risque de progression de l'insuffisance rénale selon les facteurs de risques semble donc avoir toute sa place dans ce type de réflexion.

La biopsie rénale comme proposée par Tanriover et al. semble être un moyen objectif pour évaluer l'atteinte rénale et la possibilité d'une greffe combinée [194].

Le pourcentage de glomérulosclérose > 30%, de fibrose interstitielle > 40% et le degré modéré ou sévère de néphroangiosclérose indicateur de mauvais pronostic et de non réversibilité de l'atteinte rénale doivent orienter vers une greffe combinée (Annexe I.E).

De la même manière Wadei et al., ont montré que chez 41 patients avec dysfonction rénale (DFG iothalamate <30ml/min) mais avec un pourcentage de glomérulosclérose < 30-40% et une fibrose interstitielle < 30%, seuls 22 % ont une indication de greffe rénale 1 an après transplantation hépatique [195]. Cependant compte tenu des troubles de l'hémostase fréquemment observés dans ces populations, elle ne peut être proposée à l'ensemble des patients. La biopsie transjugulaire semble être la méthode de choix car pourvoyeuse de moindres complications mais doit être réalisée par des médecins expérimentés du fait d'un taux d'échecs ou de prélèvements non informatifs supérieur à la biopsie transcutanée.

## **CONCLUSION**

La fonction rénale joue un rôle central en transplantation hépatique.

Elle est contrainte à une dégradation constante et inévitable avec un impact conséquent sur la survie des patients.

Nous disposons actuellement de moyens performants de calcul ou d'estimation de la fonction rénale. Parallèlement, le développement d'outils radiologiques et de biomarqueurs permettent d'améliorer son appréciation.

Une approche combinant une estimation de la fonction rénale et ses facteurs de risques de dégradation permettrait de stratifier le risque d'IRT dans les suites de la greffe hépatique.

C'est sur cette stratification du risque que doivent reposer les modalités de choix, du greffon, des traitements immunosuppresseurs et de l'intérêt ou non d'une greffe combinée foie-rein pour une prise en charge personnalisée du patient.

## REFERENCES

1. Wadei, H.M., et al., *Kidney allocation to liver transplant candidates with renal failure of undetermined etiology: role of percutaneous renal biopsy*. Am J Transplant, 2008. 8(12): p. 2618-26.
2. Calmus, Y., et al., *Prospective assessment of renal histopathological lesions in patients with end-stage liver disease: effects on long-term renal function after liver transplantation*. J Hepatol, 2012. 57(3): p. 572-6.
3. Henriksen, J.H., et al., *Arterial hypertension in cirrhosis: arterial compliance, volume distribution, and central haemodynamics*. Gut, 2006. 55(3): p. 380-7.
4. Wong, F., et al., *Working Party proposal for a revised classification system of renal dysfunction in patients with cirrhosis*. Gut, 2011. 60(5): p. 702-9.
5. Moller, S., A. Krag, and F. Bendtsen, *Kidney injury in cirrhosis: pathophysiological and therapeutic aspects of hepatorenal syndromes*. Liver Int, 2014. 34(8): p. 1153-63.
6. Mindikoglu, A.L. and M.R. Weir, *Current concepts in the diagnosis and classification of renal dysfunction in cirrhosis*. Am J Nephrol, 2013. 38(4): p. 345-54.
7. Sherman, D.S., D.N. Fish, and I. Teitelbaum, *Assessing renal function in cirrhotic patients: problems and pitfalls*. Am J Kidney Dis, 2003. 41(2): p. 269-78.
8. Rognant, N., et al., *What is the best alternative to inulin clearance to estimate GFR in patients with decompensated alcoholic cirrhosis?* Nephrol Dial Transplant, 2010. 25(11): p. 3569-75.
9. Francoz, C., et al., *Inaccuracies of creatinine and creatinine-based equations in candidates for liver transplantation with low creatinine: impact on the model for end-stage liver disease score*. Liver Transpl, 2010. 16(10): p. 1169-77.
10. Orlando, R., et al., *Evaluation of measured and calculated creatinine clearances as glomerular filtration markers in different stages of liver cirrhosis*. Clin Nephrol, 1999. 51(6): p. 341-7.
11. Skluzacek, P.A., et al., *Prediction of GFR in liver transplant candidates*. Am J Kidney Dis, 2003. 42(6): p. 1169-76.
12. Proulx, N.L., et al., *Measured creatinine clearance from timed urine collections substantially overestimates glomerular filtration rate in patients with liver cirrhosis: a systematic review and individual patient meta-analysis*. Nephrol Dial Transplant, 2005. 20(8): p. 1617-22.
13. Levey, A.S., et al., *A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group*. Ann Intern Med, 1999. 130(6): p. 461-70.
14. Levey, A.S., et al., *A new equation to estimate glomerular filtration rate*. Ann Intern Med, 2009. 150(9): p. 604-12.
15. Francoz, C., et al., *Glomerular filtration rate equations for liver-kidney transplantation in patients with cirrhosis: validation of current recommendations*. Hepatology, 2014. 59(4): p. 1514-21.
16. Gonwa, T.A., et al., *Estimation of glomerular filtration rates before and after orthotopic liver transplantation: evaluation of current equations*. Liver Transpl, 2004. 10(2): p. 301-9.
17. Inker, L.A., et al., *Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C*. N Engl J Med, 2012. 367(1): p. 20-9.
18. De Souza, V., et al., *Creatinine- versus cystatin C-based equations in assessing the renal function of candidates for liver transplantation with cirrhosis*. Hepatology, 2014. 59(4): p. 1522-31.
19. Poge, U., et al., *Calculation of glomerular filtration rate based on cystatin C in cirrhotic patients*. Nephrol Dial Transplant, 2006. 21(3): p. 660-4.
20. Ustundag, Y., et al., *Analysis of glomerular filtration rate, serum cystatin C levels, and renal resistive index values in cirrhosis patients*. Clin Chem Lab Med, 2007. 45(7): p. 890-4.
21. Fricker, M., et al., *Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C*. Kidney Int, 2003. 63(5): p. 1944-7.

22. Delanaye, P., et al., *New data on the intraindividual variation of cystatin C*. Nephron Clin Pract, 2008. 108(4): p. c246-8.
23. Rivolta, R., et al., *Reduction of renal cortical blood flow assessed by Doppler in cirrhotic patients with refractory ascites*. Hepatology, 1998. 28(5): p. 1235-40.
24. Platt, J.F., et al., *Renal duplex Doppler ultrasonography: a noninvasive predictor of kidney dysfunction and hepatorenal failure in liver disease*. Hepatology, 1994. 20(2): p. 362-9.
25. Umgelter, A., et al., *Renal resistive index and renal function before and after paracentesis in patients with hepatorenal syndrome and tense ascites*. Intensive Care Med, 2009. 35(1): p. 152-6.
26. Mindikoglu, A.L., et al., *A pilot study to evaluate renal hemodynamics in cirrhosis by simultaneous glomerular filtration rate, renal plasma flow, renal resistive indices and biomarkers measurements*. Am J Nephrol, 2014. 39(6): p. 543-52.
27. Sharma, P., et al., *Impact of MELD-based allocation on end-stage renal disease after liver transplantation*. Am J Transplant, 2011. 11(11): p. 2372-8.
28. Cholongitas, E., et al., *Different methods of creatinine measurement significantly affect MELD scores*. Liver Transpl, 2007. 13(4): p. 523-9.
29. Cholongitas, E., et al., *Female liver transplant recipients with the same GFR as male recipients have lower MELD scores--a systematic bias*. Am J Transplant, 2007. 7(3): p. 685-92.
30. Mariante-Neto, G. and A.B. Brandao, *Model for End-Stage Liver Disease: Is Sex-Based Creatinine Correction a Viable Strategy for Black Females?* Transplantation, 2015.
31. Finkenstedt, A., et al., *Cystatin C is a strong predictor of survival in patients with cirrhosis: is a cystatin C-based MELD better?* Liver Int, 2012. 32(8): p. 1211-6.
32. Leithead, J.A., et al., *Is estimated glomerular filtration rate superior to serum creatinine in predicting mortality on the waiting list for liver transplantation?* Transpl Int, 2011. 24(5): p. 482-8.
33. Nishi, H., et al., *Chronic renal outcome after living donor liver transplantation*. Clin Transplant, 2013. 27(1): p. 90-7.
34. Herlenius, G., et al., *Early renal function post-liver transplantation is predictive of progressive chronic kidney disease*. Scand J Gastroenterol, 2008. 43(3): p. 344-9.
35. Allen, A.M., et al., *Chronic kidney disease and associated mortality after liver transplantation--a time-dependent analysis using measured glomerular filtration rate*. J Hepatol, 2014. 61(2): p. 286-92.
36. Fussner, L.A., et al., *The impact of gender and NASH on chronic kidney disease before and after liver transplantation*. Liver Int, 2014. 34(8): p. 1259-66.
37. Karapanagiotou, A., et al., *Comparison of RIFLE and AKIN criteria in the evaluation of the frequency of acute kidney injury in post-liver transplantation patients*. Transplant Proc, 2014. 46(9): p. 3222-7.
38. Biagioni, E., et al., *Acute renal failure and renal replacement therapy in the postoperative period of orthotopic liver transplant patients versus nonelective abdominal surgery patients*. Transplant Proc, 2011. 43(4): p. 1145-7.
39. Cabezuelo, J.B., et al., *Risk factors of acute renal failure after liver transplantation*. Kidney Int, 2006. 69(6): p. 1073-80.
40. Chen, J., et al., *Postliver transplant acute renal injury and failure by the RIFLE criteria in patients with normal pretransplant serum creatinine concentrations: a matched study*. Transplantation, 2011. 91(3): p. 348-53.
41. Ferreira, A.C., et al., *Impact of RIFLE classification in liver transplantation*. Clin Transplant, 2010. 24(3): p. 394-400.
42. Hong, S.H., C.O. Park, and C.S. Park, *Prediction of newly developed acute renal failure using serum phosphorus concentrations after living-donor liver transplantation*. J Int Med Res, 2012. 40(6): p. 2199-212.
43. Jeong, T.D., et al., *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker of acute kidney injury in liver transplantation*. Clin Transplant, 2012. 26(5): p. 775-81.
44. Klaus, F., et al., *Acute kidney injury after liver transplantation: incidence and mortality*. Transplant Proc, 2014. 46(6): p. 1819-21.

45. Kundakci, A., et al., *Rifle criteria for acute kidney dysfunction following liver transplantation: incidence and risk factors*. *Transplant Proc*, 2010. 42(10): p. 4171-4.
46. Leithead, J.A., J.W. Ferguson, and P.C. Hayes, *Modifiable patient factors are associated with the late decline in renal function following liver transplantation*. *Clin Transplant*, 2012. 26(3): p. E316-23.
47. Leithead, J.A., et al., *The evolving use of higher risk grafts is associated with an increased incidence of acute kidney injury after liver transplantation*. *J Hepatol*, 2014. 60(6): p. 1180-6.
48. Aksu Erdost, H., et al., *Acute Renal Injury Evaluation After Liver Transplantation: With RIFLE Criteria*. *Transplant Proc*, 2015. 47(5): p. 1482-7.
49. Karapanagiotou, A., et al., *Acute kidney injury after orthotopic liver transplantation*. *Transplant Proc*, 2012. 44(9): p. 2727-9.
50. Lin, Y.H., et al., *The 4-week serum creatinine level predicts long-term renal dysfunction after adult living donor liver transplantation*. *Transplant Proc*, 2012. 44(3): p. 772-5.
51. Nadeem, A., et al., *Chloride-liberal fluids are associated with acute kidney injury after liver transplantation*. *Crit Care*, 2014. 18(6): p. 625.
52. Nadim, M.K., et al., *Impact of the etiology of acute kidney injury on outcomes following liver transplantation: acute tubular necrosis versus hepatorenal syndrome*. *Liver Transpl*, 2012. 18(5): p. 539-48.
53. Niemann, C.U., et al., *Acute kidney injury during liver transplantation as determined by neutrophil gelatinase-associated lipocalin*. *Liver Transpl*, 2009. 15(12): p. 1852-60.
54. O'Riordan, A., et al., *Acute renal disease, as defined by the RIFLE criteria, post-liver transplantation*. *Am J Transplant*, 2007. 7(1): p. 168-76.
55. Sirivatanauksorn, Y., et al., *Renal dysfunction after orthotopic liver transplantation*. *Transplant Proc*, 2014. 46(3): p. 818-21.
56. Tinti, F., et al., *RIFLE criteria and hepatic function in the assessment of acute renal failure in liver transplantation*. *Transplant Proc*, 2010. 42(4): p. 1233-6.
57. Umbro, I., et al., *Occurrence of chronic renal failure in liver transplantation: monitoring of pre- and posttransplantation renal function*. *Transplant Proc*, 2012. 44(7): p. 1956-9.
58. Utsumi, M., et al., *Risk factors for acute renal injury in living donor liver transplantation: evaluation of the RIFLE criteria*. *Transpl Int*, 2013. 26(8): p. 842-52.
59. Wagener, G., et al., *Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of acute kidney injury after orthotopic liver transplantation*. *Nephrol Dial Transplant*, 2011. 26(5): p. 1717-23.
60. Iglesias, J.I., J.A. DePalma, and J.S. Levine, *Risk factors for acute kidney injury following orthotopic liver transplantation: the impact of changes in renal function while patients await transplantation*. *BMC Nephrol*, 2010. 11: p. 30.
61. Sung, W.C., et al., *The ratio of plasma interleukin-18 is a sensitive biomarker for acute kidney injury after liver transplantation*. *Transplant Proc*, 2014. 46(3): p. 816-7.
62. Zhu, M., et al., *Strong impact of acute kidney injury on survival after liver transplantation*. *Transplant Proc*, 2010. 42(9): p. 3634-8.
63. Alvares-da-Silva, M.R., et al., *Risk factors for postoperative acute renal failure at a new orthotopic liver transplantation program*. *Transplant Proc*, 1999. 31(7): p. 3050-2.
64. Barri, Y.M., et al., *Acute kidney injury following liver transplantation: definition and outcome*. *Liver Transpl*, 2009. 15(5): p. 475-83.
65. Bilbao, I., et al., *Renal function improvement in liver transplant recipients after early everolimus conversion: A clinical practice cohort study in Spain*. *Liver Transpl*, 2015.
66. Cabezuelo, J.B., et al., *Prognostic factors of early acute renal failure in liver transplantation*. *Transplant Proc*, 2002. 34(1): p. 254-5.
67. Faenza, S., et al., *Acute renal failure after liver transplantation in MELD era*. *Transplant Proc*, 2007. 39(6): p. 1945-6.
68. Kim, J.M., et al., *The predictors for continuous renal replacement therapy in liver transplant recipients*. *Transplant Proc*, 2014. 46(1): p. 184-91.
69. Koo, M., et al., *[Factors related to renal dysfunction after liver transplantation in patients with normal preoperative function]*. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*, 2006. 53(9): p. 538-44.

70. Lafayette, R.A., et al., *Pretransplant renal dysfunction predicts poorer outcome in liver transplantation*. Clin Nephrol, 1997. 48(3): p. 159-64.
71. Lima, E.Q., et al., *Risk factors for development of acute renal failure after liver transplantation*. Ren Fail, 2003. 25(4): p. 553-60.
72. Paramesh, A.S., et al., *Post-liver transplant acute renal failure: factors predicting development of end-stage renal disease*. Clin Transplant, 2004. 18(1): p. 94-9.
73. Rimola, A., et al., *Effects of renal impairment on liver transplantation*. Gastroenterology, 1987. 93(1): p. 148-56.
74. Rueggeberg, A., et al., *Development of a risk stratification model for predicting acute renal failure in orthotopic liver transplantation recipients*. Anaesthesia, 2008. 63(11): p. 1174-80.
75. McCauley, J., et al., *Acute and chronic renal failure in liver transplantation*. Nephron, 1990. 55(2): p. 121-8.
76. Chuang, F.R., et al., *Acute renal failure after cadaveric related liver transplantation*. Transplant Proc, 2004. 36(8): p. 2328-30.
77. Contreras, G., et al., *An epidemiologic study of early renal replacement therapy after orthotopic liver transplantation*. J Am Soc Nephrol, 2002. 13(1): p. 228-33.
78. Fraley, D.S., et al., *Impact of acute renal failure on mortality in end-stage liver disease with or without transplantation*. Kidney Int, 1998. 54(2): p. 518-24.
79. Brescia, M.D., et al., *Prospective Randomized Trial Comparing Hepatic Venous Outflow and Renal Function after Conventional versus Piggyback Liver Transplantation*. PLoS One, 2015. 10(6): p. e0129923.
80. Faenza, S., et al., *Acute renal failure requiring renal replacement therapy after orthotopic liver transplantation*. Transplant Proc, 2006. 38(4): p. 1141-2.
81. Gainza, F.J., et al., *Evaluation of acute renal failure in the liver transplantation perioperative period: incidence and impact*. Transplant Proc, 2002. 34(1): p. 250-1.
82. Hilmi, I.A., et al., *Acute kidney injury after orthotopic liver transplantation using living donor versus deceased donor grafts: A propensity score-matched analysis*. Liver Transpl, 2015.
83. Junge, G., et al., *Acute renal failure after liver transplantation: incidence, etiology, therapy, and outcome*. Transplant Proc, 2006. 38(3): p. 723-4.
84. Paydas, S., et al., *Renal function in patients with orthotopic liver transplantation*. Ren Fail, 2006. 28(2): p. 103-5.
85. Platz, K.P., et al., *Nephrotoxicity after orthotopic liver transplantation in cyclosporin A and FK 506-treated patients*. Transpl Int, 1994. 7 Suppl 1: p. S52-7.
86. Portal, A.J., et al., *Neutrophil gelatinase--associated lipocalin predicts acute kidney injury in patients undergoing liver transplantation*. Liver Transpl, 2010. 16(11): p. 1257-66.
87. Sanchez, E.Q., et al., *Preoperative and perioperative predictors of the need for renal replacement therapy after orthotopic liver transplantation*. Transplantation, 2004. 78(7): p. 1048-54.
88. Velidedeoglu, E., et al., *Early kidney dysfunction post liver transplantation predicts late chronic kidney disease*. Transplantation, 2004. 77(4): p. 553-6.
89. Wei, Y., et al., *Factors related to post-liver transplantation acute renal failure*. Transplant Proc, 2006. 38(9): p. 2982-4.
90. Xu, X., et al., *An effective model for predicting acute kidney injury after liver transplantation*. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2010. 9(3): p. 259-63.
91. Jindal, R.M. and I. Popescu, *Renal dysfunction associated with liver transplantation*. Postgrad Med J, 1995. 71(839): p. 513-24.
92. Guitard, J., et al., *Predictive factors for chronic renal failure one year after orthotopic liver transplantation*. Ren Fail, 2006. 28(5): p. 419-25.
93. Ojo, A.O., et al., *Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ*. N Engl J Med, 2003. 349(10): p. 931-40.
94. Burra, P., et al., *Factors influencing renal function after liver transplantation. Results from the MOST, an international observational study*. Dig Liver Dis, 2009. 41(5): p. 350-6.

95. Fisher, N.C., et al., *Chronic renal failure following liver transplantation: a retrospective analysis*. Transplantation, 1998. 66(1): p. 59-66.
96. Gayowski, T., et al., *Quality of life and functional status of liver transplant recipients with recurrent viral hepatitis C*. Transplant Proc, 1999. 31(1-2): p. 1386-7.
97. Giusto, M., et al., *Chronic kidney disease after liver transplantation: pretransplantation risk factors and predictors during follow-up*. Transplantation, 2013. 95(9): p. 1148-53.
98. Gonwa, T.A., et al., *End-stage renal disease (ESRD) after orthotopic liver transplantation (OLT) using calcineurin-based immunotherapy: risk of development and treatment*. Transplantation, 2001. 72(12): p. 1934-9.
99. Kamar, N., et al., *Kidney histology and function in liver transplant patients*. Nephrol Dial Transplant, 2011. 26(7): p. 2355-61.
100. Karie-Guigues, S., et al., *Long-term renal function in liver transplant recipients and impact of immunosuppressive regimens (calcineurin inhibitors alone or in combination with mycophenolate mofetil): the TRY study*. Liver Transpl, 2009. 15(9): p. 1083-91.
101. Lamattina, J.C., et al., *Chronic kidney disease stage progression in liver transplant recipients*. Clin J Am Soc Nephrol, 2011. 6(8): p. 1851-7.
102. LaMattina, J.C., et al., *Native kidney function following liver transplantation using calcineurin inhibitors: single-center analysis with 20 years of follow-up*. Clin Transplant, 2013. 27(2): p. 193-202.
103. Lee, J.P., et al., *Risk factors for consequent kidney impairment and differential impact of liver transplantation on renal function*. Nephrol Dial Transplant, 2010. 25(8): p. 2772-85.
104. Leithead, J.A., et al., *Chronic kidney disease after liver transplantation for acute liver failure is not associated with perioperative renal dysfunction*. Am J Transplant, 2011. 11(9): p. 1905-15.
105. Machicao, V.I., et al., *Impact of implementation of the MELD scoring system on the prevalence and incidence of chronic renal disease following liver transplantation*. Liver Transpl, 2006. 12(5): p. 754-61.
106. Morard, I., et al., *Long-term renal function after liver transplantation is related to calcineurin inhibitors blood levels*. Clin Transplant, 2006. 20(1): p. 96-101.
107. Moreno, J.M., et al., *Chronic renal dysfunction after liver transplantation in adult patients: prevalence, risk factors, and impact on mortality*. Transplant Proc, 2003. 35(5): p. 1907-8.
108. O'Riordan, A., et al., *Chronic kidney disease post-liver transplantation*. Nephrol Dial Transplant, 2006. 21(9): p. 2630-6.
109. Pawarode, A., D.M. Fine, and P.J. Thuluvath, *Independent risk factors and natural history of renal dysfunction in liver transplant recipients*. Liver Transpl, 2003. 9(7): p. 741-7.
110. Ramachandran, J., et al., *Chronic kidney disease following liver transplantation: a South Australian experience*. Transplant Proc, 2010. 42(9): p. 3644-6.
111. Sanchez, E.Q., et al., *Predicting renal failure after liver transplantation from measured glomerular filtration rate: review of up to 15 years of follow-up*. Transplantation, 2010. 89(2): p. 232-5.
112. Schmitz, V., et al., *Chronic renal dysfunction following liver transplantation*. Clin Transplant, 2008. 22(3): p. 333-40.
113. Sezer, S., et al., *Risk factors for kidney impairment and differential impact of liver transplantation on renal function*. Transplant Proc, 2011. 43(2): p. 609-11.
114. Shao, Z.Y., et al., *Prophylaxis of chronic kidney disease after liver transplantation--experience from west China*. World J Gastroenterol, 2012. 18(9): p. 991-8.
115. Sharma, P., et al., *Patient-specific prediction of ESRD after liver transplantation*. J Am Soc Nephrol, 2013. 24(12): p. 2045-52.
116. Sharma, P., et al., *Renal outcomes after liver transplantation in the model for end-stage liver disease era*. Liver Transpl, 2009. 15(9): p. 1142-8.
117. Cohen, A.J., et al., *Chronic renal dysfunction late after liver transplantation*. Liver Transpl, 2002. 8(10): p. 916-21.
118. de Boccardo, G., et al., *The burden of chronic kidney disease in long-term liver transplant recipients*. Transplant Proc, 2008. 40(5): p. 1498-503.

119. Hao, J.C., et al., *Effect of low-dose tacrolimus with mycophenolate mofetil on renal function following liver transplantation*. World J Gastroenterol, 2014. 20(32): p. 11356-62.
120. Jain, A., et al., *One thousand consecutive primary liver transplants under tacrolimus immunosuppression: a 17- to 20-year longitudinal follow-up*. Transplantation, 2011. 91(9): p. 1025-30.
121. Kim, S.G., et al., *Incidence and risk factors of renal dysfunction after liver transplantation in Korea*. Transplant Proc, 2004. 36(8): p. 2318-20.
122. Kim, D.Y., et al., *Renal disease burden following liver transplantation*. Transplant Proc, 2006. 38(10): p. 3663-5.
123. Patel, H.K., et al., *Survival after liver transplantation in patients who develop renal insufficiency*. Transplant Proc, 2010. 42(10): p. 4167-70.
124. Kim, J.Y., et al., *The variable pathology of kidney disease after liver transplantation*. Transplantation, 2010. 89(2): p. 215-21.
125. Kubal, C., et al., *Chronic kidney disease after nonrenal solid organ transplantation: a histological assessment and utility of chronic allograft damage index scoring*. Transplantation, 2012. 93(4): p. 406-11.
126. Chonchol, M., et al., *Should we biopsy kidneys of patients post-liver transplant?* Transplant Proc, 2003. 35(8): p. 3035-8.
127. Beloncle, F., et al., *An unexpected cause of progressive renal failure in a 66-year-old male after liver transplantation: secondary hyperoxaluria*. Int Urol Nephrol, 2013. 45(4): p. 1209-13.
128. Kamar, N., et al., *Do kidney histology lesions predict long-term kidney function after liver transplantation?* Clin Transplant, 2012. 26(6): p. 927-34.
129. Watt, K.D., et al., *Evolution of causes and risk factors for mortality post-liver transplant: results of the NIDDK long-term follow-up study*. Am J Transplant, 2010. 10(6): p. 1420-7.
130. Nair, S., S. Verma, and P.J. Thuluvath, *Pretransplant renal function predicts survival in patients undergoing orthotopic liver transplantation*. Hepatology, 2002. 35(5): p. 1179-85.
131. Boin, I.F., et al., *Can pre-liver transplantation renal insufficiency using a creatinine clearance calculator predict long-term survival?* Transplant Proc, 2012. 44(8): p. 2452-4.
132. Wenger, U., et al., *The relationship between preoperative creatinine clearance and outcomes for patients undergoing liver transplantation: a retrospective observational study*. BMC Nephrol, 2013. 14: p. 37.
133. Leithead, J.A., et al., *Hepatic ischemia reperfusion injury is associated with acute kidney injury following donation after brain death liver transplantation*. Transpl Int, 2013. 26(11): p. 1116-25.
134. Fabrizi, F., et al., *Pre-transplant kidney function predicts chronic kidney disease after liver transplant: meta-analysis of observational studies*. Dig Dis Sci, 2011. 56(5): p. 1282-9.
135. Aberg, F., et al., *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin associated with irreversibility of pre-liver transplant kidney dysfunction*. Clin Transplant, 2014. 28(8): p. 869-76.
136. Afonso, R.C., et al., *Impact of renal failure on liver transplantation survival*. Transplant Proc, 2008. 40(3): p. 808-10.
137. Bahirwani, R., et al., *Transplantation: impact of pretransplant renal insufficiency*. Liver Transpl, 2008. 14(5): p. 665-71.
138. Bahirwani, R., et al., *End-stage renal disease after liver transplantation in patients with pre-transplant chronic kidney disease*. Clin Transplant, 2014. 28(2): p. 205-10.
139. Braun, N., S. Dette, and R. Viebahn, *Impairment of renal function following liver transplantation*. Transplant Proc, 2003. 35(4): p. 1458-60.
140. Campbell, M.S., et al., *Renal function after orthotopic liver transplantation is predicted by duration of pretransplantation creatinine elevation*. Liver Transpl, 2005. 11(9): p. 1048-55.
141. Fujinaga, K., et al., *Hypertension and hepatitis C virus infection are strong risk factors for developing late renal dysfunction after living donor liver transplantation: significance of renal biopsy*. Transplant Proc, 2014. 46(3): p. 804-10.

142. Lebron Gallardo, M., et al., *Risk factors for renal dysfunction in the postoperative course of liver transplant*. Liver Transpl, 2004. 10(11): p. 1379-85.
143. Israni, A.K., et al., *Predicting end-stage renal disease after liver transplant*. Am J Transplant, 2013. 13(7): p. 1782-92.
144. Levitsky, J., et al., *Clinical and plasma proteomic markers correlating with chronic kidney disease after liver transplantation*. Am J Transplant, 2011. 11(9): p. 1972-8.
145. Moreno, J.M., et al., *Usefulness of mycophenolate mofetil in patients with chronic renal insufficiency after liver transplantation*. Transplant Proc, 2003. 35(2): p. 715-7.
146. Northup, P.G., et al., *Pretransplant predictors of recovery of renal function after liver transplantation*. Liver Transpl, 2010. 16(4): p. 440-6.
147. Ruebner, R.L., P.P. Reese, and P.L. Abt, *Donation after cardiac death liver transplantation is associated with increased risk of end-stage renal disease*. Transpl Int, 2014. 27(12): p. 1263-71.
148. Asfandiyar, S., et al., *Influence of hepatitis C on renal function after liver transplantation*. Transplant Proc, 2006. 38(10): p. 3643-5.
149. Milongo, D., et al., *Pretransplant urinary proteome analysis does not predict development of chronic kidney disease after liver transplantation*. Liver Int, 2015. 35(7): p. 1893-901.
150. Warnaar, N., et al., *The impact of aprotinin on renal function after liver transplantation: an analysis of 1,043 patients*. Am J Transplant, 2007. 7(10): p. 2378-87.
151. Bilbao, I., et al., *Risk factors for acute renal failure requiring dialysis after liver transplantation*. Clin Transplant, 1998. 12(2): p. 123-9.
152. Hand, W.R., et al., *Hydroxyethyl starch and acute kidney injury in orthotopic liver transplantation: a single-center retrospective review*. Anesth Analg, 2015. 120(3): p. 619-26.
153. Tinti, F., et al., *Acute renal failure in liver transplant recipients: role of pretransplantation renal function and 1-year follow-up*. Transplant Proc, 2011. 43(4): p. 1136-8.
154. Christians, U., et al., *Biomarkers of immunosuppressant organ toxicity after transplantation: status, concepts and misconceptions*. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2011. 7(2): p. 175-200.
155. Verna, E.C., et al., *Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts mortality and identifies acute kidney injury in cirrhosis*. Dig Dis Sci, 2012. 57(9): p. 2362-70.
156. Fagundes, C., et al., *Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as biomarker in the differential diagnosis of impairment of kidney function in cirrhosis*. J Hepatol, 2012. 57(2): p. 267-73.
157. Neal, D.A., et al., *Hyperuricemia, gout, and renal function after liver transplantation*. Transplantation, 2001. 72(10): p. 1689-91.
158. Haddad, E.M., et al., *Cyclosporin versus tacrolimus for liver transplanted patients*. Cochrane Database Syst Rev, 2006(4): p. CD005161.
159. Rodriguez-Peralvarez, M., et al., *Tacrolimus trough levels, rejection and renal impairment in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis*. Am J Transplant, 2012. 12(10): p. 2797-814.
160. Cantarovich, M., et al., *Efficacy of mycophenolate mofetil combined with very low-dose cyclosporine microemulsion in long-term liver-transplant patients with renal dysfunction*. Transplantation, 2003. 76(1): p. 98-102.
161. Goralczyk, A.D., et al., *Calcineurin inhibitor sparing with mycophenolate mofetil in liver transplantation: a systematic review of randomized controlled trials*. Am J Transplant, 2012. 12(10): p. 2601-7.
162. Pageaux, G.P., et al., *Mycophenolate mofetil in combination with reduction of calcineurin inhibitors for chronic renal dysfunction after liver transplantation*. Liver Transpl, 2006. 12(12): p. 1755-60.
163. Schlitt, H.J., et al., *Replacement of calcineurin inhibitors with mycophenolate mofetil in liver-transplant patients with renal dysfunction: a randomised controlled study*. Lancet, 2001. 357(9256): p. 587-91.

164. Boudjema, K., et al., *Reduced-dose tacrolimus with mycophenolate mofetil vs. standard-dose tacrolimus in liver transplantation: a randomized study*. Am J Transplant, 2011. 11(5): p. 965-76.
165. Lan, X., et al., *Efficacy of immunosuppression monotherapy after liver transplantation: a meta-analysis*. World J Gastroenterol, 2014. 20(34): p. 12330-40.
166. Stewart, S.F., et al., *Mycophenolate mofetil monotherapy in liver transplantation*. Lancet, 2001. 357(9256): p. 609-10.
167. De Simone, P., et al., *Everolimus with reduced tacrolimus improves renal function in de novo liver transplant recipients: a randomized controlled trial*. Am J Transplant, 2012. 12(11): p. 3008-20.
168. Saliba, F., et al., *Renal function at two years in liver transplant patients receiving everolimus: results of a randomized, multicenter study*. Am J Transplant, 2013. 13(7): p. 1734-45.
169. Masetti, M., et al., *Early withdrawal of calcineurin inhibitors and everolimus monotherapy in de novo liver transplant recipients preserves renal function*. Am J Transplant, 2010. 10(10): p. 2252-62.
170. Fischer, L., et al., *A randomized, controlled study to assess the conversion from calcineurin-inhibitors to everolimus after liver transplantation--PROTECT*. Am J Transplant, 2012. 12(7): p. 1855-65.
171. Fischer, L., et al., *Three-year Outcomes in De Novo Liver Transplant Patients Receiving Everolimus With Reduced Tacrolimus: Follow-Up Results From a Randomized, Multicenter Study*. Transplantation, 2015. 99(7): p. 1455-62.
172. Sterneck, M., et al., *Everolimus and early calcineurin inhibitor withdrawal: 3-year results from a randomized trial in liver transplantation*. Am J Transplant, 2014. 14(3): p. 701-10.
173. De Simone, P., et al., *Conversion to everolimus monotherapy in maintenance liver transplantation: feasibility, safety, and impact on renal function*. Transpl Int, 2009. 22(3): p. 279-86.
174. Castroagudin, J.F., et al., *Improvement of renal function after the switch from a calcineurin inhibitor to everolimus in liver transplant recipients with chronic renal dysfunction*. Liver Transpl, 2009. 15(12): p. 1792-7.
175. Asrani, S.K., et al., *Use of sirolimus in liver transplant recipients with renal insufficiency: a systematic review and meta-analysis*. Hepatology, 2010. 52(4): p. 1360-70.
176. Abdelmalek, M.F., et al., *Sirolimus conversion regimen versus continued calcineurin inhibitors in liver allograft recipients: a randomized trial*. Am J Transplant, 2012. 12(3): p. 694-705.
177. Shenoy, S., et al., *Sirolimus conversion in liver transplant recipients with renal dysfunction: a prospective, randomized, single-center trial*. Transplantation, 2007. 83(10): p. 1389-92.
178. Asrani, S.K., et al., *De novo sirolimus and reduced-dose tacrolimus versus standard-dose tacrolimus after liver transplantation: the 2000-2003 phase II prospective randomized trial*. Am J Transplant, 2014. 14(2): p. 356-66.
179. Mocchegiani, F., et al., *Tacrolimus and Everolimus de novo versus minimization of standard dosage of Tacrolimus provides a similar renal function at one year after liver transplantation: a case-control matched-pairs analysis*. Ann Transplant, 2014. 19: p. 545-50.
180. Segev, D.L., et al., *Steroid avoidance in liver transplantation: meta-analysis and meta-regression of randomized trials*. Liver Transpl, 2008. 14(4): p. 512-25.
181. Sgourakis, G., et al., *Corticosteroid-free immunosuppression in liver transplantation: a meta-analysis and meta-regression of outcomes*. Transpl Int, 2009. 22(9): p. 892-905.
182. Klintmalm, G.B., et al., *Belatacept-based immunosuppression in de novo liver transplant recipients: 1-year experience from a phase II randomized study*. Am J Transplant, 2014. 14(8): p. 1817-27.
183. Neuberger, J.M., et al., *Delayed introduction of reduced-dose tacrolimus, and renal function in liver transplantation: the 'ReSpECT' study*. Am J Transplant, 2009. 9(2): p. 327-36.
184. Yoshida, E.M., et al., *Evaluation of renal function in liver transplant recipients receiving daclizumab (Zenapax), mycophenolate mofetil, and a delayed, low-dose tacrolimus regimen*

- vs. a standard-dose tacrolimus and mycophenolate mofetil regimen: a multicenter randomized clinical trial.* Liver Transpl, 2005. 11(9): p. 1064-72.
185. Lin, C.C., et al., *The renal-sparing efficacy of basiliximab in adult living donor liver transplantation.* Liver Transpl, 2005. 11(10): p. 1258-64.
  186. Soliman, T., et al., *Short-term induction therapy with anti-thymocyte globulin and delayed use of calcineurin inhibitors in orthotopic liver transplantation.* Liver Transpl, 2007. 13(7): p. 1039-44.
  187. Trunecka, P., et al., *Renal Function in De Novo Liver Transplant Recipients Receiving Different Prolonged-Release Tacrolimus Regimens-The DIAMOND Study.* Am J Transplant, 2015. 15(7): p. 1843-54.
  188. Hmoud, B., et al., *Outcomes of liver transplantation alone after listing for simultaneous kidney: comparison to simultaneous liver kidney transplantation.* Transplantation, 2015. 99(4): p. 823-8.
  189. Gonwa, T.A., et al., *Continued influence of preoperative renal function on outcome of orthotopic liver transplant (OLT) in the US: where will MELD lead us?* Am J Transplant, 2006. 6(11): p. 2651-9.
  190. Schmitt, T.M., et al., *Combined liver-kidney and liver transplantation in patients with renal failure outcomes in the MELD era.* Transpl Int, 2009. 22(9): p. 876-83.
  191. Sharma, P., et al., *Propensity Score-Based Survival Benefit of Simultaneous Liver-Kidney Transplant over Liver Transplant Alone for Recipients with Pre-Transplant Renal Dysfunction.* Liver Transpl, 2015.
  192. Fong, T.L., et al., *Analysis of the United Network for Organ Sharing database comparing renal allografts and patient survival in combined liver-kidney transplantation with the contralateral allografts in kidney alone or kidney-pancreas transplantation.* Transplantation, 2003. 76(2): p. 348-53.
  193. Nadim, M.K., et al., *Simultaneous liver-kidney transplantation summit: current state and future directions.* Am J Transplant, 2012. 12(11): p. 2901-8.
  194. Tanriover, B., et al., *Analysis of kidney function and biopsy results in liver failure patients with renal dysfunction: a new look to combined liver kidney allocation in the post-MELD era.* Transplantation, 2008. 86(11): p. 1548-53.
  195. Wadei, H.M., et al., *Renal outcomes of liver transplant recipients who had pretransplant kidney biopsy.* Transplantation, 2014. 98(12): p. 1323-30.

**PARTIE II :**

Pretransplant urinary proteome analysis does not predict development of  
chronic kidney disease after liver transplantation

## RESUME

L'insuffisance rénale est une complication fréquente de la transplantation hépatique et est responsable d'une augmentation de la morbi-mortalité des patients. Son incidence augmente dans les suites de la greffe et suscite un recours à la dialyse ou à la transplantation rénale chez certains patients.

Une identification précoce des patients à risque de développer une insuffisance rénale permettrait une meilleure prise en charge visant à ralentir l'évolution vers la dialyse et la transplantation rénale.

L'évaluation de la fonction rénale des patients cirrhotiques est difficile compte tenu de la précarité de leur hémodynamique intra rénale et de la variation des paramètres biologiques utilisés pour l'estimation du DFG.

Par conséquent, les techniques usuelles d'évaluation du DFG sont inadaptées dans cette population et sont insuffisantes pour prédire une dégradation de la fonction rénale après transplantation hépatique.

L'analyse du protéome urinaire basée sur 273 peptides urinaires a la capacité de détecter des lésions structurelles rénales précoces précédant toute modification du DFG.

Le but de notre étude était d'analyser le protéome urinaire des patients avant transplantation hépatique et de déterminer si les peptides urinaires étaient associés à une altération de la fonction rénale à 6 mois post-transplantation.

Entre Janvier 2006 et Septembre 2011, sur les 233 patients ayant bénéficié d'une transplantation hépatique dans notre centre, 80 ont été inclus dans notre étude.

Chaque patient inclus répondait aux critères d'inclusion suivants : première transplantation hépatique, DFG estimé (MDRD) avant la transplantation de  $\geq 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, absence d'hyperfiltration (DFG estimé  $\geq 130$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>), ratio albuminurie/créatininurie  $< 300$  mg/g avant greffe, survie  $\geq 6$  mois post greffe.

Les échantillons urinaires collectés chez tous les candidats à une greffe hépatique ont été stockés à -80°C. L'analyse du protéome urinaire a été effectuée par électrophorèse capillaire couplée à la spectrométrie de masse (EC\_MS).

À 6 mois post transplantation, 50% des patients avaient des critères de maladie rénale chronique (DFG estimé <60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>).

Bien que des milliers de peptides urinaires aient été identifiés, aucun n'était associé de manière significative avec le développement de la maladie rénale chronique post greffe. De manière surprenante, en utilisant des scores de peptidome urinaire d'insuffisance rénale chronique, certains patients présentaient en pré greffe des profils urinaires peptidiques en faveur d'une insuffisance rénale chronique malgré une fonction rénale normale. Cependant, aucune différence n'a été observée dans les scores de peptidome urinaire d'insuffisance rénale chronique entre les patient avec un DFG estimé <60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> à 6 mois et les autres.

Après analyse d'un grand nombre de paramètres pré-, péri- et post-transplantation, l'hépatite virale comme cause de cirrhose était le seul facteur prédictif indépendant pour le développement d'une insuffisance rénale chronique.

Aucune différence n'a été observée pour l'ensemble des peptides urinaires entre les patients avec cirrhose virale et les autres types de cirrhose.

En conclusion, l'analyse protéomique urinaire avant transplantation hépatique n'a pas permis d'identifier un modèle de peptide associé au développement de la maladie rénale chronique à 6 mois post greffe.



## LIVER TRANSPLANTATION

**Pretransplant urinary proteome analysis does not predict development of chronic kidney disease after liver transplantation**

David Milongo<sup>1</sup>, Jean-Loup Bascands<sup>2,3</sup>, Antoine Huart<sup>1</sup>, Laure Esposito<sup>1</sup>, Benjamin Breuil<sup>2,4</sup>, Panagiotis Moulos<sup>5</sup>, Justyna Sivvy<sup>6,7</sup>, Adela Ramírez-Torres<sup>6</sup>, David Ribes<sup>1</sup>, Laurence Lavayssière<sup>1</sup>, Arnaud Del Bello<sup>1,3</sup>, Fabrice Muscari<sup>3,8</sup>, Laurent Alric<sup>9,10</sup>, Christophe Bureau<sup>3,11</sup>, Lionel Rostaing<sup>1,3,12</sup>, Joost P Schanstra<sup>2,3</sup> and Nassim Kamar<sup>1,3,12</sup>

1 Department of Nephrology and Organ Transplantation, CHU Rangueil, Toulouse, France

2 U1048, Institut of Cardiovascular and Metabolic Disease, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Toulouse, France

3 Université Toulouse III Paul-Sabatier, Toulouse, France

4 Institut of Cardiovascular and Metabolic Disease, Plateau de Protéomique des Liquides Biologiques, Toulouse, France

5 HybridStat Predictive Analytics OE, Athens, Greece

6 Mosaïques Diagnostics GmbH, Hannover, Germany

7 Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

8 Department of Surgery and Liver Transplantation, Toulouse, France

9 Internal Medicine-Digestive Department, CHU Purpan, Toulouse, France

10 UMR 152, IRD, Université Toulouse III Paul-Sabatier, Toulouse, France

11 Department of Hepatology, Federation Digestive, CHU Purpan, Toulouse, France

12 IFR-BMT, INSERM U1043, CHU Purpan, Toulouse, France

**Keywords**

chronic kidney disease – liver transplantation  
– proteome analysis – urine – viral hepatitis

**Abbreviations**

CE-MS, capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry; CKD, chronic kidney disease; CNI, calcineurin inhibitors; GFR, glomerular filtration rate; HCV, hepatitis C virus; IRB, institutional review board; MDRD, modification of the diet in renal disease; MELD, model for end-stage liver disease.

**Correspondence**

Nassim Kamar, MD, PhD  
Department of Nephrology and Organ Transplantation, CHU Rangueil, TSA 50032, 31059 Toulouse Cedex 9, France  
Tel: +33 5 61 32 23 35  
Fax: +33 5 61 32 39 89  
e-mail: kamar.n@chu-toulouse.fr

Received 13 October 2014

Accepted 10 December 2014

Handling Editor: Alessio Aghemo

DOI:10.1111/liv.12763

Liver Int. 2015; 35: 1893–1901

**Abstract**

**Background & Aims:** Chronic kidney disease (CKD) is a common complication after liver transplantation. Kidney biopsies cannot be easily performed before liver transplantation to predict patients at high risk for CKD. The aim of our study was to determine whether pre-, peri- and post-transplant factors, as well as peptides present in preliver transplant urine samples were associated with loss in kidney function at 6 months post-transplantation using proteome analysis. **Methods:** Eighty patients who underwent a liver transplantation and that had pretransplant glomerular filtration rate (GFR) value of  $\geq 60$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> (MDRD) were included in the study. **Results:** GFR decreased significantly after transplantation. At month 6 post-transplantation, 40 patients displayed a CKD, i.e. eGFR of  $< 60$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, while the other 40 patients did not. Although thousands of peptides were identified, none was significantly associated with the development of CKD at 6 months after liver transplantation. Moreover, using a urinary peptidome classifier to detect preexisting CKD, no difference was found in CKD scores between the 2 groups. After analysis of a large number of pre-, peri- and post-transplant parameters, viral hepatitis as a cause for liver transplantation was the sole independent predictive factor for CKD. No difference in peptides with differential urinary abundance between patients who received a graft for virus related liver disease vs. all other causes of liver disease was observed. **Conclusion:** Urinary peptidome analysis before liver transplantation failed to identify a peptide pattern associated with the development of CKD at 6 months after liver transplantation.

Chronic kidney disease (CKD) is a common complication after orthotopic liver transplantation and is associated with increased short- and long-term patient

The two-first authors equally participated to the study.

morbidity and mortality (1, 2). The causes of post-transplant kidney dysfunction are multifactorial and are most likely caused by the accumulation of several pre-transplant, perioperative and post-transplant insults.

**Key Points**

- Pre-liver transplant urine proteome analysis does not predict chronic kidney disease after liver transplantation.
- Peri-operative hemodynamic parameters do not predict chronic kidney disease after liver transplantation.
- Viral hepatitis as a cause for liver transplantation is the sole independent predictive factor for chronic kidney disease.
- Proteome analysis does not differ between patients grafted viral hepatitis and non-viral hepatitis.

Although, the use of calcineurin inhibitors (CNIs) is the most commonly cited reason to explain CKD after liver transplantation, other pre-transplant and peri-operative parameters may be involved in the development of CKD. Indeed, hypertension, hepatitis C virus (HCV) infection, diabetes mellitus, kidney function before transplantation, dyslipidemia and perioperative conditions have all been described, in observational studies, as predictive risk factors for CKD after liver transplantation (3, 4) but are not routinely used in the risk assessment for development of CKD after liver transplantation.

In a previous study, we observed a steep decrease (31.5%) in kidney function within the first 6 months following transplantation, which lessened thereafter (5, 6). Furthermore, we have shown that low estimated glomerular-filtration rate (eGFR) at 6 months post-transplant was a predictive factor for impaired inulin clearance ( $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>) at 5 years post-transplant.

Many histological lesions have been described in patients with chronic kidney dysfunction after liver transplantation, including CNIs nephrotoxicity, nephro-angiosclerosis, IgA nephropathy, glomerulosclerosis and tubulointerstitial abnormalities (7). Lesions have been also observed in kidneys of patients with end-stage liver disease before liver transplantation, but with normal renal function (8, 9).

Predicting patients at high risk for CKD may help us optimize immunosuppressive regimens and to control those parameters that have a negative impact on kidney function after transplantation. Kidney biopsies cannot be easily performed in liver-transplant candidates because of the high risk of haemorrhage. We and others have observed that urinary proteome analysis can lead to the identification of peptide-based urinary biomarkers that are superior at detecting early changes in kidney pathology compared to classic non-biopsy-based clinical techniques, such as GFR determination using serum-creatinine measurements or even inulin clearance (10) (11). Therefore, in this study, we determined whether peptides present in pre-liver transplant urine samples were associated

with loss in kidney function at 6 months post-transplantation using proteome analysis. In addition, we have assessed a large number of pre-, peri-, and post-transplant factors that can predict loss in kidney function after liver transplantation.

**Patients and methods****Patients**

Between January 2006 and September 2011, 233 patients underwent a liver transplantation at our institution. In this study, we have only included those ( $n = 128$ ) that had pretransplant GFR value of  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> estimated using the abbreviated Modification of the Diet for Renal Disease (MDRD). Of these, we excluded patients that had an eGFR of  $\geq 130$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, which suggested hyperfiltration ( $n = 10$ ), recipients of a second transplant ( $n = 1$ ), patients with an albuminuria/creatininuria ratio of  $>300$  mg/g ( $n = 29$ ), and those who died within the first 6 months following transplantation ( $n = 6$ ). Two other patients declined to participate in the study. Hence, 80 patients were included in this prospective study after having given their informed consent and after approval of Toulouse Hospital IRB.

We collected data on the patients' pre-transplant characteristics (Table 1): age, gender, history of diabetes mellitus, history of hypertension, cause of liver transplantation and MELD score. We also assessed peri-operative parameters, such as cold ischaemia time, hypotension episodes during surgery (defined by a mean arterial pressure of  $<65$  mmHg), post-reperfusion syndrome (defined as a  $>50\%$  decrease in systolic arterial pressure after reperfusion), total operative time, blood transfusion(s), filling volumes, and the use of vasopressive amines. The need for dialysis after transplantation as well as kidney function (serum creatinine level and eGFR) were assessed before transplantation, and at post-operative days 1, 5, 15, 30, and at month 6. Proteinuria/creatinine ratio or albuminuria/creatinine ratio was obtained before and at 6 months post-transplantation. Types and doses of immunosuppressants were also recorded.

Regardless of the presence or absence of structural kidney damage, we defined CKD as an eGFR of  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> according to the statement from the Kidney Disease, Improving Global Outcome (12).

**Capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry (CE-MS) analysis**

For peptidome analysis, urine samples were collected from all patients before transplantation and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Urine samples were prepared for CE-MS as described elsewhere (13). CE-MS analysis was performed with a P/ACE MDQ capillary electrophoresis

**Table 1.** Comparison of pre-transplant characteristics

	All patients (n = 80)	eGFR* $\geq 60$ ml/min/1.73 m <sup>2</sup> (n = 40)	eGFR $< 60$ ml/min/1.73 m <sup>2</sup> (n = 40)	P-value
Age at transplantation (years)	55 $\pm$ 10	54 $\pm$ 11	57 $\pm$ 8	ns
Gender				
Male	65 (81.3%)	34 (85%)	31 (77.5%)	ns
Female	15 (18.7%)	6 (15%)	9 (22.5%)	ns
Cause for liver transplantation				
Alcoholic liver disease	26 (32.5%)	18 (45%)	8 (20%)	0.05
Replicative viral hepatitis	25 (31.25%)	9 (22.5%)	16 (40%)	
Non-replicative viral hepatitis	15 (18.75%)	5 (12.5%)	10 (25%)	
Other	14 (17.5%)	8 (20%)	6 (15%)	
Liver transplantation for viral hepatitis	40 (50%)	14 (35%)	26 (65%)	0.01
HCV infection	33 (41.25%)	12 (30%)	21 (52.5%)	ns
Replicative HCV infection	25 (31.25%)	9 (22.5%)	16 (40%)	ns
Non-replicative HCV infection	8 (10%)	3 (7.5%)	5 (12.5%)	ns
HCV genotype				
1	5	1	4	ns
3	1	1	0	ns
4				
HCV RNA concentration (log IU/mL)	5.45 (2.36-6.86)	5.44 (2.36-6.76)	5.45 (3.67-6.86)	ns
HBV infection	7 (8.75%)	2 (5%)	5 (12.5%)	ns
Replicative HBV infection	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	ns
Non-replicative HBV infection	7 (8.75%)	2 (5%)	5 (12.5%)	ns
MELD score	14.4 $\pm$ 5.8	13.9 $\pm$ 4.9	14.8 $\pm$ 6.6	ns
Ascitis at transplantation	39 (48.8%)	20 (50%)	19 (47.5%)	ns
History of hypertension	18 (22.5%)	11 (27.5%)	7 (17.5%)	ns
History of diabetes mellitus	19 (23.8%)	13 (32.5%)	6 (15%)	
Serum creatinine level ( $\mu$ mol/L)	84 $\pm$ 15	85 $\pm$ 13	83 $\pm$ 16	ns
Pre-transplant eGFR (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	86.4 $\pm$ 19	86 $\pm$ 18	87 $\pm$ 20	ns
Pretransplant albuminuria/creatininuria ratio (mg/g)	5.5 (0-280)	6.3 (0-240)	4.9 (0-280)	ns

\*eGFR was estimated using the abbreviated Modification of the Diet for Renal Disease.

eGFR, estimated glomerular-filtration rate; HCV, hepatitis C virus; HBV, hepatitis B virus; MELD, Model for End-Stage Liver Disease; ns, not significant.

system (Beckman Coulter, Jersey City, NJ, USA) coupled online to a micro-TOF-MSII (Bruker Daltonic, Bremen, Germany), as described elsewhere (14, 15).

The mass spectral ion peaks, representing identical molecules at different charged states, were deconvoluted into single masses using Mosaiques-Visu software (16). TOF-MS data were calibrated utilizing 80 reference masses that were exactly determined with FT-ICR-MS, and then linear regression was applied. Migration time and ion-signal intensity (amplitude) were normalized using internal polypeptide standards (14, 17). The obtained lists of peaks characterized each polypeptide by its molecular mass (Da), normalized CE migration time (min), and normalized signal intensity. All detected peptides were deposited, matched and annotated in a Microsoft SQL database for further statistical analyses.

#### Biomarker model for chronic kidney disease (CKD)

Data from the above samples were tested against a previously developed biomarker model for chronic kidney

disease (CKD) (13). Good *et al.* identified biomarkers for CKD with high sensitivity and specificity. This biomarker model is termed the 'CKD-model' in this study. Using the CKD-model, CE-MS analysis of each patient's urine sample provided a classification factor/score. A classification score of  $>0.343$  indicated the presence of CKD.

#### Statistical analyses

For the clinical data the reported values represent either their means ( $\pm$  SD) or medians (ranges). Proportions were compared by the  $\chi^2$  test or Fisher's exact test. Quantitative variables were compared by the non-parametric Friedman test for serial measurements, and either Student's *t*-test or the Wilcoxon test. To identify potential biomarkers, reported *P*-values were calculated using the Wilcoxon rank-sum test followed by adjustment for multiple testing. Only proteins/peptides that were detected at a frequency of  $\geq 70\%$  in at least one of the diagnostic groups were considered within the statistical

analyses. The Mann-Whitney U-test was used to determine correlations between individual classification scores.

Independent factors associated with eGFR  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation were studied using a stepwise multivariate logistic-regression model, which used an initial inclusion criterion that had a significance of  $P$ -value  $<0.1$ , using Statview software (SAS institute Inc., USA). For this purpose, patients with an eGFR  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation were compared to those with an eGFR  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation. A  $P$ -value of  $<0.05$  was considered statistically significant.

## Results

### Outcomes of kidney function after transplantation

Overall, eGFR decreased significantly from  $86 \pm 19$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> before transplantation to  $73 \pm 32$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> on day 1,  $67 \pm 38$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> on day 5,  $70 \pm 30$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> on day 15,  $69 \pm 31$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> by month 1, and  $65 \pm 22$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation ( $P < 0.0001$ ). At month 6 post-transplantation, 40 patients displayed an eGFR of  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> while the other 40 patients displayed an eGFR of  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Before transplantation, kidney function was similar in both groups. However, as soon as day 1 post-transplantation, kidney function displayed a tendency ( $P = 0.06$ ) for deterioration that was confirmed at day 5 in patients with an eGFR of  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation (Fig. 1). Before transplantation, the albuminuria/creatininuria ratio was 5.5 (range: 0–280) mg/g, but this increased to an average of 85.5 (range: 2–1900) mg/g ( $P < 0.0001$ ) by month 6 post-transplantation. At this time, 37% patients had an albuminuria/creatininuria ratio of  $<30$  mg/g; 44% had a ratio of between 30 and 300 mg/g, and 19% had a ratio of  $>300$  mg/g. Fifty percent of patients who displayed an albuminuria/creatininuria ratio of  $>300$  mg/g had an eGFR of  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>.

### Comparison between patients with and without chronic kidney disease at month 6 post-transplantation

We compared pre-transplant, peri-transplant, and post-transplant parameters between patients with an eGFR of  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation with those with an eGFR of  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation.

### Comparisons of pretransplantation characteristics between the two groups

Pretransplantation characteristics are presented in Table 1. Age, gender, the MELD score at transplantation, history of hypertension, history of diabetes, and kidney function were similar in both groups at the time

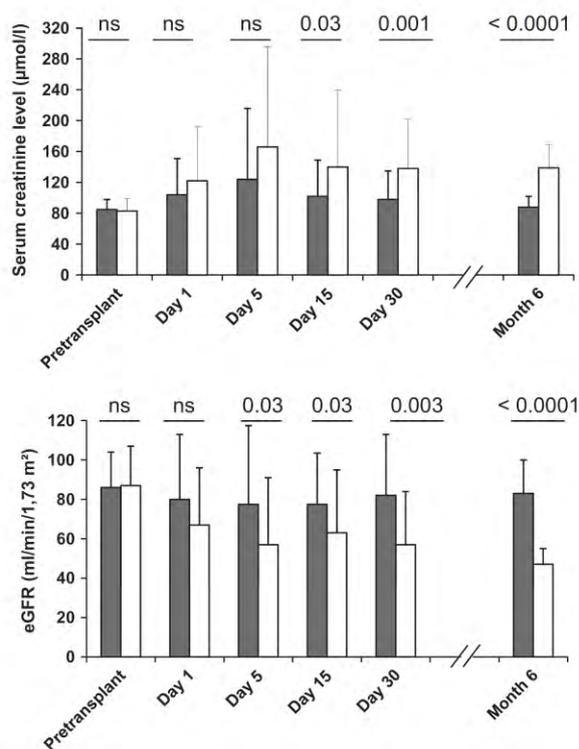


Fig. 1. Kidney-function outcomes.

of transplantation. Only the aetiology of the liver disease differed between the groups ( $P = 0.05$ ). In patients who did not develop CKD at 6 months post-transplantation, the majority received a graft because of alcohol-liver disease (45% vs 20% in the other group) whereas viral hepatitis was the main reason for liver transplantation in patients who did develop CKD at 6 months post-transplantation (40% vs 22.5% in the other group). The proportion of patients infected by HCV or hepatitis B virus with or without viral replication was similar in both groups. HCV genotype and HCV RNA concentration at transplantation were also comparable in both groups (Table 1).

### Urinary peptidome analyses

All urine samples were analyzed by CE-MS: after an initial quality-control analysis, 79 of the 80 samples were included in the analyses. The number of urinary peptides detected in the different groups was similar ( $3228 \pm 707$  peptides in patients that had an eGFR  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation and  $3136 \pm 962$  peptides in those with an eGFR  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation ( $P = ns$ ).

Analyses of the distribution of these peptides over the two groups led to the identification of 34 peptides with differential urinary abundance ( $P < 0.05$ ; Table S1). However, corrections for multiple testing, which are

mandatory in these types of approaches (18, 19) because of the large number of features (thousands of peptides) compared to the low number of samples/group (~40), did not result in differences in the abundances of peptides between the two groups. This lack of difference is evident in the contour plots, which include the compiled abundance of all urinary peptides in all samples, from both groups (Fig. 2). In addition, using a previously identified urinary peptidome-based classifier, which can detect CKD (11) (13) (20), we did not observe any difference between the two groups (Fig. S1). Similarly, we did not observe peptides with differential urinary abundance (after multiple testing correction) between patients who received a graft for an alcohol-related liver disease and those who received a liver transplant for viral hepatitis ( $n = 26$  vs 40) or virus related liver disease vs. all other causes of liver disease ( $n = 40$  vs. 39 respectively).

#### Comparison of peritransplantation and post-transplantation parameters between the two groups

As shown in Table 2, per- and peri-operative parameters that could have had an impact on kidney function did not differ between the two groups. The need for dialysis after transplantation, as well as urine output on day 1, was similar in both groups.

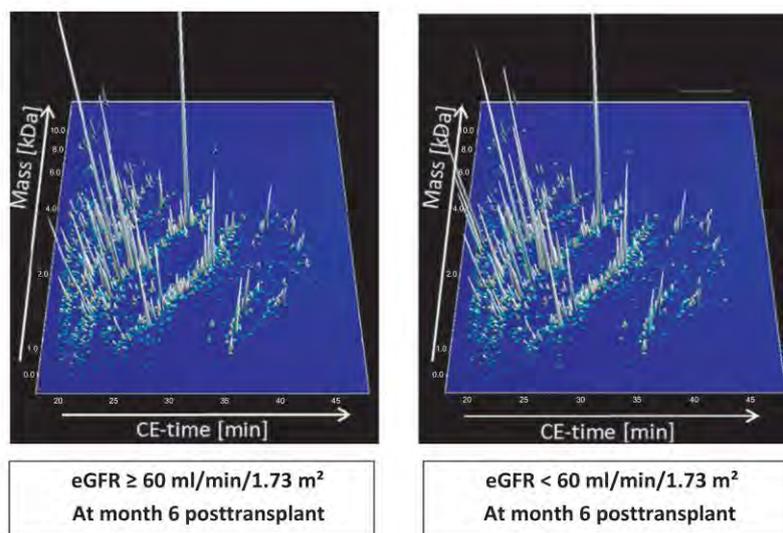
With respect to immunosuppression, the proportion of patients who received an induction therapy tended to be higher in patients with CKD. These patients mostly received a polyclonal antibody-induction therapy (72.8% vs. 44% in patients without CKD,  $P = 0.03$ ). The type of immunosuppressant used was similar in

both groups, although steroids were more often used in patients without CKD. CNIs were started on day 1 for all patients. Interestingly, tacrolimus trough levels during the first month, and the proportion of patients that experienced a tacrolimus overdose (defined by at least one tacrolimus trough level of >15 ng/ml within the first month), was similar in both arms. Finally, there were no differences in total bilirubin levels during the first month after transplantation.

Hepatitis C virus RNA concentrations at months 1, 3 and 6 after transplantation were similar in both groups, respectively 6.94 (5.42–7.84), 6.66 (5.01–7.84), and 6.82 (5.35–7.56) log IU/ml in patients that had an eGFR  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation, and 6.26 (4.44–7.37), 6.74 (4.26–7.46), and 6.51 (2.46–7.64) log IU/ml in patients that had an eGFR <60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation ( $P = ns$ ). In patients with HCV replication, cryoglobulins were detected in 89.9% patients that had an eGFR  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation and 81.25% of patients that had an eGFR <60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation ( $P = ns$ ).

#### Predictive factors for chronic kidney disease at month 6 post-transplantation

We searched for predictive factors for chronic kidney disease, defined as an eGFR of <60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at month 6 post-transplantation. Results from the univariate analyses are presented in Tables 1, 2, and 3. The following variables were included in the multivariate analyses: liver transplantation for viral hepatitis or not, and the type of induction therapy (polyclonal vs. mono-



**Fig. 2.** Compiled urinary peptide profiles from liver-transplant patients with or without an eGFR of <60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> at 6 months post-transplantation. The peaks represent the different urinary peptides. The height of the peaks is a measure of the peptide abundance. Each peak and therefore urinary peptides is unambiguously identified by a specific migration time (x-axis) and a precise mass (y-axis, in logarithmic scale).

clonal antibodies). The sole independent predictive factor for CKD was viral hepatitis as a cause for liver transplantation (3.49; 95% CI 1.38–8.64,  $P = 0.008$ ). No difference in age, gender, immunosuppression, diabetes or hypertension was observed between patients with or without viral hepatitis (Table S2).

## Discussion

Robust pre-transplant predictive factors for frequently developing CKD after liver transplantation are absent. Because a kidney biopsy cannot be performed in all candidates before liver transplantation, non-invasive markers for kidney damage seemed a valuable alternative. Therefore, we determined whether peptides present in pre-liver transplant urine samples were associated with loss in kidney function at 6 months post-transplantation using proteome analysis. We also studied several pre-, peri-, and post-transplantation parameters that could have a negative impact on kidney function. How-

ever, viral hepatitis was the sole predictive factor for CKD at month 6 post-transplantation.

Multiple studies have reported a significant relationship between pre-transplant serum creatinine and post-transplant CKD (4, 21). In a previous study, we observed that patients with normal insulin clearance and normal serum creatinine can have severe histological injuries, which suggests that impaired kidney function can be delayed compared to histological lesions (6).

It has been shown that urine contains peptide-based biomarkers: these can detect not yet clinically visible diseases that are related to the eventual structural damage observed in kidneys. A classifier based on 273 urinary peptides allowed the prediction of the progression from normoalbuminuria to macroalbuminuria in diabetic patients (10) (22) as well as prediction of the development of CKD in patients with kidney disease originating from different aetiologies (23). In our study, we only included patients without CKD to limit the number of patients with ongoing kidney disease. Although thou-

**Table 2.** Comparison of peri-transplant parameters

Variables	eGFR $\geq 60$ ml/min/1.73 m <sup>2</sup> ( $n = 40$ )	eGFR $< 60$ ml/min/1.73 m <sup>2</sup> ( $n = 40$ )	P-value
Cold ischaemia time (min)	445 $\pm$ 146	471 $\pm$ 160	ns
Total operative time (min)	336 $\pm$ 56	318 $\pm$ 45	ns
Need for re-operation	25%	25%	ns
Hypotension episode during surgery	52%	65%	ns
Post-reperfusion syndrome	21.5%	25.8%	ns
Blood transfusion volume during surgery (ml)	1313 $\pm$ 1125	1492 $\pm$ 981	ns
Filling volume (ml)	2622 $\pm$ 1092	2602 $\pm$ 1241	ns
Total filling volume (ml)	3935 $\pm$ 1822	4094 $\pm$ 1477	ns
Peri-operative use of vasoactive amines	57%	59%	ns
Duration of vasoactive amines use (days)	0.25 (0-4)	0.25 (0-8)	ns
Need for dialysis after transplantation	10%	17.5%	ns
Urine output on day 1 (ml)	2231 $\pm$ 1275	1952 $\pm$ 1261	ns

eGFR, estimated glomerular-filtration rate.

**Table 3.** Comparison of immunosuppressive therapy and biological parameters

Variables	eGFR $\geq 60$ ml/min/1.73 m <sup>2</sup> ( $n = 40$ )	eGFR $< 60$ ml/min/1.73 m <sup>2</sup> ( $n = 40$ )	P-value
Induction therapy	62.5%	82.5%	0.08
RATG/Anti-IL2R blockers induction therapy	44%/66%	72.8%/27.2%	0.03
Use of CNIs after transplantation	95%	100%	ns
Tacrolimus/Cyclosporine A	95%/5%	90%/10%	ns
Use of mTOR inhibitors	0%	0%	ns
Use of mycophenolic acid	92.5%	92.5%	ns
Use of long-term steroids	92.5%	75%	0.07
Use of belatacept	5%	0%	ns
Tacrolimus trough level at day 5 (ng/mL)	12.4 $\pm$ 7.3	12.1 $\pm$ 8.9	ns
Tacrolimus trough level at day 15 (ng/mL)	10.1 $\pm$ 4.5	8.7 $\pm$ 3.7	ns
Tacrolimus trough level at day 30 (ng/mL)	9.09 $\pm$ 3.65	8.9 $\pm$ 2.7	ns
Tacrolimus overdose*	44%	40%	ns
Total bilirubin level at day 5 ( $\mu$ mol/L)	94.2 $\pm$ 57	85 $\pm$ 63	ns
Total bilirubin level at day 15 ( $\mu$ mol/L)	36 $\pm$ 26	32 $\pm$ 22	ns
Total bilirubin level at day 30 ( $\mu$ mol/L)	25 $\pm$ 16	22 $\pm$ 10	ns

\*Tacrolimus overdose was defined by at least one tacrolimus trough level  $> 15$  ng/mL within the first month.

eGFR, estimated glomerular-filtration rate; RATG, rabbit anti-thymocyte globulins; Anti-IL2R, anti-interleukin-2 receptor blockers; mTOR, mammalian target of rapamycin.

sands of peptides were identified, none was significantly associated with the development of CKD at 6 months after liver transplantation. Moreover, using the peptidome classifier based on 273 urinary peptides to detect pre-existing CKD, no difference was found in CKD scores between the groups and, overall, similar numbers of patients with potential CKD before transplantation were observed. Interestingly, a few patients scored positive for CKD, which suggested structural damage in the kidneys, yet kidney function was normal.

Finally, although having viral hepatitis as a cause for liver disease has been identified as a predictive factor for CKD, no difference in urine peptide analysis was observed between patients according to the reason for a liver transplantation. Viral hepatitis is often associated with glomerular injuries. Patients who were included in this study had no CKD and no glomerular-disease features. However, one can speculate that, although no proteinuria was detected before transplantation, viral infection may have caused prior damage to the kidney.

To the best of our knowledge, this is the first study that has attempted to evaluate the utility of pre-liver transplant urinary peptidome analysis as a predictive factor for CKD after liver transplantation. Levitsky *et al.* previously analyzed the plasma proteome in 64 patients with normal baseline glomerular-filtration rates before liver transplantation. These authors found a plasma proteomic signature using antibody based multiplexing that correlated with the development of CKD after transplantation (24) that remains to be confirmed. In the study by Levitsky *et al.*, patients with viral or immune hepatitis that can induce kidney injuries were excluded (24). In this study, to mimic as close as possible the clinical context, we included patients whatever their aetiology for liver disease was. We did not observe peptides with differential urinary abundance between patients who received a graft for an alcohol-related liver disease and those who received a liver transplant for viral hepatitis or virus related liver disease versus all other causes of liver disease. Finally, Levitsky *et al.* studied the plasma proteome while we have been focusing on urinary peptides. We and others have previously shown that kidney function deteriorates rapidly during the first 6 months post-transplantation, with a slower decline thereafter (25–27). Guitard *et al.* showed that serum creatinine levels on days 3 and 10 were associated with the occurrence of CKD at 1 year after liver transplantation (28). Lin *et al.* showed that post-transplant creatinine levels at 2 weeks, 4 weeks, and 3 months predicted the occurrence of CKD at 5 years after liver transplantation. In this study, we observed that, among patients who had an eGFR  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> before transplantation, kidney function was altered as soon as the first day after transplantation and did not recover during the follow-up. However, the decrease in kidney function was significantly more important for those patients who developed CKD at month 6 post-transplant compared to those who did not have CKD. Hence,

we can speculate that per- and peri-operative factors can influence kidney function.

In this study, we have assessed several peri-operative parameters, including filling volume, blood transfusion, and blood-pressure control, and found no difference between patients with and without CKD at month 6. Wenger *et al.* showed that intraoperative blood transfusion was not associated with impaired kidney function in patients with normal baseline kidney function (29). Proteome analysis early after liver transplantation might be interesting to predict the development of CKD and to detect events induced either by the transplantation itself and/or the immunosuppressive regimen that can lead to CKD.

Finally, the use of CNIs has been incriminated in the development of CKD within this population. Hence, we compared types and doses of immunosuppressive regimens between patients with and without CKD, and found no difference. CNIs were introduced in all patients at day 1. Interestingly, tacrolimus levels and the proportion of patients who had a tacrolimus overdose did not differ between the two groups. The delayed introduction of CNIs, under the cover of an anti-CD25 monoclonal antibody induction therapy, did not result in improved kidney function (30, 31). In this study, the use of a polyclonal antibody induction therapy was more often given to patients with CKD at month 6. No explanation for this finding can be given: anti-thymocyte globulins are not known to have a nephrotoxic effect, they were not used to delay the introduction of CNIs, and the selected patients had no impaired kidney function before transplantation. Of note, their use was not identified as a predictive factor for CKD.

This study has several limitations. Regarding the selection of patients, kidney function was assessed using the MDRD estimation, which can lack accuracy in candidates awaiting liver transplantation. However, this is the most frequently used method to estimate kidney function, and Gowa *et al.* have shown that it can underestimate kidney function compared to iothalamate clearance (32). Although the number of patients included in this study is small, this is the first study to perform peptidome analysis on urine samples obtained before liver transplantation.

In conclusion, peptidome analysis of urine before liver transplantation in patients with normal renal function failed to identify a peptide pattern associated with the development of CKD after liver transplantation. The pathogenic mechanisms leading to impaired kidney function after liver transplantation are complex, multifactorial and deserve further investigations to be better understood.

#### Acknowledgements

The work in this study was funded by l'Association Pour la Recherche en Nephrologie (ARNTO).

JLB and JPS acknowledge support by Inserm and the 'Direction Régionale Clinique' under the interface programme. JPS was supported by Inserm and the 'Direction de la Recherche Médicale et Innovation' (CHU de Toulouse, France) under the 'Contrat Hospitalier de Recherche Translationnelle' program.

**Conflict of interest:** The authors have no disclosures to report.

## References

- Bloom RD, Reese PP. Chronic kidney disease after nonrenal solid-organ transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2007; **18**: 3031–41.
- Ojo AO, Held P J, Port F K, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003; **349**: 931–40.
- Lamattina J C, Foley D P, Mezrich J D, et al. Chronic kidney disease stage progression in liver transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; **6**: 1851–7.
- Burra P, Senzolo M, Masier A, et al. Factors influencing renal function after liver transplantation. Results from the MOST, an international observational study. *Dig Liver Dis* 2009; **41**: 350–6.
- Kamar N, Guilbeau-Frugier C, Servais A, et al. Kidney histology and function in liver transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011; **26**: 2355–61.
- Kamar N, Maaroufi C, Guilbeau-Frugier C, et al. Do kidney histology lesions predict long-term kidney function after liver transplantation? *Clin Transplant* 2012; **26**: 927–34.
- Kim JY, Akalin E, Dikman S, et al. The variable pathology of kidney disease after liver transplantation. *Transplantation* 2010; **89**: 215–21.
- Axelsen RA, Crawford DH, Endre ZH, et al. Renal glomerular lesions in unselected patients with cirrhosis undergoing orthotopic liver transplantation. *Pathology* 1995; **27**: 237–46.
- Wagrowska-Danilewicz M, Danilewicz M, Sikorska B. Glomerular and interstitial renal findings in patients with liver cirrhosis with normal renal function The histomorphometric study. *Gen Diagn Pathol* 1996; **141**: 353–7.
- Roscioni SS, De Zeeuw D, Hellemons ME, et al. A urinary peptide biomarker set predicts worsening of albuminuria in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2013; **56**: 259–67.
- Schanstra JP, Mischak H. Proteomic urinary biomarker approach in renal disease: from discovery to implementation. *Pediatr Nephrol* 2014; [Epub ahead of print].
- Stevens PE, Levin A. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med* 2013; **158**: 825–30.
- Good DM, Zürbig P, Argiles A, et al. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease. *Mol Cell Proteomics* 2010; **9**: 2434–7.
- Theodorescu D, Wittke S, Ross MM, et al. Discovery and validation of new protein biomarkers for urothelial cancer: a prospective analysis. *Lancet Oncol* 2006; **7**: 230–40.
- Klein J, Lacroix C, Caubet C, et al. Fetal urinary peptides to predict postnatal outcome of renal disease in fetuses with posterior urethral valves (PUV). *Sci Transl Med* 2013; **5**: 198ra06.
- Neuhoff N, Kaiser T, Wittke S, et al. Mass spectrometry for the detection of differentially expressed proteins: a comparison of surface-enhanced laser desorption/ionization and capillary electrophoresis/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2004; **18**: 149–56.
- Jantos-Siwy J, Schiffer E, Brand K, et al. Quantitative urinary proteome analysis for biomarker evaluation in chronic kidney disease. *J Proteome Res* 2009; **8**: 268–81.
- Mischak H, Apweiler R, Banks RE, et al. Clinical proteomics: a need to define the field and to begin to set adequate standards. *Proteomics - Clin Appl* 2007; **1**: 148–56.
- Mischak H, Allmaier G, Apweiler R, et al. Recommendations for biomarker identification and qualification in clinical proteomics. *Sci Transl Med* 2010; **2**: 46 ps42.
- Siwy J, Schanstra JP, Argiles A, et al. Multicentre prospective validation of a urinary peptidome-based classifier for the diagnosis of type 2 diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2014; **29**: 1563–70.
- Nishi H, Shibagaki Y, Kido R, et al. Chronic renal outcome after living donor liver transplantation. *Clin Transplant* 2013; **27**: 90–7.
- Zurbig P, Jerums G, Hovind P, et al. Urinary proteomics for early diagnosis in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2012; **61**: 3304–13.
- Argiles A, Siwy J, Duranton F, et al. CKD273, a new proteomics classifier assessing CKD and its prognosis. *PLoS ONE* 2013; **8**: e62837.
- Levitsky J, Salomon DR, Abecassis M, et al. Clinical and plasma proteomic markers correlating with chronic kidney disease after liver transplantation. *Am J Transplant* 2011; **11**: 1972–8.
- Karie-Guigues S, Janus N, Saliba F, et al. Long-term renal function in liver transplant recipients and impact of immunosuppressive regimens (calcineurin inhibitors alone or in combination with mycophenolate mofetil): the TRY study. *Liver Transpl* 2009; **15**: 1083–91.
- Israni A K, Xiong H, Liu J, et al. Predicting end-stage renal disease after liver transplant. *Am J Transplant* 2013; **13**: 1782–92.
- Leithead JA, Ferguson JW, Hayes PC. Modifiable patient factors are associated with the late decline in renal function following liver transplantation. *Clin Transplant* 2012; **26**: E316–23.
- Guitard J, Ribes D, Kamar N, et al. Predictive factors for chronic renal failure one year after orthotopic liver transplantation. *Ren Fail* 2006; **28**: 419–25.
- Wenger U, Neff TA, Oberkofler CE, et al. The relationship between preoperative creatinine clearance and outcomes for patients undergoing liver transplantation: a retrospective observational study. *BMC Nephrol* 2013; **14**: 37.
- Calmus Y, Kamar N, Gugenheim J, et al. Assessing renal function with daclizumab induction and delayed tacrolimus introduction in liver transplant recipients. *Transplantation* 2010; **89**: 1504–10.
- Verna E C, Farrand E D, Elnaggar A S, et al. Basiliximab induction and delayed calcineurin inhibitor initiation in liver transplant recipients with renal insufficiency. *Transplantation* 2011; **91**: 1254–60.
- Gonwa TA, Jennings L, Mai ML, et al. Estimation of glomerular filtration rates before and after orthotopic liver transplantation: evaluation of current equations. *Liver Transpl* 2004; **10**: 301–9.

**Supporting information**

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

**Fig. S1.** The difference between patients of the two groups was scored using a previously identified urinary peptidome classifier that detects the presence of CKD (13). The predetermined cut-off for CKD is indicated. There was no difference in CKD score between the

groups.

**Table S1.** Peptides, non-corrected for multiple testing, displaying differential abundance in urine after comparison of pre-liver transplant patients with an eGFR of either  $\geq$  or  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> 6 months post-transplantation.

**Table S2.** Comparison between patients with and without viral hepatitis

## ANNEXES

### **PARTIE I**

Annexe I.A : Classification de la dysfonction rénale chez le cirrhotique d'après Mindikoglu et al. 2013.

Annexe I.B : Classification de l'IRA selon les critères RIFLE et AKIN basés sur la créatinine sérique, le DFG basal ou la diurèse horaire.

Annexe I.C : Fonction rénale après la transplantation hépatique d'après Kamar et al. 2012. (A) selon le niveau de la créatinine sérique. (B) selon le DFG estimé.

Annexe I.D : Impact du DFG mesuré et de la créatinine sérique sur la mortalité d'après Allen et al. 2014.

Annexe I.E : Algorithme décisionnel pour la réalisation d'une greffe combinée Foie-rein d'après Tanriover et al. 2008.

### **PARTIE II**

Annexe II.A : Représentation schématique du principe de fonctionnement de l'électrophorèse couplée à la spectrométrie de masse.

Annexe II.B : Supplementary Figure 1.

Annexe II.C : Supplementary Table 1.

Annexe II.D : Supplementary Table 2.

**Annexe I.A:** Classification de la dysfonction rénale chez le cirrhotique d'après Mindikoglu et al. 2013.

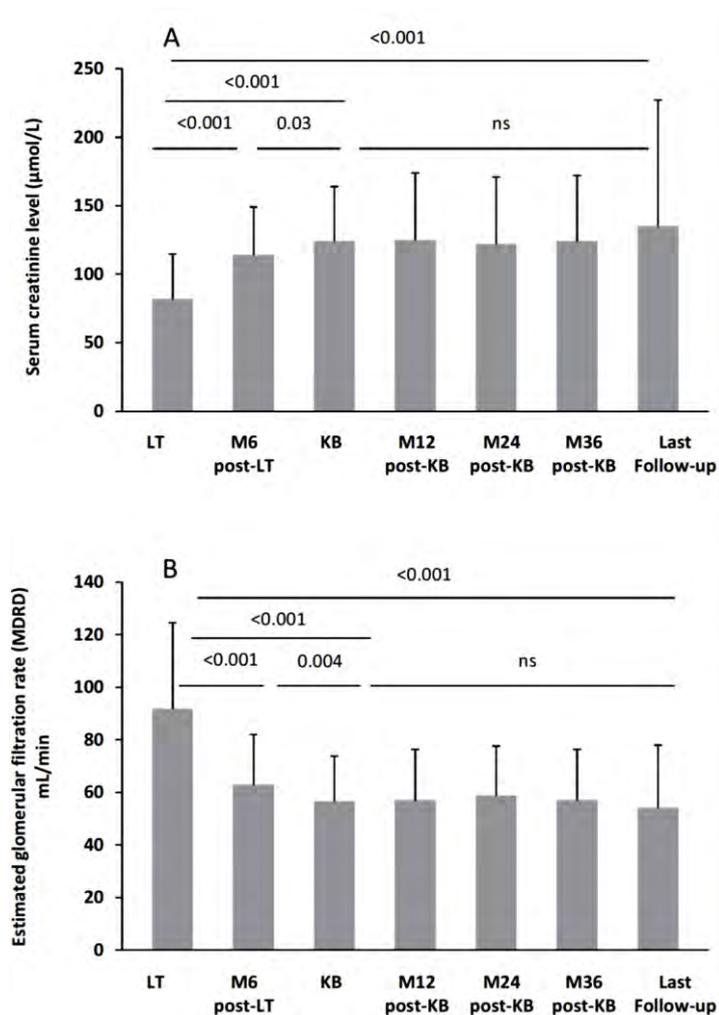
**Table 1**  
Proposed Classification of Renal Dysfunction in Cirrhosis Based on Renal Plasma Flow and GFR

	RPF	GFR	Filtration Fraction	Renal Disease	Stage	
					Stage 0	Stage 1
No Baseline Acute or Chronic Kidney Disease*	↑	Normal	Normal/Baseline			
	↑	Normal/Low Normal (Mildly Reduced from Baseline)	Increased from Baseline	Pre-HRS Hypovolemia Hypoperfusion other than HRS		
	↑	Moderate to Severely Reduced from Baseline	Normal, Increased or Reduced from Baseline	HRS Type II HRS Type I Hypovolemia Hypoperfusion other than HRS		
	↑	Prolonged or Severely Reduced from Baseline	Normal, Increased or Reduced from Baseline	Ischemic Acute Tubular Necrosis (Complete or Partial Recovery)		
	↑	Prolonged or Severely Reduced from Baseline	Normal, Increased or Reduced from Baseline	Ischemic Acute Tubular Necrosis (No Recovery)		
Baseline Chronic Kidney Disease	RPF	GFR	Filtration Fraction	Renal Disease		

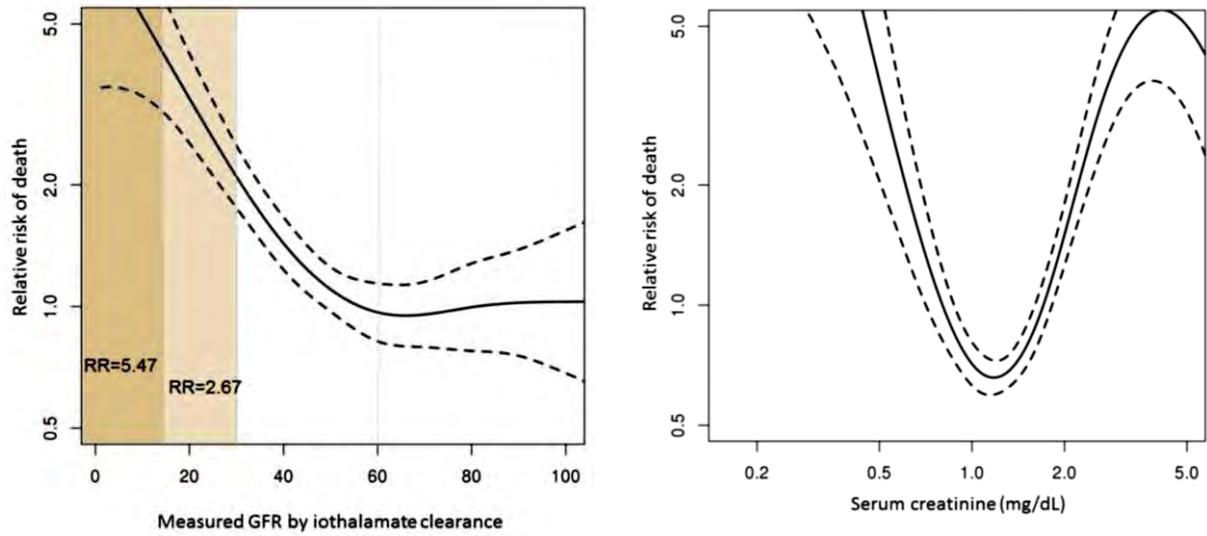
**Annexe I.B:** Classification de l'IRA selon les critères RIFLE et AKIN basés sur la créatinine sérique, le DFG basal ou la diurèse horaire.

Stades classification	Critères selon créatinine ou GFR basal	Critères selon diurèse horaire
<b>RIFLE</b>		
Risk	↑ créatinine 1,5x ou ↓ GFR > 25%	Diurèse < 0,5 ml/kg/h × 6 heures
Injury	↑ créatinine 2x ou ↓ GFR > 50%	Diurèse < 0,5 ml/kg/h × 12 heures
Failure	↑ créatinine 3x ou ↓ GFR > 75%	Diurèse < 0,3 ml/kg/h × 24 heures
Loss	Ou ↑ créatinine > 44 μmol/l si créatinine ≥ 354 μmol/l	Ou anurie × 12 heures
End stage renal failure	Perte complète de la fonction rénale > 4 sem Dépendance de dialyse pendant 3 mois	
<b>AKIN</b>		
1	↑ créatinine ≥ 26,4 μmol/l ou ↑ créatinine ≥ 1,5-2x	d. critères RIFLE
2	↑ créatinine > 2-3x	
3	↑ créatinine > 3x Ou ↑ créatinine > 44 μmol/l si créatinine ≥ 354 μmol/l Ou nécessité de dialyse	

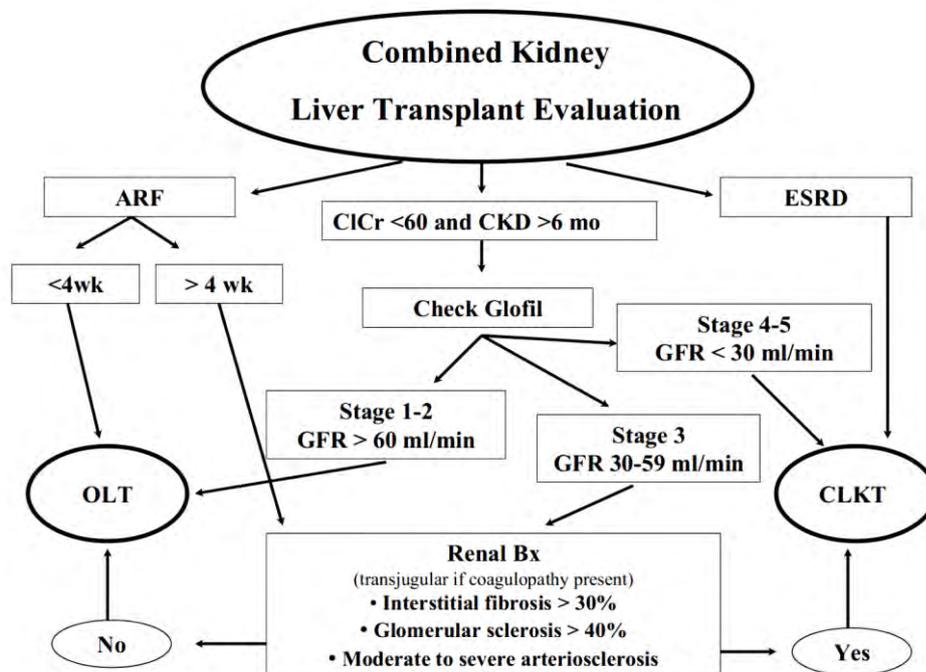
**Annexe I.C:** Fonction rénale après la transplantation hépatique d'après Kamar et al. 2012. (A) selon le niveau de la créatinine sérique. (B) selon le DFG estimé.



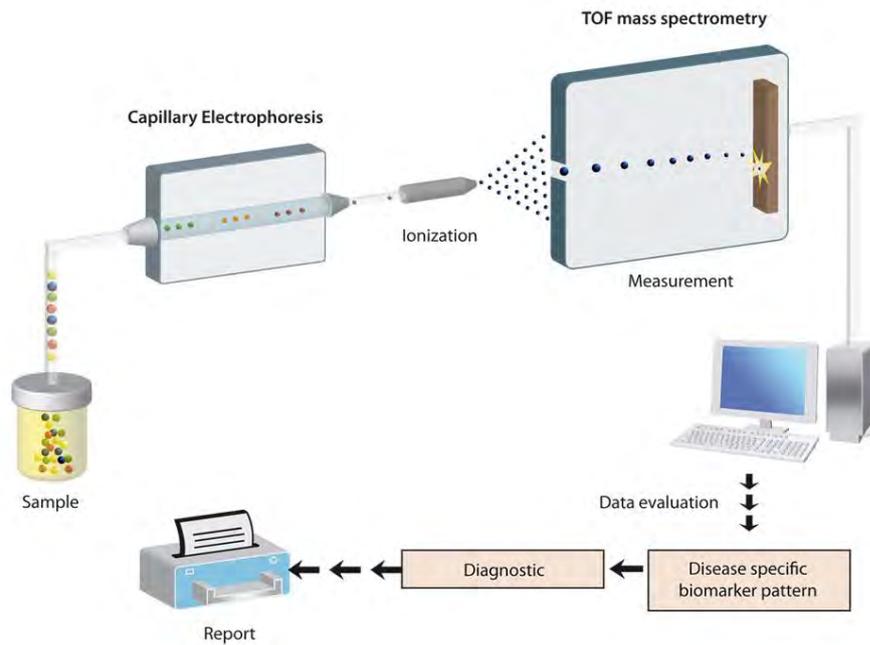
**Annexe I.D :** Impact du DFG mesuré et de la créatinine sérique sur la mortalité d'après Allen et al. 2014.



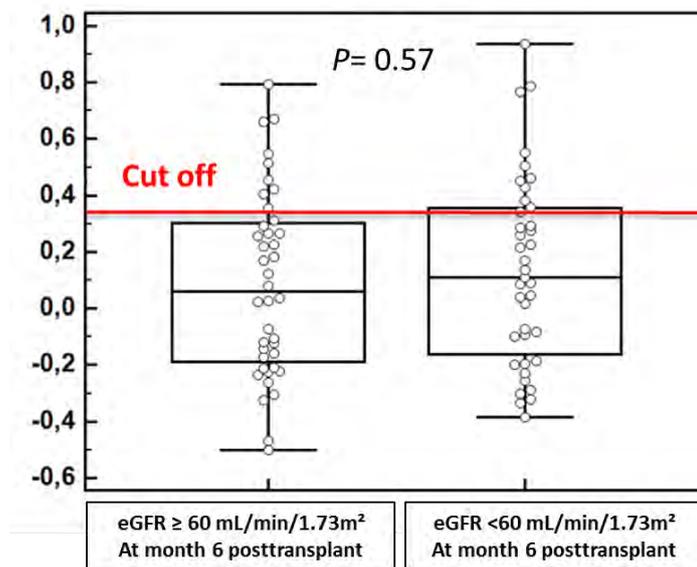
**Annexe I.E :** Algorithme décisionnel pour la réalisation d'une greffe combinée Foie-rein d'après Tanriover et al. 2008.



**Annexe II.A:** Représentation schématique du principe de fonctionnement de l'électrophorèse couplée à la spectrométrie de masse.



**Annexe II.B:** Supplementary Figure 1.



**Fig. S1.** The difference between patients of the two groups was scored using a previously identified urinary peptidome classifier that detects the presence of CKD [13]. The predetermined cut-off for CKD is indicated. There was no difference in CKD score between the groups.

**Annexe II.C: Supplementary Table 1:** Peptides, non-corrected for multiple testing, displaying differential abundance in urine after comparison of pre-liver transplant patients with an eGFR of either  $\geq$  or  $<$  60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> 6 months post-transplantation.

Peptide ID*	Fold change	unaj.wilcox-p-value	Sequence	Protein Symbol	Protein Name
x73177	1.36	0.002966602	DAGApGAPGGKGDAGApGERGPpG	COL3A1	Collagen alpha-1(III) chain
x95583	1.50	0.003398650	GADGQpGAKGepGDAGAKGDAGpPGPAGP	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
x74065	1.18	0.003627048	DAGApGApGGKGDAGApGERGPpG	COL3A1	Collagen alpha-1(III) chain
x85855	1.71	0.007050630	DGAKGDAGAPAGKGEpGSpGENGApG	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
x105490	1.51	0.007906678	PpGADGQPGAKGEpGDAGAKGDAGpPGPAGP	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
x83367	1.82	0.008884488	KGDAGApGAPGGKGDAGApGERGPpG	COL3A1	Collagen alpha-1(III) chain
x113347	0.53	0.009420664	STASAITPSVSRSTSFTSVSRSGGGGGGGFGR	KRT5	Keratin
x145367	1.99	0.012646512	-	-	-
x138853	1.97	0.013597373	-	-	-
x131753	1.45	0.013656444	TTLSPSSSTTHEGEPTTFQSWPSSKDTSPAPSG	MUC12	Mucin-12
x91669	1.57	0.017424800	-	-	-
x88299	1.34	0.019084166	KNGSGEPGApGSKGDTGAKGEpGPVG	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
x125799	1.66	0.019857961	-	-	-
x99691	1.60	0.019989644	-	-	-
x17622	1.45	0.020178778	-	-	-
x74902	0.80	0.022040465	GPpGEAGkPGEQVPGDLGApGP	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
x60871	0.56	0.027860566	pGPQGPLGKPGAPGEPGPQG	COL8A1	Collagen alpha-1(VIII) chain
x72552	1.82	0.028263199	DAGAPGApGGKGDAGAPGERGPpG	COL3A1	Collagen alpha-1(III) chain
x30524	1.78	0.028753616	IQNWPHYRSP	PGLYRP1	Peptidoglycan recognition protein 1
x107183	1.34	0.030905744	IPVKQADSGSSEEKQLYNKYPDVA	SPP1	Osteopontin
x41434	1.45	0.032657213	GpSGPpGPDGNKGEpG	COL1A2	Collagen alpha-2(I) chain
x67951	1.54	0.034526453	-	-	-
x69732	1.35	0.034780818	IkGHRGFpGNPGApGSpGPAG	COL3A1	Collagen alpha-1(III) chain
x141804	0.55	0.035116191	-	-	-
x94948	1.17	0.035424394	GADGQPGAKGEpGDAGAKGDAGpPGPAGP	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
x82325	1.25	0.035795019	NGDDGEAGKpGRpGERGPPGPQG	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
x58050	0.71	0.036237397	GPpGEAGkPGEQVPGDLG	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
x93417	1.31	0.038939454	ADGQpGAKGepGDAGAKGDAGpPGPAGP	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
x41166	1.78	0.039533781	-	-	-
x8342	0.75	0.040436675	TTLASHSTK	MUC1	Mucin-1 subunit alpha
x184886	1.67	0.042705705	-	-	-
x76685	1.33	0.042771445	-	-	-
x132834	1.38	0.043871091	AGERGHGAPGpSGSpGLPGVPGSMGDMVNY DEIK	COL16A1	Collagen alpha-1(XVI) chain
x92946	1.33	0.047230317	-	-	-

\* Key: peptide ID, peptide identification number in database of Mosaiques Diagnostics; Fold change, fold change in amplitude of peptides ( $<60/\geq 60$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> groups); unaj.wilcox-p-value, unadjusted Wilcoxon p-value of the specific peptide after comparison of the peptide content of the two groups; Sequence of urinary peptide (-, no sequence available, i.e. peptide identified based on CE migration time and specific mass, modified amino acids: p=hydroxyproline; k=hydroxylysine); Protein symbol, Uniprot protein symbol; Protein name, Uniprot protein name.

**Annexe II.C: Supplementary Table 2:** Comparison between patients with and without viral hepatitis

Variables	Patients with viral hepatitis (n=40)	Patients without viral hepatitis (n=40)	p-value
Age at transplantation (years)	55.6±7.4	55.2±11.6	ns
Gender Male /Female	35/5	30/10	ns
MELD Score	13.2±6	15.6±5.3	0.07
Serum creatinine level (µmol/L)	83.5±15.6	85±15	ns
Pre-transplant eGFR (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )*	89±19	84±18	ns
History of diabetes mellitus	20%	27.5%	ns
History of hypertension	17.5%	27.5%	ns
Induction therapy	70%	75%	ns
RATG/Anti-IL2R blockers induction therapy	71% / 29%	50% / 50%	ns
Use of CNIs after transplantation	100%	95%	ns
Tacrolimus/Cyclosporine A	90% / 10%	95% / 5 %	ns
Use of mTOR inhibitors	0%	0%	ns
Use of mycophenolic acid	90%	95%	ns
Use of long-term steroids	72.5%	85%	ns
Use of belatacept	0%	5%	ns
Tacrolimus trough level at day 5 (ng/mL)	13.3 ± 9.1	11.2 ± 6.9	ns
Tacrolimus trough level at day 15 (ng/mL)	9.16 ± 4.3	9.6 ± 4.03	ns
Tacrolimus trough level at day 30 (ng/mL)	9.23 ± 2.39	8.8 ± 3.4	ns
Tacrolimus overdose**	42.5%	42.1%	ns

Abbreviations: MELD, Model for End Stage Liver Disease; eGFR, estimated glomerular-filtration rate; RATG, rabbit anti-thymocyte globulins; Anti-IL2R, anti-interleukin-2 receptor blockers; mTOR, mammalian target of rapamycin; ns, not significant.

\* eGFR was estimated using the abbreviated Modification of the Diet for Renal Disease

\*\* Tacrolimus overdose was defined by at least one tacrolimus trough level >15 ng/mL within the first month.

---

**Apport de la protéomique urinaire dans la recherche de facteurs prédictifs d'insuffisance rénale chronique chez le patient transplanté hépatique : étude prospective.**

---

RESUME EN FRANÇAIS :

La fonction rénale joue un rôle central en transplantation hépatique. Elle est contrainte à une dégradation constante et inévitable avec un impact conséquent sur la survie des patients. L'identification précoce des patients à risque de développer une insuffisance rénale terminale permettrait une meilleure prise en charge visant à ralentir l'évolution vers la dialyse ou la transplantation rénale.

L'analyse du protéome urinaire par électrophorèse capillaire, couplée à la spectrométrie de masse basée sur 273 peptides urinaires, permet la détection de lésions structurelles rénales précoces précédant toute modification du débit de filtration glomérulaire.

Dans cette optique, nous avons analysé, dans une étude prospective, le protéome urinaire de 80 patients avant transplantation hépatique afin de déterminer si les peptides urinaires étaient associés à une altération de la fonction rénale à 6 mois post-transplantation.

Bien que des milliers de peptides urinaires aient été identifiés, aucun n'était associé de manière significative avec le développement de la maladie rénale chronique post greffe.

En conclusion, l'analyse protéomique urinaire avant transplantation hépatique n'a pas permis d'identifier un modèle de peptide associé au développement de la maladie rénale chronique à 6 mois post greffe.

---

TITRE EN ANGLAIS: Pretransplant urinary proteome analysis does not predict development of chronic kidney disease after liver transplantation.

---

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Néphrologie

---

MOTS-CLÉS : maladie rénale chronique - transplantation hépatique - analyse protéomique - urine - hépatite virale

---

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier  
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,  
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

---

Directeur de thèse : Nassim KAMAR