



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

JOANA CRAVEIRO VAZ TEIXEIRA

***O Papel da Imunossupressão e outros Fatores de Risco na
Incidência de Tumores de Novo após Transplante Hepático***

ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL

ÁREA CIENTÍFICA DE CIRURGIA GERAL

Trabalho realizado sob a orientação de:

DR. JÚLIO ANDRÉ DELGADO CONSTANTINO

PROF. DOUTOR JOSÉ GUILHERME LOPES RODRIGUES TRALHÃO

ABRIL/2024

***O Papel da Imunossupressão e outros Fatores de Risco na Incidência de Tumores de
Novo após Transplante Hepático***

Joana Craveiro Vaz Teixeira ¹ - joana.teixeira99@hotmail.com

Dr. Júlio André Delgado Constantino ^{1,2} - constantino.julio@gmail.com

Prof. Doutor José Guilherme Lopes Rodrigues Tralhão ^{1,2} - uc15844@uc.pt

¹ Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

² Unidade Local de Saúde de Coimbra/Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Índice:	
Resumo	3
Abstract	5
Introdução	9
1.Fatores de risco para tumores <i>de novo</i>	10
1.1.Imunossupressão	10
1.1.1.Corticosteroides.....	11
1.1.2.CNIs	11
1.1.3.Antimetabolitos	12
1.1.4.mTORI.....	12
1.2.Tabaco e álcool	12
1.3.Infeções por vírus oncogénicos	13
1.3.1.EBV	13
1.3.2.HHV8.....	14
1.3.4.HCV.....	14
1.3.5.HPV.....	14
1.3.6.CMV	14
Objetivos	15
Materiais e métodos	15
1.Pacientes	15
2.Protocolo de imunossupressão do CHUC	15
3.Avaliação da imunossupressão usada	16
3.1.Regimes de imunossupressão.....	16
3.2.Dose cumulativa de tacrolinémia	16
4.Análise estatística	17
Resultados	18
1.Demografia da população	18
2.Tumores <i>de novo</i> : incidência total e de diferentes tipos	18
3.Fatores de risco.....	19
4.Esquemas de imunossupressão.....	21
5.DCT aos 3 meses e DCT aos 12 meses.....	21
Discussão	22
Conclusão	24
Agradecimentos	26
Referências	27

RESUMO:

Introdução:

O desenvolvimento de tumores *de novo* é uma das principais causas de morte após transplante hepático. Existem múltiplos fatores que contribuem para o aparecimento destes tumores, nomeadamente a imunossupressão e outros fatores de risco, como os vírus oncogénicos e o tabagismo. Os objetivos definidos para este trabalho foram identificar os tumores *de novo* mais comuns nos recetores de transplante hepático (RTH) do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), e avaliar a relação do aparecimento destas neoplasias com a imunossupressão e outros fatores de risco.

Materiais e métodos:

Realizou-se um coorte retrospectivo com 122 RTH do CHUC entre 2018-2023. Recolheram-se dados através dos processos clínicos dos doentes. Avaliou-se a incidência de tumores *de novo* nesta população, quais os tipos de tumores *de novo* mais frequentes e se o diagnóstico foi realizado através de rastreio ou após surgirem sintomas. Os RTH com e sem tumor *de novo* foram comparados para verificar se existia relação com os fatores de risco, incluindo a imunossupressão. Na análise estatística utilizaram-se testes paramétricos e não paramétricos e o teste qui-quadrado. Há significância estatística para um valor de $p < 0.05$.

Resultados:

A incidência de tumores *de novo* nos RTH do CHUC foi de 23% (n=28), cerca de 64.3% (n=18) foram diagnosticadas em rastreios e os restantes 35.7% (n=10) após a existência de sintomas. Destes 28 tumores *de novo*, 32.1% (n=9) correspondem a tumores da pele; 25% (n=7) a tumores colorretais; 14.3% (n=4) a doença linfoproliferativa pós-transplante (PTLD); 10.7% (n=3) a tumores da via aerodigestiva superior; 7.1% (n=2) a tumores do pulmão; 7.1% (n=2) a tumores ginecológicos/genito-urinários; 3.6% (n=1) a um tumor do pâncreas. Relativamente à imunossupressão e a outros fatores de risco, como tabagismo, infeção por vírus oncogénicos e complicações infecciosas, não foi encontrada associação com o aparecimento de tumores *de novo*.

Discussão:

Esta coorte retrospectiva demonstrou uma incidência de tumores *de novo* e uma taxa de sobrevivência nos RTH do CHUC de acordo com a literatura, sendo que 35.7% apenas tiveram o seu tumor *de novo* diagnosticado após terem surgido sintomas. Os grupos de tumores *de novo* mais comuns foram em primeiro lugar os tumores da pele, depois os tumores colorretais, a PTLD e os tumores da via aerodigestiva superior. Importa realçar que os tumores colorretais apresentaram uma incidência mais elevada comparativamente a outras populações de RTH da literatura. Relativamente, à população geral portuguesa a incidência de tumores colorretais e de tumores da via aerodigestiva superior nos RTH é mais elevada.

Conclusão:

Dada a incidência de tumores *de novo* nos RTH do CHUC, seria importante manter, os que já existem, e implementar programas de rastreio personalizados para esta população, com enfoque na área da gastroenterologia e da otorrinolaringologia, devido à elevada incidência destes tumores.

Palavras-chave:

Transplante de Fígado; Imunossupressão; Tumores *de novo*; Risco oncogénico; Mortalidade pós-transplante.

ABSTRACT:

Introduction:

The development of *de novo* tumors is one of the main causes of death after liver transplantation. There are multiple factors that contribute to the appearance of these tumors, mainly immunosuppression and other risk factors, like oncogenic viruses and smoking. We aimed to identify which *de novo* tumors are the most common in liver transplant recipients (LTR) of Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC) and evaluate the relationship between the development of these neoplasia with immunosuppression and other risk factors.

Methods:

A retrospective cohort was carried out with 122 LTR from CHUC between 2018-2023. Data were collected through the patients' clinical files. The incidence of *de novo* tumors, which *de novo* tumors were the most frequent and if the diagnosis was made through screening exams or after there were symptoms, was evaluated in this population. LTR with and without *de novo* tumors were compared to verify if there was a relation with the risk factors including immunosuppression. In the statistical analysis, parametric and non-parametric tests and chi-square test were used. There is statistical significance for a p value <0.05.

Results:

The incidence of *de novo* tumors in the LTR from CHUC was 23% (n=28), about 64.3% (n=18) were diagnosis trough screenings and the other 35.7% (n=10) after the existence of symptoms. Of these 28 *de novo* tumors, 32.1% (n=9) correspond to skin tumors; 25% (n=7) to colorectal tumors; 14.3% (n=4) to post-transplantation lymphoproliferative disorder (PTLD); 10.7% (n=3) to tumors of upper aerodigestive tract; 7.15 (n=2) to lung tumors; 7.1% (n=2) to gynecological/genitourinary tumors; 3.6% (n=1) to a pancreatic tumor. Regarding immunosuppression and others risk factors, like smoking, oncogenic viruses' infections and infectious complications, no association was found with the appearance of *de novo* tumors.

Discussion:

This retrospective cohort demonstrated that the incidence of *de novo* tumors and the survival rate of LTR from CHUC was in accordance with the literature, in the meanwhile 35.7% only had their *de novo* tumor diagnosed after symptoms appeared.

The most frequent types of *de novo* tumors were in first place skin tumors, followed by colorectal tumors, PTLT and tumors of upper aerodigestive tract. It's important to highlight that colorectal tumors have a higher incidence compared to other LTR populations in the literature. In relation to the general Portuguese population, the incidence of colorectal tumors and tumors of the upper aerodigestive tract in LTR is higher.

Conclusion:

Due to the incidence of *de novo* tumors in LTR from CHUC, it would be important to maintain, those that already exist, and implement personalized screening programs for this population, focusing on the areas of gastroenterology and otorhinolaryngology, given the high incidence of these tumors.

Key-words:

Liver Transplantation; Immunosuppression; *De novo* tumors; Oncogenic risk; Post-transplantation mortality.

Abreviaturas:

RTH – Recetores de Transplante Hepático

HCV – Vírus da Hepatite C

EBV – Vírus Epstein-Barr

PTLD – Doença Linfoproliferativa Pós-Transplante

HPV – Vírus do Papiloma Humano

HHV8 – Herpes Vírus Humano 8

CMV – Citomegalovirus

CNIs – Inibidores da Calcineurina

mTORI – Inibidores da Proteína Alvo da Rapamicina nos Mamíferos

TGF-B1- *Transforming Growth Factor-B1*

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

MMF – Micofenolato de Mofetil

DCT – Dose Cumulativa de Tacrolinemia

Figuras:

Figura 1 – Incidência de Tumores *de novo* nos RTH do CHUC entre 2018-2023.

Figura 2 – Diferentes tipos de Tumores *de novo* na população de RTH do CHUC entre 2018-2023.

Tabelas:

Tabela 1 - Fatores de risco e locais específicos para tumores *de novo* em adultos após transplante hepático

Tabela 2 – Fatores de risco e a sua relação com o aparecimento de tumores *de novo*.

Tabela 3 – Relação entre os esquemas de imunossupressão e o aparecimento de tumores *de novo*.

Tabela 4 – DCT aos 3 e aos 12 meses e as suas relações com o aparecimento de tumores *de novo*.

Introdução:

O transplante hepático é o tratamento de escolha para a falência hepática aguda, doença hepática crônica terminal, alguns tipos de neoplasia hepática, entre outros [1–4].

Devido aos avanços científicos nesta área da medicina, com especial relevância a evolução da imunossupressão, atualmente a taxa de sobrevivência pós-transplante hepático é excelente nos períodos precoces pós-transplante, nomeadamente cerca de 83%-90% no primeiro ano e 75% aos 5 anos [1,5]. No entanto a taxa de sobrevivência tardia é cerca de 50% aos 20 anos [2].

Os tumores *de novo* são uma das principais causas da mortalidade tardia, juntamente com as doenças cardiovasculares [4]. Segundo a literatura, a incidência de tumores *de novo* nos recetores de transplante hepático (RTH) varia entre 3.0% a 26.0%, tratando-se de um risco superior de desenvolverem neoplasias comparando com a população geral, e como tal, a mortalidade por neoplasia é significativamente superior à população geral [4,6]. Segundo Fuochi E *et al.* a taxa de sobrevivência estimada para todos os tipos de tumores *de novo* são 70%, 48% e 39% após 1 ano, 5 anos e 10 anos, respetivamente [2].

Existem múltiplos fatores que predispõem um indivíduo para o desenvolvimento de tumores *de novo*, fazendo com que o risco de desenvolverem uma neoplasia não seja igual para todos RTH. Uma das principais causas é a imunossupressão, normalmente vitalícia a que os RTH estão sujeitos, sendo que os regimes de imunossupressão podem variar. Para além disso, existem outros fatores de risco importantes como o tabagismo, o alcoolismo, a exposição solar, as infeções virais por HCV (Vírus da hepatite C), EBV (Vírus Epstein-Barr), entre outros, que aumentam o risco de tumores (tabela 1) [7,8].

Relativamente aos tipos de tumores *de novo* mais frequentes nos RTH segundo a literatura atual, em primeiro lugar estão os tumores da pele, com uma incidência global de 1.0% a 6.9% e uma incidência relativamente aos outros tumores em geral de 66.3% a 70.0%; de seguida está a doença linfoproliferativa pós-transplante (PTLD) com uma incidência global de 0.4 a 3.3% e relativamente aos outros tumores de 4.3% a 30%; depois os tumores colorretais com uma incidência global de 0.1% a 0.7%, representando 3.0% a 14.0% de todos os tumores *de novo* observados nos RTH; por último, o quarto tipo de tumor mais representado na literatura são os tumores das vias aerodigestivas superiores com uma incidência global de 0.2% a 1.5%, o que representa 2.4% a 21.9% de todos os tumores [7,9].

Segundo os dados do *Global Cancer Observatory* da Organização Mundial de Saúde referentes ao ano de 2022, em Portugal, relativamente à totalidade de tumores diagnosticados, a incidência de cancro colorretal é de 15.2%, de cancro do pulmão é de 8.8%, de cancro do pâncreas é de 3,1%, de melanoma é de 1.7% e de tumores da via aerodigestiva superior é de 5.24% [10].

Tabela 1 - Fatores de risco e locais específicos para tumores *de novo* em adultos após transplante hepático [5,7,11]

Local	Fator de Risco
Pele	Tabagismo Cirrose alcoólica Idade > 40 anos Sexo masculino Exposição solar Ciclosporina
PTLD	Idade > 50 anos Infeção por HCV Cirrose alcoólica
Colorretal	Colangite esclerosante primária Doença inflamatória intestinal
Via aerodigestiva superior	Consumo de álcool Tabagismo Infeção por HPV
Pulmão	Consumo de álcool Tabagismo
Legenda – Distribuição de fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento de tumores <i>de novo</i> segundo diferentes áreas do organismo. PTLD (Doença linfoproliferativa pós-transplante); HCV (Vírus da Hepatite C); HPV (Vírus do Papiloma Humano).	

1. Fatores de risco para tumores *de novo*:

1.1. Imunossupressão

A evolução e o desenvolvimento de novos regimes de imunossupressão contribuiu para a diminuição da incidência de rejeição de enxerto, permitindo uma melhoria da sobrevivência do recetor após o transplante hepático [1,7]. No entanto, a imunossupressão crónica, a que os RTH estão sujeitos, é responsável por uma disrupção e diminuição da imunovigilância normal nestes indivíduos, criando um ambiente prolífico para a formação de neoplasias. Para além disso, este estado de imunossupressão iatrogénica, representa uma maior suscetibilidade a infeções virais, incluindo por vírus oncogénicos [5], como o EBV, o HCV, o HPV (Vírus do Papiloma Humano), o HHV8 (Herpes Vírus Humano 8) e o CMV (Citomegalovirus) [5,6,12].

Vários estudos confirmam a existência de uma relação direta entre a intensidade e dose cumulativa da imunossupressão e o desenvolvimento de tumores *de novo* [13–15].

Os agentes de imunossupressão necessários num transplante de órgão sólido, podem ser categorizados em imunossupressores de indução, utilizados numa fase precoce, e de manutenção, para uma fase tardia [1]. Na indução da imunossupressão, a classe de imunossupressores mais utilizada são os corticosteroides, que possuem diversos efeitos secundários como o aumento do risco de infeção, alterações metabólicas, diabetes, entre outros. Os corticosteroides permanecem no regime de imunossupressão durante os primeiros 3 a 6 meses pós-transplante e durante este período vai existindo uma progressiva diminuição da dosagem até à sua suspensão. Relativamente à manutenção da imunossupressão existem 3 grupos a destacar: os inibidores de calcineurina (CNIs), os antimetabolitos e os inibidores da proteína alvo da rapamicina nos mamíferos (mTORI) [1].

1.1.1. Corticosteroides

Os corticosteroides não afetam diretamente o risco de desenvolver tumores *de novo* em RTH, excepto quando associados ao uso crónico, o que geralmente não é o que acontece nos esquemas de imunossupressão após um transplante hepático [3].

1.1.2. CNIs

Os CNIs são excelentes na proteção de órgão, daí serem considerados dos principais imunossupressores na manutenção da imunossupressão dos quais fazem parte agentes como, o tacrolimus e a ciclosporina [1]. No entanto, os CNIs estão associados à promoção da oncogénese através da ativação de várias vias como é o caso do aumento da expressão do *transforming growth factor-B1* (TGF-B1), evento visualizado *in vitro*, e que se trata de um efeito estimulador dose-dependente confirmado *in vivo* [16,17].

O tacrolimus é o CNI de escolha nos RTH, em detrimento da ciclosporina, porque tem maior potência e melhora o perfil de efeitos secundários cardiovasculares [1]. Corresponde ao imunossupressor mais usado no protocolo de imunossupressão pós-transplante hepático do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (CHUC).

Existe ainda alguma controvérsia sobre qual é o nível de tacrolinémia mais favorável para estabelecer um equilíbrio entre o risco de rejeição de órgão e o risco pró-oncogénico.

Vários estudos mostraram uma redução da incidência de tumores em RTH que receberam terapêutica imunossupressora combinada, sendo o tacrolimus sempre um dos imunossupressores. No entanto, não era possível afirmar se a descida da incidência se deveu à adição de um outro imunossupressor ou se foi devido à redução dos níveis de tacrolinemia, porque estes estudos não controlavam este último fator. Mais recentemente, surgiu o primeiro estudo a controlar ambos estes fatores, o estudo por Rodríguez-Perálvarez *et al.* [16]; nesta investigação foram seguidos RTH que receberam imunossupressão à base de tacrolimus isoladamente ou tacrolimus associado a MMF ou a um mTORI, após 12 meses de avaliação demonstrou-se que o verdadeiro efeito anticancerígeno é explicado sobretudo pela redução da exposição dos RTH a tacrolimus e não tanto pela adição de MMF ou de mTORI [16].

1.1.3. Antimetabolitos

Nos antimetabolitos destaca-se o micofenolato de mofetil (MMF) por múltiplas razões: primeiro possui um baixo potencial nefrotóxico, tornando-o um agente muito útil em doentes que necessitam de diminuir as doses de CNIs por lesão renal. Para além disso, quando é desejada a suspensão de corticosteroides, o MMF é útil para associar ao tacrolimus no plano de imunossupressão [1].

1.1.4. mTORI

Os mTORI, em especial o sirolimus e o everolimus, possuem um papel anti-tumoral importante, porque são dotados de capacidades anti-angiogénicas e anti-proliferativas. Aliás, na literatura, os mTORI correlacionam-se com uma incidência mais baixa de tumores *de novo* nos RTH, tornando-os opções muito interessantes para terapêutica imunossupressora nesta população [1,18].

Adicionalmente, os mTORI em comparação com outros regimes imunossupressores, nomeadamente os compostos por CNIs, correlacionam-se com uma probabilidade de recorrência de carcinoma hepatocelular mais baixa [18].

1.2. Tabaco e álcool

O tabagismo e o consumo elevado de álcool são fatores de risco para carcinogénese amplamente estudados e de conhecimento geral, afetando tanto a população geral como os RTH [19]. Associam-se principalmente a tumores da cavidade oral, do restante trato digestivo superior, do pulmão e do trato urinário [13,19]. Mais

particularmente, o tabagismo associa-se a um risco atribuível superior, comparativamente ao álcool, nos tumores da cavidade oral, faringe e laringe. Enquanto no caso dos tumores do esófago o álcool apresenta um risco atribuível ligeiramente superior [20].

Foi demonstrado um efeito sinérgico entre o tabagismo e o consumo de álcool, resultando num aumento de sete vezes o risco de formação de neoplasias [21]. Existem vários mecanismos responsáveis por este aumento do risco, um deles será o facto do álcool poder facilitar a penetração de carcinogéneos derivados do tabaco na mucosa do trato digestivo superior [22].

Os RTH que pararam de fumar possuem uma incidência mais baixa de tumores *de novo* associados a tabagismo, comparativamente aos RTH que continuaram a fumar [19]. Constatou-se que os RTH que são fumadores ativos no momento do transplante hepático possuem um prognóstico pior quando comparados com ex-fumadores, não só pelo aumento das complicações cardiovasculares e de tumores *de novo*, mas também porque está associado a recaídas no consumo de álcool, um aumento de complicações biliares e à recorrência de hepatites virais, neste último caso devido aos efeitos adversos do tabagismo nas defesas imunológicas do RTH e conseqüentemente o aumento de suscetibilidade a infeções [2,23]. Aliás, considera-se um fator protetor contra o desenvolvimento de complicações biliares quanto maior o período entre o momento da cessação tabágica e o transplante hepático [2].

O papel do tabaco e do álcool na mortalidade por tumores *de novo* assume uma relevância ainda maior, porque ambos são fatores modificáveis, logo um dos primeiros passos na diminuição da mortalidade é a promoção da cessação tabágica e alcoólica nestes grupos de indivíduos.

1.3. Infeções por vírus oncogénicos

Atualmente, existem muitos estudos que discriminam o papel dos vírus oncogénicos no desenvolvimento de tumores. É importante o conhecimento destas relações, pois os RTH possuem uma imunodeficiência adquirida, à custa da imunossupressão a que são sujeitos após o transplante, facilitando a sua infeção por vírus, nomeadamente os oncogénicos, como o EBV, o HHV8, o HCV, o HPV e o CMV.

1.3.1. EBV

O EBV é considerado um fator de risco para o desenvolvimento de PTLD [5,7,9,13]. O EBV infeta os linfócitos B e conduz a uma proliferação desregulada destas

células, e como a maior parte dos casos de PTLD deriva de células B (85%), é possível observar o papel da infecção por EBV no aparecimento de PTLD [5]. A incidência de PTLD diagnosticada nos RTH varia entre 0.9 e 3%, sendo que na população geral este valor é de 0.03% [5,7].

1.3.2. HHV8

Existe uma associação muito clara entre sarcoma de Kaposi e HHV8 [5,7,13]. A seroprevalência deste vírus oncogénico é muito variável à volta do globo, sendo que a nível da Europa constata-se uma das percentagens mais baixas (<5%) [5].

O sarcoma de Kaposi pode surgir em cerca de 3% dos RTH, estes indivíduos apresentam um risco 60 a 200 vezes superior de desenvolverem este tumor em relação à população geral, sendo este um intervalo largo devido à heterogeneidade da seroprevalência do HHV8 em diferentes regiões do mundo [5,7].

1.3.3. HCV

O HCV é também um fator de risco para o desenvolvimento de PTLD, para além do EBV [7,24–26]. Segundo McLaughlin K *et al.* a probabilidade relativa de desenvolvimento de PTLD em RTH infetados com HCV é de 9.5 [24].

1.3.4. HPV

Os tipos de HPV de alto risco, nomeadamente HPV16 e o HPV18, apresentam capacidade oncogénica e levam ao aumento do risco de carcinoma anal, de colo do útero, geniturinário, da orofaringe e ainda alguns tumores cutâneos [5,27–29]. No caso deste último grupo, a relação ainda não é muito clara, mas estudos recentes reforçam a ideia de que alguns tipos de HPV cutâneos podem ser potencialmente de alto risco [27].

Estes tumores associados ao HPV afetam desproporcionalmente recetores de transplante, porque existe uma persistência do vírus no hospedeiro, dado o estado de imunossupressão destes doentes [30].

1.3.5. CMV

As infeções por CMV são das infeções oportunistas mais comuns nos RTH, e de acordo com a literatura, são também, possivelmente, um fator de risco para o desenvolvimento de PTLD [7].

Segundo Namayandeh M *et al.* [31] RTH com coinfeção CMV/EBV apresentam um aumento significativo da incidência de PTLD versus os RTH que não possuem a coinfeção [31,32].

Objetivos:

Este estudo tem como objetivo principal identificar os tumores *de novo* mais comuns na população de RTH do CHUC e com isso criar protocolos de vigilância e viabilizar a introdução destes doentes em programas de rastreio específicos para o diagnóstico e tratamento mais atempado destes tumores.

Adicionalmente, tem como objetivos secundários a avaliação da relação de fatores de risco conhecidos na literatura, do esquema de imunossupressão utilizado no CHUC, em especial a dose cumulativa de tacrolinemia (DCT), com o aparecimento destes tumores, comparando com outras realidades da literatura, motivando uma reflexão sobre a possibilidade de uso de esquemas alternativos em casos selecionados.

Material e Métodos:

1. Pacientes:

Foram recolhidos, retrospectivamente, dados clínicos de todos os doentes, submetidos a transplante hepático no CHUC, durante o período de Janeiro de 2018 e Dezembro de 2021, a recolha dos dados abrangeu o intervalo temporal de 2018 a 2023, de forma a termos um tempo de *follow-up* de pelo menos 2 anos. Foram excluídos os doentes que cumpriam os seguintes critérios de exclusão: doentes com idade inferior a 18 anos no momento do transplante hepático, doentes que faleceram no mesmo internamento em que ocorreu o transplante, por complicações.

2. Protocolo de imunossupressão do CHUC:

O protocolo de imunossupressão na transplantação de fígado do CHUC foi adaptado do protocolo do Hospital Clínic de Barcelona [33].

A decisão entre os diferentes regimes de imunossupressão é diferente consoante o doente se encontra classificado como Child-Pugh A ou Child-Pugh B/C em relação com a severidade da sua doença hepática crónica.

Este protocolo indica como o clínico deverá atuar durante os diferentes períodos pós-operatórios (indução e manutenção da imunossupressão), o que fazer em caso de

intolerância e eventos adversos decorrentes dos imunossupressores, e também reserva uma parte final para o tratamento imunossupressor da rejeição do enxerto.

3. Avaliação da imunossupressão usada:

3.1. Regimes de imunossupressão

Os RTH foram divididos em seis grupos segundo o regime de imunossupressão a que estavam submetidos, designadamente:

- Grupo 1 – Tacrolimus isolado
- Grupo 2 – Tacrolimus associado com MMF
- Grupo 3 – Tacrolimus associado com everolimus
- Grupo 4 – Tacrolimus associado com MMF e everolimus
- Grupo 5 – Tacrolimus associado ao uso de prednisolona há mais de 6 meses
- Grupo 6 – Ciclosporina isolada

Relativamente aos esquemas de imunossupressão dos grupos 2, 3 e 4 considerou-se juntar todos os imunossupressores que o doente fez num período de 12 meses no mesmo grupo, mesmo que a sua utilização não tenha ocorrido simultaneamente.

3.2. Dose cumulativa de tacrolinemia

Para calcular o valor da DCT, recorreu-se a uma ferramenta online (<https://proyectos.imibic.org/cumulative-tacro/>). Trata-se de uma calculadora que utiliza a equação Wagner-Nelson para calcular a área abaixo da curva num gráfico tempo-dependente, em que se colocam os valores das concentrações de tacrolimus no sangue de cada RTH, ao longo de vários momentos num período máximo de 12 meses após o transplante hepático. Este cálculo abaixo da curva das concentrações mínimas que permite obter a DCT, já foi utilizado em múltiplos estudos, nomeadamente os dois seguintes, Rodríguez-Perálvarez *et al.* [16,34]. O primeiro procurou correlacionar a DCT com a incidência de cancro após transplante hepático [16] e o segundo, uma associação entre DCT e insuficiência renal após transplante hepático [34]. Através do consenso de Neuberger JM *et al.* [35] que definiu as concentrações convencionais de tacrolimus, Rodríguez-Perálvarez *et al.* [34] pode categorizar em quatro grupos a DCT (a unidade é ng.dia/mL): minimização agressiva de tacrolimus (DCT 3 meses <320; DCT 12 meses <1.150), minimização de tacrolimus (DCT 3 meses 321-579; DCT 12 meses 1.151-2.219), exposição convencional de tacrolimus (DTC 3 meses 580-839; DCT 12 meses

2.220-3.049) e exposição elevada de tacrolimus (DCT 3 meses >840; DCT 12 meses >3.050).

4. Análise estatística:

Toda a análise estatística foi realizada com recurso ao software IBM SPSS Statistics Version: 29.0.0.0. Foi avaliada a normalidade dos dados contínuos através do teste Shapiro-Wilk, como no caso da idade em que foi feito o transplante, o número de internamentos, a DCT aos 3 meses e a DCT aos 12 meses, cujos valores de p foram, respetivamente, de <0.012, <0.001, <0.001 e $p=0.787$, ou seja, a idade, o número de internamentos e a DCT aos 3 meses não seguem uma distribuição normal, mas a DCT aos 12 meses segue.

Tendo em conta as múltiplas variáveis em estudo, contínuas e categóricas, foram utilizados vários tipos de testes estatísticos, nomeadamente testes não-paramétricos (Mann-Whitney) para as variáveis contínuas sem distribuição normal, teste t-student para amostras independentes com interpretação pelo teste de Levene para igualdade de variâncias para a variável contínua com distribuição normal e o teste qui-quadrado para as variáveis categóricas. Considerou-se que havia significância estatística para um valor de $p < 0.05$.

Resultados:

1. Demografia da população

Foram coletados dados clínicos de 122 RTH do CHUC entre 2018 e 2023, cujos transplantes foram realizados entre 2018 e 2021. A maior parte eram do sexo masculino, 78.7% (n=96), e a idade média dos recetores no momento do transplante rondava os 57 anos. O tempo médio de *follow-up* é de três anos e meio.

Relativamente às causas de transplante, as duas mais comuns, são a cirrose alcoólica a constituir 30.3% (n=37) e o carcinoma hepatocelular em cirrose alcoólica com 23.8% (n=29).

2. Tumores *de novo*: incidência total e de diferentes tipos

Dos 122 doentes submetidos a transplante hepático, cerca de 23.0% (n=28) desenvolveu algum tipo de tumor *de novo* (fig.1). Destes 28 RTH com tumor *de novo* 7 faleceram na sequência do seu tumor, logo a taxa de mortalidade associada aos tumores *de novo* foi de 25.0%.

Relativamente aos diferentes tipos de tumor *de novo* desenvolvidos nestes 28 RTH (fig. 2), a incidência em relação ao número total de tumores corresponde a: 32.1% (n=9) são tumores da pele (o que incluiu tumores espinho-celulares, baso-celulares e melanomas); 25% (n=7) são tumores colorretais; 14.3% (n=4) são PTLD; 10.7% (n=3) são tumores da via aerodigestiva superior (o que incluiu um tumor no terço superior do esófago, outro no pavimento bucal e um na hipofaringe); 7.1% (n=2) são tumores do pulmão; 7.1% (n=2) são tumores ginecológicos/genito-urinários; 3.6% (n=1) é um tumor do pâncreas. A incidência no global, ou seja, em comparação com o número total de RTH, com e sem tumor *de novo*, é de 7.4% de tumores de pele, 5.7% de tumores colorretais, 3.3% de PTLD, 2.5% de tumores da via aerodigestiva superior, 1.6% de tumores do pulmão, outros 1.6% de tumores ginecológicos/genito-urinários e 0.8% correspondendo ao único tumor do pâncreas.

Foram também analisados os dados referentes ao momento do diagnóstico dos tumores *de novo*, nomeadamente se foi feito através de rastreio ou no decorrer de sintomatologia já presente. Assim constata-se que 64.3% (n=18) dos tumores *de novo* foram diagnosticados através de rastreio e os restantes 35.7% (n=10) após já existirem sintomas resultantes do tumor *de novo*.

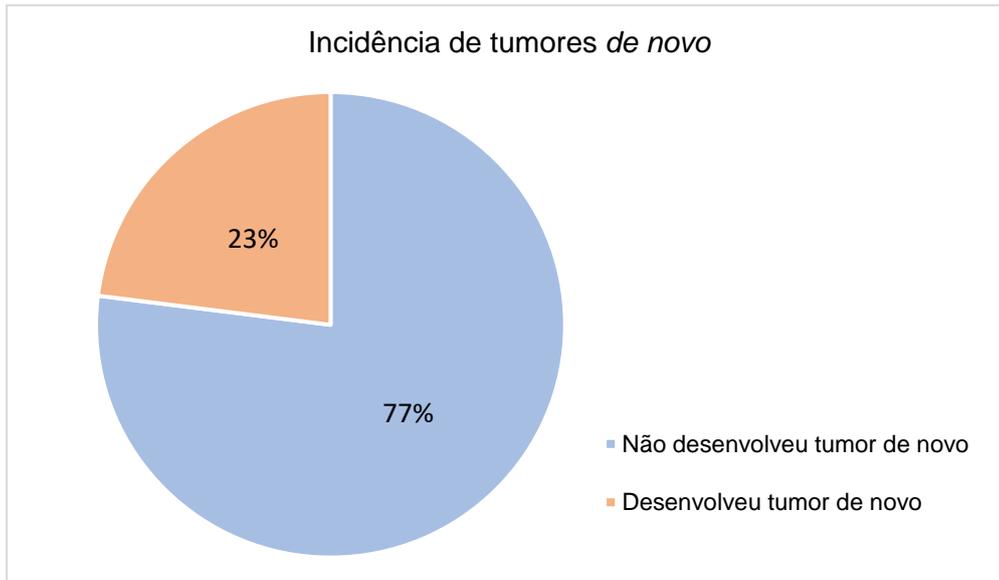


Figura 1 - Incidência de tumores *de novo* nos RTH do CHUC entre 2018-2023.

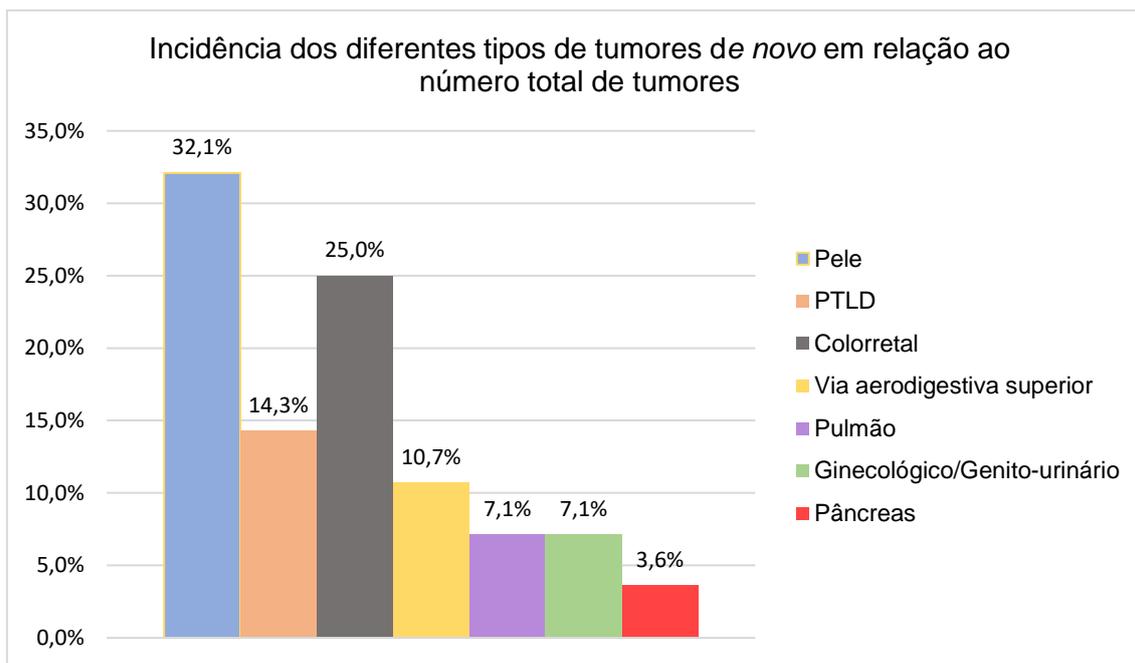


Figura 2 – Incidência dos diferentes tipos de tumores *de novo* em relação ao número de tumores total na população de RTH do CHUC entre 2018-2023.

3. Fatores de risco

Foi avaliada a relação do aparecimento de tumores *de novo* com vários fatores de risco, como os fumadores ativos, ex-fumadores, a presença de infecção por vírus oncogênicos e ainda com outros fatores clínicos como a presença de diabetes mellitus, o número de internamentos, a presença de complicações infecciosas e a existência de

episódio confirmado de rejeição do enxerto. Na tabela 2 podemos observar que não foi encontrada significância estatística em nenhuma das variáveis. No grupo dos RTH que desenvolveram tumor *de novo* cerca de 33.3% (n=5) eram fumadores ativos, 31.6% (n=16) eram ex-fumadores, 21.1% (n=12) tinham diabetes mellitus, 20.8% (n=11) tiveram infecção por pelo menos um vírus oncogénico, 25.5% (n=14) tiveram complicações infecciosas, 27.3% (n=3) teve episódio de rejeição diagnosticado e a mediana do número de internamentos era de 2.00.

Relativamente às categorias de fumadores ativos e ex-fumadores existe alguma limitação, porque os hábitos tabágicos de 81 indivíduos eram desconhecidos, considerando-se um número elevado.

Tabela 2 - Fatores de risco e a sua relação com o aparecimento de tumores *de novo*.

	Grupo sem tumor <i>de novo</i> (94)	Grupo com tumor <i>de novo</i> (28)	Valor de p
Fumador ativo % (n)	66.7% (10)	33.3% (5)	0.446
Ex-fumador % (n)	68.4% (13)	31.6% (16)	0.492
Diabetes mellitus % (n)	78.9% (45)	21.1% (12)	0.641
Infeção por vírus oncogénicos % (n)	79.2% (42)	20.8% (11)	0.613
Número de internamentos – mediana (AIQ)	2.50 (5)	2.00 (3)	0.906
Complicações infecciosas % (n)	74.5% (41)	25.5% (14)	0.551
Episódio de rejeição diagnosticado % (n)	72.7% (8)	27.3% (3)	0.721

Legenda – Fumador ativo, ex-fumador, diabetes mellitus presente, infecção por algum tipo de vírus oncogénico, existência de complicações infecciosas e existência de algum episódio de rejeição diagnosticado (Qui-quadrado); Número de internamentos (Mann Whitney).

AIQ – Amplitude interquartil

As variáveis categóricas são apresentadas com % e número total.

As variáveis contínuas assimétricas são apresentadas através da mediana e amplitude interquartil.

4. Esquemas de imunossupressão

Na tabela 3 encontramos os diferentes esquemas de imunossupressão utilizados após transplante dos 122 indivíduos. No grupo com tumor *de novo* (n=28), metade (n=14) fez tacrolimus isolado, 25.0% (n=7) fez tacrolimus e MMF, 10.7% (n=3) fez tacrolimus e everolimus, outros 10.7% (n=3) fizeram tacrolimus, MMF e everolimus, 3.6% (n=1) fez ciclosporina e nenhum deste grupo fez tacrolimus e prednisolona mais 6 meses. Não foi encontrada significância estatística entre o esquema de imunossupressão e a ocorrência de tumor *de novo*.

Tabela 3 - Relação entre os esquemas de imunossupressão e o aparecimento de tumores *de novo*.

Esquemas de imunossupressão	Grupo sem tumor <i>de novo</i> (94)	Grupo com tumor <i>de novo</i> (28)	Valor de p
Tacrolimus isolado % (n)	68.1% (64)	50.0% (14)	0.125
Tacrolimus + MMF % (n)	21.3% (20)	25.0% (7)	
Tacrolimus + Everolimus % (n)	5.3% (5)	10.7% (3)	
Tacrolimus + MMF + Everolimus % (n)	3.2% (3)	10.7% (3)	
Tacrolimus + Prednisolona>6 meses % (n)	2.1 (2)	0.0 (0)	
Ciclosporina % (n)	0.0% (0)	3.6% (1)	

Legenda – Seis esquemas de imunossupressão diferentes utilizados nos RTH do CHUC entre 2018-2023 (Qui-quadrado).
MMF (Micofenolato de Mofetil).
As variáveis categóricas são apresentadas com % e número total.

5. DCT aos 3 meses e DCT aos 12 meses

Através da calculadora online calculou-se a DCT aos 3 meses e aos 12 meses, incluiu-se nestes cálculos todos os RTH que estivessem a fazer tacrolimus, independentemente se era um esquema isolado ou em associação com outro imunossupressor.

Perante a DCT aos 3 meses, a mediana no grupo sem tumor *de novo* foi 355.5000 ng.dia/mL e no grupo com tumor *de novo* foi 400.5000 ng.dia/mL (ambos os

valores se encontram na categoria minimização), não se verificando uma significância estatística (Tabela 4). No caso da DCT aos 12 meses, no grupo sem tumor *de novo* a média foi 2481.7585 ng.dia/mL e no grupo com tumor *de novo* a média foi 2329.4868 ng.dia/mL (ambos os valores se encontram na categoria exposição convencional), também não se verificou significância estatística (Tabela 4).

Tabela 4 - DCT aos 3 e aos 12 meses e as suas relações com o aparecimento de tumores *de novo*.

	Grupo sem tumor <i>de novo</i> (94)	Grupo com tumor <i>de novo</i> (28)	Valor de p
DCT aos 3 meses - mediana (AIQ)	355.5000 (165.37)	400.5000 (201.38)	0.910
DCT aos 12 meses - média (IC)	2481.7585 (2302.9577-2661.3714)	2329.4868 (1983.5854-2667.7994)	0.437

Legenda - DCT aos 3 meses e a sua relação com o aparecimento de tumores *de novo* (Mann-Whitney) e DCT aos 12 meses e a sua relação com o aparecimento de tumores *de novo* (Teste T-student).

DCT (Dose cumulativa de tacrolinémia)

AIQ (Amplitude interquartil)

IC (Intervalo de confiança)

As variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas através da média e intervalo de confiança, enquanto as variáveis contínuas assimétricas são apresentadas através da mediana e amplitude interquartil.

Discussão:

Este estudo englobou múltiplas variáveis, todas elas relevantes no âmbito da transplantação hepática, focando-se para além da incidência dos tumores *de novo* na população de RTH do CHUC, também nos fatores de risco, incluindo a imunossupressão. Utilizámos uma nova ferramenta, uma calculadora online que permite ao médico conhecer de forma rápida e simples a exposição ao tacrolimus do seu doente, através do cálculo da dose cumulativa de tacrolinémia, podendo auxiliar na prática clínica e na toma de decisões relativamente a este imunossupressor, avaliando sempre de acordo com o contexto de cada RTH.

O estudo longitudinal retrospectivo que apresentamos demonstra que 23.0% (n=28) dos indivíduos que fizeram transplante hepático no CHUC, no período de janeiro de 2018 e dezembro de 2021, desenvolveu um tumor *de novo*, o que está dentro do intervalo de valores descrito na literatura (3.0% a 26.0%). Relativamente, à mortalidade associada aos tumores *de novo*, 7 indivíduos, dos 28 que desenvolveram tumor, faleceram durante o período do estudo, que englobou cerca de 4/5 anos, o que equivale a uma taxa de mortalidade de 25%, ou seja, uma taxa de sobrevivência de 75%, tendo em conta que a taxa de sobrevivência na literatura após 1 ano e 5 anos é, respetivamente, 70% e 48%, este é um dado positivo.

Os quatro grupos de tumores *de novo* desenvolvidos mais comuns são: os tumores da pele (incidência global de 7.4%/incidência relativamente a outros tumores de 32.1%), os tumores colorretais (5.7%/25.0%), a PTLD (3.3%/14.3%) e os tumores da via aerodigestiva superior (2.5%/10.7%). Comparando estes valores com os da literatura respetivos às populações de RTH, o único grupo em discordância é o grupo dos tumores colorretais que na nossa população é o segundo tipo mais comum, antecipando-se à PTLD, que nos outros estudos vem em segundo lugar. Assim, os tumores colorretais apresentam valores de incidência mais elevados do que na literatura; na nossa população a incidência (5.7%/25.0%) de tumor colorretal é muito superior à da literatura, ou seja, relativamente à incidência global são 5.7% a comparar com 0.1% a 0.7% da literatura e na incidência relativamente a outros tumores são 25.0% a comparar com 3.0% a 14.0%.

Em relação ao panorama em Portugal, com os dados disponibilizados, podemos inferir que a incidência de cancro colorretal (25.0% versus 15.2%) e de tumores da via aerodigestiva superior (10.7% versus 5.24%) é mais elevada nos RTH do que na população geral.

Tendo em conta estes dados consideramos importante que haja a criação de planos de rastreio personalizado para os RTH e a manutenção dos já existentes como a consulta anual de dermatologia-imunossupressão. Assim estes planos de rastreio, que podem ser moldados consoante as características do RTH, devem englobar as áreas da dermatologia, hematologia, otorrinolaringologia e principalmente gastroenterologia que deve assumir um especial enfoque, tendo em conta a elevada incidência de tumores colorretais comparando com as outras populações de RTH da literatura. A reforçar esta ideia da implementação destes programas de rastreios adaptados, sublinhamos o valor de 35.7% de RTH que tiveram o seu tumor *de novo* diagnosticado apenas após terem surgido sintomas.

Este estudo não encontrou relação entre o desenvolvimento de tumor *de novo* e os vários fatores de risco já conhecidos na literatura, como o tabagismo, as infecções por vírus oncogénicos, os esquemas de imunossupressão e as DCT aos 3 meses e aos 12 meses, na população estudada.

Foram também estudados fatores que não surgiram noutros textos durante a revisão da literatura como a presença de diabetes mellitus, o número de internamentos e a presença de complicações infecciosas, não tendo sido encontrada relação entre estes fatores e o aparecimento de tumores *de novo*.

Na literatura os episódios de rejeição podem agravar o risco de desenvolver um tumor *de novo*, porque obriga ao aumento da dose de imunossupressor dada, no entanto no nosso estudo não se encontrou relação entre a presença de episódio de rejeição e o aparecimento de tumor *de novo*.

Este estudo apresentou algumas limitações nomeadamente na amostra reduzida de doentes e na recolha de dados. Tratando-se de um trabalho retrospectivo, estávamos limitados às informações clínicas contidas nos processos clínicos, o que não foi suficiente para a recolha completa de alguns fatores de risco, como os hábitos tabágicos e alcoólicos. Importa também referir, num trabalho sobre desenvolvimento de tumores a componente temporal é de extrema importância, uma vez que é necessário que haja tempo suficiente para que possamos observar possíveis efeitos. No nosso estudo para termos uma amostra relativamente considerável foi necessário recolher dados de indivíduos que tivessem sido transplantados até dezembro de 2021, tendo os doentes com transplantes mais recentes, apenas pouco menos de dois anos de seguimento, o que poderá ter levado a resultados subestimados no nosso estudo.

Conclusão:

A incidência de tumores *de novo* na população de RTH do CHUC e a taxa de sobrevivência é aceitável de acordo com a literatura, no entanto a incidência de tumores colorretais é mais elevada comparando com outras populações de RTH. Adicionalmente, os tumores da via aerodigestiva superior possuem uma incidência mais elevada comparando com a população geral, que não possui rastreio.

Como tal, é importante manter os que já existem e implementar novos programas de rastreio personalizados para esta população, nomeadamente a nível da gastroenterologia e da otorrinolaringologia.

Seria relevante, em futuros estudos, procurar novos fatores de risco, pois não foi encontrada, nesta população, relação entre o aparecimento dos tumores *de novo* e os

fatores de risco já conhecidos na literatura. Seria igualmente importante revisitar estes resultados após um período mais longo, para obtermos uma verdadeira incidência a médio prazo.

Agradecimentos:

Agradeço ao meu orientador, Dr. Júlio Constantino, que esteve presente durante todo o processo de pesquisa e escrita, sempre disponível para ajudar e guiar neste enorme desafio, assim como, toda a revisão que tornou possível a concretização deste trabalho final. Agradeço também ao Prof. Doutor José Guilherme Tralhão pela supervisão de todo o trabalho.

Por último, agradeço profundamente à minha família, aos meus pais e à minha irmã, ao meu namorado e às minhas amigas e amigos de Coimbra por toda a compreensão, ajuda e acompanhamento durante esta missão. Sem vocês não teria sido possível.

Referências:

1. Moini M, Schilsky ML, Tichy EM. Review on immunosuppression in liver transplantation. Vol. 7, World Journal of Hepatology. Baishideng Publishing Group Co; 2015. p. 1355–68.
2. Fuochi E, Anastasio L, Lynch EN, Campani C, Dragoni G, Milani S, et al. Main factors influencing long-term outcomes of liver transplantation in 2022. Vol. 15, World Journal of Hepatology. Baishideng Publishing Group Inc; 2023. p. 321–52.
3. Manzia TM, Angelico R, Gazia C, Lenci I, Milana M, Ademoyero OT, et al. De novo malignancies after liver transplantation: The effect of immunosuppression-personal data and review of literature. Vol. 25, World Journal of Gastroenterology. Baishideng Publishing Group Co; 2019. p. 5356–75.
4. Burra P, Burroughs A, Graziadei I, Pirenne J, Valdecasas JC, Muiesan P, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. J Hepatol. 1 de Fevereiro de 2016;64(2):433–85.
5. Gallegos-Orozco JF, Campsen J. TRANSPLANT-RELATED MALIGNANCIES.
6. Herrero JI. De novo malignancies following liver transplantation: Impact and recommendations. Liver Transplantation. Novembro de 2009;15(SUPPL. 2).
7. Chak E, Saab S. Risk factors and incidence of de novo malignancy in liver transplant recipients: A systematic review. Vol. 30, Liver International. 2010. p. 1247–58.
8. Herrero JI, Lorenzo M, Quiroga J, Sangro B, Pardo F, Rotellar F, et al. De novo neoplasia after liver transplantation: An analysis of risk factors and influence on survival. Liver Transplantation. Janeiro de 2005;11(1):89–97.
9. Hernández Vallejo G, Jiménez Romero C, De Vicente JC. Incidence and risk factors for cancer after liver transplantation. Vol. 56, Critical Reviews in Oncology/Hematology. Elsevier Ireland Ltd; 2005. p. 87–99.
10. Statistics at a glance, 2022 Top 5 most frequent cancers.
11. Colmenero J, Tabrizian P, Bhangui P, Pinato DJ, Rodríguez-Perálvarez ML, Sapisochin G, et al. De Novo Malignancy after Liver Transplantation: Risk Assessment, Prevention, and Management - Guidelines from the ILTS-SETH Consensus Conference. Transplantation. 1 de Janeiro de 2022;106(1):E30–45.
12. Fung JJ, Jain A, Kwak EJ, Kusne S, Dvorchik I, Eghtesad B. De novo malignancies after liver transplantation: A major cause of late death. Liver Transplantation. 2001;7(11 SUPPL. 1):s109–18.
13. Jiménez-Romero C, Justo-Alonso I, Cambra-Molero F, Calvo-Pulido J, García-Sesma Á, Abradelo-Usera M, et al. Incidence, risk factors and outcome of de novo tumors in liver transplant recipients focusing on alcoholic cirrhosis. World J Hepatol. 2015;7(7):942–53.
14. Buell JF, Brock GN. Risk of cancer in liver transplant recipients: A look into the mirror. Vol. 14, Liver Transplantation. 2008. p. 1561–3.
15. Buell JF, Gross TG, Woodle ES. Malignancy after transplantation. Vol. 80, Transplantation. 2005.

16. Rodríguez-Perálvarez M, Colmenero J, González A, Gastaca M, Curell A, Caballero-Marcos A, et al. Cumulative exposure to tacrolimus and incidence of cancer after liver transplantation. *American Journal of Transplantation*. 1 de Junho de 2022;22(6):1671–82.
17. Maluccio M, Sharma V, Lagman M, Vyas S, Yang H, Li B, et al. Tacrolimus enhances transforming growth factor- β 1 expression and promotes tumor progression. *Transplantation*. 15 de Agosto de 2003;76(3):597–602.
18. Todeschini L, Cristin L, Martinino A, Mattia A, Agnes S, Giovinazzo F. The Role of mTOR Inhibitors after Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma. Vol. 30, *Current Oncology*. MDPI; 2023. p. 5574–92.
19. Herrero JI, Pardo F, D'Avola D, Alegre F, Rotellar F, Iñarrairaegui M, et al. Risk factors of lung, head and neck, esophageal, and kidney and urinary tract carcinomas after liver transplantation: The effect of smoking withdrawal. *Liver Transplantation*. Abril de 2011;17(4):402–8.
20. Hormones DS. Sexual Factors and Cancer Group. European Organization for Cooperation in Cancer Prevention Studies [Internet]. Vol. 50, *CANCER RESEARCH*. 1990. Disponível em: <http://aacrjournals.org/cancerres/article-pdf/50/20/6502/2441469/cr0500206502.pdf>
21. Radoï L, Menvielle G, Cyr D, Lapôtre-Ledoux B, Stücker I, Luce D, et al. Population attributable risks of oral cavity cancer to behavioral and medical risk factors in France: Results of a large population-based case-control study, the ICARE study. *BMC Cancer*. 31 de Outubro de 2015;15(1).
22. Wight AJ, Ogden GR. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer. A review.
23. Bhat M, Deschenes M, Tan X, Martel M, Bhat V, Wong P, et al. Smoking increases recurrent viral hepatitis after liver transplantation. *Liver Transplantation*. Julho de 2012;18(7):828–33.
24. McLaughlin K, Wajstau S, Marotta P, Adams P, Grant DR, Wall WJ, et al. Increased risk for posttransplant lymphoproliferative disease in recipients of liver transplants with hepatitis C. *Liver Transplantation*. 2000;6(5):570–4.
25. Duvoux C, Pageaux G philippe, Vanlemmens C, Oise Roudot-thoraval F, Vincens-rolland A laure, Gaulard P, et al. RISK FACTORS FOR LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS AFTER LIVER TRANSPLANTATION IN ADULTS: AN ANALYSIS OF 480 PATIENTS. *Transplantation* [Internet]. 2002;74(8):1103–9. Disponível em: <http://journals.lww.com/transplantjournal>
26. Benlloch S, Berenguer M, Prieto M, Moreno R, San Juan F, Rayón M, et al. De Novo Internal Neoplasms after Liver Transplantation: Increased Risk and Aggressive Behavior in Recent Years? Vol. 4, *American Journal of Transplantation*. 2004. p. 596–604.
27. Accardi R, Gheit T. Cutaneous HPV and skin cancer. Vol. 43, *Presse Medicale*. Elsevier Masson SAS; 2014. p. e435–43.

28. Papastamelos C, Linder M. Human papillomavirus anogenital screening in solid organ transplant recipients: a narrative review. Vol. 307, Archives of Gynecology and Obstetrics. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2023. p. 1277–83.
29. Coursaget P. Viruses associated with skin and mucosal cancers. Vol. 43, Presse Medicale. Elsevier Masson SAS; 2014. p. e401–3.
30. Papastamelos C, Linder M. Human papillomavirus anogenital screening in solid organ transplant recipients: a narrative review. Vol. 307, Archives of Gynecology and Obstetrics. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2023. p. 1277–83.
31. Namayandeh M, Jamalidoust M, Pouladfar G, Zare M, Ziyaeyan M. Role of Cytomegalovirus in the Development of Posttransplant Lymphoproliferative Disorders With or Without Epstein-Barr Virus Infection. Experimental and Clinical Transplantation. 1 de Agosto de 2022;20(8):757–61.
32. Lizaola-Mayo BC, Rodriguez EA. Cytomegalovirus infection after liver transplantation. Vol. 10, World Journal of Transplantation. Baishideng Publishing Group Inc; 2020. p. 183–90.
33. IMUNOSSUPRESSÃO EM TRANSPLANTE DE FÍGADO (Adaptado do protocolo do H. Clínic de Barcelona) (autorizada, sob compromisso de menção de origem).
34. Rodríguez-Perálvarez M, Guerrero M, De Luca L, Gros B, Thorburn D, Patch D, et al. Area under Trough Concentrations of Tacrolimus as a Predictor of Progressive Renal Impairment after Liver Transplantation. Transplantation. 1 de Dezembro de 2019;103(12):2539–48.
35. Neuberger JM, Bechstein WO, Kuypers DRJ, Burra P, Citterio F, De Geest S, et al. Practical recommendations for long-term management of modifiable risks in kidney and liver transplant recipients: A guidance report and clinical checklist by the consensus on managing modifiable risk in transplantation (COMMIT) group. Transplantation. 2017;101(4):S1–56.