

ISN
International Society of Nephrology
ISN's endorsement is for the promotion of scientific progress, however the specific content of the event/course is the responsibility of the organizer.

HELLENIC SOCIETY OF NEPHROLOGY MEETING & SEMINAR

Combined with:
18th BANTAO CONGRESS

October 19-22, 2023
Makedonia Palace Hotel
THESSALONIKI, GREECE

CONGRESS SECRETARIAT
C.T.M.
C.T.M. International S.A.
111 Vass. Solomos Avenue
115 27 Athens - Greece
Tel: +30 210 3309913
Fax: +30 210 3309930
www.ctm.gr

Το Ανοσολογικό Εργαστήριο στη Μεταμόσχευση Νεφρού

Δρ. Αγγελική Βιτωράκη
Βιοπαθολόγος, Διευθύντρια ΕΣΥ
Τμήμα Ανοσολογίας & Εθνικό Κέντρο
Ιστοσυμβατότητας
ΓΝΑ «Γ.Γεννηματάς», Αθήνα

-
- Δεν υφίσταται καμία σύγκρουση συμφερόντων

Ερώτηση 1

Τι ισχύει για την HLA συμβατότητα στη μεταμόσχευση νεφρού;

1. Για την επιτυχή μεταμόσχευση νεφρού απαιτείται πλήρης HLA συμβατότητα
2. Η HLA-DR συμβατότητα είναι υποχρεωτικό κριτήριο επιλογής για όλους τους υποψήφιους λήπτες
3. Μοσχεύματα από δότες με 0 ασυμβατότητα δεν απορρίπτονται
4. Η HLA ασυμβατότητα αυξάνει τον κίνδυνο HLA ευαισθητοποίησης μετά την απώλεια μοσχεύματος και το χρόνο αναμονής για δεύτερο μόσχευμα

Ερώτηση 2

Ποια από τα παρακάτω συμμετέχουν στους μηχανισμούς απόρριψης του μοσχεύματος;

1. Αντισώματα έναντι των HLA και ABO αντιγόνων του δότη
2. T και B λεμφοκύτταρα
3. Ουδετερόφιλα, μακροφάγα, NK κύτταρα, το σύστημα του συμπληρώματος
4. Όλα τα παραπάνω

Ερώτηση 3

Η ευαισθητοποίηση των ασθενών σε HLA αντιγόνα μπορεί να προκληθεί από:

1. Μεταγγίσεις
2. Μεταγγίσεις και κυήσεις
3. Απόρριψη προηγούμενου μοσχεύματος
4. Όλα τα παραπάνω

Ερώτηση 4

Τι ισχύει για την υπεροξεία απόρριψη;

1. Εκδηλώνεται αμέσως μετά τη μεταμόσχευση και είναι κλινικά αναστρέψιμη
2. Οφείλεται σε φλεγμονή- βλάβη του μοσχεύματος από την ισχαιμία- επαναιμάτωση κατά τη χειρουργική επέμβαση
3. Οφείλεται σε προσχηματισμένα ειδικά στο δότη αντί- HLA ή αντί-ABO αντισώματα
4. Οφείλεται σε de novo ειδικά στο δότη αντί-HLA αντισώματα



Εισαγωγή – Επισκόπηση ομιλίας

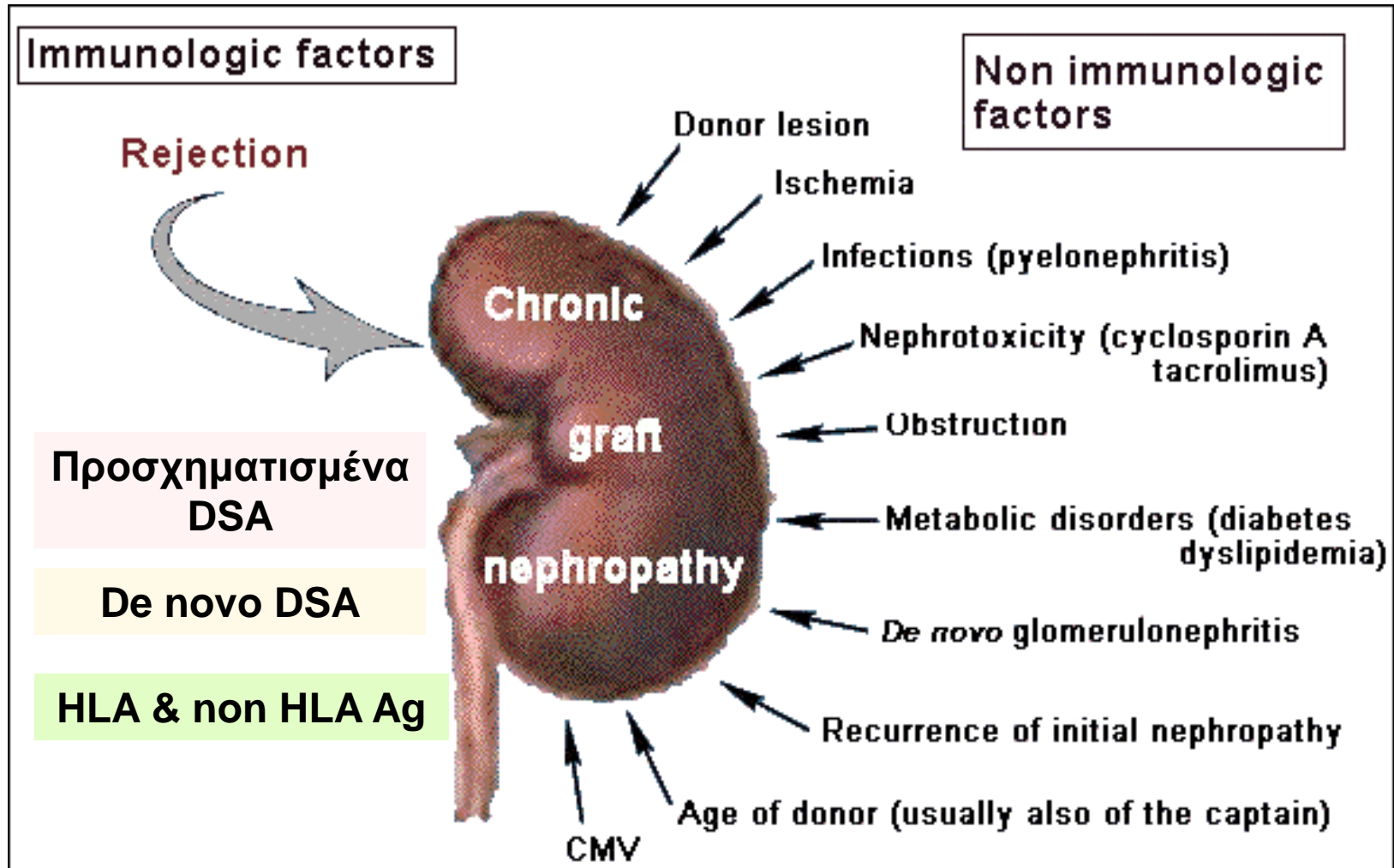
□ Ανοσολογία της μεταμόσχευσης νεφρού

- Αντιγόνα και αντισώματα στη μεταμόσχευση νεφρού
- Αλλοαναγνώριση και αλλοαπάντηση
- Ανοσολογικοί μηχανισμοί απόρριψης

□ Ανοσολογικός έλεγχος στη μεταμόσχευση νεφρού

- HLA τυποποίηση λήπτη-δότη
- Ανίχνευση HLA & non-HLA αντισωμάτων στον ορό του λήπτη
- Δοκιμασίες ιστοτικής διασταύρωσης

Παράγοντες που οδηγούν σε χρόνια νεφροπάθεια του μοσχεύματος



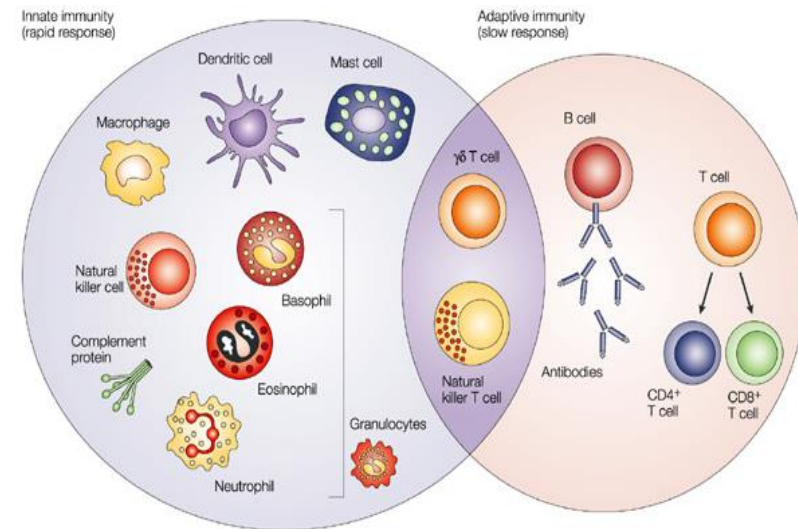
Ανοσιακοί μηχανισμοί απόρριψης

Η απόρριψη είναι το αποτέλεσμα της αναγνώρισης (αλλοαναγνώριση) και ανοσιακής απάντησης (αλλοαπάντησης) στα «ξένα» αντιγόνα (αλλοαντιγόνα) του μοσχεύματος

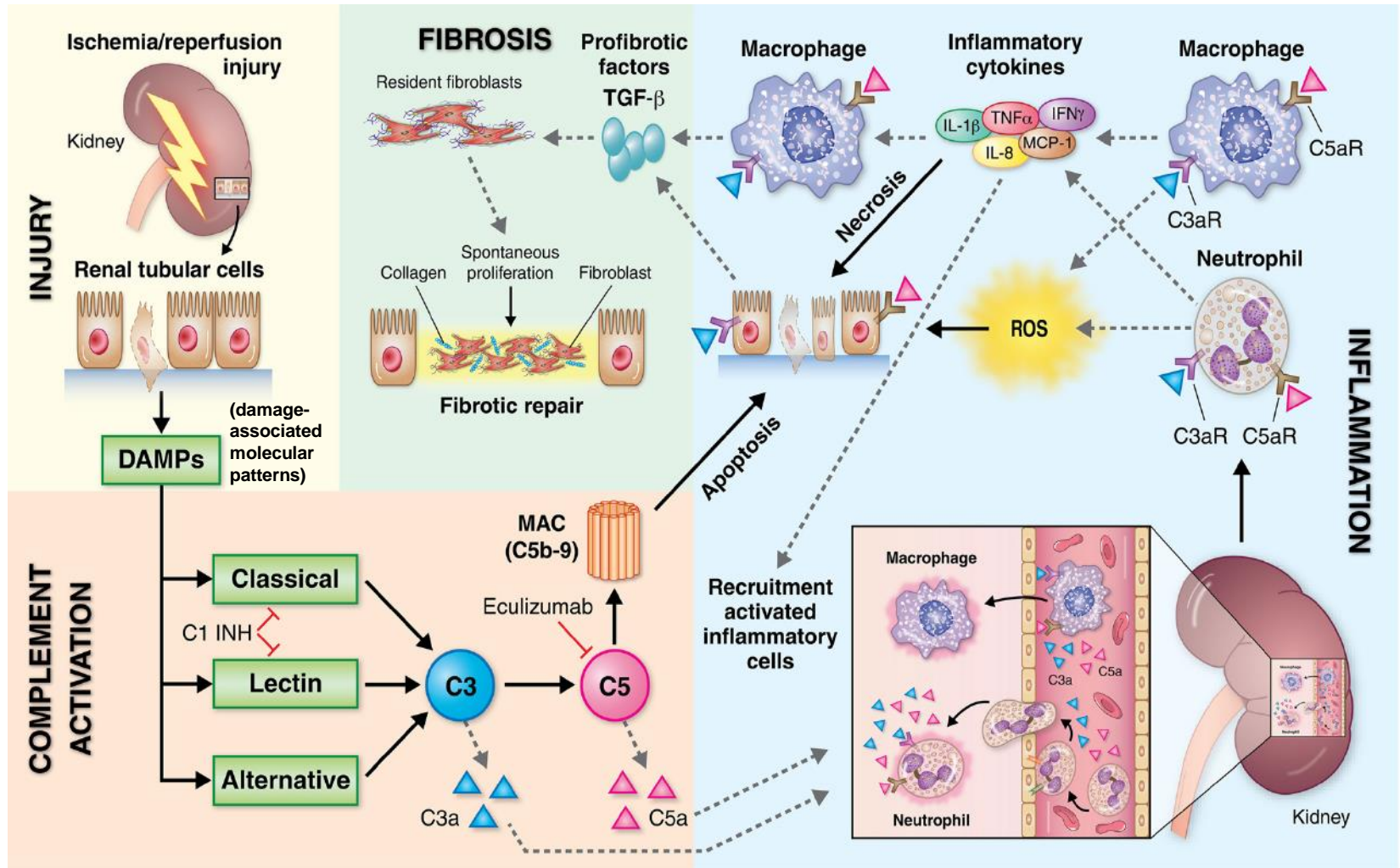


Φλεγμονή και ιστική βλάβη του μοσχεύματος

- ❑ **Φυσική ανοσία – φλεγμονή**
 - Ισχυρός πρώιμος μηχανισμός άμυνας
 - Χωρίς ανοσολογική μνήμη
- ❑ **Ειδική ανοσία – αλλοδραστικά T λεμφοκύτταρα και αντισώματα**
 - εξειδικευμένη
 - ανοσολογική μνήμη

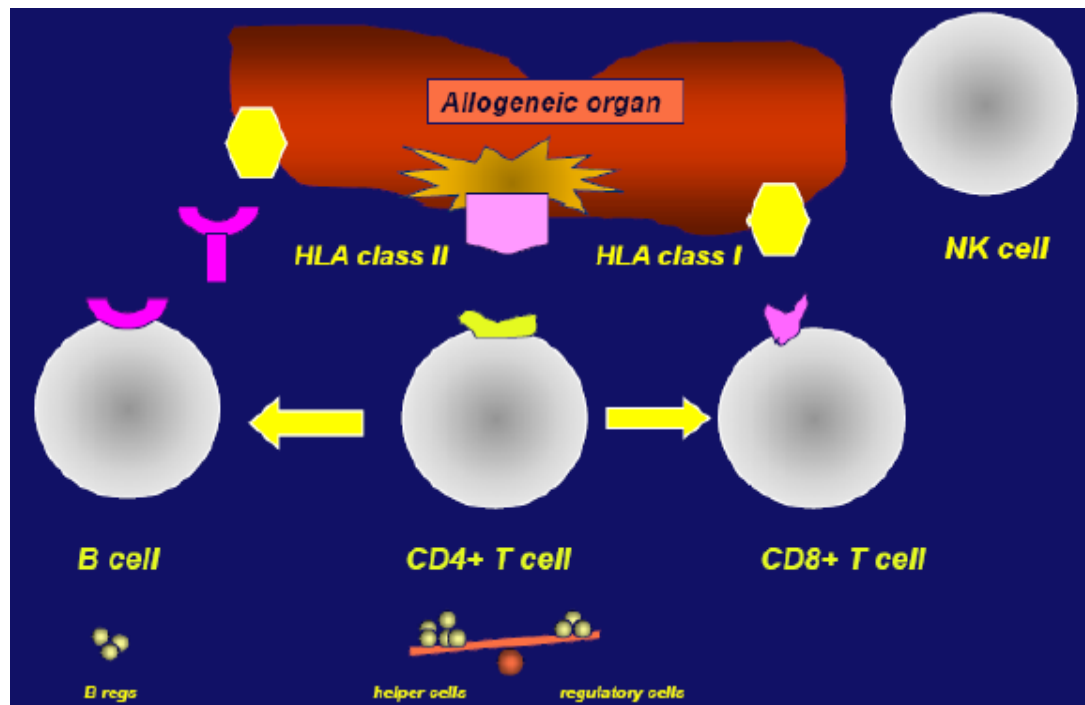


Φυσική ανοσία και μεταμόσχευση



Ειδική ανοσία και μεταμόσχευση

- Τ Λεμφοκύτταρα
- Β Λεμφοκύτταρα



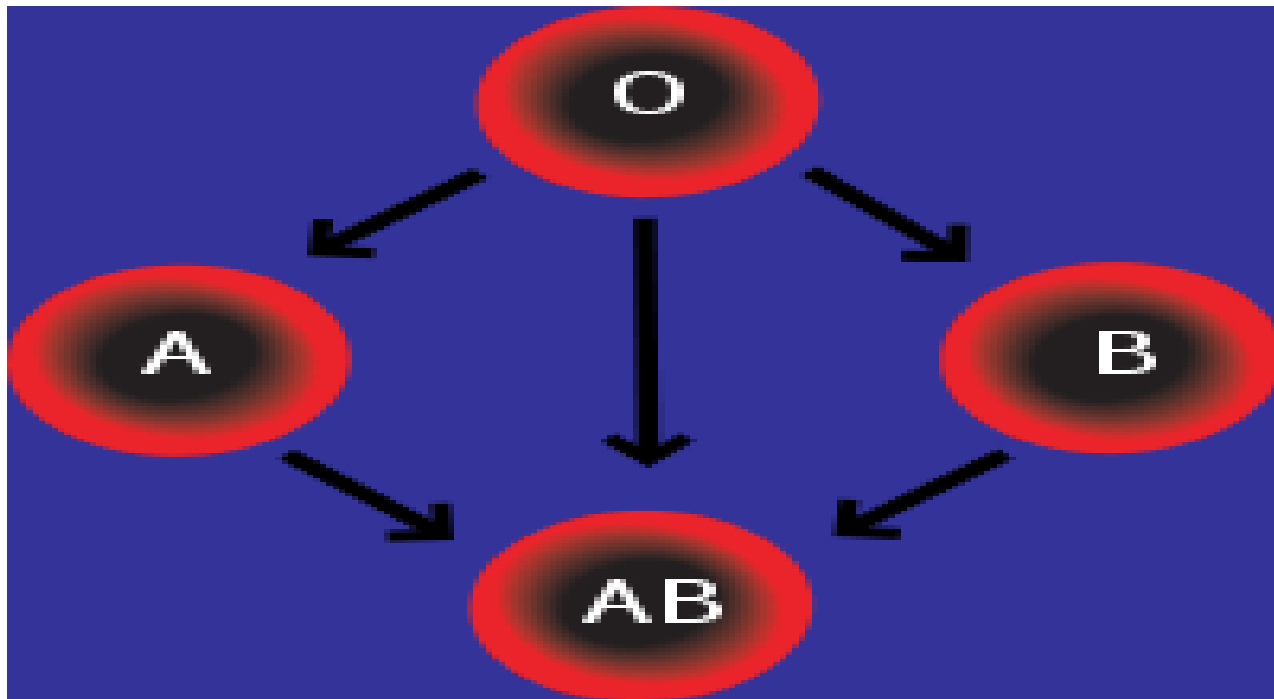
Αντιγόνα-Στόχοι αλλοαπάντησης

- ❑ Αντιγόνα που εκφράζονται στο αγγειακό ενδοθήλιο
- ❑ ABO αντιγόνα ομάδων αίματος
- ❑ Major Histocompatibility Complex/ Human Leucocyte Antigens (HLA)
- ❑ Ελάχισονα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας (Πολυμορφικές πρωτεΐνες πχ H-Y αντιγόνο)
- ❑ Non-HLA αντιγόνα:
 - ✓ *MHC class I chain-related proteins A and B (MICA και MICB)*
 - ✓ *Αυτοαντιγόνα (AT₁R, ET_AR, Col IV, βιμεντίνη, S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης T1 κ.α)*
 - ✓ *Λοιπά ενδοθηλιακά αντιγόνα (97-110 kDa, κ.α)*

ΑΒΟ αντιγόνα ομάδων αίματος και μεταμόσχευση νεφρού

Ιστική συμβατότητα δότη-λήπτη

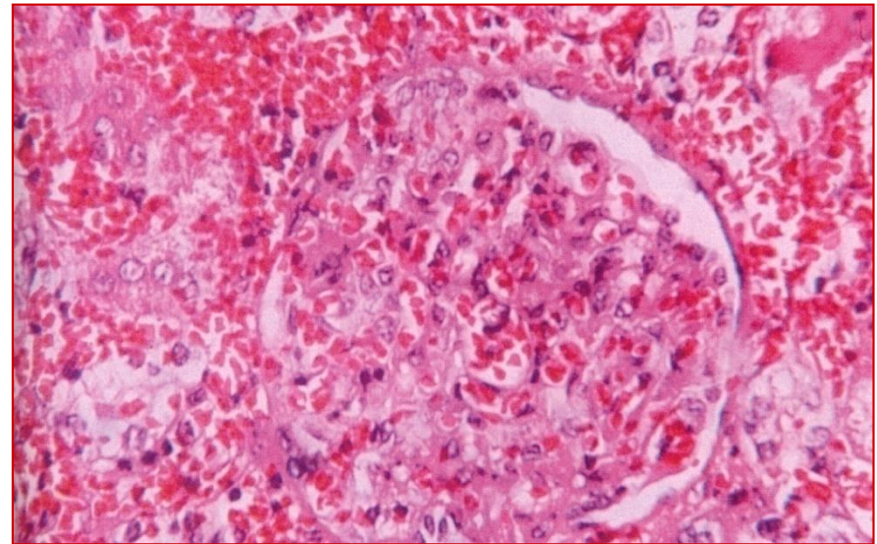
1. Ταυτότητα
2. Συμβατότητα



Αποτέλεσμα ΑΒΟ ασύμβατης μεταμόσχευσης

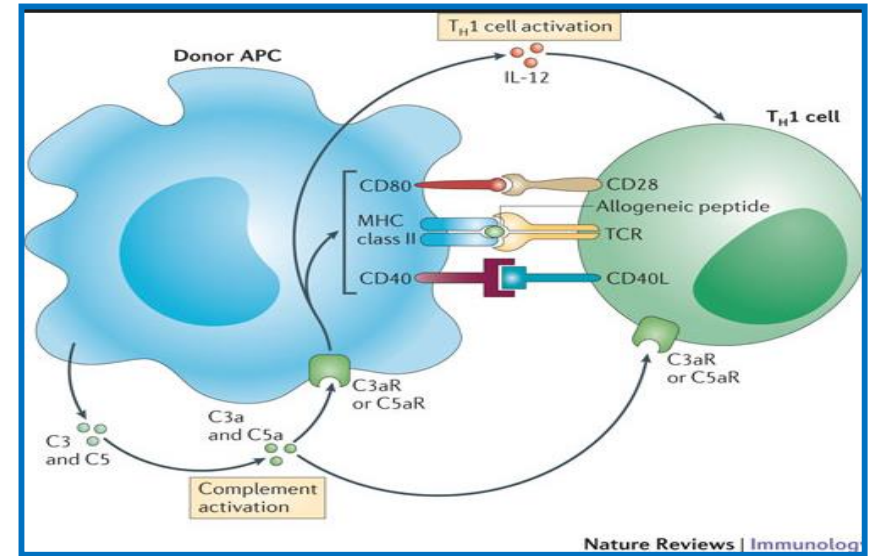
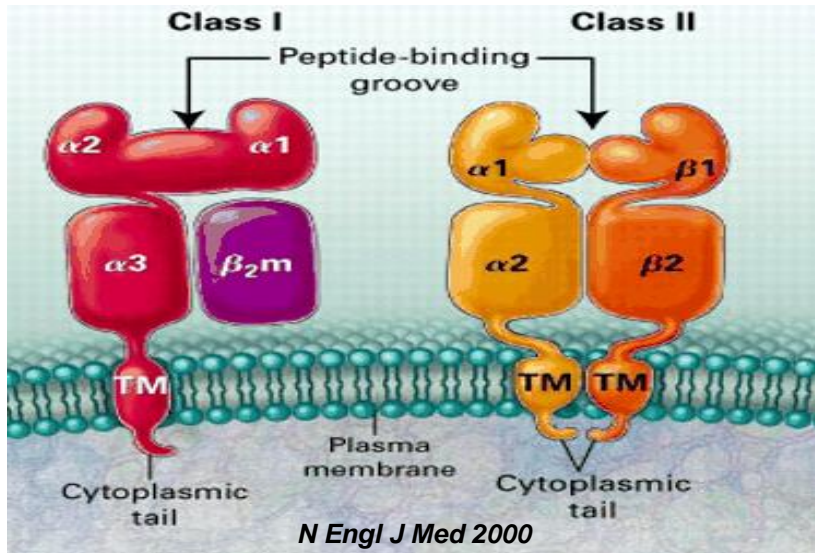


ΥΠΕΡΟΞΕΙΑ ΑΠΟΡΡΙΨΗ



- Αν και η ΑΒΟ ασύμβατη μεταμόσχευση αποτελεί αντένδειξη, η έλλειψη διαθέσιμων συμβατών μοσχευμάτων οδήγησε στις μεταμοσχεύσεις με ΑΒΟ ασύμβατη ομάδα

HLA αντιγόνα



HLA τάξης I: -A -B -C

HLA τάξης II: -DRB1 -DQA/B1 -DPA1/B1

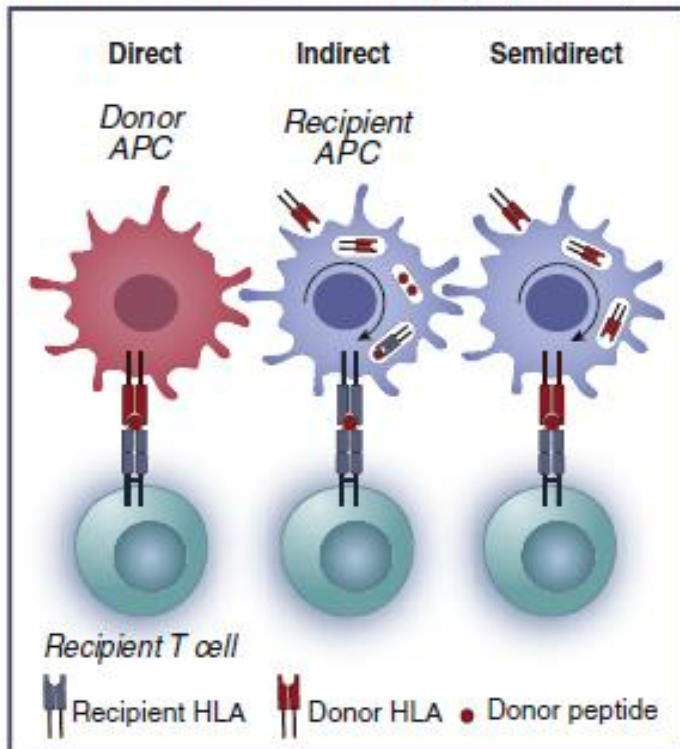
□ Βιολογικός ρόλος: παρουσιάζουν πρωτεϊνικά πεπτίδια στα αντιγόνο-ειδικά T λεμφοκύτταρα

- Τα HLA I παρουσιάζουν πεπτίδια στα CD8⁺ T λεμφοκύτταρα
- Τα HLA II παρουσιάζουν πεπτίδια στα CD4⁺ T λεμφοκύτταρα

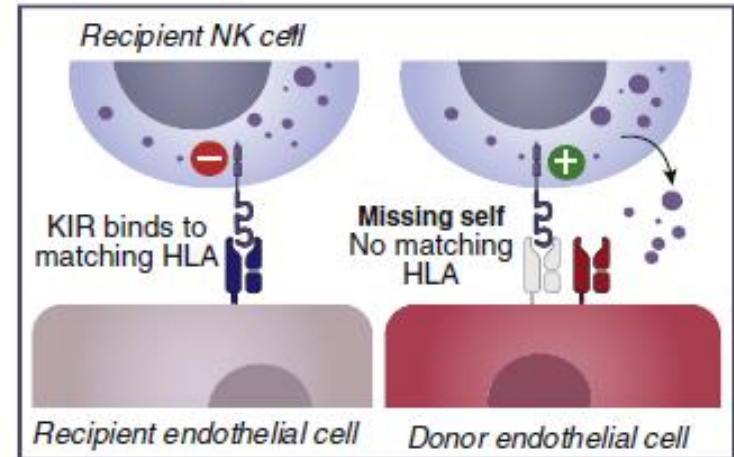
Μηχανισμοί αλλοαγνώρισης

Mechanisms of allorecognition in kidney transplantation

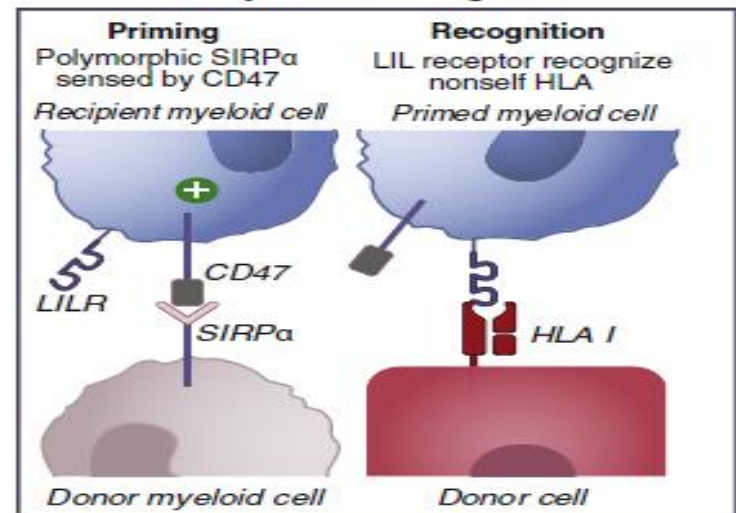
d T-cell activation in secondary lymphoid organs



a Missing self

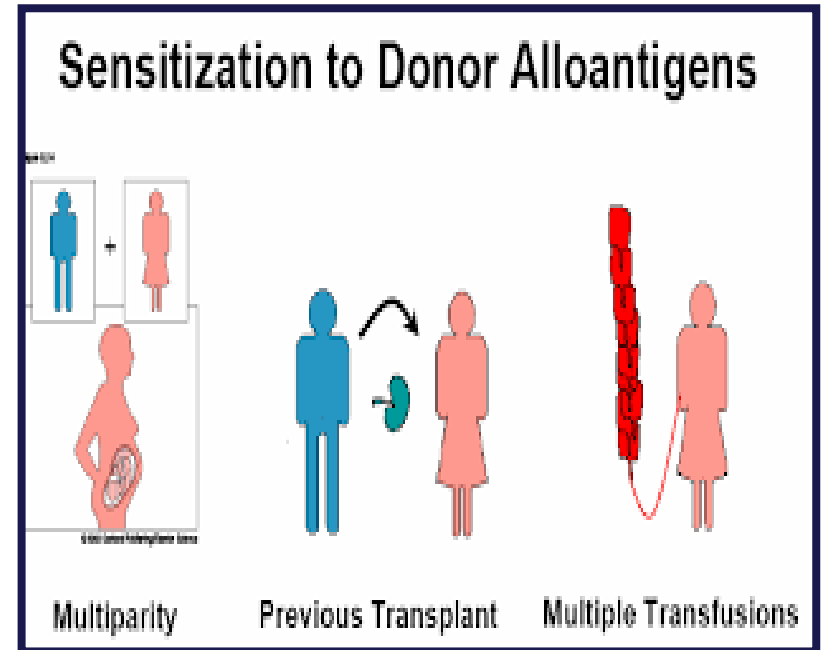


f Myeloid allorecognition

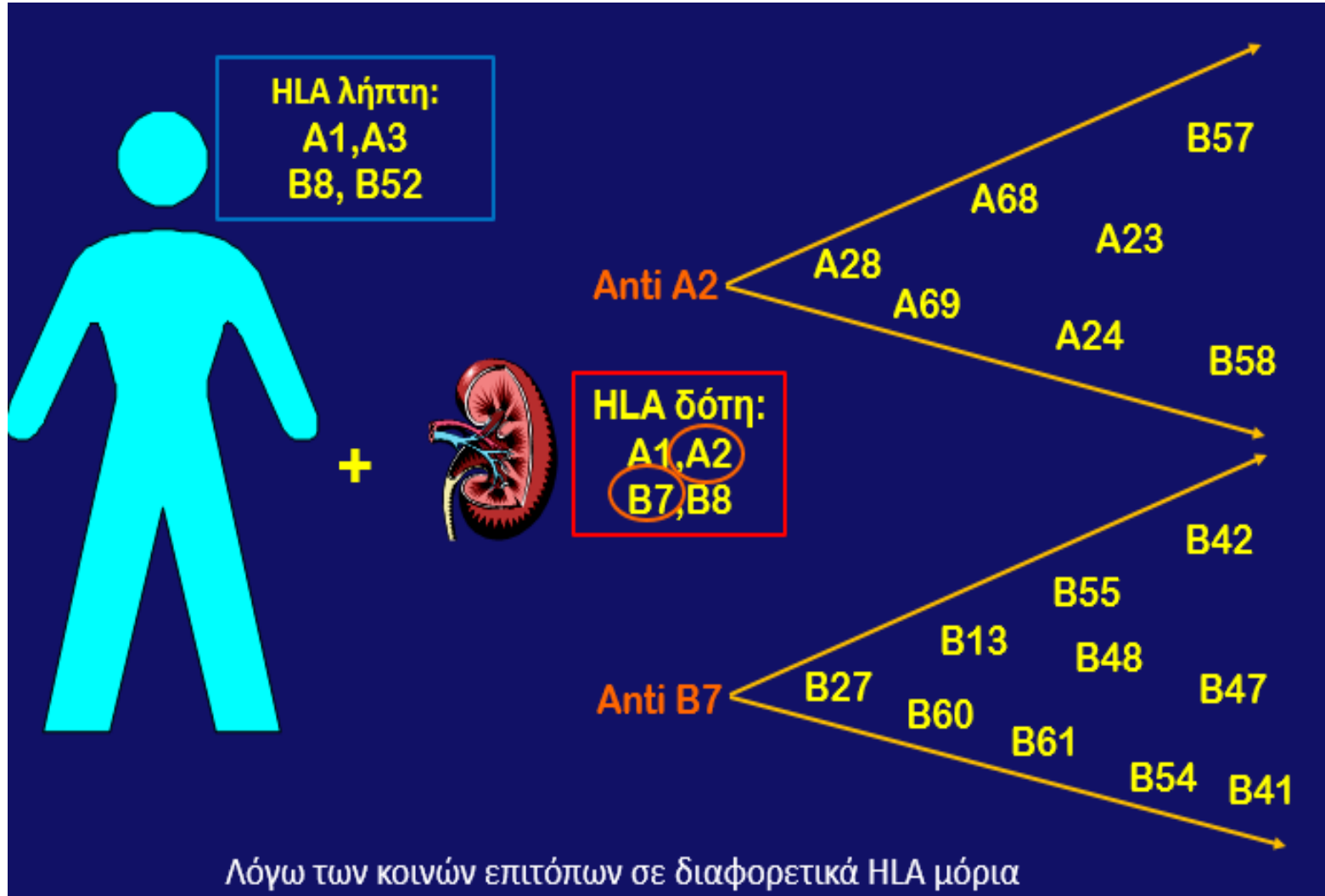


Ευαισθητοποίηση στα ξένα ΗΛΑ μόρια

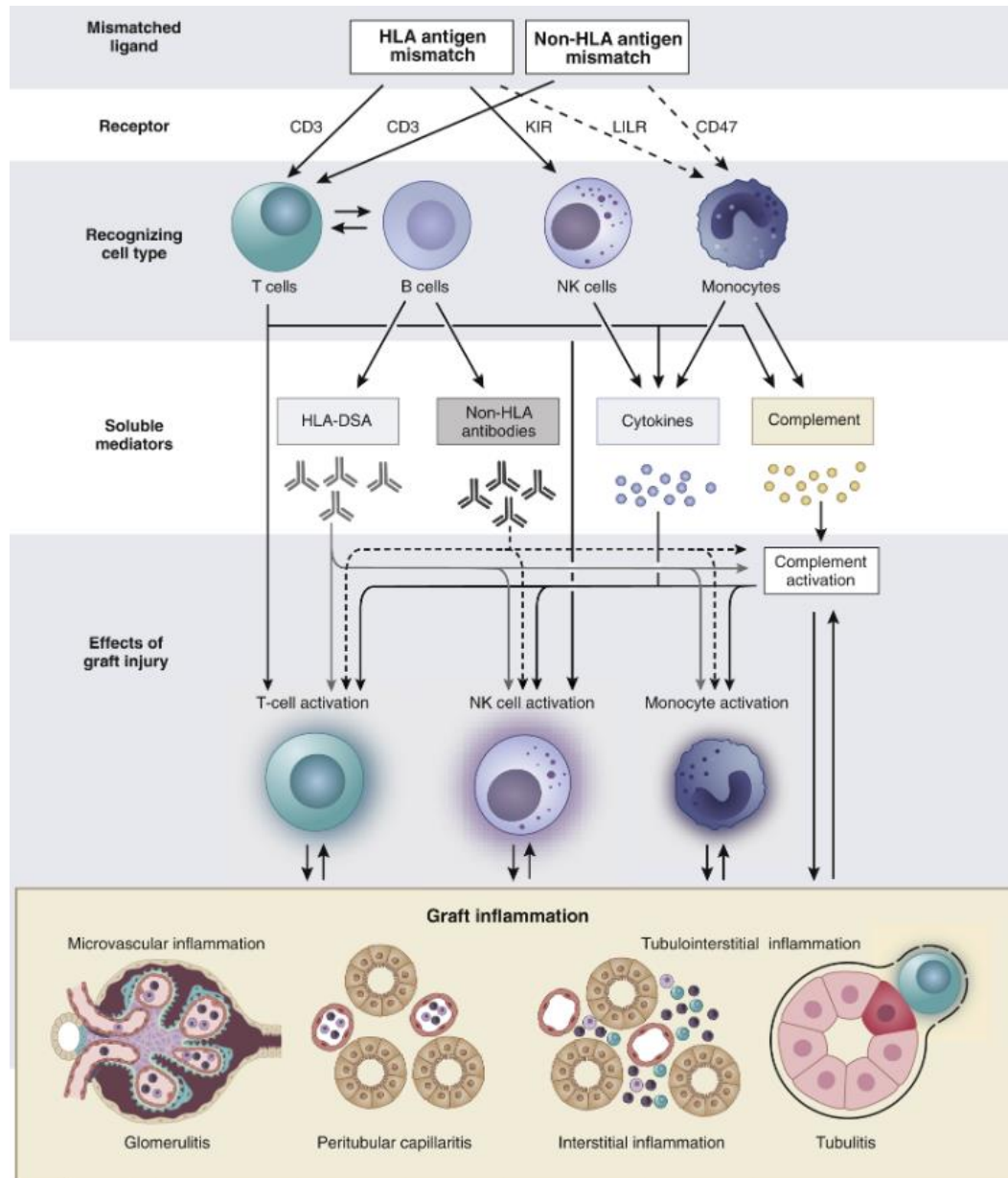
- ❑ Μεταγγίσεις αίματος
 - ❑ Κυήσεις/αποβολές
 - ❑ **Απόρριψη αλλομοσχεύματος**
 - ❑ Φλεβικά ή αρτηριακά αλλομοσχεύματα
 - ❑ Λοιμώξεις
 - ❑ Τραυματισμοί
 - ❑ Εμβολιασμοί
- Διασταυρούμενη αντίδραση



Ένα γεγονός ευαισθητοποίησης μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή πολλαπλών ειδικοτήτων αντισωμάτων

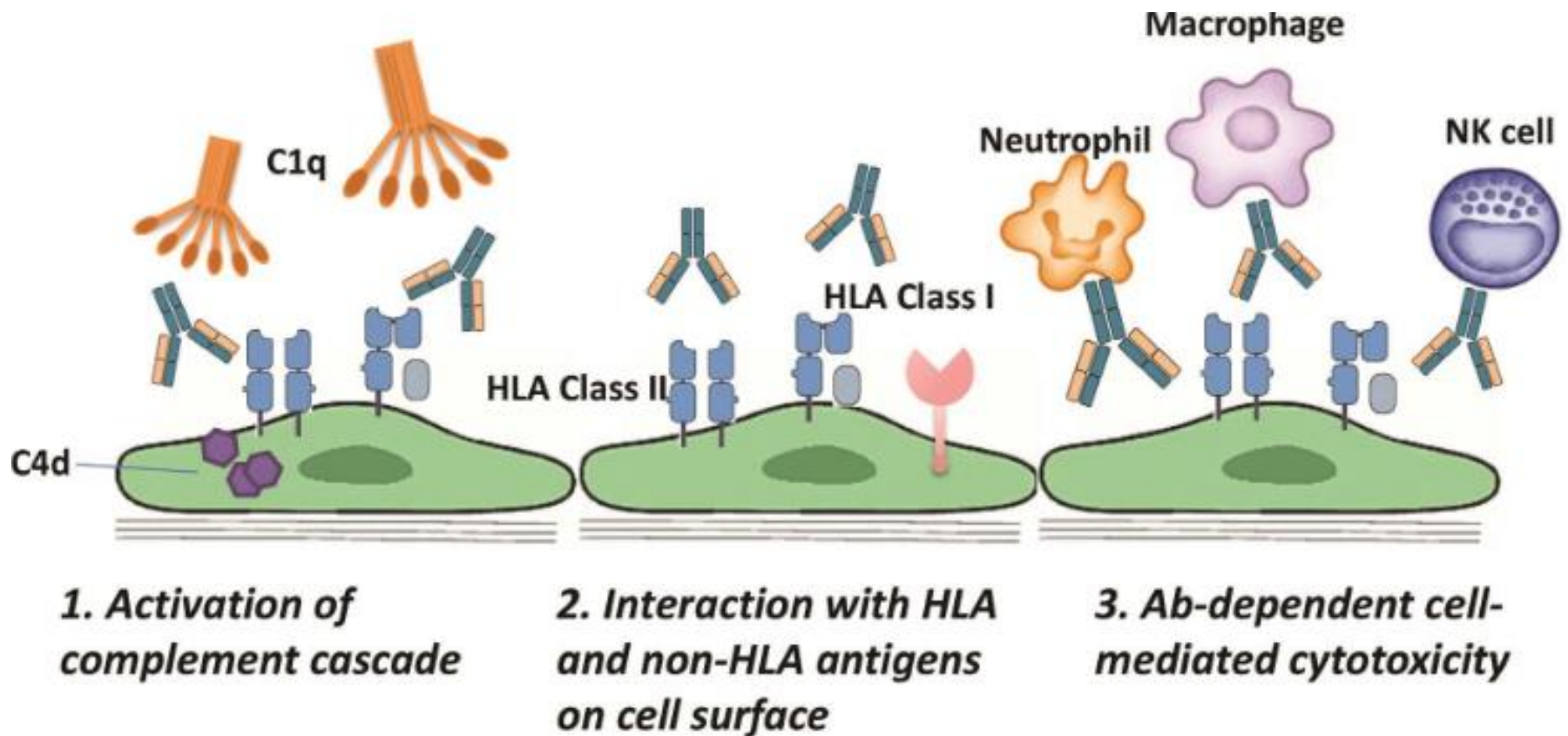


Crosstalk of allorecognition pathways in kidney transplantation



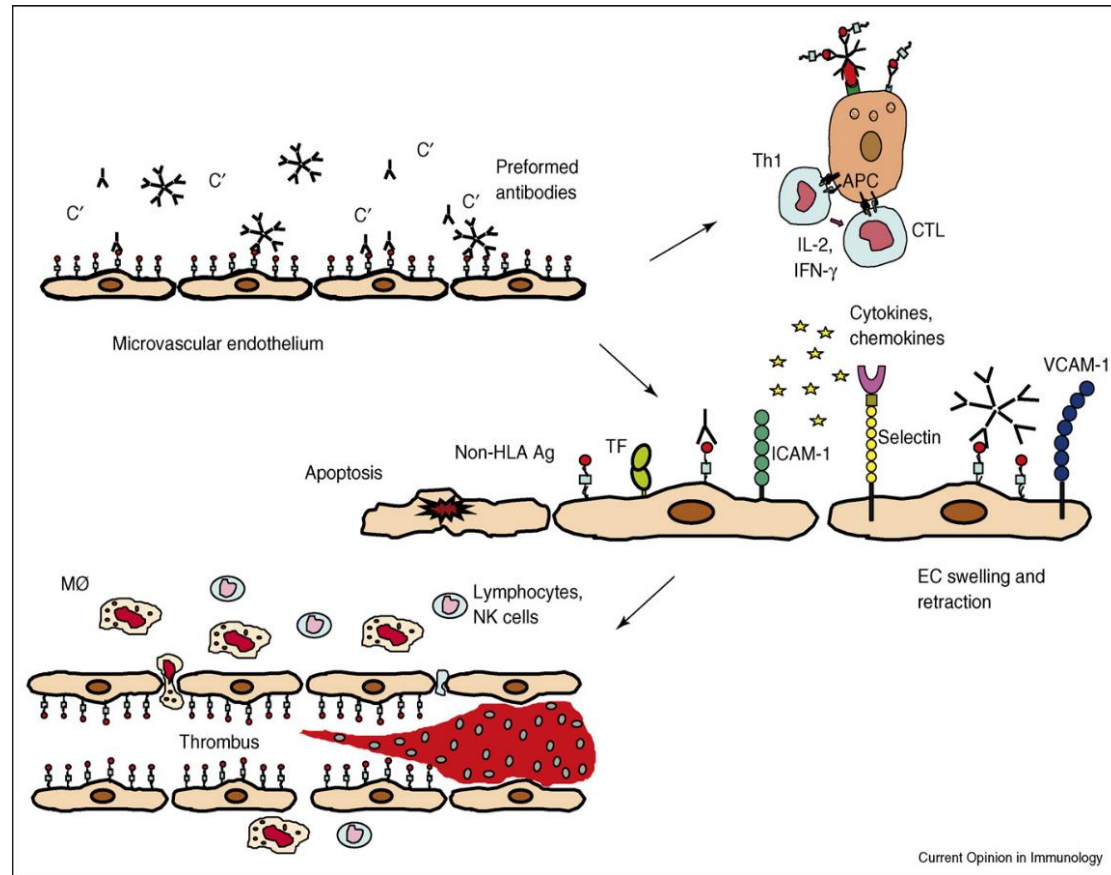
Callemeyn J, et al.
Kidney Int. 2022

Μηχανισμοί δράσης αντί-HLA αντισωμάτων

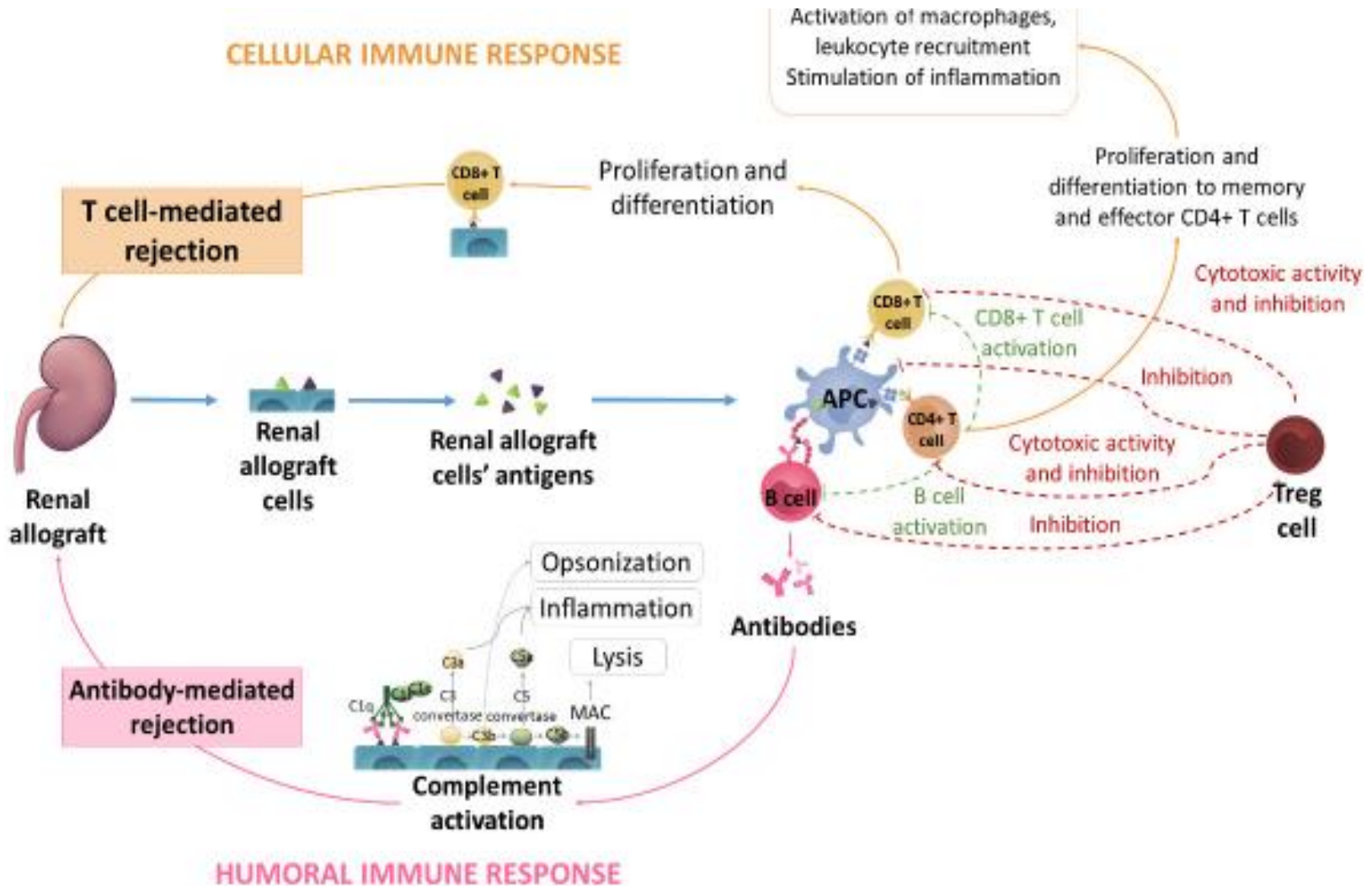


Μηχανισμοί δράσης non-HLA αντισωμάτων

- Ενεργοποίηση συμπληρώματος, ADCC
- Επαγωγή συσσώρευσης λευκοκυττάρων, φλεγμονής και θρόμβωσης
- Απόπτωση
- Ενίσχυση κυτταρικής ανοσίας



Κύριοι μηχανισμοί απόρριψης αλλομοσχεύματος



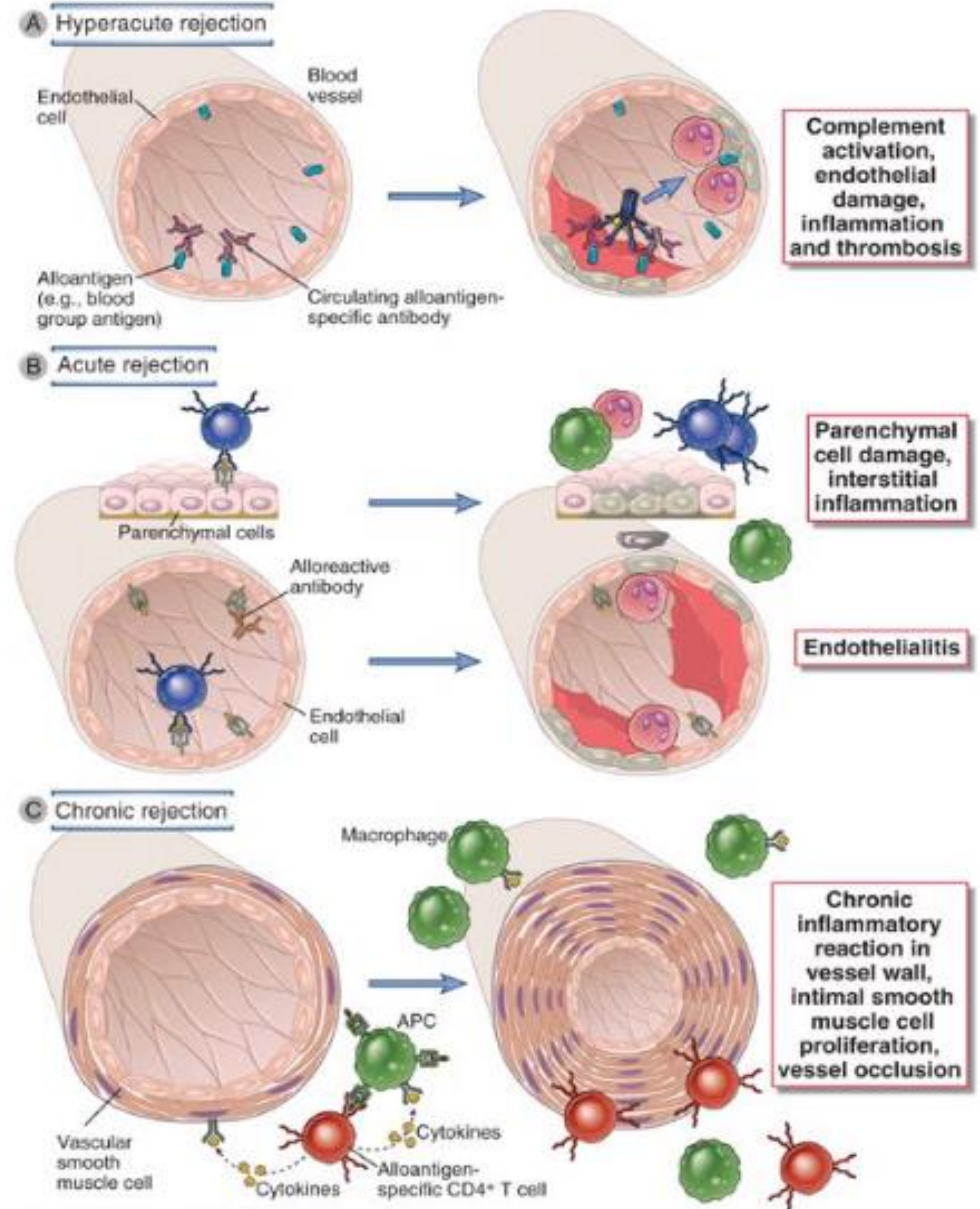


Ταξινόμηση απόρριψης

✓ Υπεροξεία

✓ Οξεία

✓ Χρόνια





Εισαγωγή – Επισκόπηση ομιλίας

□ Ανοσολογία της μεταμόσχευσης νεφρού

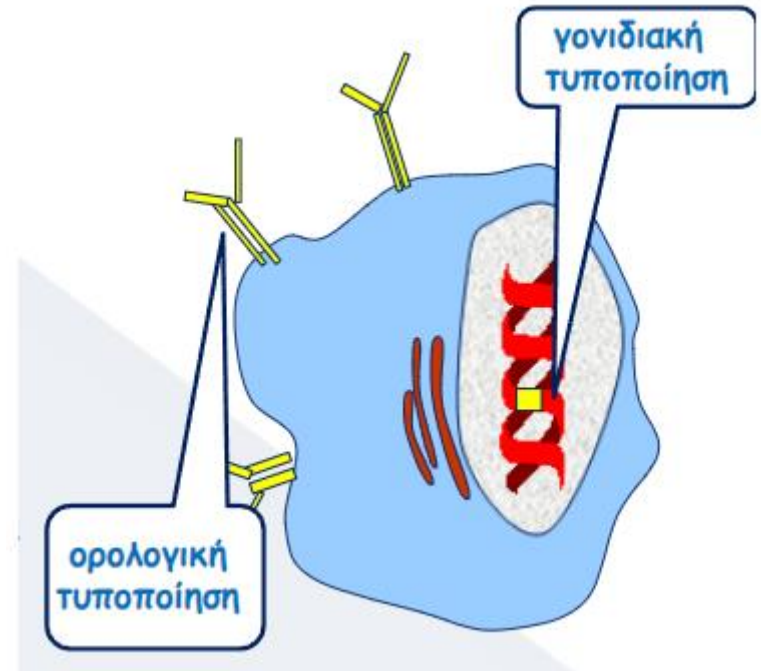
- Αντιγόνα και αντισώματα στη μεταμόσχευση νεφρού
- Αλλοαναγνώριση και αλλοαπάντηση
- Ανοσολογικοί μηχανισμοί απόρριψης

□ Ανοσολογικός έλεγχος στη μεταμόσχευση νεφρού

- **HLA τυποποίηση λήπτη-δότη**
- Ανίχνευση HLA & non-HLA αντισωμάτων στον ορό του λήπτη
- Δοκιμασίες ιστοτικής διασταύρωσης

HLA τυποποίηση λήπτη-δότη

- **Ορολογική τυποποίηση** (Complement dependent cytotoxicity-CDC)
 - αποτέλεσμα της έκφρασης του γονιδιώματος (φαινότυπος)
- **Μοριακή τυποποίηση** (PCR-SSP, PCR-SSO, SBT, NGS)
 - μελέτη του γονιδιώματος (γονότυπος)



ERBP Κατευθυντήριες οδηγίες

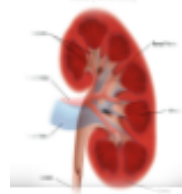
Προτείνεται τουλάχιστον μία τυποποίηση να εκτελείται με μοριακή μέθοδο τόσο στον λήπτη όσο και στον δότη, προς αποφυγή λαθών στην τυποποίηση των HLA (2D)

D. Abramowicz et al. Nephrol Dial Transplant 2014

Αποτέλεσμα ΗΛΑ τυποποίησης

Low	Intermediate	High
A*02 B*44 DRB1*04	A*02:01/02:09 B*44:02/44:05 DRB1*04:03/04:07	A*02:01 B*44:02 DRB1*04:03

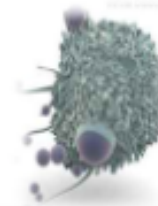
επίπεδο ορολογική
ειδικότητας



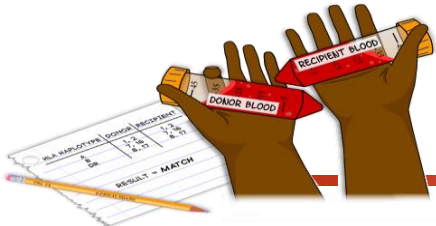
**μεταμόσχευση
συμπαγών οργάνων**
τυποποίηση σε επίπεδο
2-digits

επίπεδο ομάδας
αλληλίων

επίπεδο αλληλίου



**μεταμόσχευση
αιμοποιητικών
κυττάρων**
τυποποίηση σε
επίπεδο 4-digits

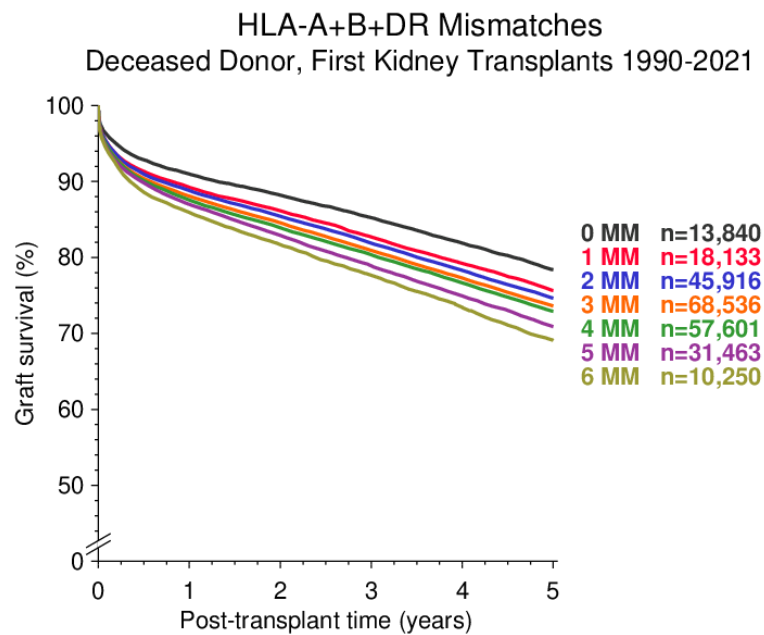


HLA συμβατότητα και επιβίωση νεφρικού μοσχεύματος

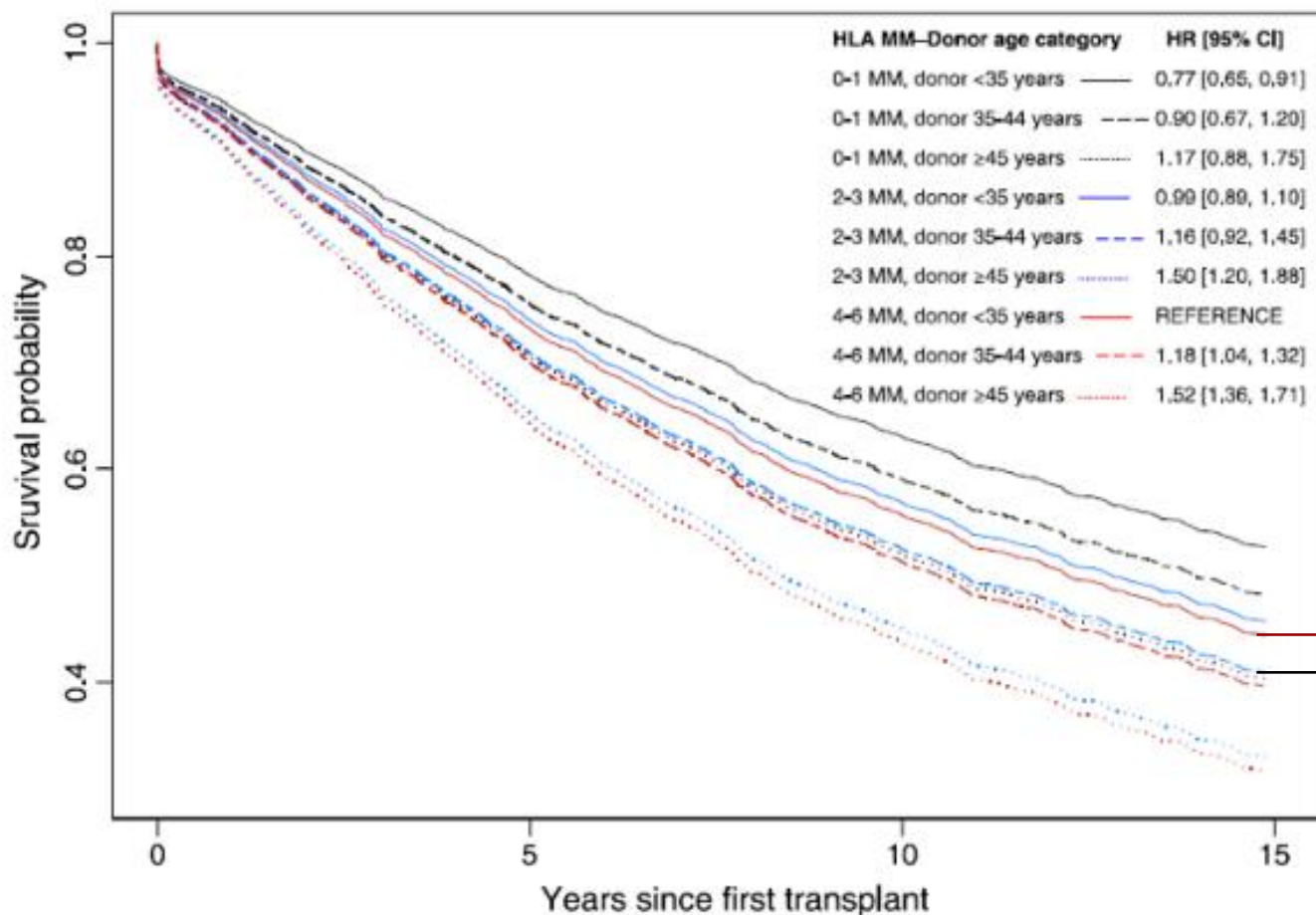
Μεταμόσχευση από **ζώντα δότη**: επιθυμητή η μεγαλύτερου βαθμού συμβατότητα αλλά τελικά άλλοι κλινικό-εργαστηριακοί παράγοντες θα καθορίσουν την επιλογή του πιο κατάλληλου δότη

Μεταμόσχευση από **αποβιώσαντα δότη** δότη:

- 66,67 μόρια για κάθε HLA -A,-B,-DR κοινό αντιγόνο
- ελάχιστη επιθυμητή συμβατότητα για τους ΥΕ ασθενείς 1 HLA- A ή B και 1 DRB1



HLA συμβατότητα και ηλικία δότη



→ 4-6mm, donor<35y
→ 0-1mm, donor>45y

Kim JJ, Fuggle SV, Marks SD. Does HLA matching matter in the modern era of renal transplantation? *Pediatr Nephrol.* 2021



ERBP Κατευθυντήριες οδηγίες 2.2.

- Προτείνεται η συμβατότητα για τα HLA-A, -B και -DR όποτε είναι εφικτό (2C)
- Συστήνεται η **συνεκτίμηση της HLA συμβατότητας με άλλες παραμέτρους** που επηρεάζουν την έκβαση του ασθενούς αλλά και του μοσχεύματος, στην απόφαση αποδοχής ενός δυνητικού μοσχεύματος (1D)
- Συστήνεται να δίνεται **προτεραιότητα στο συνδυασμό ενός HLA ταυτόσημου δότη και λήπτη** (1B)
- Προτείνεται να δίνεται **περισσότερο βάρος στην HLA-DR συμβατότητα** από ότι στην HLA-A και -B συμβατότητα (2C)
- **Θα πρέπει να δίνεται μεγαλύτερη έμφαση στην HLA συμβατότητα των νεότερων ασθενών, έτσι ώστε να αποφευχθεί η ευρεία ευαισθητοποίηση** έναντι των HLA, που θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά την επαναμεταμόσχευση (μη βαθμολογημένη σύσταση)



Εισαγωγή – Επισκόπηση ομιλίας

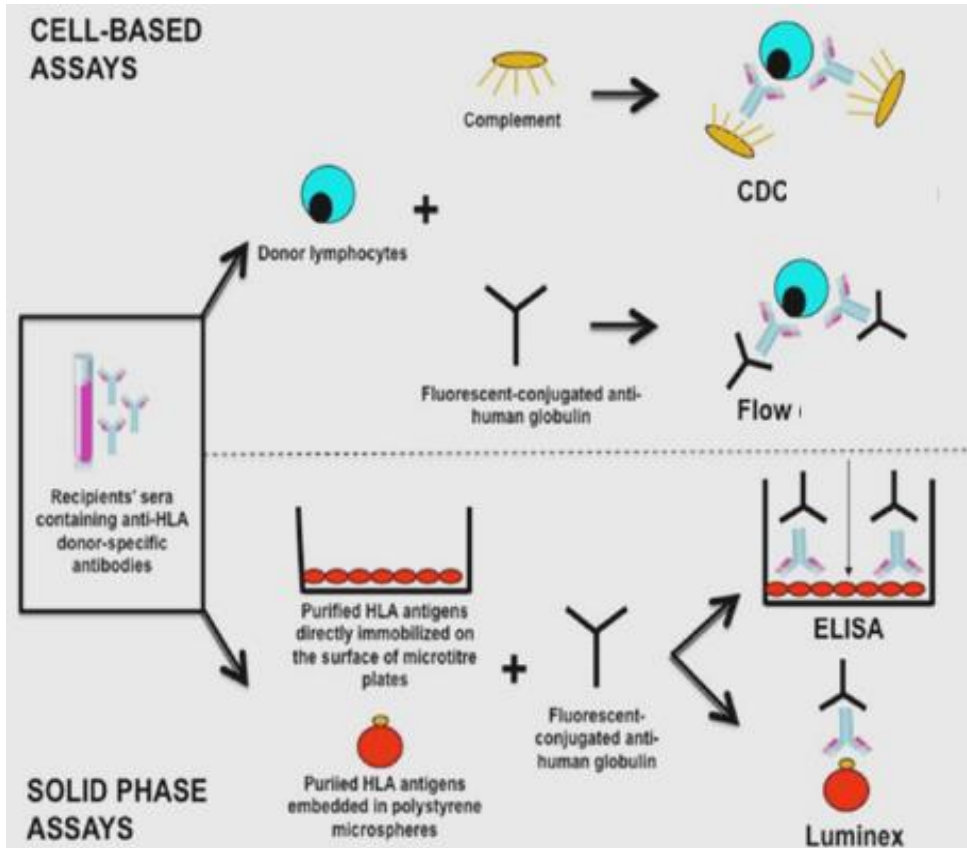
□ Ανοσολογία της μεταμόσχευσης νεφρού

- Αντιγόνα και αντισώματα στη μεταμόσχευση νεφρού
- Αλλοαναγνώριση και αλλοαπάντηση
- Ανοσολογικοί μηχανισμοί απόρριψης

□ Ανοσολογικός έλεγχος στη μεταμόσχευση νεφρού

- HLA τυποποίηση λήπτη-δότη
- **Ανίχνευση HLA & non-HLA αντισωμάτων στον ορό του λήπτη**
- Δοκιμασίες ιστοτικής διασταύρωσης

Μέθοδοι ελέγχου αντί-HLA αντισωμάτων



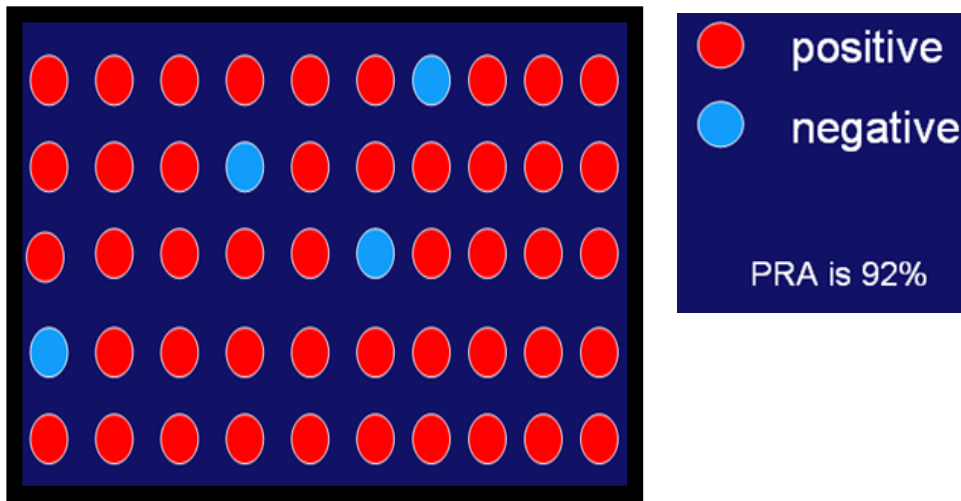
- Complement dependent cytotoxicity (CDC)
- Flow cytometry
- Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)
- Luminex- single antigen beads



%PRAs (panel reactive antibodies)

%PRAs: Θετικές αντιδράσεις σε πάνελ T και B κυττάρων με γνωστό HLA φαινότυπο

Αντιπροσωπεύει το % των πιθανών δοτών των οποίων τα κύτταρα αντιδρούν θετικά με τον ορό του ασθενή



- ✓ PRA <5% μη ευαισθητοποιημένοι ασθενείς
- ✓ PRA 5-70% ευαισθητοποιημένοι ασθενείς
- ✓ PRA >70% υπερευαισθητοποιημένοι ασθενείς

↑ %PRAs δεν σημαίνει απαραίτητα ότι ο λήπτης έχει ειδικά για το δότη αντισώματα



Calculated η virtual PRA ή calculated Reaction frequency (% cPRA, vPRA, cRF)



Eurotransplant Reference Laboratory
Virtual PRA Calculator

[Information](#)

A2 A24 B7 B8 B13

Unacceptable antigens:

Unacceptable antigens can only be entered divided by a space or a comma.

Calculate vPRA

Clear

Frequency of donors within the Eurotransplant area harbouring unacceptable antigens: 82,470% (8247 out of 10000, ETRL HLA database version 4.0)

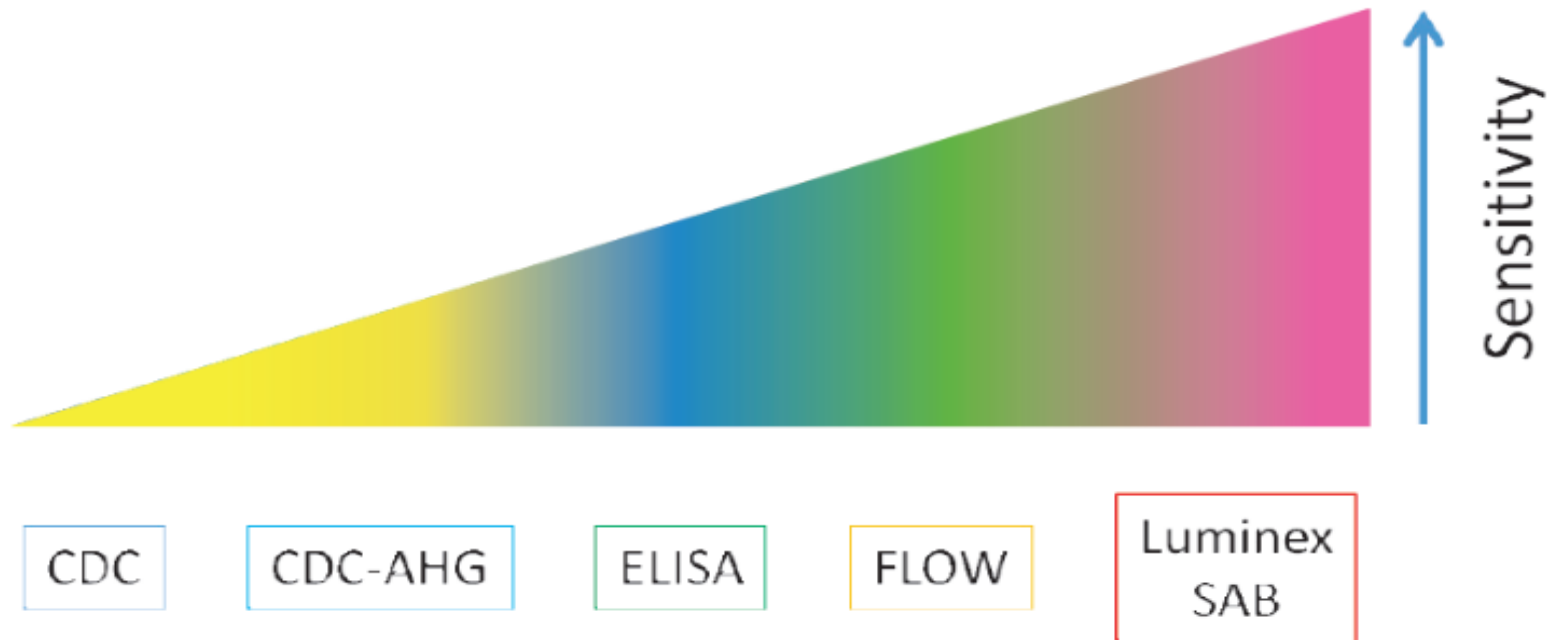


Olga Timofeeva & James Brown.
Indian Journal of Thoracic and
Cardiovascular Surgery, 2021

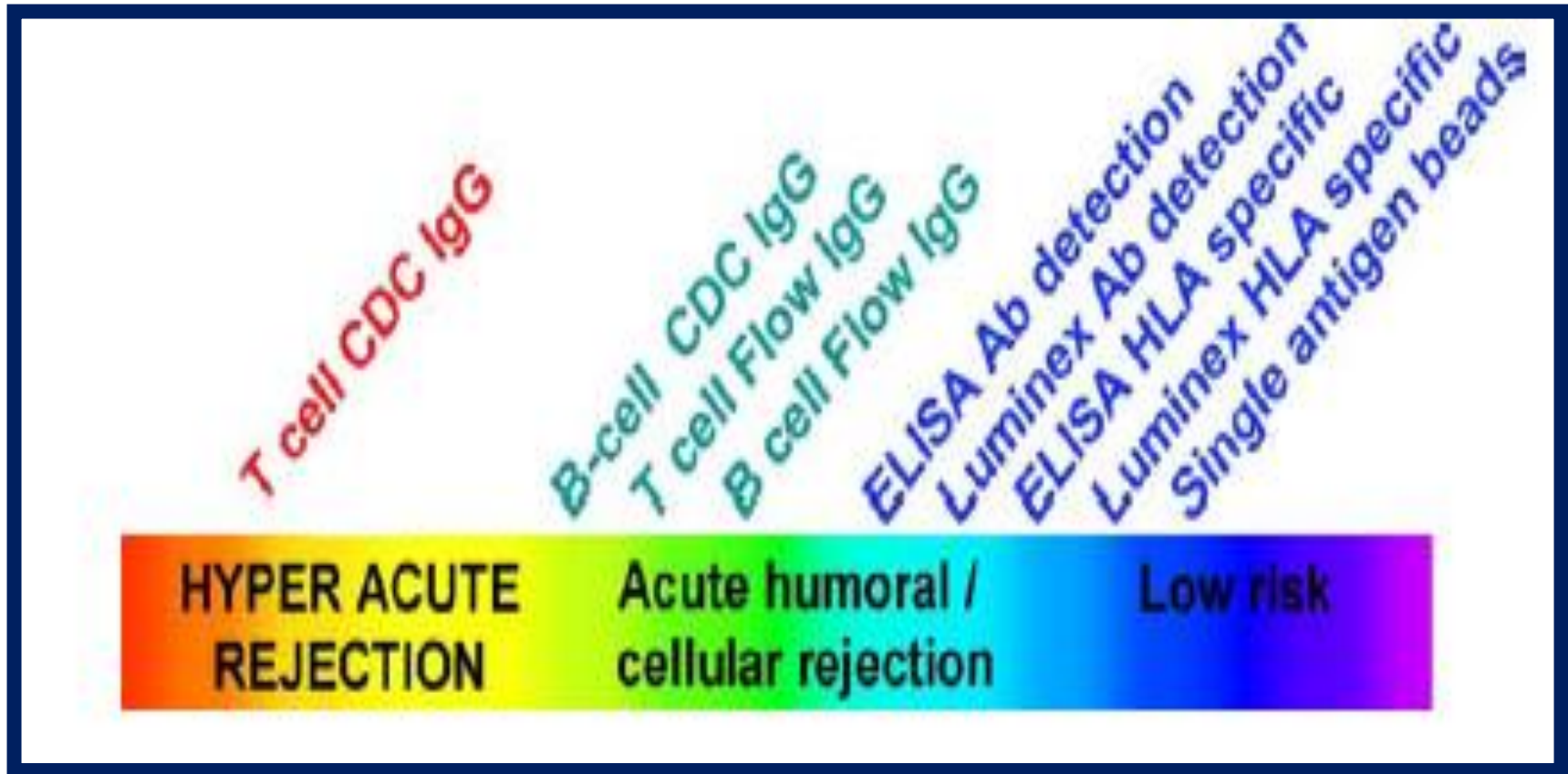
✓ Η τιμή cPRA κυμαίνεται ανάλογα με την τιμή MFI που υπολογίζονται τα μη αποδεκτά αντιγόνα

Ευαισθησία μεθόδων ανίχνευσης αντί-ΗΛΑ αντισωμάτων

Sensitivity of Antibody Detection Methods



Εκτίμηση ανοσολογικού κινδύνου πριν τη μεταμόσχευση

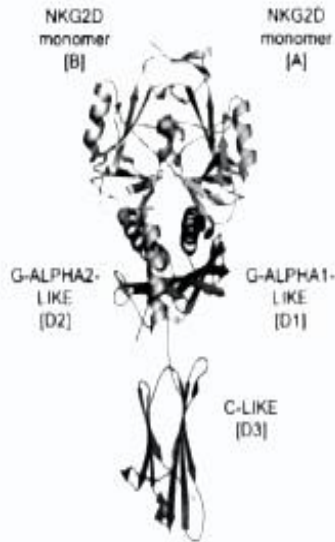


Το ανοσολογικό ρίσκο λόγω προσχηματισμένων ειδικών έναντι του δότη HLA αντισωμάτων κυμαίνεται από πολύ υψηλό (απόλυτη αντένδειξη) μέχρι πολύ χαμηλό

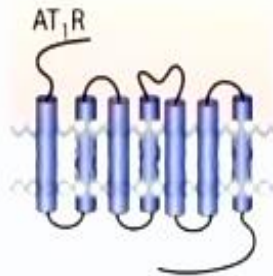
Non-HLA αντισώματα

Clinical Laboratory Tests for Non-HLA Antibodies

MICA Antibody
Screen

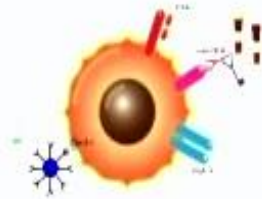


AT1R Antibody
Screen

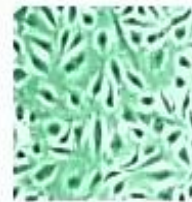


Endothelial Cell Crossmatch
XM-One

Tie-2+
Precursor EC



HAEC



Luminex multiplex
bead assay

- Reagents available from two commercial vendors
- laboratory developed



Εισαγωγή – Επισκόπηση ομιλίας

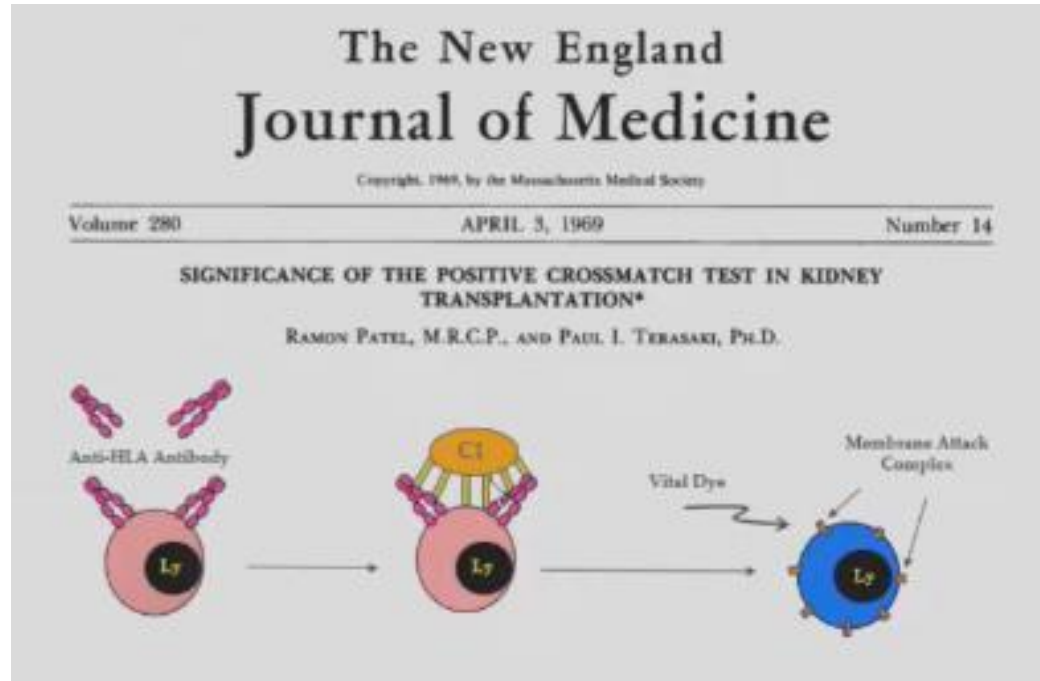
□ Ανοσολογία της μεταμόσχευσης νεφρού

- Αντιγόνα και αντισώματα στη μεταμόσχευση νεφρού
- Αλλοαναγνώριση και αλλοαπάντηση
- Ανοσολογικοί μηχανισμοί απόρριψης

□ Ανοσολογικός έλεγχος στη μεταμόσχευση νεφρού

- HLA τυποποίηση λήπτη-δότη
- Ανίχνευση HLA & non-HLA αντισωμάτων στον ορό του λήπτη
- **Δοκιμασίες ιστικής διασταύρωσης**

To CDC crossmatch προλαμβάνει την υπεροξεία απόρριψη λόγω προσχηματισμένων DSA



- **Patel & Terasaki (N Eng J Med, 1969):**

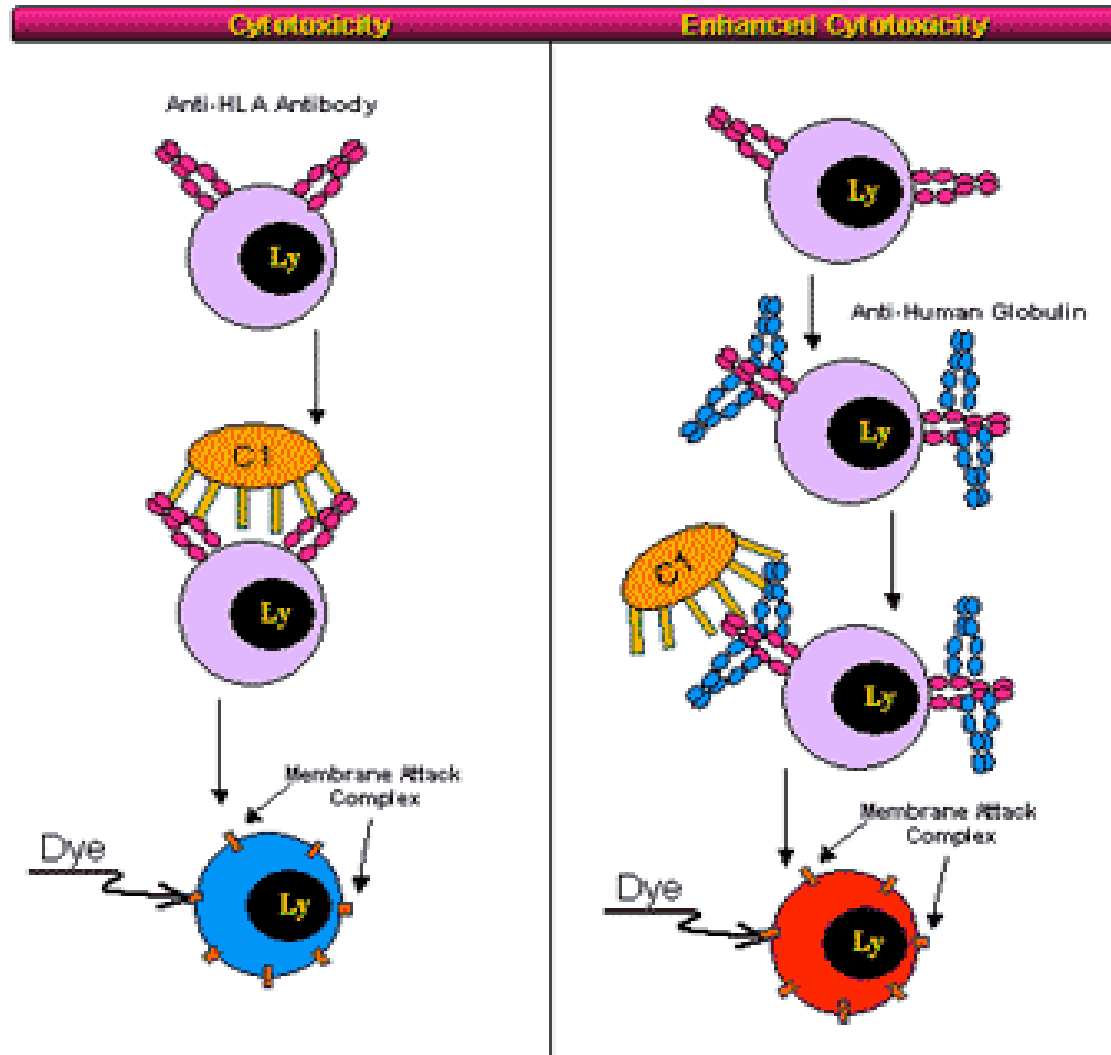
24/30 ασθενείς με προσχηματισμένα αντισώματα έναντι του δότη παρουσίασαν υπεροξεία απόρριψη



**Καθιέρωση διενέργειας CDC
crossmatch πριν τη μεταμόσχευση**

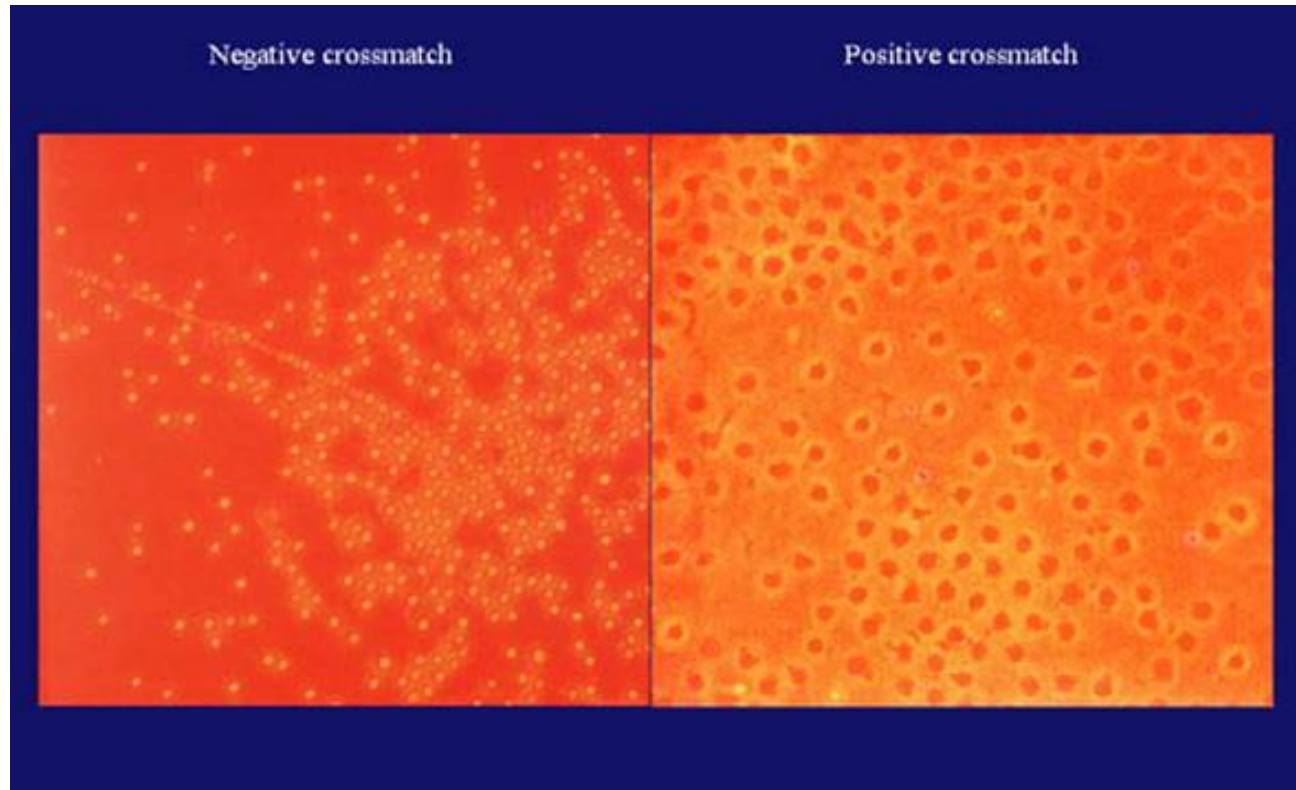
CDC crossmatch

T / B λεμφοκύτταρα δότη
 +
 Ορός λήπτη
 +/-
 Anti-human globulin
 +
 Συμπλήρωμα
 +
 Χρωστική



CDC: Complement dependent cytotoxicity

CDC Crossmatch (χρώση ιωσίνης)



Percentage of dead cells	Score	Evaluation
0-10	1	Negative
11-20	2	Doubtful/positive/negative
21-50	4	Weak positive
51-80	6	Positive
81-100	8	Strong positive

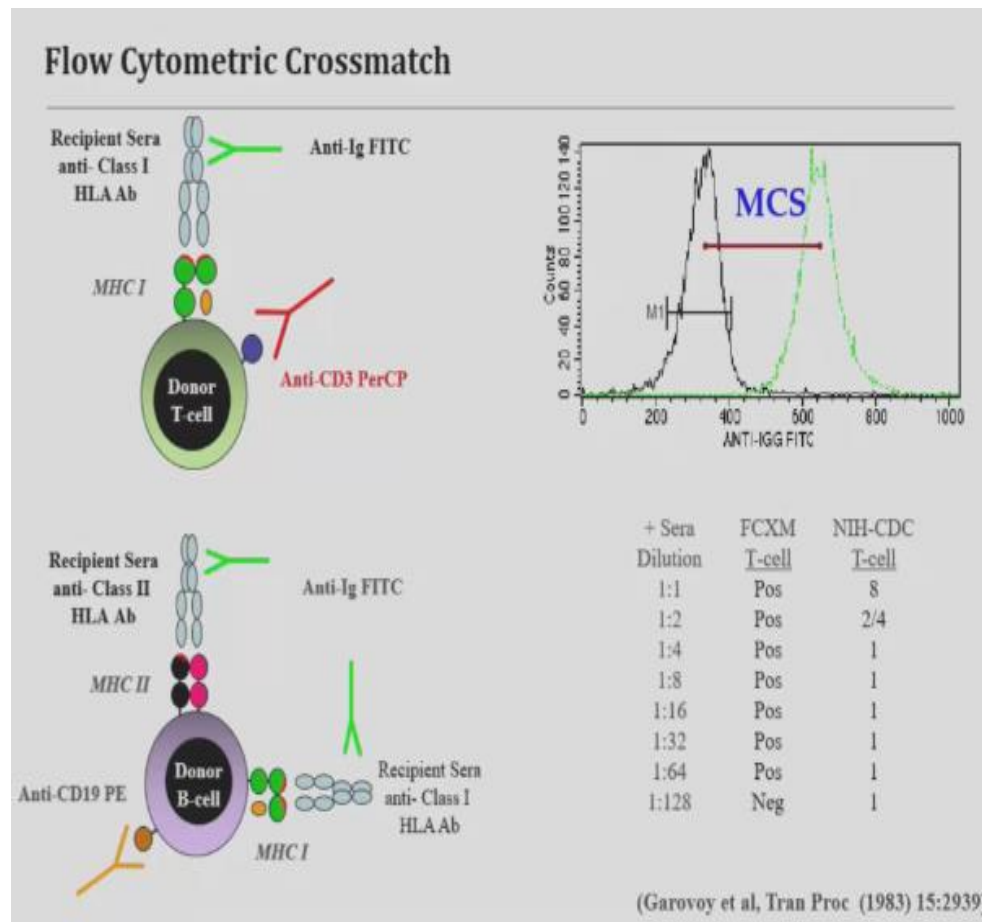
T/B Flow Cytometry Crossmatch

□ T-Flow cytometry crossmatch

Ανίχνευση HLA αντισωμάτων τάξης I συνδέοντα και μη συνδέοντα το συμπλήρωμα

□ B-Flow cytometry crossmatch

Ανίχνευση HLA αντισωμάτων τάξης II και χαμηλού τίτλου τάξης I συνδέοντα και μη συνδέοντα το συμπλήρωμα



Σημαντική δοκιμασία για την έγκαιρη εκτίμηση του ανοσολογικού ρίσκου HLA ευαισθητοποιημένων ασθενών

Ανοσολογικό ρίσκο μεταμόσχευσης

HUMORAL RISK

RISK CATEGORIES & MANAGEMENT

HUMORAL MEMORY



1. Day-zero DSA with positive CDC

→ Tx impossible. Require desensitization before Tx

2. Day-zero DSA with positive flow and negative CDC

→ Tx possible but very high risk for acute AMR and accelerated chronic AMR. Require adaptation of follow-up and maintenance IS

3. Day-zero DSA with negative flow

→ Tx possible with risk for acute AMR, and acceptable medium-term graft survival. Require adaptation of follow-up and maintenance IS

4. Absence of day-zero DSA but potential cellular memory against donor HLA

→ Tx possible with risk for AMR increased.

4.a. Probably cellular memory if:

- historical DSA
- pregnancy and/or previous transplant with repeat Ag

4.b. Possible cellular memory if:

- transfusion(s) with no information on blood donors

5. No DSA and no cellular memory

→ Tx possible lower risk for AMR but de novo DSA still possible

NB: patient with day-zero non DSA HLA antibodies are “good humoral responders” with possible increased risk for subsequent de novo DSA generation

SEROLOGICAL
MEMORY

CELLULAR
MEMORY

NAIVE



Προϋπόθεση για την επιτυχή Μεταμόσχευση Νεφρού

- ❑ Ο τακτικός έλεγχος των υποψήφιων ληπτών νεφρού είναι απαραίτητος για τη γνώση του ανοσολογικού τους προφίλ τη στιγμή της μεταμόσχευσης
- ❑ Η συνεργασία του εργαστηρίου με τους ιατρούς των μονάδων τεχνητού νεφρού και μεταμόσχευσης είναι αναγκαία και απαραίτητη προϋπόθεση για την εξασφάλιση της βέλτιστης πορείας της μεταμόσχευσης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΩΪ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΟΧΪ ΣΑΣ

Ερώτηση 1

Τι ισχύει για την HLA συμβατότητα στη μεταμόσχευση νεφρού;

1. Για την επιτυχή μεταμόσχευση νεφρού απαιτείται πλήρης HLA συμβατότητα
2. Η HLA-DR συμβατότητα είναι υποχρεωτικό κριτήριο επιλογής για όλους τους υποψήφιους λήπτες
3. Μοσχεύματα από δότες με 0 ασυμβατότητα δεν απορρίπτονται
4. Η HLA ασυμβατότητα αυξάνει τον κίνδυνο HLA ευαισθητοποίησης μετά την απώλεια μοσχεύματος και το χρόνο αναμονής για δεύτερο μόσχευμα

Ερώτηση 1

Τι ισχύει για την HLA συμβατότητα στη μεταμόσχευση νεφρού;

1. Για την επιτυχή μεταμόσχευση νεφρού απαιτείται πλήρης HLA συμβατότητα
2. Η HLA-DR συμβατότητα είναι υποχρεωτικό κριτήριο επιλογής για όλους τους υποψήφιους λήπτες
3. Μοσχεύματα από δότες με 0 ασυμβατότητα δεν απορρίπτονται
4. Η HLA ασυμβατότητα αυξάνει τον κίνδυνο HLA ευαισθητοποίησης μετά την απώλεια μοσχεύματος και το χρόνο αναμονής για δεύτερο μόσχευμα

Ερώτηση 2

Ποια από τα παρακάτω συμμετέχουν στους μηχανισμούς απόρριψης του μοσχεύματος;

1. Αντισώματα έναντι των HLA και ABO αντιγόνων του δότη
2. T και B λεμφοκύτταρα
3. Ουδετερόφιλα, μακροφάγα, NK κύτταρα, το σύστημα του συμπληρώματος
4. Όλα τα παραπάνω

Ερώτηση 2

Ποια από τα παρακάτω συμμετέχουν στους μηχανισμούς απόρριψης του μοσχεύματος;

1. Αντισώματα έναντι των HLA και ABO αντιγόνων του δότη
2. T και B λεμφοκύτταρα
3. Ουδετερόφιλα, μακροφάγα, NK κύτταρα, το σύστημα του συμπληρώματος
4. **Όλα τα παραπάνω**

Ερώτηση 3

Η ευαισθητοποίηση των ασθενών σε HLA αντιγόνα μπορεί να προκληθεί από:

1. Μεταγγίσεις
2. Μεταγγίσεις και κυήσεις
3. Απόρριψη προηγούμενου μοσχεύματος
4. Όλα τα παραπάνω

Ερώτηση 3

Η ευαισθητοποίηση των ασθενών σε HLA αντιγόνα μπορεί να προκληθεί από:

1. Μεταγγίσεις
2. Μεταγγίσεις και κυήσεις
3. Απόρριψη προηγούμενου μοσχεύματος
4. Όλα τα παραπάνω

Ερώτηση 4

Τι ισχύει για την υπεροξεία απόρριψη;

1. Εκδηλώνεται αμέσως μετά τη μεταμόσχευση και είναι κλινικά αναστρέψιμη
2. Οφείλεται σε φλεγμονή- βλάβη του μοσχεύματος από την ισχαιμία- επαναιμάτωση κατά τη χειρουργική επέμβαση
3. Οφείλεται σε προσχηματισμένα ειδικά στο δότη αντί- HLA ή αντί-ABO αντισώματα
4. Οφείλεται σε de novo ειδικά στο δότη αντί-HLA αντισώματα

Ερώτηση 4

Τι ισχύει για την υπεροξεία απόρριψη;

1. Εκδηλώνεται αμέσως μετά τη μεταμόσχευση και είναι κλινικά αναστρέψιμη
2. Οφείλεται σε φλεγμονή- βλάβη του μοσχεύματος από την ισχαιμία- επαναιμάτωση κατά τη χειρουργική επέμβαση
3. **Οφείλεται σε προσχηματισμένα ειδικά στο δότη αντί- HLA ή αντί-ABO αντισώματα**
4. Οφείλεται σε de novo ειδικά στο δότη αντί-HLA αντισώματα

