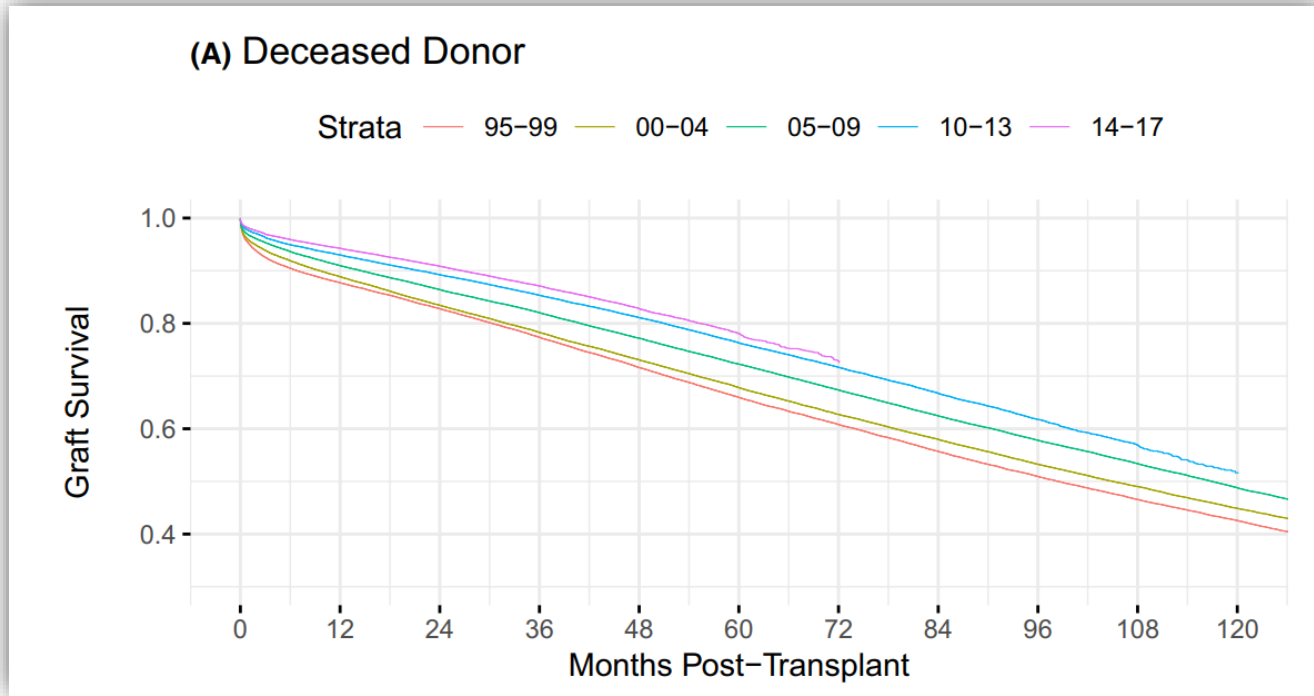




Μεταμόσχευση νεφρού: από τη βιοψία στους βιοδείκτες

Μελεξοπούλου Χριστίνα
Επιμελήτρια Α', Κλινική Νεφρολογίας & Μεταμόσχευσης Νεφρού
Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, ΓΝΑ «Λαϊκό»

Kaplan-Meier curves for graft failure for recipients of deceased kidney donors



10ετης επιβίωση
νεφρικού μοσχεύματος
από αποβιώσαντα
δότη ≈50%



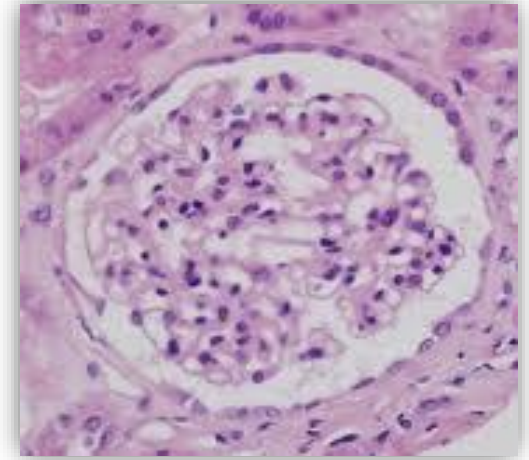
Κύρια αιτία: ανοσολογική βλάβη του μοσχεύματος

Η απόρριψη συχνά υπάρχει πριν την καταλάβουμε

- Υποκλινική απόρριψη (έως 30%)
- Κρεατινίνη: μη ειδική & αυξάνεται καθυστερημένα

Βιοψία νεφρικού μοσχεύματος: gold standard για διάγνωση απόρριψης

- Παρέχει άμεση εικόνα της παθολογίας του μοσχεύματος
- Διακρίνει με σαφήνεια τους διαφορετικούς τύπους απόρριψης
- Συμβάλλει στην εκτίμηση βαρύτητας και πρόγνωσης
- Αναδεικνύει και άλλες αιτίες δυσλειτουργίας μοσχεύματος



Βιοψία νεφρικού μοσχεύματος, αλλά....

- Είναι επεμβατική και υπάρχει κίνδυνος επιπλοκών (αιμορραγία, άλγος)
- Υπόκειται σε σφάλμα δειγματοληψίας (sampling error)
- Η ερμηνεία της είναι υποκειμενική (variability Banff)
- Δεν είναι εύκολο να επαναληφθεί για παρακολούθηση



Βιοψία επί ενδείξεων: → καθυστερημένη διάγνωση

Βιοψία πρωτοκόλλου: κάνουν μόνο 20% των μεταμοσχευτικών κέντρων



Ανάγκη για μη επεμβατικούς βιοδείκτες

Γιατί?

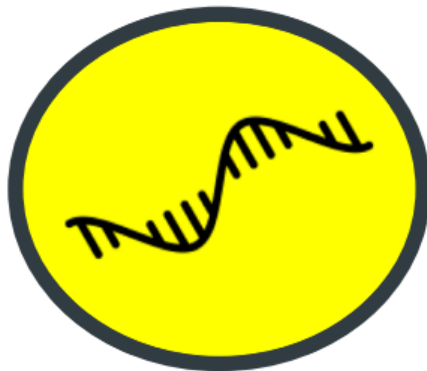
- Πρώιμη διάγνωση
- Ανίχνευση υποκλινικής απόρριψης
- Πρόβλεψη μελλοντικής απόρριψης
- Παρακολούθηση ανταπόκρισης θεραπείας
- Εξατομίκευση ανοσοκαταστολής

Νεότεροι μη επεμβατικοί βιοδείκτες

Donor-Derived Cell-Free DNA



Gene Expression Profile



Χημειοκίνες ούρων



Donor-Derived Cell-Free DNA (dd-cfDNA)

Donor-Derived Cell-Free DNA (dd-cfDNA)

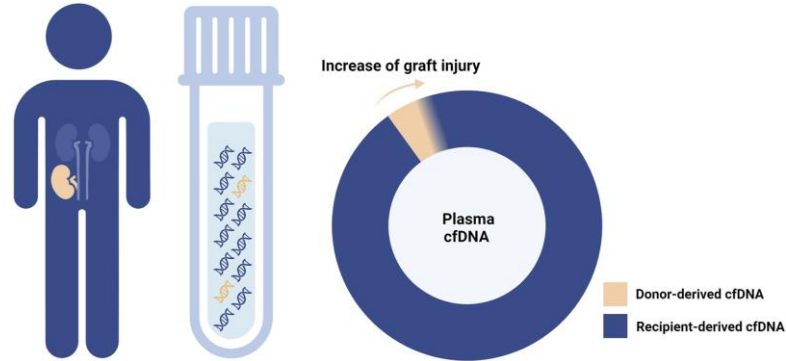
- Η ιδέα χρήσης dd-cfDNA στις μεταμοσχεύσεις εμφανίζεται ~25 χρόνια πριν (αρχές 2000s)
- Την τελευταία δεκαετία ($\approx 2010-2020$) αναπτύχθηκαν αξιόπιστα τεστ και έγινε η κλινική επικύρωση
- Στις ΗΠΑ υπάρχει κάλυψη από το Medicare από το 2017 και υπάρχει ευρεία χρήση του
- Στην Ευρώπη η χρήση του περιορίζεται σε λίγα κέντρα



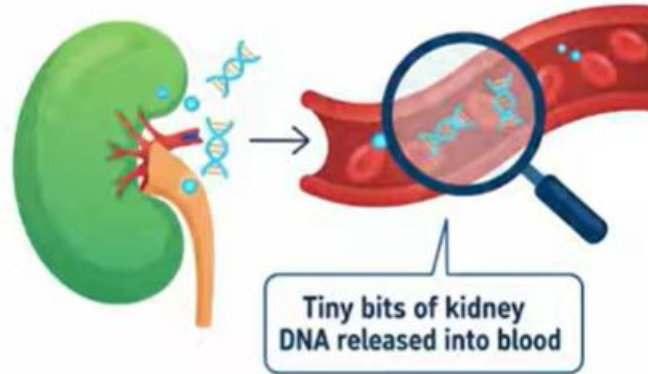
Donor-Derived Cell-Free DNA (dd-cfDNA)

cfDNA: στο αίμα κυκλοφορούν ελεύθερα θραύσματα DNA που προέρχονται από κύτταρα που πεθαίνουν

dd-cfDNA: είναι το κομμάτι αυτού του DNA που προέρχεται από τα κύτταρα του μοσχεύματος του δότη που πεθαίνουν



Donor-Derived Cell-Free DNA (dd-cfDNA)



More kidney damage = more dd-cfDNA

Πώς μετριέται;

Με εξέταση αίματος, χρησιμοποιώντας μοριακές τεχνικές (PCR ή next-generation sequencing) που διακρίνουν το DNA του δότη από του λήπτη βάσει γενετικών διαφορών (SNPs)

Αναφέρεται:

- είτε ως ποσοστό (%) του συνολικού cfDNA
- είτε ως απόλυτη συγκέντρωση (copies/mL)

Χρήση dd-cfDNA στην κλινική πράξη

1. Έγκαιρη ανίχνευση απόρριψης

- αυξάνεται πριν την κλινική επιδείνωση (ανίχνευση υποκλινικής απόρριψης)
- υψηλό dd-cfDNA → αυξημένη πιθανότητα ενεργού απόρριψης

2. Αξιολόγηση ανταπόκρισης στη θεραπεία

- ↓ dd-cfDNA μετά θεραπεία → ανταπόκριση
- Παραμονή υψηλό dd-cfDNA → πιθανή αποτυχία θεραπείας

Χρήση dd-cfDNA στην κλινική πράξη

3. Αποφυγή περιττών βιοψιών

- Έχει **υψηλό negative predictive value (NPV)**

χαμηλό dd-cfDNA → πολύ πιθανό να ΜΗΝ υπάρχει απόρριψη

- Μπορούμε να αποφύγουμε βιοψία σε low-risk ασθενείς

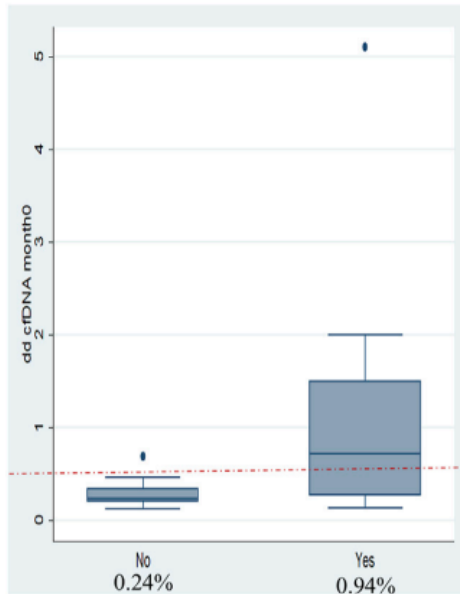
4. Διαστρωμάτωση κινδύνου και εξατομίκευση ανοσοκαταστολής

- Ασθενείς με συστηματικά χαμηλό dd-cfDNA → χαμηλού κινδύνου
→ μπορεί να γίνει μείωση της ανοσοκαταστολής τους

Μειονεκτήματα dd-cfDNA

- **Περιορισμένη ειδικότητα:** Τα επίπεδα μπορεί να αυξηθούν σε απόρριψη, λοιμώξεις, ισχαιμική βλάβη ή φλεγμονή
- Δεν υπάρχει πλήρης ομοιομορφία στα cut-off values. Διαφορετικές πλατφόρμες/τεχνικές μέτρησης → μεταβλητότητα αποτελεσμάτων
- Απουσία παγκόσμιων κατευθυντήριων οδηγιών
- Υψηλό κόστος εξέτασης και περιορισμένη πρόσβαση σε ορισμένα κέντρα

Assessment of Donor Derived Cell Free DNA (dd-cfDNA) at Surveillance and at Clinical Suspicion of Acute Rejection in Renal Transplantation



>0.5%

- 30 μεταμοσχευμένοι νεφρού- δείγμα 1,2,3,5m post-Tx
- 32 μεταμοσχευμένοι με βιοψία επί ενδείξεων-δείγμα στη βιοψία και 1m μετά

AlloSeq kit



Προγνωστική αξία
Ανταπόκριση σε θεραπεία

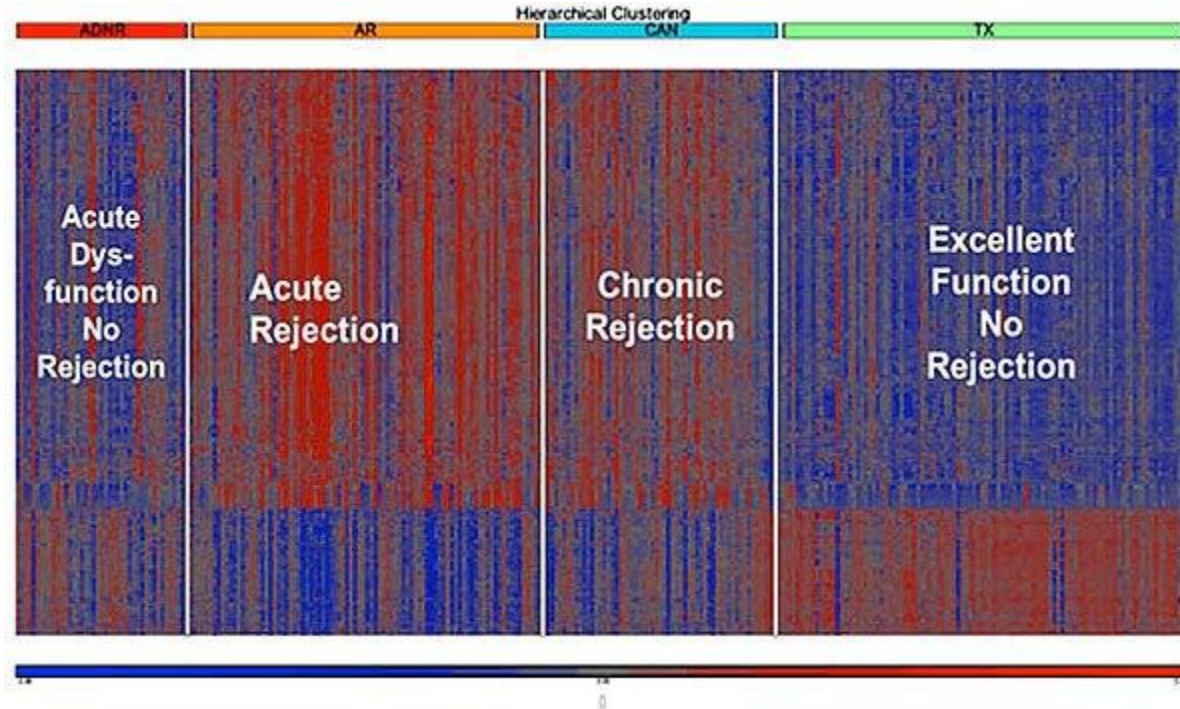
dd-cfDNA >0.5%



ειδικότητα 92,3%
ευαισθησία 73.7%

Gene Expression Profile (GEP)

Gene Expression Profile



Είναι μια «φωτογραφία» που δείχνει ποια γονίδια είναι ανοσολογικά ενεργά μέσα σε ένα κύτταρο ή ιστό

Gene Expression Profile (GEP)

- Γίνεται με λήψη αίματος
- Μετράμε το **mRNA**, δηλαδή το «μήνυμα» που παράγεται όταν ένα γονίδιο ενεργοποιείται
- Δείχνει **ανοσολογική δραστηριότητα πριν υπάρξει βλάβη**



Τα πιο γνωστά GEP tests

- TruGraf (εγκρίθηκε πρώτο για αποζημίωση από το ασφαλιστικό ταμείο στις ΗΠΑ)
- Tutivia
- AlloMap Kidney



Πλεονέκτηματα	Εξήγηση
Μη επεμβατικά	Μόνο δείγμα αίματος
Πρώιμη ανίχνευση	Πριν τη βλάβη
Ανίχνευση υποκλινικής απόρριψης	Πριν ↑ κρεατινίνη
Δείχνουν immune activity	όχι μόνο damage
Monitoring ανοσοκαταστολής	πιθανή εξατομίκευση

Application of TruGraf v1: A Novel Molecular Biomarker for Managing Kidney Transplant Recipients With Stable Renal Function

C.L. Marsh et al. Transplantation Proceedings, 51, 722e728 (2019)

Table 1B. Results of TruGraf Blood Test and Comparison With Clinical Phenotype in 99 Kidney Transplant Recipients With Stable Renal Function and Biopsy-Confirmed Phenotypes

	Clinical Phenotype Not-TX	Clinical Phenotype TX
TruGraf Blood Test not-TX	17	19
TruGraf Blood Test TX	7	56

Accuracy = 73/99 (74%).

Accuracy of TruGraf TX result 56/63 (89%).

NPV = 89%.

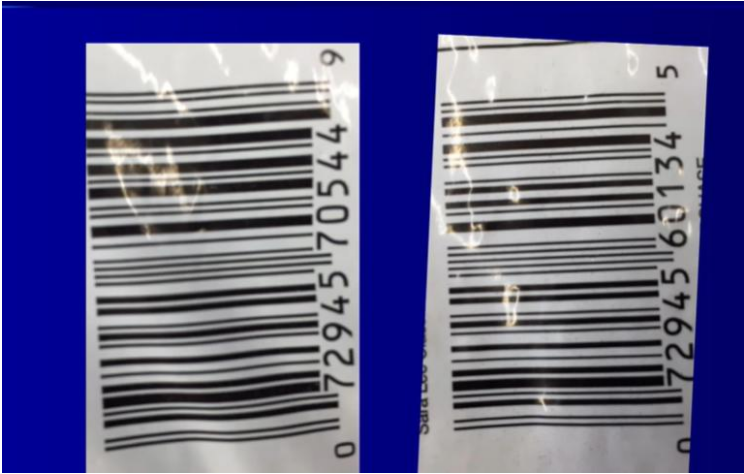
PPV = 48%.

Sensitivity = 71%.

Specificity = 75%.

NPV=89%

PPV=48%



Highly Sensitized (Desensitization) - Sub Clinical Rejection - AMR



Combining Blood Gene Expression and Cellfree DNA to Diagnose Subclinical Rejection in Kidney Transplant Recipients

Ο συνδυασμός GEP & dd-cfDNA αυξάνει το **NPV 88%** και **PPV 81%**

Όταν διαχωρίστηκαν οι ασθενείς με βάση τον τύπο απόρριψης

- Το GEP ήταν σημαντικά καλύτερο στην ανίχνευση κυτταρικής απόρριψης
- dd-cfDNA ήταν σημαντικά καλύτερο στην ανίχνευση απόρριψης από αντισώματα

Το μέλλον...

Ο συνδυασμός dd-cfDNA και GEP και AI θεωρείται πολλά υποσχόμενος:

- το GEP ανιχνεύει την ανοσολογική ενεργοποίηση
- το dd-cfDNA δείχνει αν αυτή έχει ήδη προκαλέσει βλάβη

Χημειοκίνες ούρων

Βιοδείκτες ούρων

Τα ούρα πιθανόν να είναι ο ιδανικότερος δείκτης:

- Εύκολη η συλλογή τους
- Έχουν άμεση επαφή με το μικροπεριβάλλον του νεφρικού μοσχεύματος

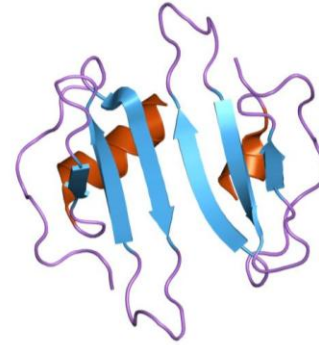
Πολλές κατηγορίες βιοδεικτών στα ούρα έχουν χρησιμοποιηθεί πειραματικά, αλλά δεν έχουν ακόμη ενσωματωθεί στην καθημέρα κλινική πράξη



Βιοδείκτες ούρων

Κατηγορίες βιοδεικτών ούρων	Τι μετρά
Transcriptomic	RNA / γονιδιακή έκφραση
Proteomic	Πρωτεΐνες
Genomic	DNA / γενετικές πληροφορίες
Metabolic	Μεταβολικά προϊόντα

Βιοδείκτες ούρων



Χημειοκίνες ούρων

- οι CXCL9 και CXCL10 (C-X-C motif ligand 9 και 10), αποτελούν πιθανούς πρωτεωμικούς βιοδείκτες απόρριψης
- Μπορούν να ανιχνεύσουν μη επεμβατικά **υποκλινική και πρώιμη κλινική απόρριψη**
- Υπάρχουν αρκετές δοκιμασίες (assays) για τη μέτρηση της CXCL10, αλλά καμία δεν έχει ακόμη εγκριθεί από τον FDA, κάτι που είναι απαραίτητο για την ευρεία εισαγωγή τους στην κλινική πράξη

Multicenter validation of a urine CXCL10 assay for non-invasive monitoring of renal transplants

Goal: Evaluate a urine CXCL10 Luminex assay for rejection monitoring

Incident adult kidney transplant

Single centre cohort, n=100



Multicentre cohort, n=130



3 clinical HLA labs + 1 industry lab



Analytical performance:

- Intra-assay CV 8.1%
- Inter-assay CV 9.3%
- 4 lab comparison, R 0.94-0.98

Independent test & validation sets:

Predicted vs. observed CXCL10, R 0.91-0.92

Test performance, net reclassification:

- Single urine analysis, 8.3-14%
- Serial urine analysis, 6%

Discussion:

- Early detection of rejection may improve transplant outcomes.
- Prior studies showed urine CXCL10 detects subclinical & early clinical rejection but an assay was lacking.



Conclusion: The urine CXCL10 **Luminex assay** is robust and can be used in clinical HLA labs.

Ho J et al. *Transplantation*. 2023

@TransplantIntl

Copyright © 2019 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved

Transplantation®



Χημειοκίνη CXCL10

- Οι νέες μέθοδοι (π.χ. Luminex) είναι πιο πρακτικές, πιο φθηνές, αναπαραγωγίμες, διαθέσιμες σε πολλά HLA εργαστήρια
- Υψηλές τιμές CXCL10 σχετίζονται με μεγαλύτερο κίνδυνο μελλοντικής απόρριψης, απώλειας του μοσχεύματος και χρόνιας φλεγμονής
- αλλά αυξάνεται και σε BKV λοίμωξη και σε βακτηριακή ουρολοίμωξη

Έχει χαμηλή ειδικότητα

Το μέλλον...

- multimarker panels
- AI
- εξατομίκευση θεραπείας





Συμπεράσματα

- Η βιοψία παραμένει gold standard, αλλά έχει όρια
- Οι βιοδείκτες επιτρέπουν
 - πρώιμη και μη επεμβατική ανίχνευση απόρριψης
 - παρακολούθηση ανταπόκρισης θεραπείας
 - εξατομίκευση ανοσοκαταστολής
- Το μέλλον πιθανόν θα είναι συνδυαστικό και εξατομικευμένο



Σας ευχαριστώ