

Molecular Diagnosis of T Cell-Mediated Rejection in Human Kidney Transplant Biopsies

J. Reeve^{a,b}, J. Sellarés^{a,c}, M. Mengel^{a,b}, B. Sis^b,
A. Skene^a, L. Hidalgo^{a,b}, D. G. de Freitas^d,
K. S. Famulski^{a,b} and P. F. Halloran^{a,e,*}

Received 31 May 2012, revised 22 August 2012 and
accepted for publication 11 September 2012

American Journal of Transplantation 2013; 13: 971–983
Wiley Periodicals Inc.

Molecular Diagnosis of Antibody-Mediated Rejection in Human Kidney Transplants

J. Sellarés^{a,b,†}, J. Reeve^{a,c,†}, A. Loupy^d,
M. Mengel^{a,c}, B. Sis^c, A. Skene^{a,e}, D. G. de Freitas^f,
C. Kreepala^{a,g}, L. G. Hidalgo^{a,c}, K. S. Famulski^{a,c}
and P. F. Halloran^{a,g,*}

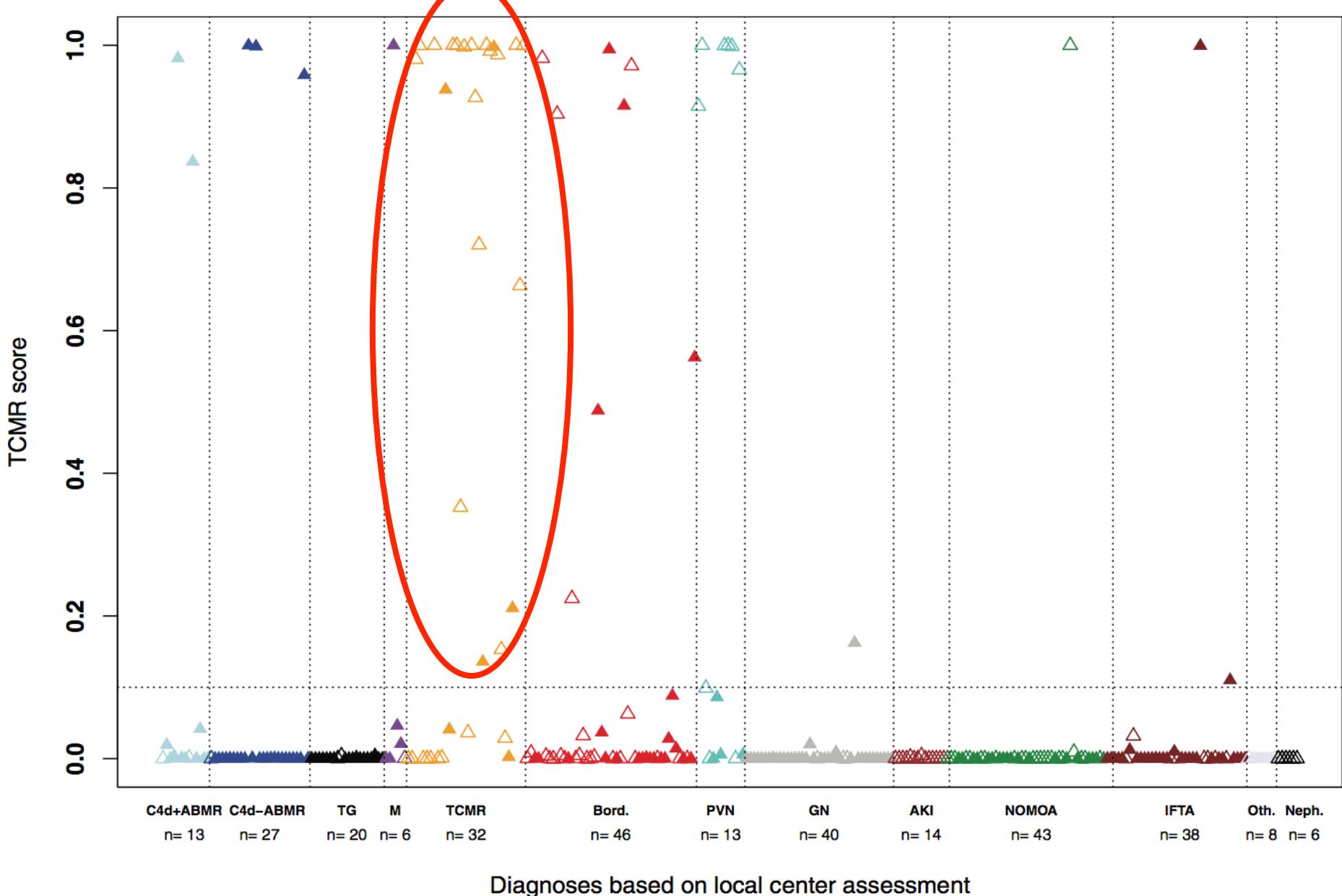
status, histology, or C4d staining, and predicts future failure.

Key words: Antibody-mediated rejection, classifier, kidney transplant, microarrays, molecular diagnostics

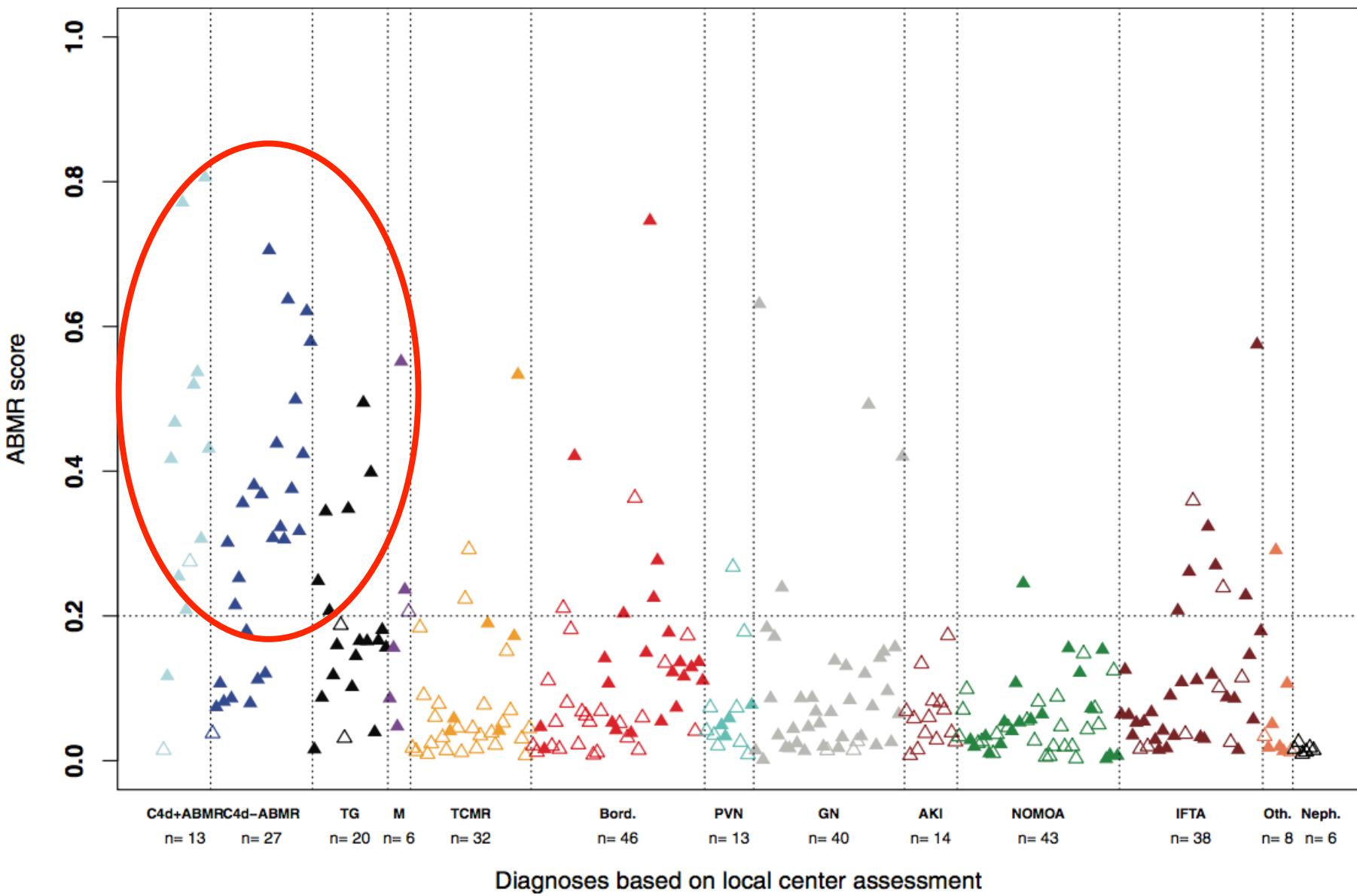
Molecular diagnosis of rejection, KTx Edmonton group

- indikationsbiopsier n=403
- Bx histopatologisk bedömning
 - TCMR: interstitiellt infiltrat, tubulit, endarterit
 - ABMR: peritubulär kapilarit, glomerulit, C4d, TGP och DSA
- Bx molekylär test – microarrayanalys - genetisk utryck
 - ABMR score >0,2
 - TCMR score >0,1
- Validering i INTERCOM prospektiv studie

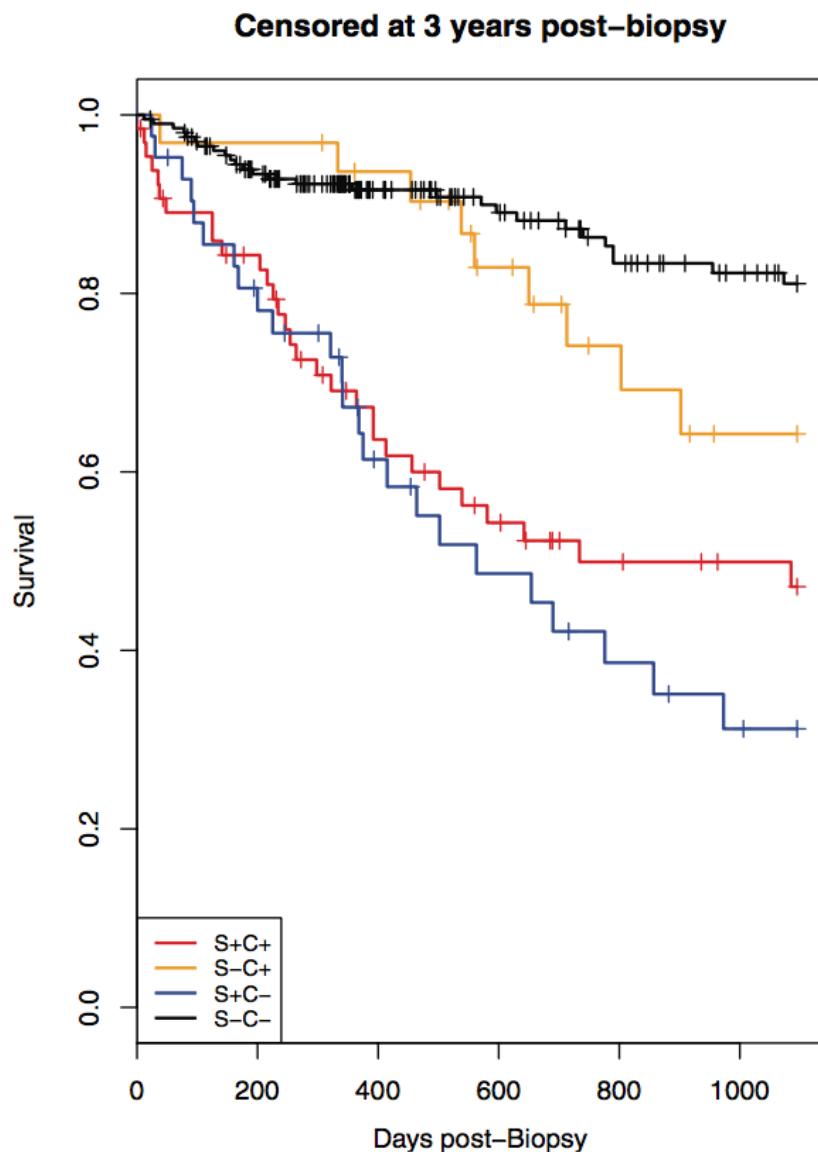
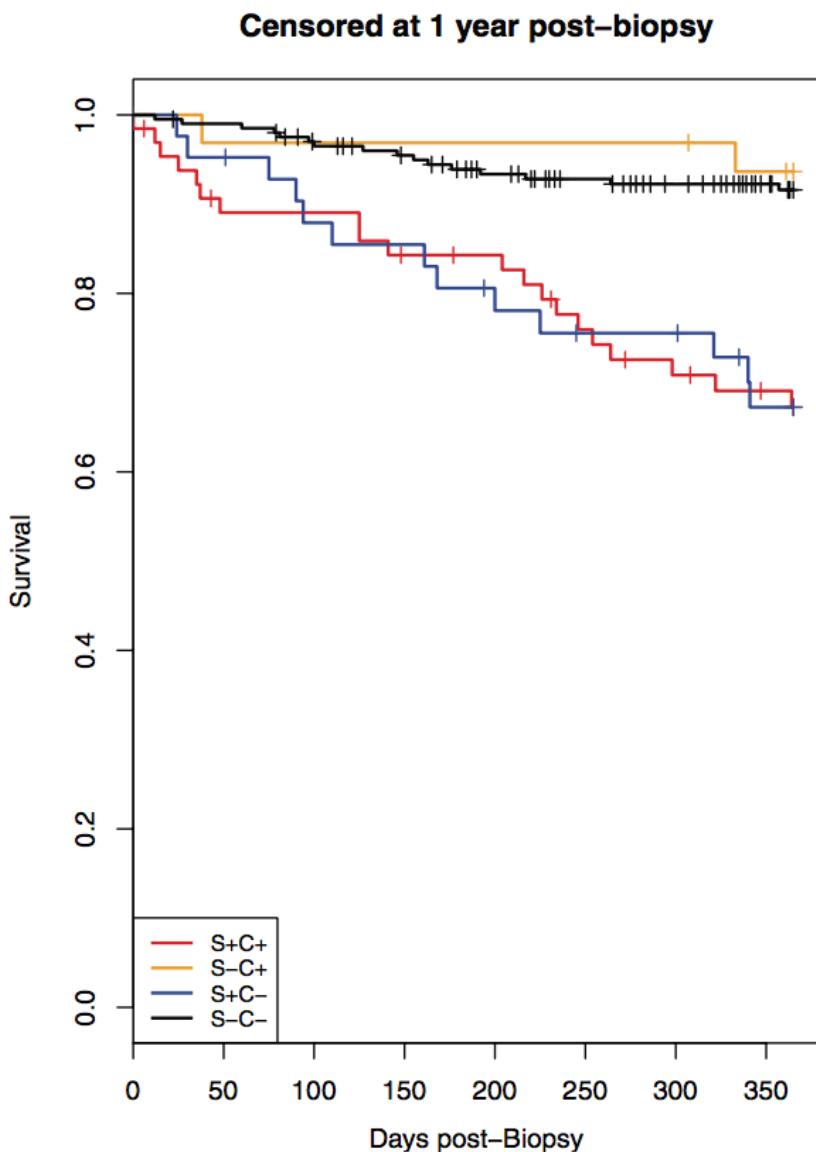
Halloran, INTERCOM study, TCMR, AJT 2013;13



Halloran, INTERCOM study. ABMR, AJT 2013;13



Halloran, INTERCOM study. ABMR, AJT 2013;13



A Peripheral Blood Diagnostic Test for Acute Rejection in Renal Transplantation

L. Li^{a,b,†}, P. Khatri^{b,†}, T. K. Siggelkow^{a,b,†}, T. Tran^{a,b},
L. Ying^b, M. J. Vitalone^{a,b}, A. Chen^b, S. Hsieh^{a,b},
H. Dai^{a,b}, M. Zhang^b, M. Naeiens^b, V. Zarkhin^b,
P. Sansanwal^a, R. Chen^b, M. Mindrinos^d,
W. Xiao^e, M. Benfield^f, R. B. Ettenger^g,
V. Dharnidharka^h, R. Mathiasⁱ, A. Portale^j,
R. McDonald^k, W. Harmon^l, D. Kershaw^m,
V. M. Vehaskariⁿ, E. Kamil^o, H. J. Baluarte^p,
B. Warady^q, R. Davis^d, A. J. Butte^b,
O. Salvatierra^{b,c} and M. M. Sarwal^{a,b,*}

^aCalifornia Pacific Medical Center, Research Institute,
San Francisco, CA

^bDepartment of Pediatrics, Stanford University, CA

^cDepartment of Surgery, Stanford University, CA

^dDepartment of Biochemistry, Stanford University, CA

study from 12 US pediatric transplant programs. A total of 367 unique human PB samples, each paired with a graft biopsy for centralized, blinded phenotype classification, were analyzed (115 acute rejection (AR), 180 stable and 72 other causes of graft injury). Of the differentially expressed genes by microarray, Q-PCR analysis of a five gene-set (*DUSP1*, *PBEF1*, *PSEN1*, *MAPK9* and *NKTR*) classified AR with high accuracy. A logistic regression model was built on independent training-set ($n = 47$) and validated on independent test-set ($n = 198$) samples, discriminating AR from STA with 91% sensitivity and 94% specificity and AR from all other non-AR phenotypes with 91% sensitivity and 90% specificity. The 5-gene set can diagnose AR potentially avoiding the need for invasive renal biopsy.

These data support the conduct of a prospective study to validate the clinical predictive utility of this diagnostic tool.

OPEN ACCESS

PEER-REVIEWED

RESEARCH ARTICLE

The kSORT Assay to Detect Renal Transplant Patients at High Risk for Acute Rejection: Results of the Multicenter AART Study

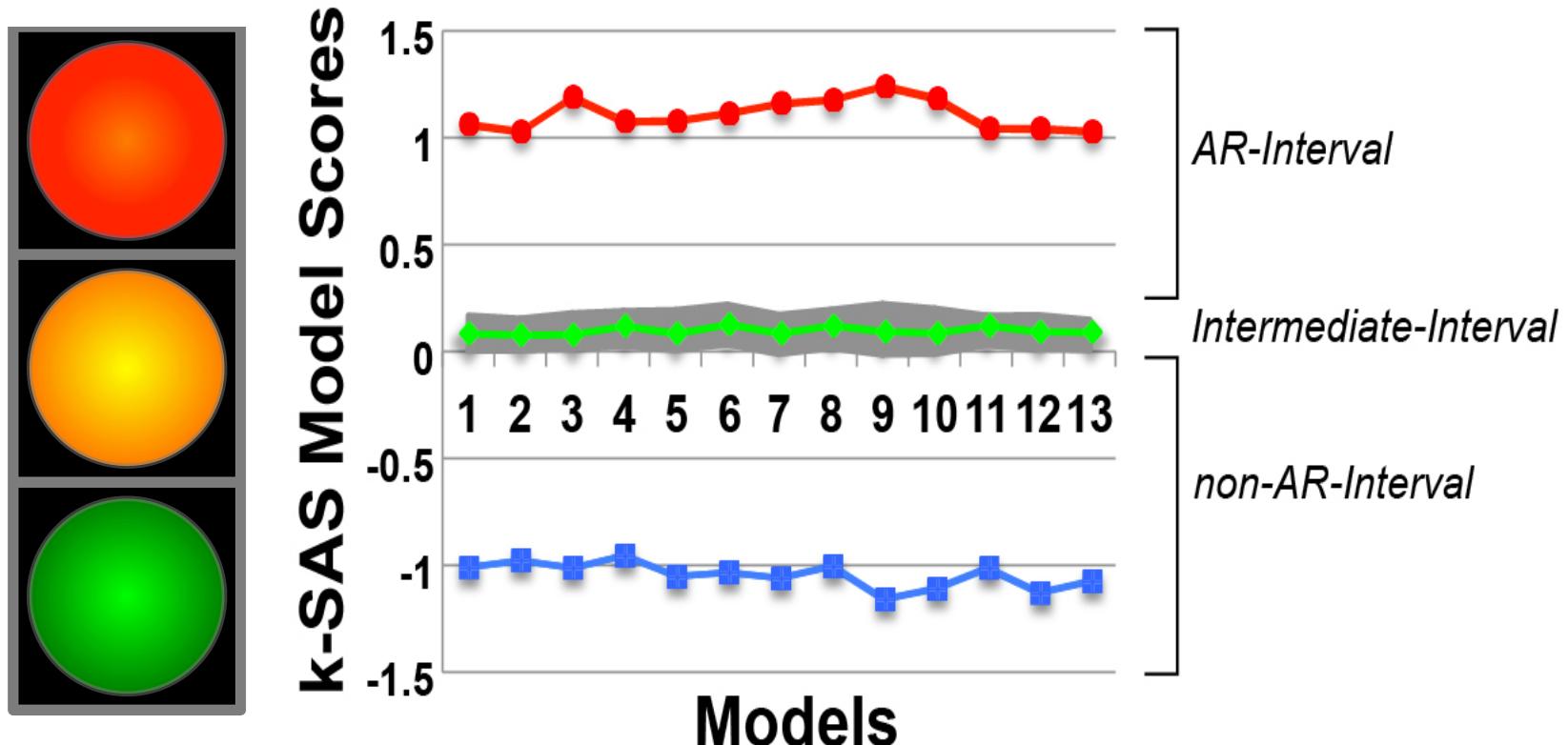
Silke Roedder , Tara Sigdel , Nathan Salomonis , Sue Hsieh, Hong Dai, Oriol Bestard, Diana Metes, Andrea Zeevi, Albin Gritsch, Jennifer Cheeseman, Camila Macedo, Ram Peddy, Mara Medeiros, [...], Minnie M. Sarwal  [[view all](#)]

Published: November 11, 2014 • DOI: [10.1371/journal.pmed.1001759](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001759)

- perifer blod
- 558 blodprover, 436 njurtransplanterade patienter i 8 centra
- kSORT - set av 17 gener
- ny algoritm som genererar numeriska RISKPOÄNG för högrisk versus lågrisk för akut rejktion
- icke invasivt test som indikerar högrisk för akut rejktion oavsett ålder, tid och behandling
- kan ej skilia ABMR och TCMR

The expression of 17 genes in peripheral blood are put into an algorithm (kSAS) which results in a score within 3 possible intervals

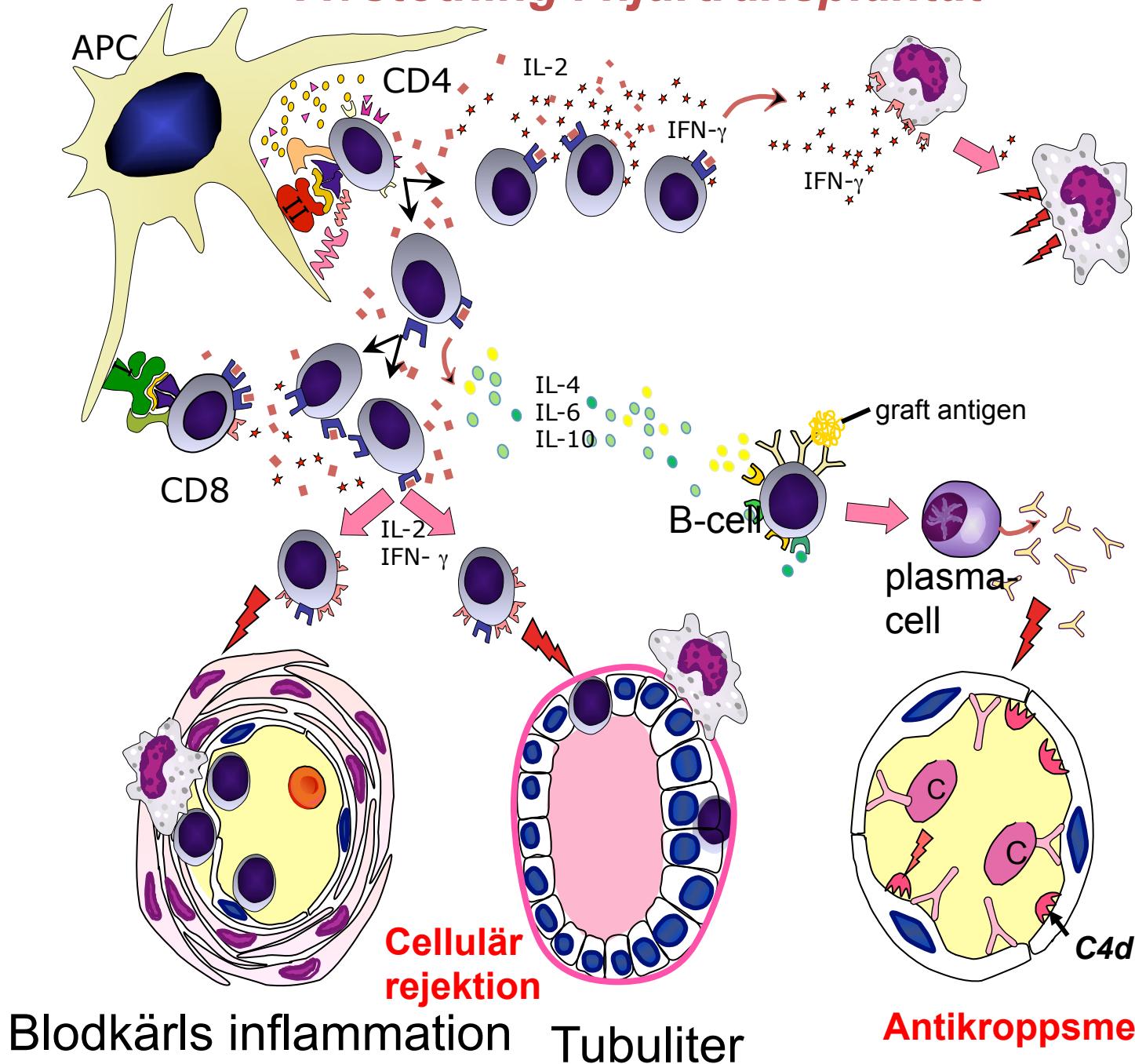
$$\sum_{i=1}^{13} [\rho(\text{AR}) - \rho(\text{No-AR})] * 10 = \text{kSAS Score}$$



SAILOR – k-SORT preliminary results

- 93.3% sensitivity for AR diagnosis in SAILOR study
- 90% specificity for AR diagnosis in SAILOR study
- The negative predictive value(NPV) was 98.5 %
- The test is not confounded by BK virus
- 73% of AR could have been diagnosed by the kSORT days-months prior their current timeline for diagnosis based on the serum creatinine alone

Avstötning i njurtransplantat



Behandla cellmedierad avstötning

- Steroider höga doser i.v.
 - icke-specifisk immunosuppressiv effekt
 - antiinflammatorisk effekt
- Anti T-lymfocytära medel (Thymoglobulin, ATG)
 - T-depleting effekt
 - ab-dependent cytotoxicity
 - inhibition B-T lymfocyt samspel

Förebygga rejktion - underhållsbehandling

- CNI (tacrolimus, Cyclosporin A)
 - blockerar aktivering av T-lymfocyter
- MMF (Cellcept, Myfenvax, Myfortic)
 - antimetabolit
 - blockerar proliferation av både T och B lymfocyter (de novo purin nukleotid syntes)
- AZA (Azathioprin, Imurel)
- Steroider
 - bred effekt i hela immunsystemet
- Belatacept (Nulojix)
 - (CD28) costimulatorisk blockad

Belatacept and Long-Term Outcomes in Kidney Transplantation

Flavio Vincenti, M.D., Lionel Rostaing, M.D., Ph.D., Joseph Grinyo, M.D., Ph.D.,
Kim Rice, M.D., Steven Steinberg, M.D., Luis Gaite, M.D.,
Marie-Christine Moal, M.D., Guillermo A. Mondragon-Ramirez, M.D.,
Jatin Kothari, M.D., Martin S. Polinsky, M.D., Herwig-Ulf Meier-Kriesche, M.D.,
Stephane Munier, M.Sc., and Christian P. Larsen, M.D., Ph.D.

- RCT
- n=666
- FU 7 år
- belatacept MI vs. belatacept LI vs. CyA
- anti-IL2R induktion
- MMF + steroids

BENEFIT study – 7 år

- ↓ risk för död 38% bela MI, 45% bela LI i förhållande till CyA
- ↓ risk för graftförlust 44% bela MI, 41% bela LI i förhållande till CyA
- ↑ eGFR: 70,4 / 72,1 / 44,9 ml/min i bela MI / bela LI / CyA
- BPAR: 24,4 / 18,3 / 11,4 %

BELATACEPT IN KIDNEY TRANSPLANTATION

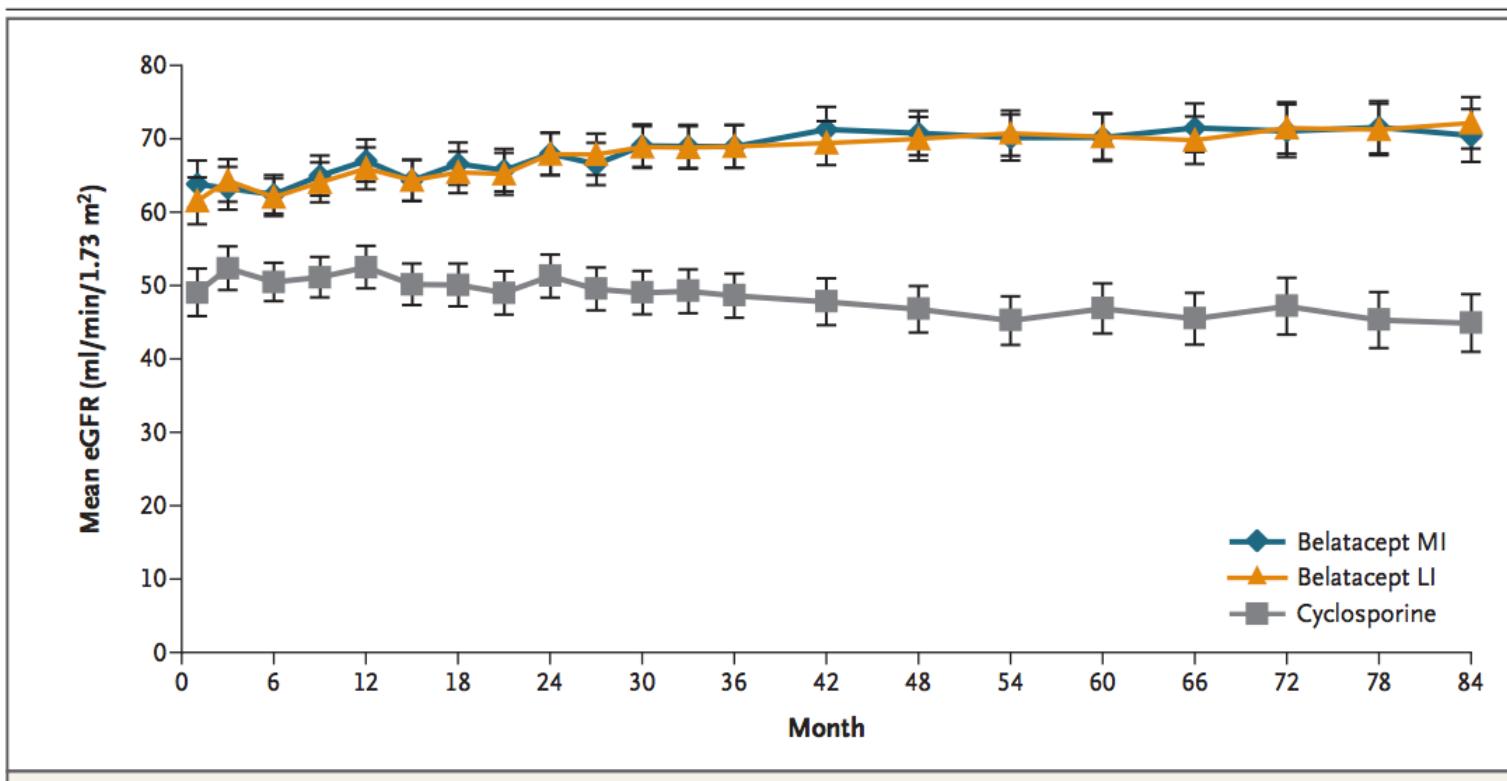


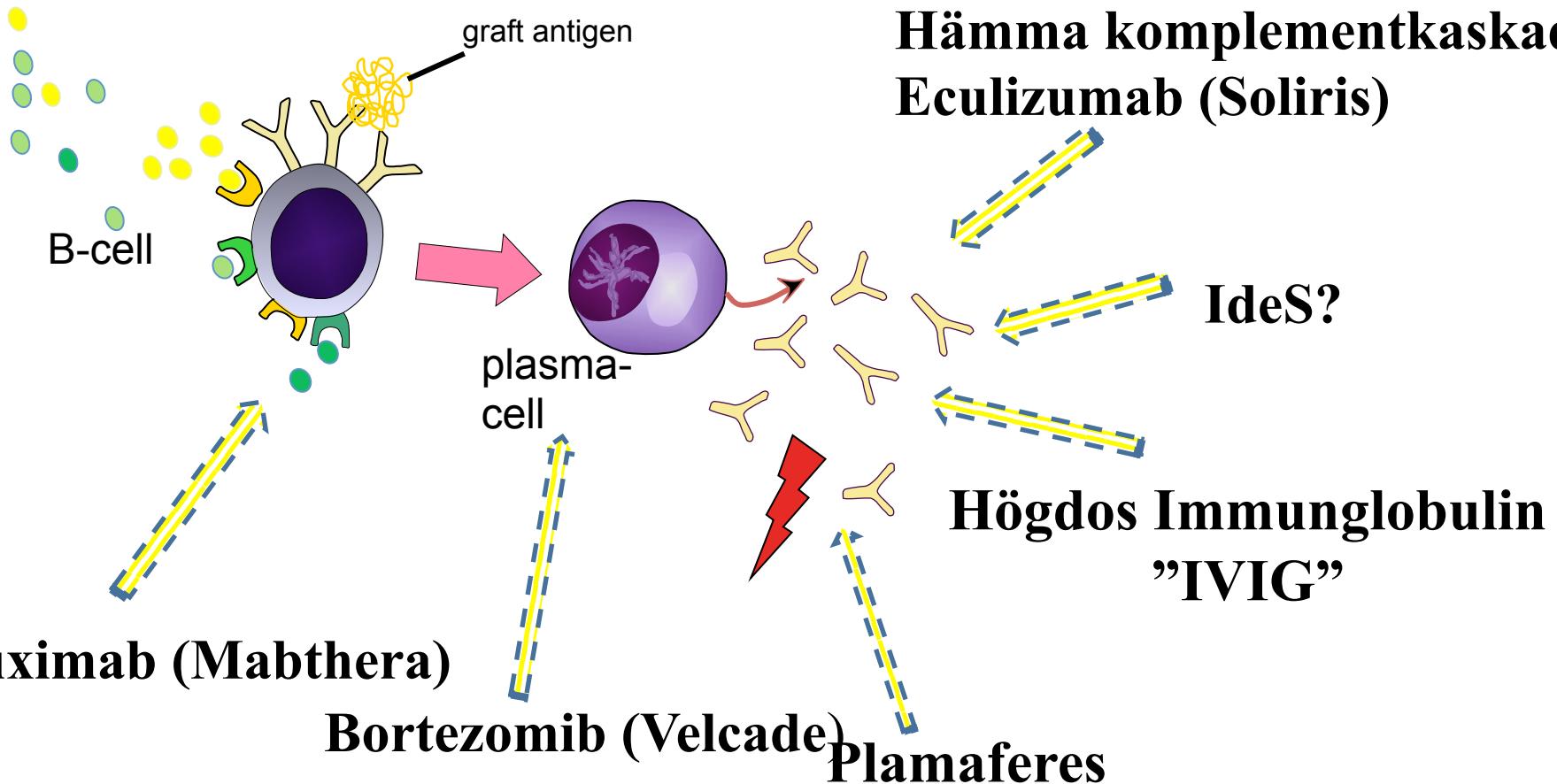
Figure 3. Glomerular Filtration Rate over the Period from Month 1 to Month 84.

The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was determined by repeated-measures modeling, with time as a categorical variable. I bars indicate 95% confidence intervals.

Förebygga rejktion - induktionsbehandling

- Sterodier i.v. (Solu-Medrol)
- Basiliximab, anti-IL2R (Simulect)
 - (CD25) icke-cytolytisk
- Alemtuzumab (Campath)
 - (CD52,) cytolytisk
 - både T och B lymfocyter
- Anti-thymocytär globulin (Thymoglobulin, ATG)
 - (CD3), cytolytisk motT lymfocyter
 - sänker aktivering av B-lymfocyter
- Rituximab Anti CD20 (Mabthera)
 - (CD20) cytolutisk
 - B lymfocyter
- Eculizumab (Soliris)
 - (C5) blockerar complement

Behandla antikroppsmedierad avstötning?



Transplantationskirurgiska kliniken

Immunsuppression vid njurtransplantation till vuxna

LD/AD	Dag	Tacrolimus (PO)	MMF (PO) alt AZA (PO)	Prednisolon (PO)
LD	-2	0	1 g x 2	15 mg x 2
	-1	0	3 mg/kg x 1	↓
LD/AD	Op-dag	0	2 g x 1 prep	0,5 g SM IV prep
	+1	0,1 mg/kg x 2	1 g x 2	80 mg SM IV
	+2	↓	3 mg/kg x 1	72 mg SM IV
	+3	Enl. koncentration	↓	64 mg SM IV
	+4	↓	↓	35 mg x 2
	+5	↓	↓	30 mg x 2
	+6	↓	↓	25 mg x 2
	+7	↓	↓	20 mg x 2
	+8	↓	↓	15 mg x 2
	+9	↓	↓	20 mg x 1
	↓	↓	↓	↓
	+14	↓	↓	15 mg x 1
	↓	↓	↓	↓
	+30	↓	2 mg/kg x 1	12,5 mg x 1
	↓	↓	↓	↓
	+60	↓	↓	10 mg x 1
	↓	↓	↓	↓
	+90	↓	0.5 g x 2	5 mg x 1

Målvärde för tacrolimuskoncentration

Månad	LC-MS/MS
<1	8 ng/mL
1-3	4-8 ng/mL
>3	4 ng/mL

CellCent AUC
 95-190 µM*h

**Basprotokoll för immunsuppression njurtransplantation
och/eller pankreastransplantation**

2016-10-20 R Källén, A Biglarnia

Njurtx = enbart njurtransplantation

SPK = kombinerad njur- och pankreastransplantation

Singel pankreastransplantation: PTA = enbart pankreastransplantation
 PAK = pankreas efter njurtransplantation

För patienter som inte ingår i särskild studie gäller följande:

1. Initial behandling.

Induktion:

Njurtx och SPK: **Simulect** 20 mg i.v. preop plus dag 4.

PTA + PAK: **Thymoglobuline** 1 mg/kg i.v. preop och dagl postop dag 1-4

Tacrolimus Sandoz Initial dos 0,05 mg/kg p.o preoperativt. För normalpatienten ges därefter 0,04 mg/kg x 2 fram till dess att dosen kan justeras efter takrolimuskoncentrationen.

Målkoncentrationer:

Njurtx: 5-8 ug/L (vid behov av skärpt immunsuppression 10-12 ug/L).

SPK/PTA/PAK: 8-10 ug/L, efter 6 månader 6-8 ug/L och efter ett år 4-6 ug/L.

Mykofenolatmofetil Sandoz Tabl 1 g x 2 p.o.

Solumedrol 500 mg i.v. vid operationsstart.

Precortalon 100 mg i.v. 8 timmar efter given Solumedrol.

SPK o PTA: dag1: 45 mg x 2 i.v.

dag2: 40 mg x 2 i.v.

dag3: 35 mg x 2 i.v.

Prednisolon

Njurtx: Första postoperativa dagen ges 45+45 mg p.o. Därefter daglig nedtrappning med 10 mg av vardera morgon- och kvällsdosen tills 15+15 mg uppnåtts, dagen därpå ges 15+5 mg och därefter 15 x 1 mg. Nedtrappningen kan göras snabbare efter individuell värdering, exempelvis vid nedsatt glukostolerans.

RUTIN**Immunsuppression vid njurtransplantation, A -
Basprotokoll**

Innehållsansvarig: Marie Felldin, Överläkare, Läkare transplantation (marfe13)

Godkänd av: Per Lindnér, Verksamhetschef, Verksamhetsledning (perli10)

Denna rutin gäller för: Verksamhet Transplantation

Tidpunkt	Basiliximab (Simulect®) (iv)	Steroider*	MMF** (po) Initialt: +TAC: 1gx2 +CYA:1.5g2	Mål AUC (mg.h/L)**:	Calcineurininhibitor (CNI)	
	mg:	mg:	Pat. utan riskfaktorer eller med insulinbeh diabetes preop.		Pat. utan insulinbeh. diabetes, med någon av dessa riskfaktorer: - > 50 år - BMI > 30 - diet/tabl beh diab.	
Dag -1 (enbart LD)				40-60		
Dag 0 (preop på avd)				”		
Dag 0 (före påsläpp)	20	500	”			
Dag 0 (postop)		50	”			
Dag 1		50 x 2	”		5-8	100-150
Dag 2		40 x 2	”		”	”
Dag 3		30 x 2	”		”	”
Dag 4	20	20 x 2	”		”	”
Dag 5		10 x 2	” **		”	”
2 veckor		15 x 1	”		”	”
3 veckor		12,5 x 1	”		”	”
1 mån		10 x 1	”		”	”
2 mån		7,5 x 1	” **		”	”
3 mån		5-7,5 x 1	”		4-7	75-125
> 6 mån***		0-7,5	” **		”	”

RUTIN**Immunsuppression vid njurtransplantation - barn**

Innehållsansvarig: Susanne Westphal Ladfors, Överläkare, Läkare (suswe3)
 Godkänd av: Ralph Bågenholm, Verksamhetschef, Läkare (ralba)
 Denna rutin gäller för: Verksamhet Medicin barn

Revidering i denna version

Ersätter tidigare PM/rutin version 1(1) 2010-12-20

Basiliximab (Simulect®)

- <35 kg (10 mg dag 0 + 10 mg dag 4)
- ≥35 kg (20 mg dag 0 + 20 mg dag 4)

Tacrolimus (Prograf®)

- endast peroral behandling
- initialdos Prograf® 0,2 mg/kg/dag fördelad på 2 doser

MMF (CellCept®)

- 600mg/m²/dag fördelat på 2 doser
- MPA-AUC efter 4 dagar, 2 och 6 mån
- Ny MPA-AUC 1-2 veckor efter varje dosjustering

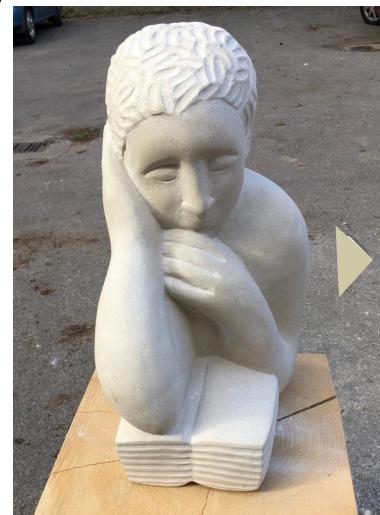
Dosreduktion om B-LPK <4 eller neutrofiler

Uppmätt AUC	Dosändring
<30	+50%
30-39	+25%
40-60	0
61-70	-25%
>70	-50%

Tidpunkt	Basiliximab (iv) mg	Steroider* po/iv mg/m ² /dag	MMF (po) mål AUC	Tacrolimus (po) CO-målkonc, (ng/ml)
Dag-1 (enbart LD)			40-60	
Dag 0 (preop på avd)			"	
Dag 0 (före påsläpp)	10-20	600	"	
Dag 0 (postop)		30 x 1	"	
Dag 1		30 x 2	"	5-8
Dag 2		25 x 2	"	"
Dag 3		20 x 2	"	"
Dag 4	10-20	15 x 2	"	"
Dag 5		10 x 2	"	"
Dag 6		7,5 x 2	"	"
Dag 7		5 x 2	"	"
Dag 14		7,5 x 1	"	"
Dag 28		5 x 1	"	"
3 mån		10 vad	"	4-7
6 mån**		börja utsättande	"	"

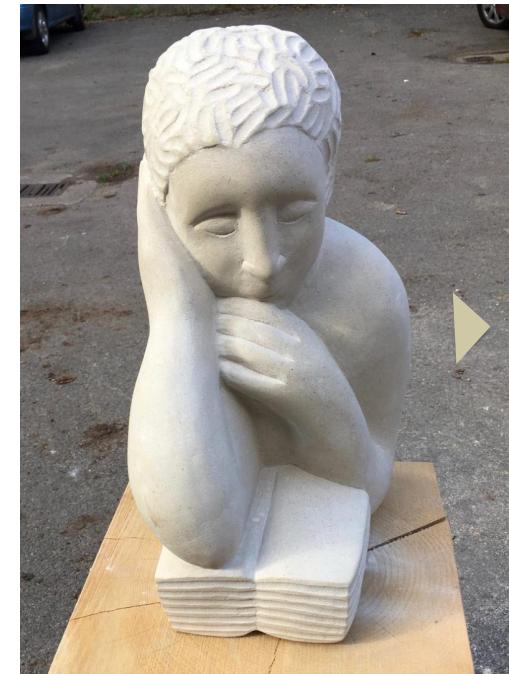
Summan av kardemumman

- Allt fler sensitiserade patienter
- Ca 20% av patienter utvecklar DSA
 - uttryck för underimmunosuppression (20%)
- DSA → ABMR → graftförlust
- Beprövad behandling kron. ABMR saknas
- Non-adherence betydande problem



Summan av kardemumman

- Proaktiv diagnostik med både traditionella och nya metoder
- Ballancing av risker
- Individualiserad immunosuppression
 - immunologiska faktorer
 - icke immunologiska faktorer
 - psykosociala faktorer





Tack till dr. Marie Felldin, dr. Johan Mölne, dr. Jitka Palmer