

LA EXPRESIÓN DE TRANSCRITOS ASOCIADOS AL RECHAZO EN LAS BIOPSIAS DE TRASPLANTE RENAL DE PROTOCOLO ESTÁ MODULADA POR LA EXPOSICIÓN A TACROLIMUS Y LA DISCORDANCIA ENTRE DONANTE Y RECEPTOR A NIVEL DE EPLETO

I.B. Torres, B. Chamoun, A. Gabaldón, J. Sellarés, M. Meneghini, M. Perelló, T Jouvé, I. Cidraque, D. Serón, O. Bestard, F. Moreso

Servicio Nefrología. Hospital Universitari0 Vall d'Hebrón

23 de marzo 2023

Antecedentes

- La monitorización histológica del injerto renal ha contribuido a caracterizar la presencia de lesiones subclínicas que se han relacionado con el pronóstico del injerto, especialmente la presencia de rechazo agudo subclínico.

Rush DN, Transplantation 1994. Nankivell BJ, NEJM 2004. Cosio FG, AJT 2005. Moreso F, AJT 2006.

- Con las pautas actuales de tratamiento inmunosupresor (tacrolimus, MMF y corticoides) la prevalencia de rechazo subclínico se ha reducido al 15% y en 2/3 de los casos se presenta como cambios límite para rechazo agudo cuyo significado pronóstico sigue siendo debatido. La presencia de rechazo subclínico, incluyendo los cambios límite, se ha asociado con el tipo y la intensidad del tratamiento inmunosupresor.

*Moreso F, Transplantation 2004. Rowshani A, JASN 2005. Torres IB, Transplant Int 2017.
Gatault P, AJT 2017. Nankivell, Transplantation 2020*

- El estudio mediante transcriptómica de las biopsias del aloinjerto renal ha contribuido a una mejor caracterización de las lesiones detectadas en el injerto renal y, por ello, el grupo de Banff para el estudio de la patología del trasplante renal ha propuesto conjunto de genes relacionados con los distintos insultos que sufre el injerto.

Loupy A, AJT 2017. Mengel M, AJT 2020, Moreso F Int J Mol Sci 2020

Hipótesis

- La expresión de genes relacionados con rechazo en el trasplante renal está relacionada con la intensidad del tratamiento inmunosupresor de base.

Objetivos

- Evaluar mediante RT-PCR la expresión de genes relacionados con rechazo (descritos en la reunión de Banff 2017) en un grupo de injertos renales estables con una biopsia renal estrictamente normal y compararlos con una cohorte de pacientes con rechazo mediado por células T o por anticuerpos.
- Evaluar en una amplia cohorte de biopsias de protocolo si la expresión de estos genes está modulada por las características del donante y del receptor, por la incompatibilidad HLA a nivel alélico y molecular y /o por la intensidad de la inmunosupresión.

Diseño del estudio

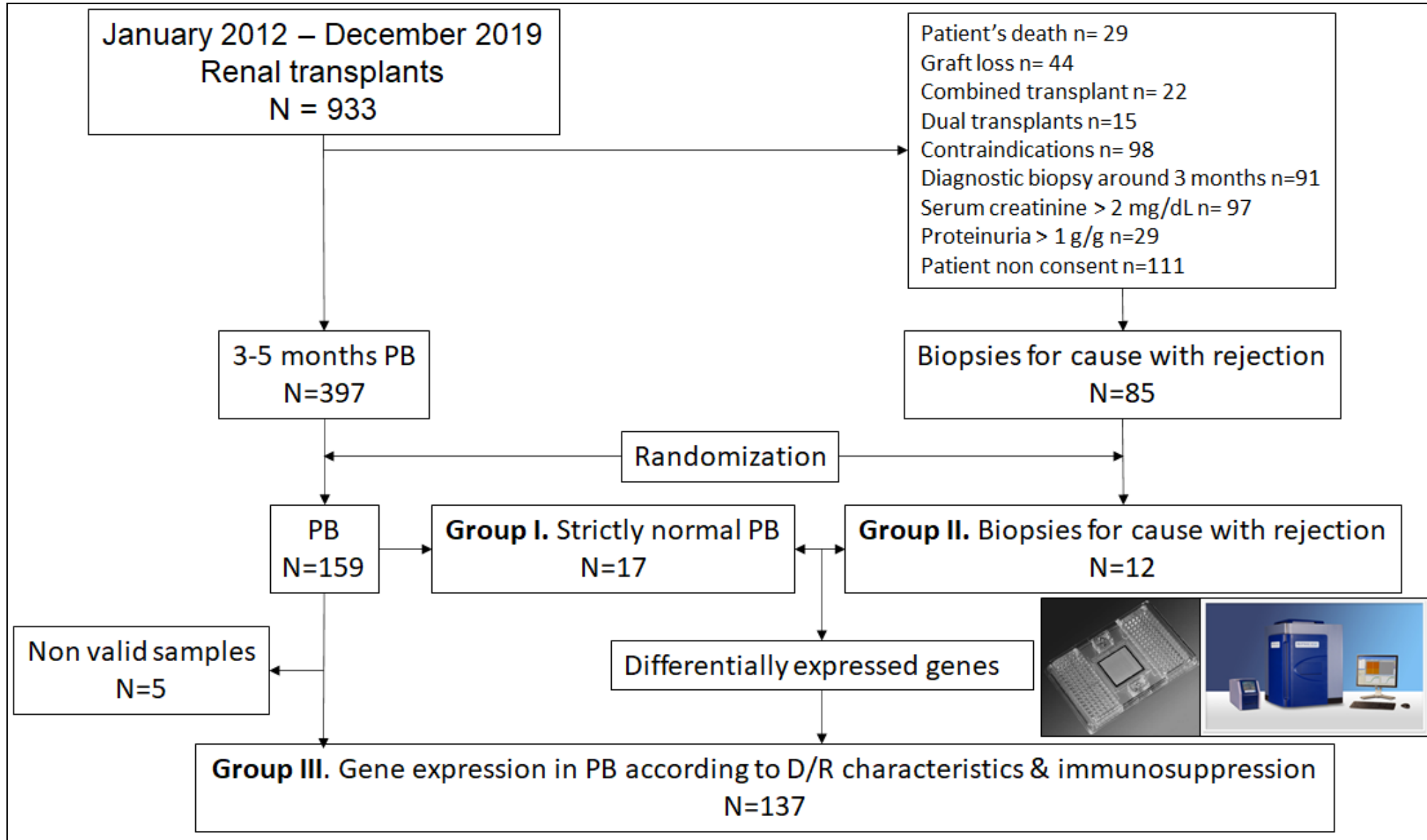


TABLE 3 Prime gene list of published studies in kidney transplantation and related diagnoses. Courtesy by Dr. Robert Colvin (Massachusetts General Hospital) and Dr. Alexandre Loupy (Paris Translational Research Center for Organ Transplantation INSERM U970)

ABMR Adam	TCMR Sellares	TCMR	eGFR later Vitalone	Exhaustion Wherry	Tolerance (Blood) Rebolo-Mesa	GoCAR O'Connell	Glomerulus APOL1	TCMR Halloran	Constant rej NIH	IFI27 IGF	ABMR Halloran	DSAT Halloran	TCMR Venner	MYB PHEX	ENG ERG	RHOJ ROBO4	
CAV1	ADAMDEC1	IFNG	BCL2	CITED4	CD244/2B4	ATXN3	ASB15	COL4A3	ADAMDEC1	ADAM8	IL10	APOBEC3A	CDH13	ADAMDEC1	PSME2	EVA1C	S1PR1
CD34	AIM2	IL12RB1	CD4	EDA	BCL6	BCL2A1	CHCHD10	COL4A4	ANKRD22	ANP	IL-1R	C21orf63	CDH5	AIM2	PSTPIP1	FCGR3A	S1PR5
CD74	ANKRD22	IL18BP	CXCL10	SLC19A3	BTLA	EEF1A1	FJX1	COL4A5	BTLA	BASP1	IL-2RA	CAV1	COL13A1	ANKRD22	PTPN7	FGFBP2	SDR16C5
CDH13	AOAH	IL21R	CXCL9	SLC22A2	CD57	GEMIN7	KAAG1	EHD3	CD28	Beta-2M	IL-2RB	CCL4	CX3CR1	AOAH	RARRES3	GNG11	SELP
CDH5	APOL2	LAG3	GZMB	SLC25A15	CTLA4	IGLC1	KLH13	NPHS1	CD72	CASP1	IL10RA	CDH13	DARC	APOL2	SH2D1A	GPLY	SH2D1B
CX3CR1	BTLA	LAIR1	IL1RL1	SLC4A1	EOMES	MS4A4A	MET	NPHS2	CD8A	CASP3	IL8	CDH5	FGFBP2	BTLA	SIRPG	HEG1	SOX7
CXCL11	CD274	LAP3	IL4	TMEM178	GATA3	NFKBIA	RNF149		CD96	CASP4	INDO	CETP	GNG11	CD274	SLA	HSPA12B	TEK
DARC	CD28	LCP2	WARS	TRAF4	IKZF2	RAB40C	RXRA	Misc	CXCL13	Cathepsin-S	INFG	CRHBP	GNG11	CD28	SLAMF8	HYAL2	TFF3
FGFBP2	CD3D	MYB			IL10	TNFAIP3	SERINC5	AICDA	IFNG	CCL-2	IP-30	CX3CR1	HLA-DRB3	CD3D	SP140	ICAM2	THBD
GATA3	CD72	PHEX	Macrophages	AKI	IL21		SPRY4	AIRE	IKZF3	CCL18	ISG20	CXCL10	ICAM2	CD72	ST8SIA4	IER5	TM4SF1
GNG11	CD84	PSME2	ARG1	Einecke	LAG3	TOLS	ST5	CCL5	IL12RB1	CCL19	JAK1	CXCL11	KLRF1	CD84	TAP1	IFI27	TM4SF18
IFNG	CD86	PSTPIP1	CD163	CPA3	NFAT	Colvin	TGIF1	CCR4	IL21R	CCL5	JAK2	DARC	MALL	CD86	TIGIT	IL18RAP	TRDV3
KLF4	CD8A	PTPN7	CD206	CTSS	PD1	BDCA2	WNT9A	CCR5	LAG3	CCR5	L-selectin	ECSCR	MYBL1	CD8A	TNFSF8	KLF2	VEGFC
KLRF1	CD8B	RARRES3	CD68	FCGR3A										CD8B	ABMR	KLRF1	VWF
MALL	CD96	SH2D1A	LGALS3	HAVCR1										CD96	Venner	LAYN	
MYBL1	CTLA4	SIRPG	VEGFA	ITGB6										CTLA4	ACVRL1	LDLR	
PALMD	CXCR6	SLA		LCN2										CXCR6	AGR2	LHX6	
PECAM1	DUSP2	SLAMF8	Plasma cells	LTF	TGFB1	IDO	COL1A1	MS4A1	PTPN7	CXCL10	PSMB10	KLF4	SH2D1B	DUSP2	AGR3	LST1	
PLA1A	EZH2	SP140	PRDM1	MEGF11	TIGIT	IFNA1		TNFRSF18/GITR	SCML4	CXCL11	PSMB8	MEOX1	SOX7	EZH2	ANXA1	MALL	
PLAT	FAM26F	ST8SIA4	IGHG1	NFKBIZ	TIM3	ITGAX/CD11C	Matrix		SH2D1A	CXCL9	PSMB9	PALMD	TEK	FAM26F	APOBEC3A	MCAM	
PSMB10	FCGR1B	TAP1	IGHG2	NNMT		LTA	COL1A1	Virus	SIRPB2	CXCR3	PSME1	PGM5	TM4SF18	FCGR1B	CAV1	MEOX1	
RHOJ	FGD2	TIGIT	IGHG3	OSMR	AMR	NOS2	COL3A1	BK large T Ag	SLA	CXCR4	STAT1	PLA1A		FGD2	CCL3	MMRN2	
ROBO4	GBP5	TNFSF8	IGHG4	RARRES1	Roufosse	PDPN	COL4A1	BK VP1	SLAMF8	FcGRI	TANK	RAMP3		GBP5	CD160	MYBL1	
RPS6	GIMAP5		IGHM	SOD2	VWF	TNFRSF3	COL5A1	CMV UL83	SP140	FNGR1	TAP1	RAPGEF5		GIMAP5	CD55	NOS3	
RPS6KB1	ICOS	CRM	IGHA1	SPLI	COX5	TNFSF3	FN1	EBV LMP2	THEMIS	GBP1	Tapasin	ROBO4		ICOS	CD59	NPDC1	
SELE	IFI30	Sarwal	IGKC	VCAN	SOX7			Housekeeping	TIGIT	GBP2	TGF-B1	SOST		IFI30	CDH13	PALMD	
SH2D1B		BASP1	IGLC1	VMP1	PECAM1			Nanostring	TNFSF8	GBP4	TIMP1	SOX7		IFNG	CDH5	PECAM1	
SOX7	Eciliz Resp	CD6			DARC		Matrix	Mengel	TOX2	GZMA	TLR8	TM4SF18		IL12RB1	CFLAR	PGM5	
TBX21	Lefaucheur	CD7	RUNX3		SH2D1B				TRIM	HLA-A	TNF	TRD		IL18BP	COL13A1	PLA1A	
TEK	CCL4	CXCL10	TAP1		CX3CR1					HLA-E	TNFSF10	VWF		IL21R	CRIP2	PLK2	
THBD	FCGR3A	CXCL9			GNG11					HLA-F	Ubiquitin			LAG3	CX3CL1	PPM1F	
TNF	MS4A7	INPP5D			MYBL					HLA-G	VCAM1			LAIR1	DARC	RAMP3	
TRIB1	MS4A6A	NKG7			FGFBP2					HSPA1A	VIP			LAP3	ECSCR	RAPGEF5	
VWF	CXCL11	PSMB9			KLRF1					IFI17	WARS			LCP2	ELTD1	RASIP1	
										WSX1				MIR155	EMP3	RASSF9	

Identificamos 308 genes no repetidos

Donor and recipient characteristics as well as transplant related variables in the study groups

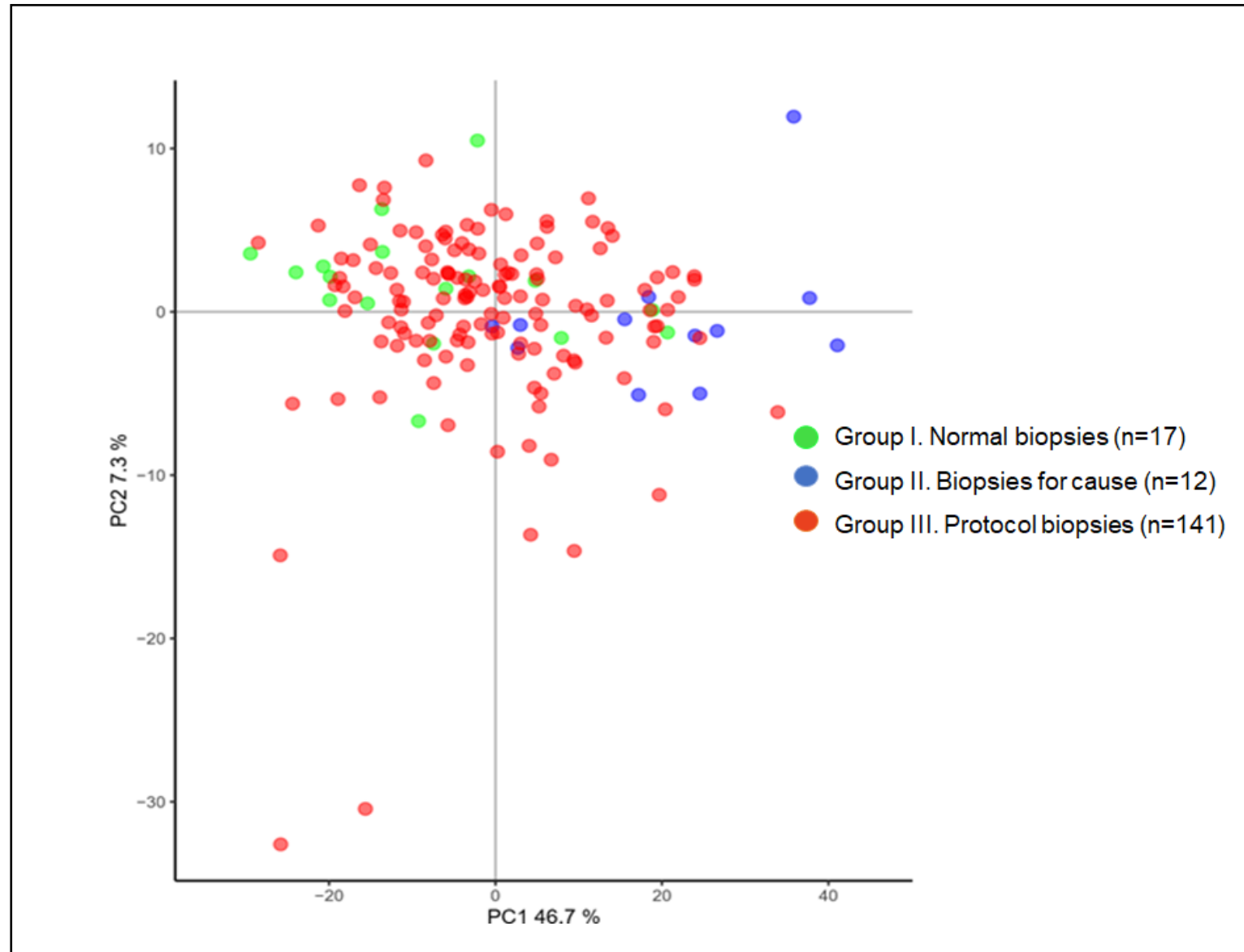
Variable	Group I (n = 17)	Group II (n = 12)	Group III (n = 137)
Donor type (BDD / DCD / LD)	10 / 4 / 3	7 / 2 / 3	85 / 34 / 18
Donor age (years)	45 ± 18	59 ± 15	57 ± 14
Donor gender (m / f)	10 / 7	4 / 8	77 / 60
Recipient age (years)	46 ± 13	50 ± 16	55 ± 14
Recipient gender (m / f)	10 / 7	6 / 6	91 / 46
First transplant / re-transplant	15 / 2	7/5	117 / 20
Primary renal disease (GN / ADPKD / diabetes / others / unknown)	3 / 5 / 0 / 4 / 5	4 / 1 / 1 / 2 / 4	28 / 18 / 11 / 25 / 55
Class I HLA mismatch (A+B)	2.5 ± 0.9	2.1 ± 0.9	2.8 ± 1.0
Class II HLA mismatch (DR)	1.1 ± 0.5	1.3 ± 0.6	1.1 ± 0.6
Induction (basiliximab / thymoglobulin)	8/9/0	4/8/0	77 / 60
Cold ischemia time	14.3 ± 6.7	13 ± 7.0	13.4 ± 6.8
Delayed graft function (no / yes)	16 / 1	10/2	123/19
Previous episodes of rejection (no / yes)	17 / 0	8 / 4	134 / 7
DSA at the time of transplant (no / yes)	15/2	11/1	130 / 7
CMV infection (no / viremia / disease)	14 / 2 / 1	9 / 3 / 0	115 / 18 / 4

Table 2. Data at the time of biopsy.

Variable	Group I (n = 17)	Group II (n = 12)	Group III (n = 137)
Time of biopsy (months)	4.7 ± 1.7	43 ± 55	4.4 ± 1.4
Serum creatinine (mg/dL)	1.22 ± 0.31	2.72 ± 1.95	1.44 ± 0.32
eGFR (mL/min/1.73 sqm)	66.6 ± 23.0	35.1 ± 21.1	52.2 ± 14.6
Urine P/C ratio (mg/g)	260 ± 190	1890 ± 1340	265 ± 192
DSA at the time of biopsy (no / yes)	17 / 0	8 / 4	130 / 7
Tacrolimus dose (mg/day)	6.8 ± 4.2	7.6 ± 5.9	6.5 ± 4.2
TAC-C ₀ (ng/mL)	8.8 ± 2.0	7.9 ± 3.6	9.3 ± 2.7
MMF dose (g/day)	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES EN LOS 3 GRUPOS

Expresión diferencial (FDR<0.01 y FC>3) entre biopsias normales y de rechazo. 111 / 308 genes



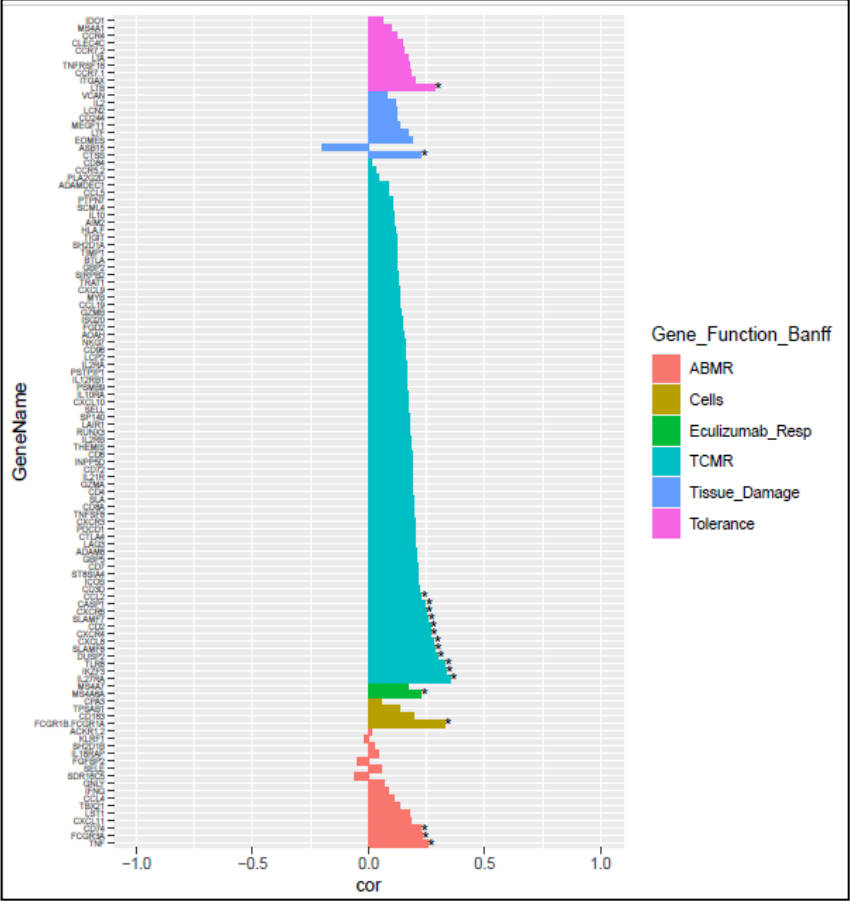
Donor / recipient characteristics and transplant-related variables in patients with i-score ≥ 1 / i-score=0

Variable	i-score=0 (n= 99)	i-score ≥ 1 (n = 38)	p-value
Donor type (BDD / DCD/ LD)	58 / 27 / 14	27 / 7 / 4	0.490
Donor age (years)	57 \pm 14	56 \pm 15	0.837
Donor gender (m / f)	56 / 43	21 / 17	0.793
Recipient age (years)	55 \pm 14	57 \pm 14	0.453
Recipient gender (m / f)	65 / 34	26 / 12	0.759
First transplant / re-transplant	85 / 14	32 / 6	0.807
Class I HLA mismatch (A+B)	2.8 \pm 0.9	2.9 \pm 1.0	0.521
Class II HLA mismatch (DR)	1.1 \pm 0.6	1.2 \pm 0.6	0.233
Class I Eplet mismatch	14 \pm 6	14 \pm 8	0.845
Class II Eplet mismatch	15 \pm 10	17 \pm 15	0.305
PIRCHE-II class I	49 \pm 27	49 \pm 29	0.914
PIRCHE-II class II	34 \pm 25	34 \pm 22	0.996
DSA at the time transplant (no/yes)	96 / 3	34 / 4	0.074
Induction (Basiliximab / ATG)	53 / 46	24 / 14	0.367
Cold ischemia time	12.6 \pm 6.9	15.3 \pm 6.2	0.040
DGF (no /yes)	87 / 12	31 / 7	0.339
TCMR before protocol biopsy (no / yes)	94 / 5	36 / 2	0.960

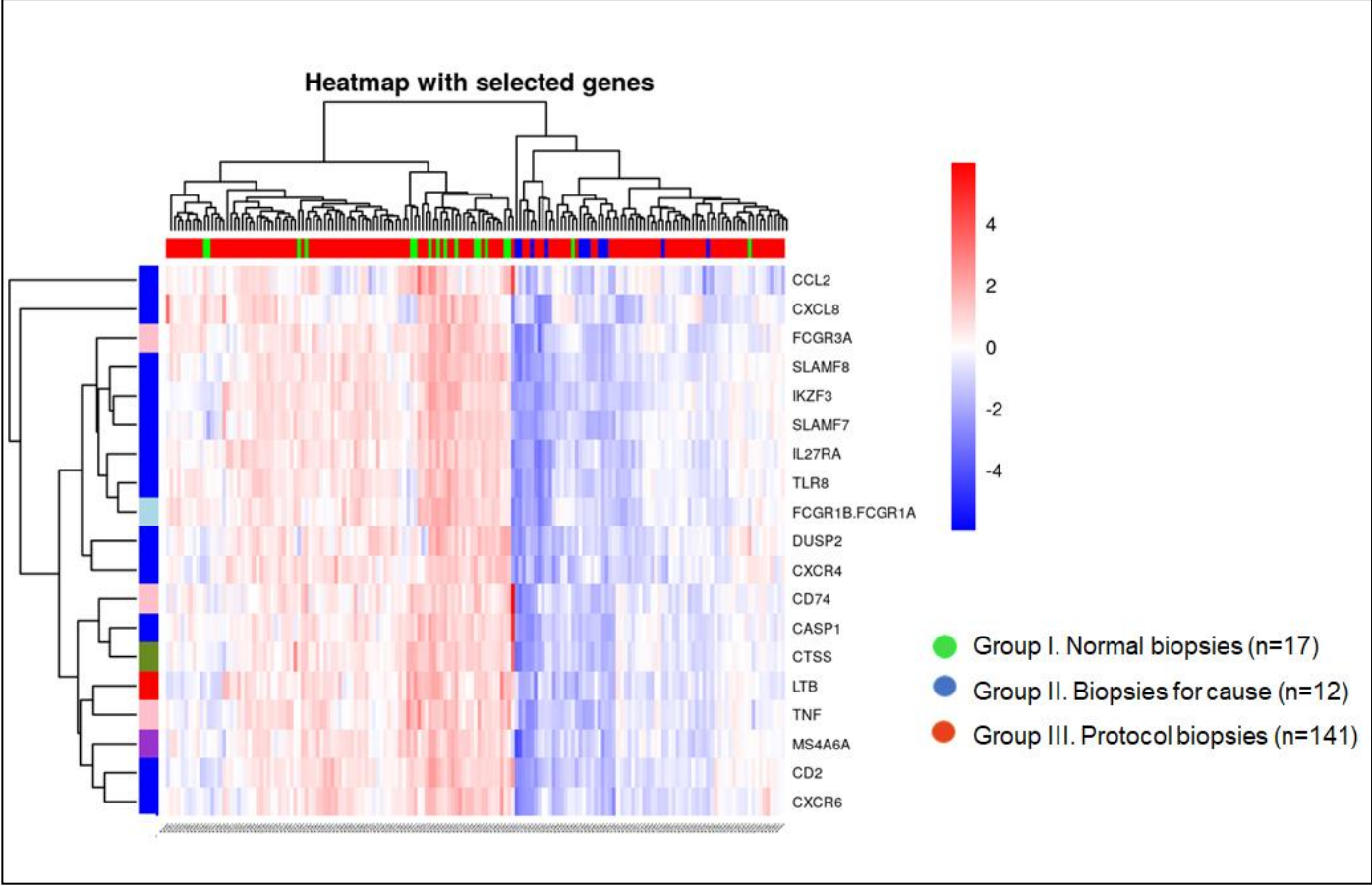
Datos clínicos y evolución del injerto en los pacientes con i-score ≥ 1 / i-score=0

Variable	i-score=0 (n= 99)	i-score ≥ 1 (n = 38)	p-value
Time of biopsy (months)	4.3 \pm 1.4	4.6 \pm 1.7	0.169
Serum creatinine (mg/dL)	1.5 \pm 0.3	1.4 \pm 0.3	0.747
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	52 \pm 14	53 \pm 16	0.790
Urine P/C ratio (mg/g)	275 \pm 206	239 \pm 148	0.331
DSA at the time of biopsy (no/yes).	96/3	37/1	0.901
Tacrolimus dose (mg/day)	6.7 \pm 4.5	6.0 \pm 3.3	0.425
TAC-C₀ (ng/mL)	9.7 \pm 2.7	8.2 \pm 2.2	0.002
C/D tacrolimus (ng/mL/mg)	1.72 (1.06–2.80)	1.54 (1.05–1.98)	0.220
CV TAC from day 7 to biopsy (%)	36.5 \pm 23.3	36.6 \pm 14.3	0.990
MMF dose (g/day)	0.9 \pm 0.2	0.9 \pm 0.2	0.735
eGFR decline (mL/min/1.73 m²/year)	-0.8 \pm 4.3	-1.1 \pm 2.9	0.163

Correlación entre la expresión génica y los niveles de tacrolimus a la biopsia



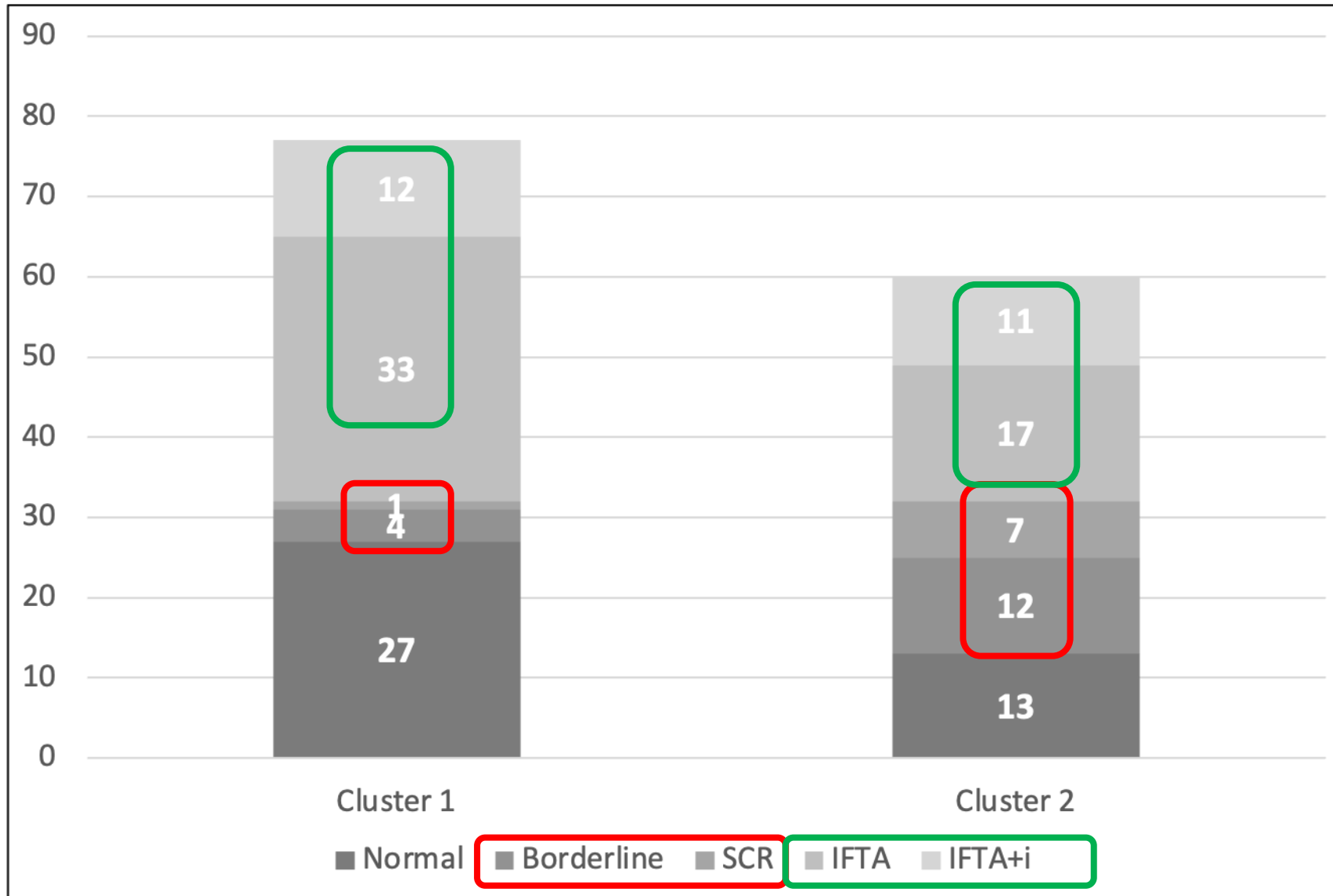
“Heatmap” con los 19 (de 111) genes que muestran correlación con los niveles de TAC a la biopsia



Características de donantes / receptores, datos a la biopsia y evolución clínica según el clúster

Variable	Cluster 1 (n=77)	Cluster 2 (n=60)	p-value
Donor type (BDD / DACD/ LD)	47 / 17 / 13	38 / 17 / 5	ns
Donor age (y)	54 ± 13	60 ± 15	0.0316
Patient age (y)	54 ± 13	57 ± 15	ns
Patient sex (m/f)	53 / 24	38 / 22	ns
First transplant / retransplant	68 / 9	49 / 11	ns
Class I HLA mismatch (A+B)	2.7 ± 1.0	3.0 ± 1.0	0.039
Class HLA mismatch (DR)	1.1 ± 0.7	1.2 ± 0.6	ns
HLA eplet class I mismatch	13 ± 6	15 ± 7	0.061
HLA eplet class II mismatch	14 ± 11	16 ± 9	ns
HLA AbV eplet DRB mismatch	2.8 ± 2.4	3.6 ± 2.4	0.059
HLA AbV eplet DQB mismatch	2.6 ± 2.6	2.5 ± 2.3	ns
PIRCHE-II class I	48 ± 28	52 ± 28	ns
PIRCHE-II class II	34 ± 28	34 ± 19	ns
Induction (basiliximab/thymoglobulin)	44 / 33	33 / 27	ns
DGF (n/y)	67 / 10	51 / 9	ns
TCMR before protocol biopsy (n/y)	72 / 5	68 / 2	ns
eGFR (mL/min/1.73 sqm) biopsy	53 ± 13	51 ± 16	ns
Urinary protein /creatinine (g/g) biopsy	0.24 ± 0.17	0.30 ± 0.24	ns
Tacrolimus trough levels (ng/mL) biopsy	9.8 ± 2.6	8.6 ± 2.6	0.0133
MMF dose (g/day)	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2	ns
eGFR decline (mL/min/1.72m²/year)	-0.2 ± 3.7	-1.9 ± 4.1	0.0145

Diagnóstico histológico (Banff) según clúster de expresión génica



Conclusiones

1. La expresión de transcritos asociados con rechazo en biopsias de protocolo está modulada por la exposición a tacrolimus e incompatibilidades HLA a nivel de epleto
2. La mayor expresión de transcritos asociados a rechazo de injerto renal se asocia con una mayor progresión de la disfunción renal.

