



HAL
open science

Suivi du patient ayant reçu une transplantation rénale par les biomarqueurs urinaires : de l'innovation technologique au développement clinique

Claire Tinel, Dany Anglicheau

► **To cite this version:**

Claire Tinel, Dany Anglicheau. Suivi du patient ayant reçu une transplantation rénale par les biomarqueurs urinaires : de l'innovation technologique au développement clinique. *Néphrologie & Thérapeutique*, 2021, 17, pp.S83-S87. 10.1016/j.nephro.2020.03.003 . hal-03248801

HAL Id: hal-03248801

<https://u-paris.hal.science/hal-03248801>

Submitted on 9 May 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

Dohead : Nouveaux outils de suivi du patient transplanté

Suivi du patient ayant reçu une transplantation rénale par les biomarqueurs urinaires : de l'innovation technologique au développement clinique

Urinary biomarkers in kidney transplant recipients: from technological innovations to clinical development

Claire TINEL ^{a,b,c,*} MD, Dany ANGLICHEAU ^{a,b,c} MD, PhD

^a Service de néphrologie et transplantation rénale, Assistance publique-hôpitaux de Paris, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris, France

^b Institut Necker-Enfants-Malades, faculté de médecine Necker, 156–160, rue de Vaugirard, 75015 Paris, France

^c Inserm, U1151, 156–160 rue de Vaugirard, 75015 Paris, France

***Auteur correspondant** : Dr Claire Tinel ; tél. : +33 6 23 92 08 25 ; fax : +33 1 44 49 42 30 ; e-mail : claire.tinel@inserm.fr

Liens d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêts en rapport avec le contenu de cet article.

1. Introduction

La prise en charge des patients en transplantation rénale s'est largement améliorée au cours des dernières décennies mais pour un individu donné, l'évaluation précise du greffon (fonction, rejet, pronostic, etc.) reste imparfaite. Alors que la recherche translationnelle promet une médecine personnalisée à court terme, notre pratique quotidienne repose toujours sur des mesures biologiques basiques : créatininémie, protéinurie, recherche d'anticorps anti-HLA dirigés contre le donneur (1). Notre raisonnement médical se construit sur ces biomarqueurs, même anciens, même peu performants, pour décider d'une biopsie du greffon (2).

Cette biopsie du greffon demeure un outil indispensable dans le suivi du patient ayant reçu une transplantation rénale, toutefois son caractère invasif et la possibilité de complications rares mais parfois graves, s'opposent à sa réalisation répétée (3). Le développement de biomarqueurs moins invasifs, et permettant un suivi longitudinal apparaît donc nécessaire en alternative ou en complément à la biopsie rénale. En transplantation rénale, les urines apparaissent comme une source de biomarqueurs non invasifs particulièrement attractive. L'urine est le produit de la filtration glomérulaire, mais sa composition finale est profondément modifiée par les segments tubulaires qui assurent les fonctions d'excrétion, de réabsorption et de sécrétion. Ainsi, 70% des protéines de l'urine terminale proviennent des reins et 30% seulement sont issues de l'ultrafiltrat du plasma. En outre, les urines contiennent des cellules issues de la desquamation de cellules rénales résidentes (cellules glomérulaires dans la chambre urinaire et cellules épithéliales tubulaires dans la lumière tubulaire) mais également des cellules immunitaires infiltrant le greffon. Les urines du patient transplanté rénal peuvent donc être interrogées de plusieurs manières. Le culot cellulaire peut être séparé du surnageant, et il devient alors possible d'étudier les acides nucléiques (acide ribonucléique [ARN] messagers et microARN) dans la partie cellulaire, et les protéines et métabolites dans le surnageant acellulaire.

Le potentiel diagnostique des biomarqueurs urinaires a été évalué pour de nombreuses lésions de greffon rénal : ischémie/reperfusion, récurrence de glomérulopathie, fibrose interstitielle, etc. Dans cette revue, nous nous focaliserons sur les principaux biomarqueurs urinaires actuellement proposés dans le monitoring non invasif du rejet aigu, ainsi que leurs limites. Puis nous nous efforcerons de déterminer les conditions nécessaires pour convaincre la communauté néphrologique et envisager leur adoption en pratique quotidienne.

2. ARN messagers urinaires

L'équipe de M. Suthanthiran a été la première à démontrer en 2001 la faisabilité d'utiliser les ARN messagers (ARNm) comme marqueurs du rejet aigu, après la mise au point d'une étape de préamplification permettant de pallier la faible quantité d'ARNm dans les urines (4). Dans ce travail princeps, les ARNm codant les molécules cytotoxiques perforine et granzyme B étaient surexprimés

dans les urines de patients ayant un rejet aigu cellulaire, et l'association des deux permettait le diagnostic de rejet aigu cellulaire avec une aire sous la courbe (AUC) de 0,86. Depuis, de nombreuses études ont confirmé le potentiel diagnostique du profilage des ARNm (5). Après de nombreuses études monocentriques, l'étude intitulée « Clinical Trials in Organ Transplantation-4 » (CTOT4) a validé de manière, l'AUC d'une signature diagnostique du rejet aigu cellulaire comportant trois ARNm (CD3ε, CXCL10 et 18S), était de 0,85 correspondant à une sensibilité de 72% et une spécificité de 71% (6). Dans l'analyse de prélèvements longitudinaux, l'augmentation des trois gènes de la signature dans les semaines qui précèdent le diagnostic du rejet aigu cellulaire, suggère son utilisation possible comme outil de diagnostic précoce. Une autre signature de six ARNm (CD3ε, CD105, TLR4, CD14, complément factor B et vimentine) a été proposée pour distinguer le rejet aigu, cellulaire (n=26) ou humoral (n=26), de la dysfonction sans rejet (n=32) (7). Dans cette même étude, une autre signature de cinq ARNm (CD3ε, CD105, CD14, CD46 et 18s) permettait de distinguer les rejet aigu cellulaire des rejets aigus humoraux (RAH). Plus récemment, le *urinary common rejection module* (uCRM, comportant 11 ARNm) proposé par le groupe de M. Sarwal, promet des performances sans précédent avec une AUC à 0,99 pour distinguer les échantillons associés à un rejet aigu (n=49) des stables (n=58) (8). Cette signature établie sur des échantillons cas-témoins appariés, donc sélectionnés, devra toutefois être validée dans une large cohorte transversale.

Enfin, outre le rejet, quelques études ont évalué l'intérêt des ARNm urinaires pour le diagnostic de la fibrose interstitielle et atrophie tubulaire ou encore pour la prédiction de la perte du greffon après néphrite à BK-virus (9,10).

3. MicroARN urinaires

Le développement remarquable des techniques de biologie moléculaire a permis l'étude de l'ensemble du transcriptome, mais aussi des ARN non codants. Parmi eux, les microARN ont pour fonction la régulation de l'expression des ARNm. Plus de 1800 microARN humains ont été mis en évidence à ce jour et une littérature émergente suggère la possibilité de développer des biomarqueurs de suivi des patients transplantés par cette approche (11). Lorenzen et al. ont d'abord démontré sur le plan méthodologique la stabilité des microARN dans les urines, puis a défini miR-10a, miR-10b et miR-210 comme dérégulés au cours du rejet cellulaire (12). De même, le profil d'expression des microARN urinaires a permis d'identifier 22 microARN significativement différents entre patients stables avec biopsie normale et des patients avec dysfonction et fibrose interstitielle et atrophie tubulaire sur la biopsie (13). Ces 22 microARN étaient associés à des processus liés à l'inflammation, suggérant leur implication physiopathologique en plus de leur potentiel capacité diagnostique.

4. Protéines urinaires ciblées

La quantification de protéines urinaires candidates peut être faite de manière simple, reproductible et peu coûteuse par méthode *enzyme-linked immunosorbent assay* (elisa). Pour le monitoring non invasif du rejet, la quantification des protéines de l'inflammation a été largement évaluée (14). Les chimiokines sont des cytokines chimioattractantes qui participent au recrutement des cellules inflammatoires lors des phénomènes d'ischémie–reperfusion et de rejet (15). En particulier, les chimiokines urinaires de la famille des ligands de CXCR3 ont été associées au diagnostic de rejet aigu dans différentes études. Ainsi CXCL9 et CXCL10 sont augmentées en cas de rejet aigu cellulaire (16), alors que CXCL10 a été associée plus spécifiquement au diagnostic et au pronostic du RAH (17, 18). Toutefois, les chimiokines ne sont pas spécifiques de l'agression allo-immune et d'autres conditions inflammatoires telles que la néphrite à BK-virus peuvent induire leur augmentation dans l'urine des patients ayant eu une transplantation (19).

D'autres protéines ont été proposées l'*endothelial protein C receptor* (EPCR) pour discriminer le rejet aigu cellulaire du rejet aigu humoral avec une AUC de 0,88 (20).

5. Protéomique/peptidomique

L'étude du profil d'expression global des peptides ou des protéines dans les urines a été rendu possible par le développement de technologies de détection des protéines (spectrométrie de masse), précédées de techniques de séparation (électrophorèse bidimensionnelle, chromatographie liquide haute performance, électrophorèse capillaire). Pour la première fois en 2003, l'approche protéomique a été évaluée en transplantation rénale, permettant d'identifier 13 pics présents dans la plupart des échantillons associés à un rejet (n=17) et absents des urines de patients sans rejet (n=15) (21). Dans cette étude cas-témoins, l'AUC résultante était à 0,84. Puis, le groupe de P. Nickerson a également utilisé cette technique chez 50 patients transplantés rénaux répartis en quatre groupes (rejet aigu, patients stables, nécrose tubulaire aiguë et glomérulopathie récurrente ou de novo) (22). Trois pics étaient présents chez 94% des patients avec rejet mais chez seulement 18% des patients stables et aucun des contrôles sains. Dans une autre étude, des profils protéiques uniques ont été décrits en cas de nécrose tubulaire aiguë (n=353 protéines), de rejet aigu cellulaire (n=322) ou humoral (n=165) (23). En parallèle, la protéomique a été appliquée à l'évaluation de la néphropathie chronique d'allogreffe et de la fibrose interstitielle et atrophie tubulaire (24,25). Enfin, il convient de préciser que l'étude des peptides (peptidomique) constitue une variante à la protéomique. Cette approche encore très confidentielle a été utilisée pour développer une signature peptidomique de fibrose interstitielle et atrophie tubulaire sur 29 échantillons urinaires collectés à 6 mois de transplantation (26). Le biomarqueur le plus performant était une protéine de 8860 Da qui prédisait la dysfonction à 1 an avec une sensibilité de 93% et une spécificité de 65%.

En somme, cette littérature plus récente apporte un niveau de preuve plus faible, et ces résultats devront être confirmés dans des études prospectives.

6. Métabolomique

Enfin, l'approche émergente que constitue la métabolomique est fondée sur l'étude des profils de la globalité des métabolites (petites molécules de moins de 1500 Da) d'origine endogène ou exogène. Comme pour la protéomique, la métabolomique impose une étape de séparation, de détection puis d'analyse bioinformatique. Ses applications en transplantation demeurent encore très limitées. Cette méthode a été utilisée sur des échantillons d'urine pour appréhender des situations telles que l'ischémie/reperfusion ou la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine (27). De manière intéressante, dans l'étude CTOT4, une signature métabolomique (ratios 3-sialyllactose/xanthosine et quinolinate/X-16397) a été combinée à la signature transcriptomique des trois gènes (CD3ε, CXCL10 et 18S) pour établir une signature composite avec une AUC de 0,93 pour le diagnostic de rejet aigu cellulaire, ouvrant des perspectives multiples sur le potentiel à combiner différentes approches (28).

7. Biomarqueurs urinaires : les limites actuelles

Ces avancées majeures dans le développement de méthodes innovantes et performantes de quantifications des ARN codants et non-codants, des protéines et des métabolites, a permis d'identifier de nombreux biomarqueurs urinaires candidats en transplantation rénales. Toutefois quasiment 20 ans après la publication princeps de l'équipe de Suthanthiran dans *New England Journal of Medicine* (4), ces marqueurs n'ont toujours pas été implémentés dans notre pratique quotidienne, et demeurent du domaine de la recherche scientifique.

En effet, la majorité des études sont émaillées d'écueils méthodologiques qui ont conduit à limiter la confiance dans leurs résultats, et peuvent être résumés ainsi (29): (i) les faibles effectifs dans les groupes, c'est à dire le manque de puissance et l'absence de prise en compte des facteurs de confusion ; (ii) l'absence de corrélation des résultats à des biopsies rigoureusement phénotypées ; (iii) l'absence de confirmation des résultats dans une cohorte de validation, externe dans l'idéal ; (iv) le design des études de type cas-contrôles ne rendant pas compte des performances sur une population « tout venant » non sélectionnée ; (e) le nombre trop important de biomarqueurs à associer ou l'utilisation de techniques trop sophistiquées ou coûteuses.

À titre d'illustration, dans l'étude CTOT4 l'AUC dans une cohorte de validation externe était de 0,74 contre 0,85 dans la cohorte principale (6). En outre, 17% des échantillons ne passaient pas les critères qualité de la technique, ce qui littéralement interdit l'évaluation du risque de rejet chez ces patients. De même pour la protéomique, l'absence de standardisation des méthodes de prélèvement, la multiplicité des méthodes de séparation, la difficulté d'analyse des résultats, rende son utilisation en routine peu probable à court terme.

8. Biomarqueurs urinaires : vers une utilisation en clinique

Il reste donc un grand pas à franchir pour le transfert de la recherche vers la clinique et qui nécessite schématiquement différentes étapes : (i) l'identification et la validation robuste de biomarqueurs pour des pathologies clairement définies ; (ii) la démonstration de leur utilité clinique incluant la description des facteurs de confusion et la définition de seuils de positivité; (iii) le développement de biomarqueurs quantifiés sur des plateformes accessibles, avec la possibilité d'un rendu de résultats rapides et fiables pour un coût acceptable.

L'étude européenne intitulée *Biomarkers of renal graft injuries in kidney allograft recipients* (BIOMARGIN) a été conçue spécifiquement pour répondre à ces prérequis. Son objectif est la découverte, la sélection et la validation de biomarqueurs, en utilisant les différentes approches « omics » (transcriptomique, peptidomique, protéomique, métabolomique) dans des échantillons sanguins, urinaires et biopsiques pour le diagnostic de lésions histologiques, établies de façon robuste par une relecture centralisée des biopsies par un comité d'experts. La conception de l'étude multicentrique comporte plusieurs phases : une cohorte de découverte des biomarqueurs par approche sans a priori, une cohorte indépendante de réplique et de sélection et enfin une cohorte de validation incluant des patients non sélectionnés consécutivement enrôlés, assurant ainsi la représentation de toute la diversité de la pathologie du greffon observée en pratique. Le choix des biomarqueurs candidats d'une phase vers une autre repose sur une analyse statistique complexe. Dans cette étude, les ARNm urinaires candidats les plus performants sélectionnés par l'étude cas-témoins (Step 1) ont été quantifiés sur la seconde cohorte cas-témoins (Step 2) pour développer une signature diagnostique du rejet aigu humoral associant six mRNA (**Fig 1**). Ses performances ont ensuite été validées sur la cohorte prospective non sélectionnée (Step 3, AUC=0,76, P<0.0001) puis combinée à différents paramètres cliniques et biologiques pour obtenir un modèle de diagnostic du rejet aigu humoral avec une AUC à 0,85 (non publié).

En dehors de la conception rigoureuse des études de développement, une considération majeure est l'aptitude du biomarqueur à devenir un outil du clinicien. A cet effet, la quantification des chimiokines urinaires semble avoir une longueur d'avance : la méthode de dosage par elisa est disponible dans les laboratoires de routine, relativement peu onéreuse et réalisable sur tous les échantillons (tandis que les analyses de transcriptomique ou de protéomique conduisent à l'exclusion de 10 à 30% des échantillons selon des critères qualité internes à chaque méthode). Les chimiokines urinaires sont certes augmentées dans d'autres processus inflammatoires d'origine non allo-immune, tels que la virémie à BK virus ou l'infection urinaire bactérienne. Mais ces facteurs de confusion ne constituent pas nécessairement un motif d'exclusion des échantillons et un frein à leur utilisation, dès lors qu'ils sont intégrés dans un modèle statistique multiparamétrique de diagnostic du rejet aigu. L'AUC résultante dans une cohorte transversale de 391 échantillons était de 0,85 (Tinel et al, soumis), avec la validation des performances dans deux cohortes indépendantes (0,92 dans une cohorte

française composée majoritairement de biopsies d'indication, et 0,85 dans la cohorte transversale de BIOMARGIN comportant une majorité de biopsies de dépistage).

9. Conclusion

Au cours du suivi des patients transplantés rénaux, les biomarqueurs urinaires constituent un domaine de recherche attractif et prometteur compte-tenu de son caractère strictement non invasif. Les urines peuvent potentiellement contenir la somme des évènements survenant dans le greffon, palliant au problème de biais d'échantillonnage et faux-négatif de la biopsie. Des signatures combinant ARNm, microARN, protéines et métabolites ont été proposées pour évaluer les risques de rejet cellulaires ou humoraux, de retard de reprise de fonction, de fibrose interstitielle et atrophie tubulaire. La majorité de ces biomarqueurs candidats doivent toutefois être confirmés et validés dans des études robustes avant que ces biomarqueurs puissent devenir des outils du quotidien. Parmi toutes ces pistes, la quantification des chimiokines urinaires semble la plus proche d'une application clinique. Les résultats de grandes cohortes longitudinales ou d'études randomisées (NCT03206801) en cours devraient conduire à leur adoption en pratique clinique à court terme.

Références

1. Naesens M, Anglicheau D. Precision transplant medicine: biomarkers to the rescue. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29(1):24-34.
2. Legendre C, Anglicheau D. Transplantation: Proteinuria in kidney transplantation: an ongoing story. *Nat Rev Nephrol*. 2013;9(5):251-2.
3. Schwarz A, Gwinner W, Hiss M, Radermacher J, Mengel M, Haller H. Safety and adequacy of renal transplant protocol biopsies. *Am J Transplant*. 2005;5(8):1992-6.
4. Li B, Hartono C, Ding R, Sharma VK, Ramaswamy R, Qian B, et al. Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. *N Engl J Med*. 2001;344(13):947-54.
5. Hartono C, Muthukumar T, Suthanthiran M. Noninvasive diagnosis of acute rejection of renal allografts. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15(1):35-41.
6. Suthanthiran M, Schwartz JE, Ding R, Abecassis M, Dadhania D, Samstein B, et al. Urinary-cell mRNA profile and acute cellular rejection in kidney allografts. *N Engl J Med*. 2013;369(1):20-31.
7. Maignon M, Ding R, Dadhania DM, Mueller FB, Hartono C, Snopkowski C, et al. Urinary cell mRNA profiles and differential diagnosis of acute kidney graft dysfunction. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(7):1586-97.

8. Sigdel TK, Yang JYC, Bestard O, Schroeder A, Hsieh SC, Liberto JM, et al. A urinary Common Rejection Module (uCRM) score for non-invasive kidney transplant monitoring. *PLoS One*. 2019;14(7):e0220052.
9. Anglicheau D, Muthukumar T, Hummel A, Ding R, Sharma VK, Dadhania D, et al. Discovery and validation of a molecular signature for the noninvasive diagnosis of human renal allograft fibrosis. *Transplantation*. 2012;93(11):1136-46.
10. Dadhania D, Snopkowski C, Muthukumar T, Lee J, Ding R, Sharma VK, et al. Noninvasive prognostication of polyomavirus BK virus-associated nephropathy. *Transplantation*. 2013;96(2):131-8.
11. Amrouche L, Rabant M, Anglicheau D. MicroRNAs as biomarkers of graft outcome. *Transplant Rev (Orlando)*. 2014;28(3):111-8.
12. Lorenzen JM, Volkmann I, Fiedler J, Schmidt M, Scheffner I, Haller H, et al. Urinary miR-210 as a mediator of acute T-cell mediated rejection in renal allograft recipients. *Am J Transplant*. 2011;11(10):2221-7.
13. Maluf DG, Dumur CI, Suh JL, Scian MJ, King AL, Cathro H, et al. The urine microRNA profile may help monitor post-transplant renal graft function. *Kidney Int*. 2014;85(2):439-49.
14. Hirt-Minkowski P, De Serres SA, Ho J. Developing renal allograft surveillance strategies - urinary biomarkers of cellular rejection. *Can J Kidney Health Dis*. 2015;2:28.
15. Springer TA. Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu Rev Physiol*. 1995;57:827-72.
16. Hricik DE, Nickerson P, Formica RN, Poggio ED, Rush D, Newell KA, et al. Multicenter validation of urinary CXCL9 as a risk-stratifying biomarker for kidney transplant injury. *Am J Transplant*. 2013;13(10):2634-44.
17. Rabant M, Amrouche L, Morin L, Bonifay R, Lebreton X, Aouni L, et al. Early low urinary CXCL9 and CXCL10 might predict immunological quiescence in clinically and histologically stable kidney recipients. *Am J Transplant*. 2016;16(6):1868-81.
18. Rabant M, Amrouche L, Lebreton X, Aulagnon F, Benon A, Sauvaget V, et al. Urinary C-X-C motif chemokine 10 independently improves the noninvasive diagnosis of antibody-mediated kidney allograft rejection. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(11):2840-51.
19. Johnston O, Cassidy H, O'Connell S, O'Riordan A, Gallagher W, Maguire PB, et al. Identification of beta2-microglobulin as a urinary biomarker for chronic allograft nephropathy using proteomic methods. *Proteomics Clin Appl*. 2011;5(7-8):422-31.

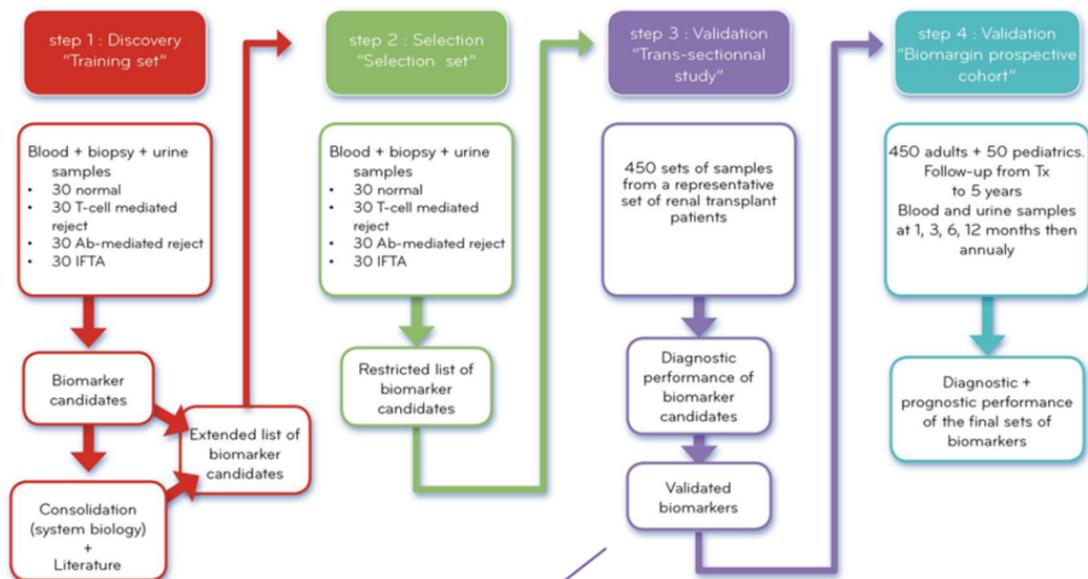
20. Lattenist L, Kers J, Claessen N, ten Berge IJ, Bemelman FJ, Florquin S, et al. Renal and urinary levels of endothelial protein C receptor correlate with acute renal allograft rejection. *PLoS One*. 2013;8(5):e64994.
21. Clarke W, Silverman BC, Zhang Z, Chan DW, Klein AS, Molmenti EP. Characterization of renal allograft rejection by urinary proteomic analysis. *Ann Surg*. 2003;237(5):660-4; discussion 4-5.
22. Schaub S, Wilkins JA, Antonovici M, Krokhin O, Weiler T, Rush D, et al. Proteomic-based identification of cleaved urinary beta2-microglobulin as a potential marker for acute tubular injury in renal allografts. *Am J Transplant*. 2005;5(4 Pt 1):729-38.
23. Pisitkun T, Gandolfo MT, Das S, Knepper MA, Bagnasco SM. Application of systems biology principles to protein biomarker discovery: urinary exosomal proteome in renal transplantation. *Proteomics Clin Appl*. 2012;6(5-6):268-78.
24. O'Riordan E, Orlova TN, Mendeleev N, Patschan D, Kemp R, Chander PN, et al. Urinary proteomic analysis of chronic allograft nephropathy. *Proteomics Clin Appl*. 2008;2(7-8):1025-35.
25. Banon-Maneus E, Diekmann F, Carrascal M, Quintana LF, Moya-Rull D, Bescos M, et al. Two-dimensional difference gel electrophoresis urinary proteomic profile in the search of nonimmune chronic allograft dysfunction biomarkers. *Transplantation*. 2010;89(5):548-58.
26. Tetaz R, Trocme C, Roustit M, Pinel N, Bayle F, Toussaint B, et al. Predictive diagnostic of chronic allograft dysfunction using urinary proteomics analysis. *Ann Transplant*. 2012;17(3):52-60.
27. Dieme B, Halimi JM, Emond P, Buchler M, Nadal-Desbarat L, Blasco H, et al. Assessing the metabolic effects of calcineurin inhibitors in renal transplant recipients by urine metabolic profiling. *Transplantation*. 2014;98(2):195-201.
28. Suhre K, Schwartz JE, Sharma VK, Chen Q, Lee JR, Muthukumar T, et al. Urine metabolite profiles predictive of human kidney allograft status. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27(2):626-36.
29. Anglicheau D, Naesens M, Essig M, Gwinner W, Marquet P. Establishing biomarkers in transplant medicine: a critical review of current approaches. *Transplantation*. 2016;100(10):2024-38.

Légende de la figure

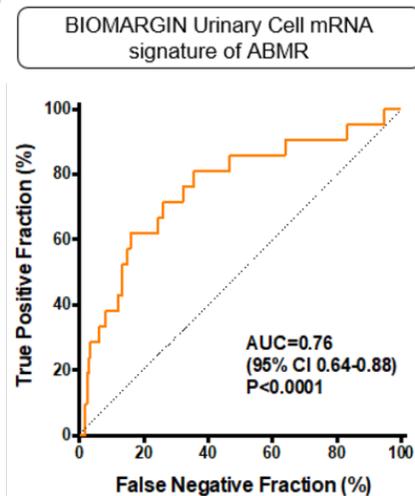
Figure 1. Etude « Biomarkers of renal graft injuries in kidney allograft recipients » (BIOMARGIN).

(A.) Chronologie de l'étude montrant le développement des biomarqueurs en plusieurs phase successives à partir d'échantillons sanguins, urinaires et biopsiques collectés dans quatre centres européens. Étape 1 (*Step 1*) : étude sans a priori pour la recherche de biomarqueurs issus des analyses de transcriptomique, protéomique et métabolomique dans quatre groupes de patients selon les résultats de la biopsie : normale, rejet aigu cellulaire (ou *T-cell mediated rejection*, TCMR), rejet aigu humoral (ou *antibody-mediated rejection*, ABMR) et fibrose interstitielle et atrophie tubulaire (*interstitial fibrosis and tubular atrophy*). Étape 2 (*Step 2*) : sélection des biomarqueurs candidats les plus pertinents et combinaison de biomarqueurs dans des signatures diagnostiques sur une cohorte cas-témoins indépendante. Étape 3 (*Step 3*) : évaluation des performances diagnostiques sur une large cohorte non sélectionnée de 450 échantillons, prospectivement et consécutivement collectés. Étape 4 (*Step 4*) : cohorte prospective avec quantification longitudinale des biomarqueurs chez 450 patients adultes et 50 patients pédiatriques pendant 5 ans pour évaluer les performances diagnostiques et pronostiques. (B.) Courbe ROC (*receiver operating characteristic*) illustrant l'aire sous la courbe (AUC) de la meilleure signature issue de l'analyse des ARN messages urinaires pour le diagnostic du rejet humoral parmi tous les autres diagnostics de l'étape 3. L'intervalle de confiance résulte d'un test de rééchantillonnage appliqué 100 fois. (C.) Courbe ROC illustrant l'AUC d'un modèle statistique qui combine la signature du rejet aigu humoral et différents paramètres cliniques et biologiques. L'intervalle de confiance résulte d'un test de rééchantillonnage appliqué 100 fois.

A.



B.



C.

