



**HAL**  
open science

# Apport de l'étude anatomopathologique au diagnostic de maladie du greffon contre l'hôte digestive : résultats d'une série unicentrique rétrospective de 112 patients allogreffés

Fanny Sauvestre

## ► To cite this version:

Fanny Sauvestre. Apport de l'étude anatomopathologique au diagnostic de maladie du greffon contre l'hôte digestive : résultats d'une série unicentrique rétrospective de 112 patients allogreffés . Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01347085

**HAL Id: dumas-01347085**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01347085>**

Submitted on 20 Jul 2016

**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.

UNIVERSITE DE BORDEAUX  
U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2016

Thèse n° 3034

Thèse pour l'obtention du

**DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE**

Discipline : Anatomie et Cytologie Pathologiques

Présentée et soutenue publiquement le 06 juin 2016

Par **Fanny SAUVESTRE**

Née le 25 mai 1986 à Saint-Doulchard (18)

**APPORT DE L'ETUDE ANATOMOPATHOLOGIQUE AU DIAGNOSTIC  
DE MALADIE DU GREFFON CONTRE L'HOTE DIGESTIVE :  
RESULTATS D'UNE SERIE UNICENTRIQUE RETROSPECTIVE DE 112 PATIENTS ALLOGREFFES**

**Directeur de thèse**

Madame le Docteur Marion MARTY, CHU Bordeaux

**Membres du jury**

Monsieur le Professeur et Doyen Pierre DUBUS	Président
Madame le Professeur Béatrice VERGIER	Juge
Monsieur le Professeur Noël MILPIED	Juge
Monsieur le Docteur Jean-François GOUSSOT	Juge
Monsieur le Docteur Stéphane VIGOUROUX	Juge

# Remerciements

---

A notre rapporteur et à notre juge,

**Monsieur le Professeur Noël Milpied,**

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Pour avoir accepté de juger et de rapporter ce travail,

Vos conseils sur ce travail seront précieux,

Avec tout mon respect et ma reconnaissance.

A notre juge,

**Madame le Professeur Béatrice Vergier,**

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Pour avoir accepté de faire partie du jury et de juger ce travail,

Pour tout l'enseignement délivré au cours de ces années,

Avec mon plus profond respect.

A notre juge,

**Monsieur le Docteur Jean-François Goussot,**

Praticien Hospitalier

Pour avoir accepté de juger ce travail,

Pour l'étendue de vos connaissances et votre goût à les partager,

Pour tous vos précieux conseils apportés sur ce travail et tout au long de mon cursus,

Avec mon plus profond respect et ma sincère reconnaissance.

A notre juge,

**Monsieur le Docteur Stéphane Vigouroux,**

Praticien Hospitalier

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury et de juger ce travail,

Pour avoir été un élément moteur de ce projet,

Avec toute ma gratitude et mon respect.

A notre directeur,

**Madame le Docteur Marion Marty,**

Praticien Hospitalier

Pour m'avoir proposé ce travail et accepté de le diriger,

Pour toute ta confiance, tes conseils avisés, ta rigueur et ta motivation sans faille,

Pour ton efficacité au quotidien, les heures passées à tes côtés au microscope,

Avec toute mon amitié, et mon plus profond respect.

A notre président,

**Monsieur le Professeur Pierre Dubus,**

Doyen de la Faculté de Médecine de Bordeaux

Directeur de l'UFR des Sciences Médicales

Directeur du département des formations santé dans les DOM-TOM

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Pour avoir accepté de présider et de juger ce travail,

Pour votre attention bienveillante,

Avec mon plus grand respect et toute ma reconnaissance.

Je tiens à remercier chaleureusement toutes les personnes qui ont contribué à ma formation en anatomie pathologique :

A l'ensemble des médecins des services d'anatomie pathologique du CHU de Bordeaux –Pellegrin et Haut-Lévêque-, de Pau et de Bergonié : pour toutes les heures d'apprentissage à leurs côtés, merci,

A l'ensemble des techniciens, des aides-laboratoire et des secrétaires.

Encore un immense merci à Marion, pour ta joie et ta bonne humeur, même à la lecture des immuno !

A Geneviève Belleannée et à Monsieur Goussot pour leur participation active à la relecture des lames, et pour tous leurs conseils avisés en vue de l'article,

A tous les techniciens qui ont réalisé les recoupes et les immunohistochimies sur ces cas.

A l'équipe hématologique qui a participé à ce travail : Claire Bréal, Stéphane Vigouroux, Catherine Mohr, Reza Tabrizi,

A Anne, pour nous avoir fourni un cas supplémentaire de GVH,

A Claire pour sa relecture attentive (et pas que !).

A l'équipe de Fœtopathologie, Dominique, Fanny et Gwenaëlle, merci pour m'avoir donné envie de faire cette belle spécialité, de m'y avoir initiée et de m'accorder votre confiance, merci pour votre complicité.

Un grand merci à tous mes (ex)-co-internes, à mes amis de parcours d'internat, de Master 2, de DIU...qui ont rendu ces 6 ans beaucoup moins long que ne le voudrait l'espace temporel !

A Elsa, à Caroline.

Enfin un merci immense et infini à ma famille qui m'a permis de réaliser ces études, qui a toujours été présente et qui a su me soutenir tout au long de ces années... A mes parents, bô-parents, grands-parents, frères et sœurs,

A Emmanuel, mon Amoureux,

A Toi que nous découvrirons bientôt,

A ma belle famille.

# Sommaire

---

<b>REMERCIEMENTS</b>	<b>2</b>
<b>SOMMAIRE</b>	<b>9</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b>	<b>11</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS</b>	<b>12</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX ET ANNEXES</b>	<b>14</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>15</b>
<b>1. ALLOGREFFE DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏÉTIQUES</b>	<b>15</b>
A. GENERALITES, INDICATIONS ET MODALITES	15
B. EFFET DE LA GREFFE CONTRE LA TUMEUR	17
C. COMPLICATIONS POSSIBLES	18
<b>2. MALADIE DU GREFFON CONTRE L'HOTE</b>	<b>19</b>
A. DEFINITION ET EPIDEMIOLOGIE	19
B. MANIFESTATIONS CLINIQUES	19
C. PHYSIOPATHOLOGIE	21
D. FACTEURS DE RISQUE DE DEVELOPPER UNE GVH	22
<b>3. MALADIE DU GREFFON CONTRE L'HOTE DIGESTIVE</b>	<b>23</b>
A. DIAGNOSTIC CLINIQUE ET ENDOSCOPIQUE	23
B. PHYSIOPATHOLOGIE : PARTICULARITES LIEES AU SITE	24
C. DIAGNOSTIC ANATOMOPATHOLOGIQUE	25
1. Description microscopique	25
a. Corps apoptotiques	25
b. Inflammation	27
c. Cellules neuroendocrines	27
d. Lésions endothéliales	27
e. Distinction des formes aiguë et chronique	28
2. Recommandations anatomopathologiques	28
a. Pré-analytique	28
b. Analytique : compte-rendu anatomopathologique	28
3. Puissance du diagnostic anatomopathologique	29
4. Apport de l'analyse immunohistochimique	30
D. DIAGNOSTICS DIFFERENTIELS	31
1. Cliniques	31
2. Anatomopathologiques	31
a. Mycophenolate Mofetil (MMF)	32
b. Cytomégalovirus (CMV)	33
c. Adénovirus	33
d. Colite au sang de cordon	33
e. Synthèse des diagnostics différentiels	33
E. FACTEURS DE RISQUE	34
F. THERAPEUTIQUE CURATIVE	36
<b>4. OBJECTIFS DE L'ETUDE</b>	<b>36</b>

<b>MATERIEL ET METHODES</b>	<b>38</b>
<b>1. TYPE D'ETUDE</b>	<b>38</b>
<b>2. POPULATION ETUDIEE</b>	<b>38</b>
<b>3. RECUEIL DES DONNEES CLINIQUES</b>	<b>38</b>
<b>4. RECUEIL DU MATERIEL BIOPSIQUE</b>	<b>39</b>
<b>5. ETUDE MORPHOLOGIQUE</b>	<b>39</b>
<b>6. ETUDE IMMUNOHISTOCHIMIQUE</b>	<b>41</b>
<b>7. ANALYSE STATISTIQUE</b>	<b>42</b>
<b>RESULTATS</b>	<b>43</b>
<b>1. DESCRIPTION DE NOTRE POPULATION</b>	<b>43</b>
<b>2. CORRELATION MICROSCOPIE - DIAGNOSTIC CLINIQUE DEFINITIF</b>	<b>44</b>
<b>3. PERFORMANCE DU SCORE ANATOMOPATHOLOGIQUE</b>	<b>47</b>
<b>4. CORRELATION ENDOSCOPIE, SCORES HISTOLOGIQUES ET DIAGNOSTIC DEFINITIF</b>	<b>49</b>
<b>5. ETUDE COMPARATIVE DE NOTRE COHORTE</b>	<b>50</b>
A. ANALYSE MORPHOLOGIQUE	50
B. ANALYSE IMMUNOHISTOCHIMIQUE	52
1. Anticorps anti-CMV	52
2. Anticorps anti-chromogranine	53
3. Anticorps anti-CD123	54
<b>6. ETUDE DU SOUS-GROUPE TRAITE PAR MMF</b>	<b>55</b>
A. DESCRIPTION GENERALE DU SOUS-GROUPE MMF	55
B. DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE DU SOUS-GROUPE	56
C. ANALYSE IMMUNOHISTOCHIMIQUE	57
1. Anticorps anti-chromogranine	57
2. Anticorps anti-CD123	57
<b>7. CONCORDANCE INTER-OBSERVATEURS</b>	<b>58</b>
<b>DISCUSSION</b>	<b>59</b>
o <i>Rappel du contexte de notre étude</i>	59
o <i>Points forts et limites de notre étude</i>	59
o <i>Place de l'analyse anatomopathologique dans le diagnostic de GVH</i>	60
o <i>L'étude immunohistochimique a-t-elle une place dans le diagnostic de GVH ?</i>	61
o <i>A-t-on des arguments microscopiques ou immunohistochimiques pour distinguer une GVH d'une colite induite par le MMF ?</i>	62
o <i>Analyse des cas discordants</i>	63
o <i>Proposition d'un arbre décisionnel</i>	68
o <i>Recommandations pour formuler la réponse anatomopathologique</i>	69
o <i>Proposition d'un formulaire de renseignements cliniques</i>	71
<b>CONCLUSION</b>	<b>73</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>74</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>81</b>
<b>SERMENT D'HIPPOCRATE</b>	<b>85</b>

# Liste des abréviations

---

AP : médecin pathologiste

CA : corps apoptotique

CMV : cytomégalovirus

CSH : cellules souches hématopoïétiques

DLI : perfusion de lymphocytes de donneur

GVH : maladie du greffon contre l'hôte (*graft versus host disease*) HES

: hématoxyline-éosine-safran

HLA : antigène des leucocytes humains (*human leukocyte antigen*)

HPF : champ au fort grossissement x400 (*high power field*)

IL : interleukine

IV : intra-veineux

MICI : maladie inflammatoire chronique intestinale

MMF : mycophenolate mofetil

MO : moelle osseuse

mTOR : mammalian target of rapamycin

NC : non contributif

NIH : National Institutes of Health

NK : natural killer

NS : non significatif

PCR : polymerase chain reaction

PNE : polynucléaire(s) éosinophile(s)

SC : sang de cordon ombilical

SP : sang périphérique

TNF : facteur de nécrose tumorale

VPN : valeur prédictive négative

VPP : valeur prédictive positive

# Table des illustrations

---

Figure 1 : Répartition des sources de greffon possibles en 2011 selon l'agence de Biomédecine.	16
Figure 2 : Schéma récapitulatif du parcours de la greffe de cellules souches pour le receveur.	17
Figure 3 : Schéma de la physiopathologie de la maladie du greffon contre l'hôte, inspiré de <i>Ferrara et Couriel</i> .	22
Figure 4 : Biopsie présentant des lésions de GVH : glandes lésionnelles avec nombreux corps apoptotiques épithéliaux.	25
Figure 5 : Illustration des diagnostics différentiels, pourvoyeurs de faux positifs : A. Colite infectieuse à EBV et HHV6 ; B. Colite induite par le CMV : corps apoptotiques épithéliaux et dystrophies cellulaires avec inclusions virales ; C. Colite induite par le MMF ; D. Colite iatrogène post-chimiothérapie (5 fluoro-uracile), avec nombreux corps apoptotiques.	35
Figure 6 : Illustration de lésions sévères : perte glandulaire massive avec présence de quelques glandes fantomatiques au sein d'un chorion fibreux.	41
Figure 7 : Répartition des patients « GVH » et « Non-GVH » en fonction du score microscopique.	45
Figure 8 : Courbes de survie en fonction du diagnostic définitif clinique (« GVH » <i>versus</i> « Non-GVH »).	46
Figure 9 : Courbes de survie en fonction des scores anatomopathologiques. A. Groupes 0-1 <i>versus</i> 2-3 ; B. Courbes des 4 groupes (encart).	46
Figure 10 : Courbes de survie des patients diagnostiqués GVH par l'examen anatomopathologique en fonction de la sévérité des lésions.	47
Figure 11 : Graphique représentant la fréquence des scores histologiques 0 et 1 chez les patients « GVH » et « Non-GVH ».	48
Figure 12 : Répartition des cas selon la présence ou non d'apoptose épithéliale, dans les groupes « GVH » et « Non-GVH ».	50
Figure 13 : Représentation de la répartition des différents paramètres morphologiques étudiés dans les groupes « GVH » et « Non-GVH ».	51
Figure 14: Illustration d'inclusions virales de type CMV, soulignées par l'immunohistochimie anti-CMV.	52
Figure 15 : Exemple d'un cas de GVH présentant de nombreux amas de cellules neuroendocrines au sein du chorion, difficilement visibles sur l'HES, et soulignés par l'anti-chromogranine.	54
Figure 16 : Distribution du nombre d'amas de cellules neuroendocrines chez les patients GVH ou non.	54
Figure 17 : A. Distribution du nombre d'amas de cellules dendritiques positives pour l'anti-CD123 chez les patients GVH ou non. B. Illustration d'une cellule mononucléée positive pour l'anti-CD123.	55
Figure 18 : Distribution du nombre de cellules dendritiques positives pour l'anti-CD123 chez les patients traités par MMF, présentant une GVH ou non.	58
Figure 19 : Illustration des difficultés de lecture de l'immunohistochimie anti-CD123 : accrochage glandulaire et positivité des cellules endothéliales.	62

- Figure 20 : Illustration d'un cas présentant d'assez nombreux corps apoptotiques, classé GVH probable selon les pathologistes, mais ne présentant pas de GVH au diagnostic clinique définitif. Les corps apoptotiques peuvent s'expliquer par des infections surajoutées pour ce cas (EBV et HHV6). 64
- Figure 21 : Illustration de lésions infectieuses surajoutées, posant le problème d'une véritable colite infectieuse ou de lésions surajoutées à une GVH. 65
- Figure 22 : Illustration d'un cas discordant inter-pathologistes : l'absence de glande et donc de corps apoptotique pose la question de « GVH certaine avec lésions sévères » *versus* « GVH possible, en voie de résolution ». 66
- Figure 23 : Représentation des scores de sensibilité et spécificité pour chaque pathologiste selon le diagnostic microscopique. 67
- Figure 24 : Arbre décisionnel proposé pour l'interprétation d'une biopsie digestive pour suspicion de GVH. 69
- Figure 25 : Distribution hétérogène des lésions de GVH : sur la biopsie, la moitié de la biopsie est normale, l'autre est pathologique, avec plusieurs corps apoptotiques épithéliaux, associés à un chorion d'aspect inflammatoire. 70
- Figure 26 : Illustration d'un cas présentant un aspect microscopique normal à faible grossissement, sans désorganisation architecturale. A plus fort grossissement, présence de nombreux corps apoptotiques (GVH de score 3). 71

# Liste des tableaux et annexes

---

Tableau 1 : Critères pour le grade de GVH aiguë selon les organes, d'après <i>Przepiorka</i> .	20
Tableau 2 : Critères pour le score de GVH chronique en fonction des organes, d'après le <i>National Institutes of Health</i> 2005 et 2014.	20
Tableau 3 : Critères histologiques permettant de grader les GVH digestives.	29
Tableau 4 : Caractéristiques pathologiques des diagnostics différentiels de GVH.	34
Tableau 5 : Description et exemples des 4 scores de GVH utilisés dans ce travail, à partir des recommandations NIH.	40
Tableau 6 : Caractéristiques des patients de notre cohorte.	44
Tableau 7 : Corrélation entre le diagnostic définitif et les scores anatomopathologiques.	45
Tableau 8 : Répartition des patients GVH ou non en fonction des scores histologiques, et récapitulatif des sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative selon les scores histologiques.	48
Tableau 9 : Répartition des patients selon leurs scores histologique et endoscopique.	49
Tableau 10 : Répartition des patients selon le diagnostic de GVH et le score endoscopique.	49
Tableau 11 : Comparaison des critères histologiques entre les groupes « GVH » et « Non-GVH ».	50
Tableau 12 : Répartition des analyses immunohistochimiques en fonction du diagnostic virologique d'infection par le CMV sur biopsie.	53
Tableau 13 : Répartition des analyses immunohistochimiques en fonction du diagnostic virologique d'infection par le CMV à partir d'un échantillon sanguin.	53
Tableau 14 : Distribution du nombre de patients en fonction du traitement par MMF et de la présence ou non d'une GVH.	56
Tableau 15 : Comparaison des critères microscopiques en fonction du traitement par MMF et de la présence ou non d'une GVH.	56
Tableau 16 : Comparaison des critères microscopiques entre les patients « MMF-Non-GVH » et « GVH-Sans MMF ».	57
Tableau 17 : Comparaison du nombre d'amas de cellules endocrines entre les patients « MMF- Non-GVH » et « GVH-Sans MMF ».	57
Annexe 1 : Liste des biomarqueurs diagnostiques, pronostiques et prédictifs candidats. <i>Paczesny, 2015</i> .	81
Annexe 2 : Tableau des données issues de la lecture en aveugle des biopsies pour chaque patient suspect cliniquement de GVH.	82

# Introduction

---

La transplantation de cellules souches hématopoïétiques (CSH) allogéniques est à ce jour le seul traitement curatif des hémopathies ne répondant pas aux traitements habituels. Cependant, elle peut se compliquer de maladie du greffon contre l'hôte (GVH, *graft versus host disease*, terme utilisé tout au long de ce manuscrit), qui est une cause majeure de morbidité et de mortalité post-greffe, affectant 35 à 50 % des patients (1). La GVH peut atteindre plusieurs tissus, notamment la peau, le foie et le tube digestif. Le diagnostic de GVH est déterminé par l'association des données clinico-biologiques et des résultats anatomopathologiques. Sur biopsies, il est souvent difficile de différencier des lésions histologiques typiques de GVH de lésions similaires causées par des infections ou d'origine iatrogène. Après revue de la littérature, certains critères ont été proposés pour distinguer la GVH des diagnostics différentiels. C'est dans ce contexte que nous avons voulu étudier ces différents paramètres sur une série rétrospective de biopsies coliques réalisées chez 112 patients allogreffés, présentant des symptômes cliniques faisant suspecter une GVH digestive, dans le but d'établir des recommandations pratiques pour les pathologistes.

## 1. Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

### A. GENERALITES, INDICATIONS ET MODALITES

Le but de la transplantation de CSH est de remplacer les cellules hématologiques pathologiques du patient receveur par les cellules hématopoïétiques saines d'un donneur. Selon les données de l'Agence de la Biomédecine en 2011, 79 centres avaient réalisé 1769 transplantations de CSH allogéniques chez 1739 patients, soit une augmentation d'environ 6 % par rapport à l'année précédente (2).

La transplantation de CSH allogéniques est un traitement curatif possible des hémopathies malignes telles que les leucémies aiguës (lymphoblastiques ou myéloblastiques), les syndromes myélodysplasiques (aboutissant à une guérison dans 25 à 75 % des cas selon les séries (3, 4)), les lymphomes et le myélome multiple. Ces indications initiales ont été élargies : la transplantation de CSH est également indiquée dans des affections non malignes telles que l'aplasie médullaire sévère, les déficits immunitaires, les maladies métaboliques héréditaires, les thalassémies... (4). La transplantation de CSH est proposée lorsque les autres solutions thérapeutiques curatives sont épuisées.

Plusieurs sources de cellules souches hématopoïétiques sont disponibles ; elles peuvent être issues de la moelle osseuse, du sang périphérique, ou enfin du sang de cordon ombilical. Le donneur peut être intrafamilial (frère ou sœur) HLA-compatible, ou non apparenté, correspondant à un donneur sain dont la compatibilité HLA avec le receveur doit être la plus puissante possible. Les différentes sources de greffon se répartissaient ainsi en France en 2011 :

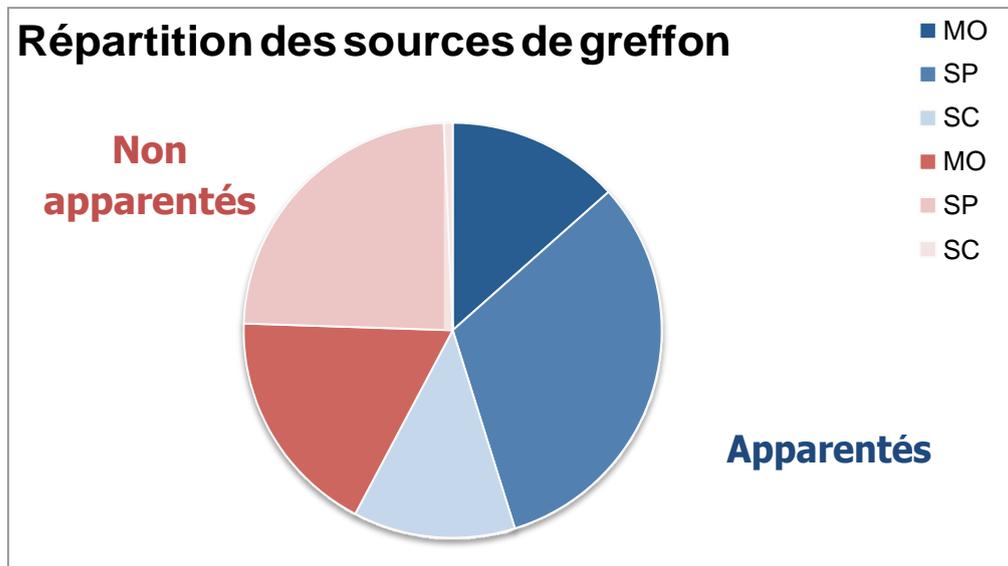


Figure 1 : Répartition des sources de greffon possibles en 2011 selon l'agence de Biomédecine. MO : moelle osseuse, SP : sang périphérique, SC : sang de cordon.

La population « receveur » doit être bien ciblée pour obtenir le meilleur résultat avec le moins de complications possible. Le taux de réussite de la greffe est plus important lorsque les patients sont greffés à un stade précoce de leur maladie (3).

Les patients devant bénéficier d'une transplantation subissent un conditionnement pré-greffe (chimiothérapie +/- radiothérapie) dont le but est de réduire le nombre de cellules tumorales (dans les cas d'hémopathies malignes) et de dépléter le receveur de ses cellules immunocompétentes non malignes afin de prévenir un rejet de greffe (5). Il existe trois types de conditionnement :

- conditionnement **myéloablatif** : irradiation corps entier à haute dose, +/- administration d'agents alkylants, induisant une pancytopenie irréversible,
- conditionnement **non myéloablatif** : irradiation corps entier à faible dose, ou chimiothérapie, ou irradiation lymphoïde totale ou globulines anti-thymocytes, induisant une

pancytopénie minime. Le principal avantage de ce conditionnement est sa moindre toxicité, il peut donc être proposé à des patients plus âgés,

- conditionnement **d'intensité réduite** : intermédiaire entre les deux conditionnements précédents. Les doses d'irradiation corps entier ou des agents alkylants administrés sont diminués de 30 % par rapport au conditionnement myéloablatif (6).

Le choix du conditionnement dépend de l'âge du receveur et de ses comorbidités, de la durée de cytopénie désirée, de la pathologie initiale et du type de don (degré de compatibilité receveur / donneur).

Le greffon est ensuite injecté quand le patient entre en aplasie, avec un isolement associé de plusieurs semaines. Le traitement immunosuppresseur est également introduit afin de prévenir un rejet de greffe : inhibiteur calcique (cyclosporine ou tacrolimus) associé, soit à du methotrexate, soit à du mycophenolate mofetil (MMF).

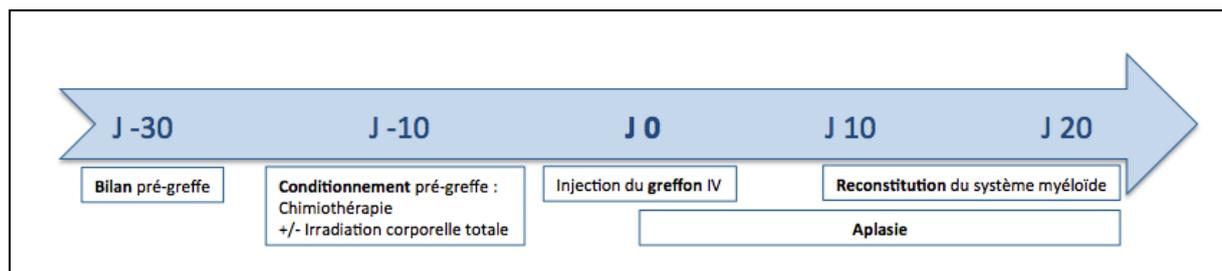


Figure 2 : Schéma récapitulatif du parcours de la greffe de cellules souches pour le receveur. IV : *intra-veineux*.

## B. EFFET DE LA GREFFE CONTRE LA TUMEUR

Le but de l'allogreffe est également d'obtenir un effet *Graft versus leukemia* ou *Graft versus tumor*. Historiquement, l'élimination des cellules tumorales malignes post-greffe avait été attribuée au conditionnement myéloablatif. Puis d'autres études ont suggéré que les lymphocytes T du donneur jouaient un rôle crucial dans l'induction de l'effet *Graft versus leukemia* mais aussi de la GVH. En effet, des greffons parfaitement compatibles (issus de jumeaux) mais déplétés en lymphocytes T n'induisaient pas d'effet *Graft versus leukemia*. Au contraire, des perfusions de lymphocytes de donneur (DLI) peuvent induire un véritable effet *Graft versus leukemia* (7).

Cette réponse anti-tumorale est initiée par la présentation de peptides tumoraux. Cette dernière se fait soit directement par les cellules leucémiques, soit indirectement par les cellules présentatrices d'antigènes du donneur ou de l'hôte (macrophages, lymphocytes B, cellules dendritiques). Cette présentation active les lymphocytes T du donneur qui vont devenir effecteurs, et sécréter de

nombreuses cytokines induisant une réponse cytotoxique contre les cellules malignes ; cette réponse est principalement médiée par les lymphocytes T CD4+, CD8+ et NK (7).

### C. COMPLICATIONS POSSIBLES

La transplantation de CSH allogéniques est associée à une augmentation significative de la morbidité et de la mortalité car elle expose les patients aux complications suivantes :

- *complications iatrogènes du conditionnement* : complications cardio-vasculaires (cardiomyopathie, endocardite thrombotique non bactérienne, accident vasculaire cérébral), complications rénales (nécrose tubulaire aigüe), maladie veino-occlusive hépatique, pulmonaires (pneumopathie interstitielle, bronchiolite oblitérante), neurologiques, cystite hémorragique, ophtalmologiques (rétinopathie vasculaire, complications hémorragiques, rétinite infectieuse, cataracte,...), troubles hormonaux (8),
- *complications du traitement immunosuppresseur* : insuffisance rénale, troubles neurologiques, complications infectieuses (virales, bactériennes et fongiques),
- *complications des thérapeutiques associées* : ostéopénie, ostéoporose et ostéonécrose aseptique de la tête fémorale (en rapport avec une corticothérapie prolongée),
- *complications liées à la greffe* : rejet de greffe / GVH ; le risque de développer une GVH est supérieur après transplantation de CSH (risque de 35 à 50 %) par rapport à une greffe d'organe solide (risque maximal d'environ 6 %) (9, 10),
- *complications malignes* : cancer secondaire (sur terrain immunodéprimé ayant subi une irradiation corps entier), syndrome lymphoprolifératif post-greffe (11-14 ),
- *récidive de l'hémopathie initiale* : le risque est plus faible si le conditionnement pré-greffe est de faible intensité et lorsque la maladie initiale est un lymphome du manteau ou un lymphome folliculaire (15).

Parmi ces complications, la GVH, les infections et la rechute sont les principales causes de mortalité (16).

## 2. Maladie du greffon contre l'hôte

### A. DEFINITION ET EPIDEMIOLOGIE

Bien que la GVH soit considérée comme une complication de la transplantation de CSH *allogéniques*, elle peut potentiellement survenir dans un contexte de transplantation de CSH *autologues* ; elle est possible après don de cellules souches de la fratrie HLA-compatible, et même sous traitement immunosuppresseur, avec toutefois une incidence plus faible, mais la mortalité reste importante (17). Elle est due au fait que les greffons contiennent deux types de cellules souches : des cellules dont le rôle va consister en la reconstitution de l'hématopoïèse, et une population de cellules immunocompétentes capables de reconnaître le « non-soi », c'est-à-dire l'hôte, et responsables de la maladie du greffon contre l'hôte. La présence de ces cellules immunocompétentes est toutefois primordiale pour aboutir à l'effet recherché de *Graft versus tumor*.

Il est classique de différencier les formes aiguës de GVH des formes chroniques, qui diffèrent selon les tissus atteints, tant sur la présentation clinique que la physiopathologie ; la distinction se faisant initialement sur le délai d'apparition post-greffe, la GVH aiguë survenant dans les premiers 100 jours post-greffe, et la GVH chronique au-delà de 100 jours. Le *National Institutes of Health* (NIH) distingue cependant de véritables GVH aiguës survenant après les 100<sup>ers</sup> jours, et un syndrome de chevauchement associant une GVH chronique et aiguë (18). La GVH chronique est soit d'apparition progressive après une GVH aiguë (environ 50 % des GVH aiguës évoluent vers une forme chronique) (1), soit elle apparaît après un intervalle libre après une GVH aiguë (forme quiescente), soit elle apparaît *de novo* sans GVH aiguë (19).

Selon les séries, environ 37 % des patients allogreffés développent une GVH aiguë, dont un tiers des malades meurt de ses conséquences ; et 35 à 70 % développent une GVH chronique (3, 20-22).

### B. MANIFESTATIONS CLINIQUES

Les tissus atteints par la GVH sont la peau dans 57 %, le tube digestif dans 17 %, le foie dans 1 %, et une atteinte pluritissulaire est observée dans 25 % (21, 23).

L'atteinte **cutanée** peut prendre divers aspects, allant de l'érythème localisé à un véritable syndrome de Lyell. L'atteinte **digestive** se manifeste par des douleurs abdominales, diarrhées, nausées/vomissements. Enfin, l'atteinte **hépatique** se traduit classiquement par une hépatite et un

ictère cholestatique. La première classification pour grader la sévérité de la GVH a été publiée en 1974 par Glucksberg (17). A ce jour, la sévérité clinique s'évalue en 5 grades pour chaque organe (0 à 4, résumés dans le tableau 1), et les scores sont compilés afin d'obtenir un grade clinique global de GVH (exprimé de I à IV).

Grade	Cutané	Hépatique (bilirubine)	Gastro-intestinal
0	Absence de rash	<2 mg/dL	Absence de diarrhée
1	<25 %	2 - <3 mg/dL	500-1000 mL/jour, nausées, anorexie
2	25 – 50 %	3 - <6 mg/dL	1000-1500 mL/jour, nausées, anorexie
3	Erythème généralisé	6 - <15 mg/dL	1500-2000 mL/jour
4	Bulles, desquamation	≥15 mg/dL	>2000 mL/jour, douleurs sévères, +/- ileus

Tableau 1 : Critères pour le grade de GVH aigüe selon les organes, d'après *Przepiorka*.

Les grades I et II ont un pronostic globalement favorable, tandis que la mortalité des grades IV avoisine les 100 %. La forme aigüe cutanée de GVH ne menace généralement pas le pronostic vital et les traitements sont souvent efficaces. Concernant la forme digestive, il convient de différencier les formes digestives hautes des formes basses, car elles se distinguent par leurs présentations cliniques, leurs réponses thérapeutiques et leurs risques de mortalité (24).

La GVH chronique est définie par la présence d'au moins un signe clinique d'atteinte chronique (Tableau 2) confirmé par un examen complémentaire (biopsie, biologie, imagerie,...). Le diagnostic ne peut être porté qu'après avoir éliminé les diagnostics différentiels (18).

Score	Cutané	Hépatique	Gastro-intestinal
0	Absence de symptôme	Fonction hépatique normale	Absence de symptôme
1	<19 % SCA, absence de lésions sclérotiques	PAL ≥3N, ou ALAT ≥3 à 5N	Symptômes (dysphagie, nausées, vomissements, anorexie, douleurs, diarrhée) et perte de poids <5 %
2	19-50 % SCA ou lésions sclérotiques	Bilirubine totale augmentée mais <3mg/dL ou ALAT >5N	Symptômes et perte de poids entre 5 et 15 %
3	>50 % SCA ou lésions sclérotiques profondes ou atteinte de la mobilité	Bilirubine totale >3mg/dL	Symptômes sévères et perte de poids >15 %

Tableau 2 : Critères pour le score de GVH chronique en fonction des organes, d'après le *National Institutes of Health* 2005 et 2014 (18, 25). SCA : *surface corporelle atteinte*, PAL : *phosphatase alcaline*, ASAT : *aspartate amino-transférase*, ALAT : *alanine amino-transférase*, N : *normale biologique*

Le diagnostic de GVH est multidisciplinaire : il est clinique, étayé par l'examen anatomopathologique des biopsies réalisées au niveau des sites impliqués. L'apport anatomopathologique est important pour conforter –ou non- la suspicion clinique, et éliminer un éventuel diagnostic différentiel (infection virale, complication iatrogène). Une récente revue a listé des bio-marqueurs diagnostiques, pronostiques de GVH et prédictifs de la réponse au traitement pouvant aider le clinicien au diagnostic et à la prise en charge du patient (Annexe 1) (26).

### C. PHYSIOPATHOLOGIE

La physiopathologie de la GVH suit 3 phases, comme illustré en Figure 3 :

1/ induction d'une *réaction inflammatoire*, résultant du conditionnement pré-greffe par irradiation corps entier et/ou chimiothérapie. En réponse, les tissus endommagés sécrètent de nombreuses cytokines inflammatoires : interleukine-1 (IL-1), IL-6, tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) et interféron  $\gamma$  ;

2/ *activation des lymphocytes T* du donneur, qui reconnaissent comme « étrangers » les antigènes du receveur présentés par les cellules présentatrices d'antigènes. Ces lymphocytes se différencient alors en lymphocytes T cytotoxiques, habituellement CD8+ ;

3/ *phase effectrice* : elle implique plusieurs effecteurs inflammatoires : lymphocytes T CD4+ et CD8+, NK (natural killer), et probablement les monocytes et granulocytes (27). Les lymphocytes T activés induisent une cytotoxicité contre les cellules de l'hôte par l'intermédiaire de plusieurs molécules sécrétées (perforine, granzymes, ligand Fas et TNF- $\alpha$ ), conduisant à la maladie du greffon contre l'hôte. Le TNF- $\alpha$  est produit initialement par les monocytes et les macrophages, puis par les lymphocytes T, il est retrouvé exprimé dans toutes les biopsies de GVH aiguës (28). Il provoque directement des dommages tissulaires en induisant la nécrose ou l'apoptose des cellules hôtes. Les cytokines sécrétées induisent des dommages tissulaires et perpétuent la stimulation cellulaire (19, 29, 30).

Les cytokines inflammatoires jouent donc un rôle prépondérant dans la pathogenèse de la GVH. Une prévention est possible en éliminant les lymphocytes T du greffon, mais cette procédure expose en retour à une augmentation du risque de rejet de greffe et à une augmentation du taux de rechute (8).

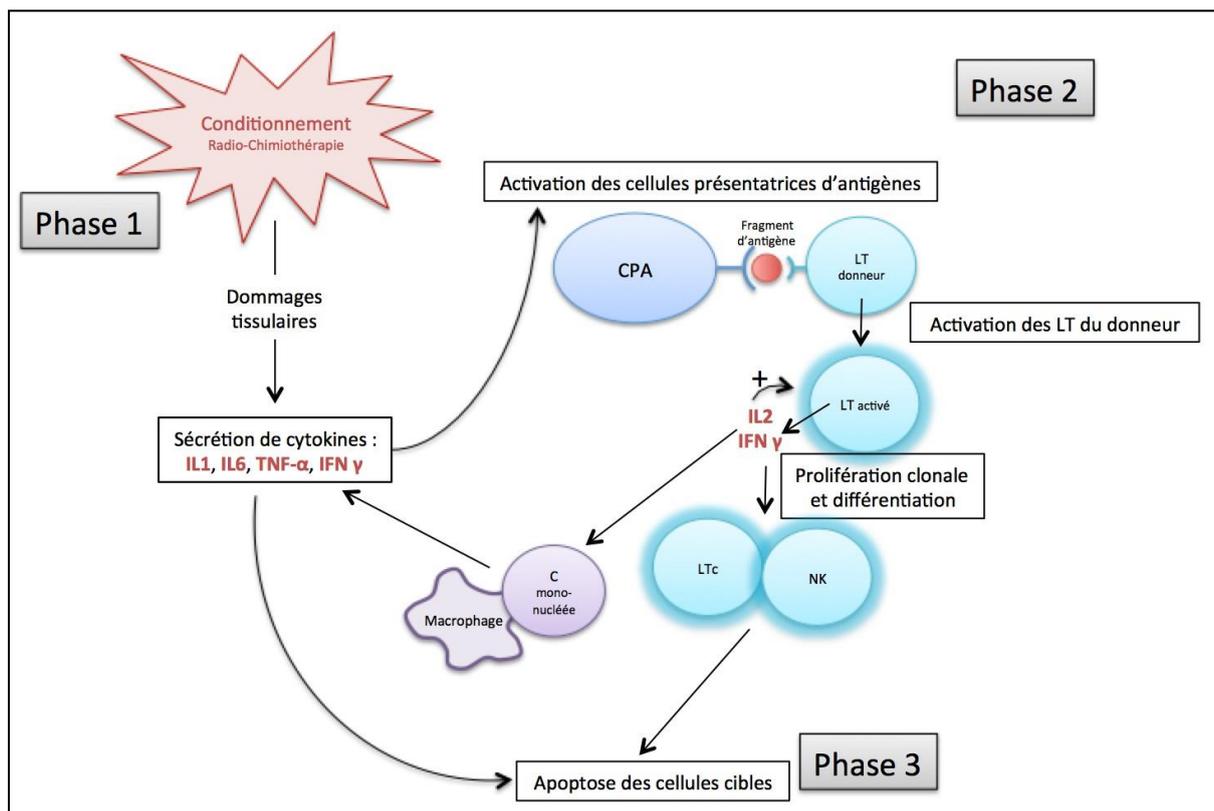


Figure 3 : Schéma de la physiopathologie de la maladie du greffon contre l'hôte, inspiré de Ferrara et Couriel (29, 30). C: cellule, CPA: cellule présentatrice d'antigènes, LT(c): lymphocyte T (cytotoxique), NK: natural killer.

#### D. FACTEURS DE RISQUE DE DEVELOPPER UNE GVH

Plusieurs facteurs de risque ont été identifiés, dont certains sont plus ou moins retrouvés en fonction des séries :

- l'âge du patient receveur : le risque de GVH augmente quand la greffe a lieu à l'âge adulte, après 18 ans (31, 32) ;
- l'âge du donneur : la survie à 5 ans après greffe passe de 33 % à 25 % entre des donneurs de moins de 30 ans et de plus de 45 ans (33) ;
- le mésappariement des genres : le risque augmente lorsque le donneur est féminin, de part son allo-immunité acquise, et le risque augmente d'autant plus que le nombre de grossesses de la donneuse augmente (31). De plus, ce facteur impacte négativement sur la survie (34) ;
- la disparité HLA : les techniques de biologie moléculaire permettent maintenant de trouver la meilleure compatibilité HLA donneur/receveur. Plus la disparité HLA est importante, plus le risque de GVH est grand (23) ;

- la source et la quantité de cellules souches : le risque augmente lors d'une greffe de cellules souches de sang périphérique, au contraire il diminue lors d'un transplant de cellules de sang de cordon (21, 32, 35), et plus le nombre de cellules souches transplantées est important, plus le risque augmente (36) ;
- le type de conditionnement et son intensité : l'incidence de la GVH est plus importante après un conditionnement myéloablatif qu'un conditionnement non myéloablatif (37) ;
- la prophylaxie anti-GVH utilisée : la cyclosporine est un facteur de risque de développer une GVH (36).

### 3. Maladie du greffon contre l'hôte digestive

#### A. DIAGNOSTIC CLINIQUE ET ENDOSCOPIQUE

Après transplantation, environ 45 % des patients présentent des troubles gastro-intestinaux (38), et la GVH digestive affecte 20 à 50 % des patients ayant bénéficié d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques, avec 10 % de formes digestives basses (39).

Historiquement, la classification clinico-pathologique a été élaborée par Shulman en 1980 à partir d'une cohorte de 20 patients (40). Globalement, les symptômes devant faire évoquer une GVH sont des douleurs abdominales accompagnées de diarrhée sécrétoire, rectorragies, nausées et vomissements.

Devant une diarrhée chez un patient allogreffé, le premier diagnostic à évoquer, du fait de sa gravité, est une GVH digestive, mais le même tableau clinique peut être dû à une infection isolée ou associée au diagnostic de GVH, ou à une origine iatrogène (41). Afin d'affiner le diagnostic, il est nécessaire d'effectuer une endoscopie digestive avec biopsies pour analyses anatomopathologique et infectieuse (bactériologique, virologique, parasitologique). Le choix entre colonoscopie ou recto-sigmoïdoscopie a longtemps été débattu, il est aujourd'hui admis que leurs efficacités sont équivalentes (39, 42), et que la biopsie rectale est tout à fait contributive en première intention (43, 44). Les lésions étant souvent disparates, une fibroscopie œso-gastrique peut compléter l'endoscopie basse afin de ne pas méconnaître le diagnostic de GVH (45). Cependant, les critères endoscopiques utilisés pour le grading (« critères de Freiburg ») (1 : érythème léger, 2 : érythème et/ou œdème modéré, 3 : érosion de la muqueuse et/ou

saignements, 4 : ulcérations, exsudats et saignements) sont plus ou moins bien corrélés au diagnostic histologique, tant dans les formes aiguës que chroniques (46-48). De plus, le caractère hétérogène et disparate des lésions de GVH peut conduire à un examen endoscopique d'aspect normal et inversement, ce qui amène à dire que la sévérité de la GVH ne peut pas être évaluée par l'examen endoscopique seul (49-51).

La GVH digestive chronique survient par définition après les 100<sup>ers</sup> jours post-greffe. Sa prévalence est de 50 % après transplantation de CSH (52) et elle correspond soit à une progression d'une GVH aiguë initiale (résolutive ou non), soit elle survient *de novo*. La forme chronique digestive diffère de la forme aiguë par sa distribution : en effet, l'œsophage est constamment atteint, et l'intestin grêle est alors plus épargné que dans la forme aiguë. Les raisons de ces différences ne sont pas connues (53). Comme cité plus haut, selon les recommandations du *National Institutes of Health* de 2005 et 2014, le diagnostic de GVH chronique est désormais porté en présence d'au moins une manifestation clinique caractéristique de la chronicité, confirmée par un examen complémentaire. Concernant le système digestif, ces manifestations cliniques ne concernaient que l'œsophage (stries œsophagiennes, jusqu'à la sténose) dans les recommandations de 2005 (18) ; il a été rajouté en 2014 la notion de perte de poids non-intentionnelle associée, plus ou moins à une insuffisance pancréatique (25). La distinction entre formes aiguë et chronique de GVH répond ainsi à une définition clinique ou endoscopique, et ne peut donc être faite sur une analyse microscopique ; ce travail ciblé sur les biopsies coliques traitera donc de la GVH dans son ensemble, sans différencier le caractère aigu ou chronique de la maladie.

#### B. PHYSIOPATHOLOGIE : PARTICULARITES LIEES AU SITE

Au niveau gastro-intestinal, la maladie du greffon contre l'hôte cible les cellules souches intestinales localisées au fond des cryptes, et les cellules sécrétrices (cellules de Paneth et caliciformes). Il s'ensuit une diminution de la régénération des cellules digestives et la perte des cellules sécrétrices conduit à un déséquilibre de la flore microbiologique intestinale (54). Tout ceci mène à un cercle vicieux entretenant la GVH et favorisant les infections.

Des lésions endothéliales et une perte des micro-vaisseaux sont également décrites (55).

## C. DIAGNOSTIC ANATOMOPATHOLOGIQUE

L'analyse anatomopathologique dans le diagnostic de GVH, associée aux critères cliniques, a toute sa place. Peu d'études ont été réalisées de manière prospective, il est rapporté qu'il peut y avoir de véritables signes pathologiques de GVH sans symptôme digestif diarrhéique, mais avec atteinte d'un autre organe cible (56). L'étude de Liu retrouvait une sensibilité et spécificité respectives de 92 % et 91 % (42). Qu'elle que soit l'origine du greffon, les caractéristiques histopathologiques de la GVH sont similaires (27).

Les intérêts de réaliser des biopsies sont de confirmer le diagnostic de GVH, d'écarter les diagnostics différentiels, et éventuellement d'évaluer la sévérité des lésions ; l'utilité de prélèvements itératifs n'est pas prouvée pour juger de la réponse au traitement (52).

### 1. Description microscopique

#### a. Corps apoptotiques

La lésion anatomopathologique élémentaire de la GVH digestive est le corps apoptotique (CA) épithélial (56, 57). Ce CA correspond à une cellule épithéliale en apoptose, vacuolisée, contenant des débris intra-cytoplasmiques basophiles carryorhexiques (27). On le trouve initialement au niveau des couches cellulaires les plus prolifératives, puis les lésions s'étendent vers les cellules de surface (Figure 4).

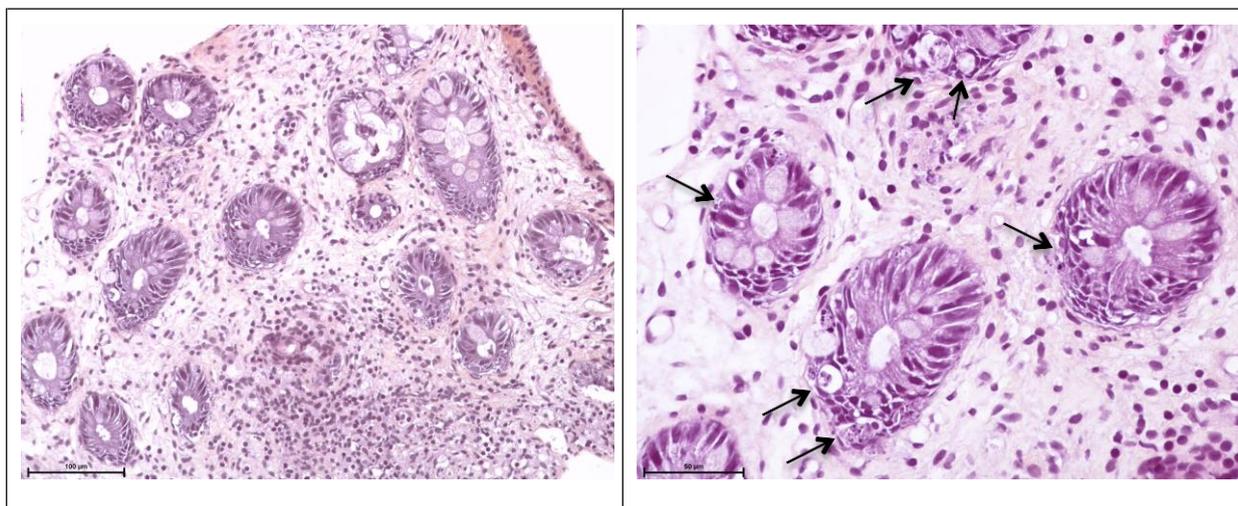


Figure 4 : Biopsie présentant des lésions de GVH : glandes lésionnelles avec nombreux corps apoptotiques épithéliaux (flèches) (HES, x200 et x400).

Toute lésion apoptotique située au niveau des zones régénératives doit être considérée comme pathologique (58). Au contraire, l'apoptose tout le long de la surface épithéliale n'est pas

spécifique de GVH (59). Ces corps apoptotiques sont caractérisés par une distribution focale et hétérogène, rendant leur identification parfois difficile, et sont observés en quantité variable.

Une fois repéré, le nombre de CA nécessaire au diagnostic reste discuté entre les auteurs, certains requièrent un nombre minimum de 1 CA par biopsie (27). Nguyen évoque qu'un seul corps apoptotique isolé dans le prélèvement peut signer une GVH précoce après élimination d'autres étiologies confondantes (conditionnement pré-greffe, causes infectieuses, préparations endoscopiques). Or dans cette série, ce scénario était fréquent, retrouvé dans plus de la moitié des cas (64 %) (51). Selon les recommandations NIH 2005, le nombre minimal de corps apoptotiques nécessaire au diagnostic est variable. Les seuils proposés sont :

- un minimum de 1 corps apoptotique par biopsie (Université de Michigan),
- un minimum de corps apoptotiques supérieur ou égal au nombre total de biopsies (Centre de Recherche contre le Cancer Fred Hutchinson),
- la présence de corps apoptotiques disséminés, retrouvés dans plus d'une crypte (M.D. Anderson) (52).

Mais aucune de ces recommandations ne spécifie le nombre de biopsies et/ou de niveaux minimum devant être examinés. En combinant les caractéristiques pathologiques et l'évolution clinique, Lin a montré que la présence de moins de 7 corps apoptotiques dans 10 glandes successives n'était pas suffisante pour porter le diagnostic de GVH. En effet, la présence isolée de corps apoptotiques peut être liée à une infection ou une cause iatrogène : ces lésions apoptotiques sont retrouvées dans environ 20 % des biopsies coliques subnormales provenant de patients non transplantés (60).

Au maximum, les lésions apoptotiques conduisent à une destruction épithéliale massive avec perte des cryptes et glandes, et dont la sévérité prédit un score clinique élevé de GVH, s'accompagnant d'une résistance au traitement corticostéroïde, et d'une mortalité élevée (47).

Enfin, lorsque la GVH évolue depuis quelque temps ou après traitement, les CA ne sont plus visibles et la muqueuse devient atrophique avec distorsions architecturales et fibrose du chorion, mimant des lésions de maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) ou d'ischémie chronique, rendant le diagnostic plus difficile.

#### b. Inflammation

La GVH digestive est le plus souvent peu inflammatoire (57, 58), mais la présence de polynucléaires neutrophiles ou éosinophiles n'exclut pas le diagnostic (49). Lorsqu'une inflammation chronique est présente, il s'agit d'un infiltrat polymorphe constitué de plasmocytes, lymphocytes et polynucléaires éosinophiles, pouvant aider à repérer les lésions épithéliales. Selon la série de Daneshpouy, toutes les biopsies présentant une **éosinophilie**, définie par un compte de polynucléaires éosinophiles dans la lamina propria >5 pour un champ au fort grossissement (x400), étaient issues de patients porteurs d'une GVH, et la densité en éosinophiles était corrélée à la gravité de la maladie. Mais la réciprocity n'était pas retrouvée : 56 % des patients ne présentant pas d'éosinophilie sur biopsie étaient porteurs d'une GVH (61). Par ailleurs, une autre étude ne montrait pas de différence dans le compte des polynucléaires éosinophiles (59). Ce critère s'avère donc être très peu sensible. Dans une étude similaire, Socié trouvait que la présence de plus de 20 **polynucléaires neutrophiles**, ou plus de 5 corps apoptotiques par champ au fort grossissement était associée à une augmentation précoce de la mortalité (à J90) (28). Dans une étude antérieure, il était décrit une augmentation du nombre de **macrophages**, 5 fois plus importante en cas de greffe allogénique, *versus* autologue (62). Cependant, le degré d'inflammation ou l'étendue des lésions épithéliales ne prédit pas la réponse au traitement.

#### c. Cellules neuroendocrines

La présence d'amas de cellules endocrines est fréquemment décrite comme un signe caractéristique de GVH. Ces cellules sont épargnées et « mises à nu » après la disparition des cellules épithéliales, ce qui les rend plus visibles (27, 63). Le mécanisme n'est pas élucidé, mais les cellules neuroendocrines résisteraient mieux aux lésions de GVH que les cellules épithéliales, ce qui faciliterait leur observation en clusters après altération des cellules épithéliales (11).

#### d. Lésions endothéliales

Les hémorragies péri-capillaires au sein de la lamina propria pourraient être un critère diagnostique supplémentaire de GVH digestive sévère. Ces hémorragies apparaissent après des lésions endothéliales et rupture de la membrane capillaire, aboutissant à l'extravasation d'hématies. Ces lésions sont seulement retrouvées chez les patients atteints de GVH sévère, et peuvent être soulignées par l'anticorps anti-CD31. Ce critère est plutôt intéressant vis à vis du mécanisme physiopathologique de la GVH mais il s'avère difficile à évaluer en pratique

quotidienne. En effet, des suffusions hémorragiques sont fréquemment retrouvées au sein des biopsies, dues aux artéfacts traumatiques du geste biopsique lui-même (64).

#### e. Distinction des formes aiguë et chronique

L'apoptose épithéliale associée à l'atrophie glandulaire, l'ulcération muqueuse, une fibrose sous-muqueuse ou profonde, ou la métaplasie des cellules de Paneth (d'autant plus qu'elle se situe au niveau du colon gauche ou du rectum) seraient des signes de GVH chronique (50, 52). Ces aspects histologiques tardifs ont été décrits à partir d'une série autopsique. En pratique, et selon les recommandations NIH, aucun signe histologique n'est spécifique de la forme chronique (27, 52).

## 2. *Recommandations anatomopathologiques*

### a. Préanalytique

Il est établi que des biopsies réalisées précocement après la greffe peuvent être faussement positives pour le diagnostic de GVH. Epstein a montré en 1980, par une étude prospective, que des biopsies rectales réalisées dans les 20 premiers jours post-greffe montraient une apoptose diffuse. Toutes les biopsies étaient répondues comme anormales à J10. La microscopie redevenait sensiblement normale en l'absence de GVH à J20 (65). Les prélèvements doivent donc être réalisés à partir du 21<sup>ème</sup> jour post-greffe afin de pouvoir porter un diagnostic de GVH.

Concernant les recommandations techniques, du fait du caractère hétérogène de la distribution des lésions apoptotiques épithéliales, un minimum de 8 sections devrait être réalisé sur chaque bloc afin de ne pas méconnaître des corps apoptotiques et des inclusions virales de type CMV (52).

L'utilité de biopsies itératives pour juger de l'efficacité du traitement n'est pas prouvée (52).

### b. Analytique : compte-rendu anatomopathologique

La classification historique des GVH a été établie par Lerner en 1974 (66). Elle comporte 4 grades de sévérité en fonction du nombre de corps apoptotiques et de cryptes atteintes :

- grade 1 : corps apoptotiques isolés dans différentes cryptes ;

- grade 2 : perte isolée de cryptes ;
- grade 3 : perte de 2 cryptes adjacentes ou plus, associée à des ulcérations muqueuses ;
- grade 4 : perte de la muqueuse.

Depuis 2006, les recommandations pour le diagnostic anatomopathologique des biopsies digestives adressées pour suspicion de GVH a été revu comme suit, mettant de côté le système de grading de Lerner :

- **absence** de GVH ;
- GVH **possible** ;
- GVH **probable** / **en faveur** d'une GVH ;
- GVH **certaine** (52).

En 2015, une nouvelle recommandation NIH concernant les différentes catégories diagnostiques de GVH a vu le jour. La corrélation et le détail de ces recommandations sont décrits dans le tableau 3 ci-dessous :

Scores NIH 2006	Critères histologiques	Scores NIH 2015
<b>Absence de GVH</b>		<b>Absence de GVH</b>
<b>GVH possible</b>	Signes pathologiques de GVH, mais pouvant être attribués à d'autres causes : CMV, origine iatrogène (MMF ou autre)	<b>GVH possible</b>
<b>En faveur d'une GVH</b>	Signes pathologiques évidents de GVH, mais présence de facteurs limitants : échantillon minime, corps apoptotiques rares, radio/chimiothérapie récente	<b>GVH probable</b>
<b>GVH certaine</b>	Aucun doute pour porter le diagnostic	

Tableau 3 : Critères histologiques permettant de grader les GVH digestives (20, 52). *MMF : mycophenolate mofetil.*

Ayant débuté ce travail en 2014, nous avons utilisé le système de réponse en 4 catégories, recommandé par le consensus NIH de 2006.

### 3. Puissance du diagnostic anatomopathologique

Devant le caractère focal, hétérogène et potentiellement peu spécifique des lésions de GVH, il est peu surprenant que les scores de corrélation inter- et intra-observateurs soient parfois décevants. Si les critères sont bien reconnus par les pathologistes (lésions épithéliales

apoptotiques, destructions et dilatations glandulaires, perte des cryptes) (56), les observateurs divergent entre eux sur l'interprétation et la signification de ces lésions (67).

#### 4. Apport de l'analyse immunohistochimique

Devant les difficultés rencontrées pour poser un diagnostic anatomopathologique de GVH digestive, plusieurs études se sont intéressées à l'apport de l'immunohistochimie.

L'anticorps **anti-chromogranine**, marqueur des cellules neuroendocrines, permet de repérer les amas persistants de cellules endocrines au sein du chorion, souvent difficilement visualisables sur la coloration HES. Plusieurs articles ont montré que ces amas étaient plus nombreux dans les biopsies avec lésions de GVH par rapport à des biopsies digestives normales ou de colite induite par le MMF (27, 68, 69).

L'anticorps **anti-CD123**, marqueur des cellules dendritiques plasmocytoïdes (présentatrices d'antigènes), pourrait être une aide pour le diagnostic de GVH, dans les formes légères ou précoces, ou pour distinguer une cause iatrogène (mycophenolate mofetil). En effet, dans l'étude de Lin, l'anticorps anti-CD123 était retrouvé positif dans 65,8 % des biopsies coliques présentant une GVH, contre 14,3 % des biopsies présentant une colite à CMV, et dans aucun cas des patients sans GVH, ou sous mycophenolate mofetil (70).

L'anticorps **anti-caspase-3** a également été proposé. La cascade apoptotique mise en jeu dans la GVH mène à l'activation de cette caspase et l'anticorps anti-caspase-3 permet de détecter les cellules apoptotiques (71). Cette analyse immunohistochimique n'est pas recommandée en routine, et ne se substitue en rien à une coloration HES de qualité avec plusieurs niveaux de coupe (52). En effet, les cellules apoptotiques sont la plupart du temps faciles à repérer et il s'agit d'un critère reproductible entre les observateurs (27), de plus cet anticorps ne permet pas de différencier la cause de l'apoptose (GVH ou infection).

Il a été rapporté, de manière plus anecdotique, que les lésions vasculaires de type détachement de cellules endothéliales, visibles dans les GVH de stades les plus sévères, pouvaient être mises en évidence par l'anticorps **anti-CD31** (64).

Concernant les diagnostics différentiels, l'infection par CMV est relativement fréquente chez cette population à risque. Les inclusions virales étant parfois difficiles à mettre en évidence, certains auteurs recommandent de réaliser une immunohistochimie **anti-CMV** de manière systématique (10).

Mais à ce jour, aucun anticorps n'est conseillé en routine pour aider au diagnostic de GVH.

## D. DIAGNOSTICS DIFFERENTIELS

### 1. Cliniques

Le tableau clinique (diarrhées, nausées, vomissements) de GVH digestive est peu spécifique. Ainsi, les patients présentant un tableau de diarrhée aiguë doivent avoir un bilan à la recherche d'infections digestives les plus classiques (CMV, adénovirus, *Clostridium Difficile* pour les principales). Si les symptômes ne s'améliorent pas, et si le patient est sous traitement immunosuppresseur, il convient d'élargir le bilan infectieux aux autres agents pathogènes intestinaux : norovirus, rotavirus, astrovirus, cryptosporidia, giardia lamblia, microsporidia, et autres en fonction des points d'appel (conditions géographiques, origine du patient,...) (72).

Le tableau clinique peut également évoquer des diagnostics différentiels non infectieux : toxicité iatrogène du conditionnement ou des traitements immunosuppresseurs (mycophenolate mofetil, tacrolimus, cyclosporine), insuffisance pancréatique.

Enfin, la colite après greffe de sang de cordon doit être évoquée en fonction de l'origine des cellules souches transplantées. Les symptômes (diarrhée sécrétoire principalement) sont alors d'apparition plus tardive. La colite après greffe de sang de cordon est une entité récente, décrite en 2011, définie par une inflammation granulomateuse dans 64 % des cas (35, 73). S'y associent une colite chronique active avec cryptite neutrophilique et une métaplasie à cellules de Paneth. Les lésions épithéliales apoptotiques peuvent être présentes, mais elles ne représentent pas un critère diagnostique de l'entité. Le diagnostic est important à faire car le traitement diffère totalement de celui de la GVH, l'entité étant également définie par sa réponse à un traitement antibiotique adapté (association de fluoroquinolones et metronidazole) (73). Le pronostic est ici favorable à partir de la mise en place du traitement antibiotique.

### 2. Anatomopathologiques

L'apoptose épithéliale n'est pas pathognomonique de la GVH ; elle peut être observée dans :

- les lésions iatrogènes induites par l'immunosuppresseur mycophénolate mofetil (MMF), les anti-inflammatoires non stéroïdiens ou le 5 fluoro-uracile (74, 75) ;
- les lésions induites par des agents infectieux (CMV, adénovirus) (57) ;
- pendant la phase précoce post-greffe (dans les 20<sup>ers</sup> jours), en rapport avec le conditionnement thérapeutique (8, 27, 58, 76).

Plus rarement, il est rapporté que certaines préparations pour coloscopie à base de phosphate de sodium induisent des lésions endoscopiques de type aphtoïde. Microscopiquement, sont alors retrouvées des lésions ulcéreuses, des cryptites avec remaniements des cellules épithéliales et présence de véritables corps apoptotiques ; l'infiltrat inflammatoire chronique est souvent discret (77, 78).

#### a. Mycophenolate Mofetil (MMF)

Le MMF est un immunosuppresseur largement utilisé après transplantation de CSH allogéniques ou greffe d'organes solides. Il s'agit d'une pro-drogue, convertie en acide mycophénolique, qui inhibe la synthèse des purines dans les lymphocytes B et T. Le MMF peut mimer microscopiquement des lésions de colite aiguë dans la moitié des cas, une maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) dans 36 % des cas, une GVH dans 8,3 % des cas, ou des lésions ischémiques dans 5,6 % des cas, sans que ces lésions induites soient doses-dépendantes (38, 69, 74, 79-82). Ces lésions induites par le MMF sont décrites sur tout le tube digestif, haut et bas (20). Microscopiquement, les lésions sous MMF correspondent ainsi à une distorsion architecturale, une apoptose épithéliale, des cryptites focales avec infiltrat inflammatoire modéré à intense, constitué principalement de plasmocytes et d'éosinophiles, des ulcérations et un œdème de la lamina propria (75, 79, 81).

La problématique principale est que certains patients présentant des symptômes cliniques évocateurs de GVH sont traités par MMF ; trois critères ont cependant été proposés pour tenter de différencier les deux diagnostics :

1- le nombre de **corps apoptotiques** ne semble pas être un facteur fiable entre les différents travaux : certains auteurs ont montré que le nombre de corps apoptotiques était significativement moindre dans les colites à MMF (74), quand d'autres ne trouvaient aucune différence significative (69) ;

2- le nombre d'**amas de cellules neuroendocrines** est augmenté dans la colite à MMF (par rapport aux échantillons de patients non-GVH et ne recevant pas de MMF), mais aucune différence significative n'est notée entre les groupes MMF et GVH (74). Ces lésions histologiques sont plus sévères dans le colon droit (82) ;

3- selon l'étude de Star, un nombre de **polynucléaires éosinophiles** >15 pour 10 champs au fort grossissement (x400) en l'absence de micro-abcès apoptotiques et de clusters de cellules neuroendocrines serait un bon signe prédictif en faveur d'une colite à MMF *versus* GVH (69).

Un autre travail retrouvait un nombre significativement diminué de corps apoptotiques et d'amas de cellules endocrines dans le groupe MMF *versus* GVH (68).

#### b. Cytomégalovirus (CMV)

L'infection par le CMV peut conduire aux mêmes lésions apoptotiques épithéliales, qui peuvent être nombreuses, rendant la distinction avec une GVH difficile, d'autant que les deux étiologies sont parfois associées. La clé diagnostique est la mise en évidence d'inclusions nucléaires caractéristiques en « œil de hibou », qui peuvent être rehaussées par l'anticorps anti-CMV. Ces données doivent néanmoins être corrélées aux résultats virologiques.

#### c. Adénovirus

Dans l'infection à adénovirus, les lésions apoptotiques épithéliales sont également décrites, mais il existe des stigmates d'inflammation aiguë. Le diagnostic peut être confirmé par l'immunohistochimie anti-adénovirus (10), mais surtout par l'analyse virologique.

#### d. Colite au sang de cordon

Nous avons vu que la colite au sang de cordon était un diagnostic différentiel clinique de la GVH, se présentant microscopiquement par une colite granulomateuse dans la plupart des cas. Cependant, ces lésions ne sont pas spécifiques, et sont également retrouvées dans les colites de GVH ou induites par le CMV (83). Les dernières recommandations NIH affirment que le diagnostic histopathologique n'est pas différent de celui d'une GVH (20).

#### e. Synthèse des diagnostics différentiels

Les caractéristiques anatomopathologiques des diagnostics différentiels de GVH sont résumées dans le tableau 4 ci-après, et illustrées en Figure 5.

<b>Diagnostic</b>	<b>Caractéristiques pathologiques</b>	<b>Commentaires</b>
<b>CMV</b>	Corps apoptotiques Inclusions nucléaires +/- éparses	+/- surajouté à la GVH
<b>MMF</b>	Corps apoptotiques Ulcères focaux Infiltrat inflammatoire mixte de la lamina propria Lésions focales	Corps apoptotiques à distance, sur d'autres sites biopsiés  Importance des renseignements cliniques
<b>Conditionnement pré-greffe</b>	Corps apoptotiques Activité mitotique augmentée Régénération glandulaire	Dans les 20 <sup>ers</sup> jours post-greffe
<b>Préparations pour endoscopie</b>	Corps apoptotiques	En position superficielle

Tableau 4 : Caractéristiques pathologiques des diagnostics différentiels de GVH.

#### E. FACTEURS DERISQUE

Les facteurs de risque de GVH digestive sont globalement les mêmes que ceux de la GVH en général, précédemment décrits. Castilla-Llorente a montré qu'il existait des facteurs de risque significatifs de mortalité supplémentaires pour la GVH digestive que sont :

- une résistance à la corticothérapie au cours des deux premières semaines après le début d'une GVH de forme sévère ;
- un âge supérieur à 18 ans lors de la transplantation ;
- une augmentation de la bilirubine totale plasmatique (>3,0 mg/dL) ;
- et une hémorragie gastro-intestinale (24).

Il n'a pas été montré de différence dans l'incidence, l'évolution ou les caractéristiques histologiques de GVH entre les patients recevant des cellules souches issues de sang périphérique ou ceux recevant des cellules souches médullaires. De plus, la pathologie hématologique initiale, le conditionnement thérapeutique initial, la prophylaxie contre la GVH utilisée ou le statut CMV ne constitueraient pas des facteurs de risque de GVH digestive (84).

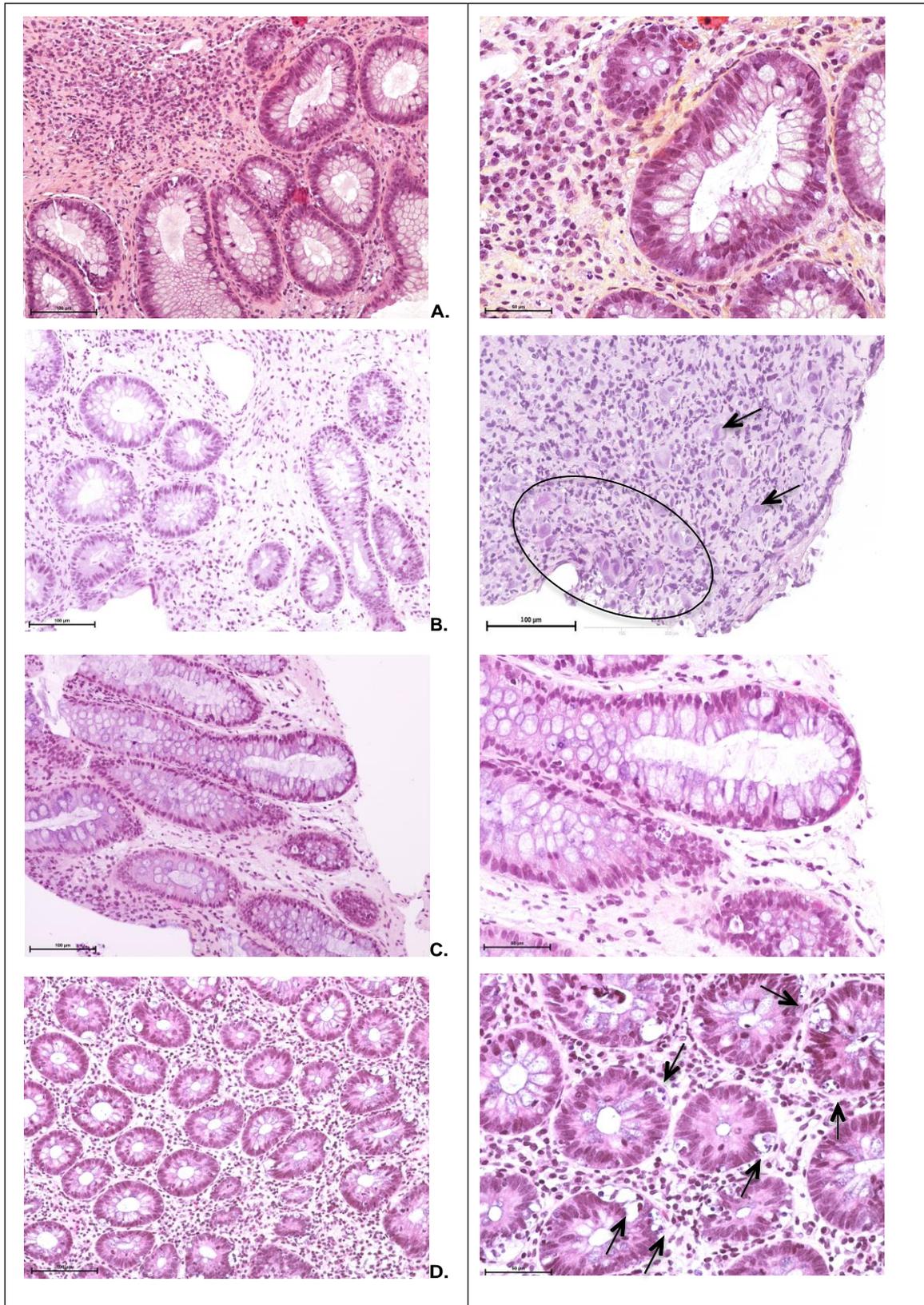


Figure 5 : Illustration des diagnostics différentiels, pourvoyeurs de faux positifs (HES x200 colonne de gauche, HES x400 colonne de droite) : **A.** Colite infectieuse à EBV et HHV6 ; **B.** Colite induite par le CMV : corps apoptotiques épithéliaux et dystrophies cellulaires avec inclusions virales (flèches et zone cerclée) ; **C.** Colite induite par le MMF ; **D.** Colite iatrogène post-chimiothérapie (5 fluoro-uracile), avec nombreux corps apoptotiques (flèches).

Les patients dont les biopsies ont été répondues « absence de GVH » ou « GVH possible » ne nécessitent pas obligatoirement de traitement, l'indication étant retenue sur des facteurs de risque cliniques (27).

Les patients présentant une GVH sévère nécessitent d'être hospitalisés pour bénéficier de traitements symptomatiques : réhydratation et nutrition parentérale, antalgiques, prophylaxie des complications infectieuses (antibioprophylaxie, prophylaxies fongique et virale, vaccinations) (72). Le traitement immunosuppresseur est optimisé, avec ajout d'une corticothérapie en première intention (methylprednisolone : 1 à 2 mg/kg/jour) pour le traitement des GVH à partir du stade clinique de sévérité II (24, 85). Un article récent montrerait une efficacité similaire d'une corticothérapie à dose réduite de moitié pour les stades les moins sévères de GVH (86). Environ la moitié des patients traités par corticothérapie présentent une réponse partielle ou totale (87).

En cas de non-réponse, une thérapeutique de 2<sup>ème</sup> ligne est mise en place. Celle-ci peut inclure l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti TNF- $\alpha$  ou anti récepteur interleukine-2, d'inhibiteurs mTOR (mammalian target of rapamycin) ou de MMF (30, 85).

En cas de nouvel échec, une 3<sup>ème</sup> ligne est envisageable avec l'apport d'alemtuzumab, de pentostatine, de methotrexate et de cellules souches mésenchymateuses. D'autres agents thérapeutiques, tels que les globulines anti-thymocytes et les lymphocytes T régulateurs pourraient avoir un rôle bénéfique (85).

Concernant les thérapeutiques à venir, des équipes de recherche travaillent sur le développement de modèles inflammatoires (correspondant à la phase 1 de la physiopathologie de la GVH) afin d'étudier et de prévenir la survenue des GVH (88).

#### 4. Objectifs de l'étude

Nous avons vu qu'un large panel de diagnostics pouvait mener à des lésions histopathologiques identiques à celles de la GVH. Or il est crucial de distinguer ces différentes étiologies car les prises en charge sont parfois diamétralement opposées. Au final, peu d'études ont évalué méthodiquement les caractéristiques microscopiques propres aux lésions de GVH. Dans ce contexte, notre objectif était de déterminer l'apport et la valeur de l'examen anatomopathologique dans le diagnostic de GVH digestive.

Nous avons ainsi analysé, de manière rétrospective, une série de biopsies digestives issues de 112 patients allogreffés, présentant une suspicion clinique de GVH.

Le but de ce travail était tout d'abord d'évaluer la valeur de l'analyse microscopique et l'intérêt du système de réponse en 4 catégories recommandé par le NIH. Les autres objectifs étaient de déterminer les critères microscopiques indispensables, ou au contraire sans impact, pour établir le diagnostic pathologique, afin d'en écarter les diagnostics différentiels, d'évaluer la concordance inter-observateurs et d'approcher la concordance intra-observateur. Enfin, nous avons évalué la place de l'immunohistochimie dans le diagnostic des GVH.

Ce travail a été réalisé dans un souci d'établir des outils diagnostiques pour les médecins pathologistes afin d'améliorer la prise en charge des biopsies digestives suspectes de GVH.

# Matériel et méthodes

---

## 1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective unicentrique analytique de cohorte. Le travail a été réalisé en aveugle, sur une série de patients pris en charge au CHU de Bordeaux. L'objectif principal était d'évaluer le poids de l'analyse anatomopathologique et des différents critères microscopiques utilisés dans le diagnostic de la GVH. Nous avons par ailleurs étudié d'autres critères morphologiques et immunohistochimiques afin d'aider aux diagnostics différentiels de la GVH.

## 2. Population étudiée

L'étude a porté sur des patients adultes (>18 ans), allogreffés ou ayant eu une perfusion de lymphocytes de donneurs (DLI), pris en charge au CHU de Bordeaux, ayant présenté une suspicion de GVH digestive entre le 1<sup>er</sup> janvier 2009 et le 31 décembre 2013 et ayant bénéficié d'une recto-sigmoïdoscopie ou coloscopie avec réalisation de biopsies. Les patients pouvaient être inclus quelque soit le délai entre les symptômes digestifs et la date de la greffe.

Le diagnostic définitif de GVH digestive a été porté par l'équipe hématologique au regard de tous les éléments cliniques (symptômes et évolution), microbiologiques, endoscopiques et anatomopathologiques.

## 3. Recueil des données cliniques

Toutes les données cliniques, infectiologiques et endoscopiques ont été recueillies *a posteriori* dans les dossiers cliniques informatisés des patients (logiciel Medasys DxCare®). Le stade clinique intestinal des patients a été évalué par le score de Glucksberg (grades de I à IV, décrits en introduction) (17). Les endoscopies digestives ont été gradées en 3 scores (0 : normale, 1 : anomalies légères, 2 : ulcères, hémorragies). Les informations concernant les préparations endoscopiques n'ont pu être récupérées. Le recueil des dernières nouvelles s'est effectué au 23 juin 2015.

#### 4. Recueil du matériel biopsique

Les biopsies digestives avaient été traitées de manière routinière lors des prélèvements, fixées dans le formol neutre 10 %, mises en paraffine, coupées à 4µm puis colorées par l'hématoxyline-éosine-safran (HES). Plusieurs niveaux de coupe (8 en moyenne) ont été examinés par prélèvement. Les biopsies, conservées dans le service d'anatomie pathologique Haut-Lévêque, ont été désarchivées pour relecture. En cas de lames manquantes, les blocs ont été traités dans les mêmes conditions techniques que précédemment décrites afin d'obtenir de nouvelles lames.

#### 5. Etude microscopique

Chaque prélèvement biopsique a été relu par 3 pathologistes du CHU de Bordeaux, expérimentés dans la pathologie digestive et ayant l'habitude de diagnostiquer des GVH. Cette relecture s'est faite de manière individuelle, en aveugle, les pathologistes ne connaissant pas le diagnostic définitif posé par l'équipe hématologique. Comme nous l'avons vu en introduction, la distinction entre formes aiguë et chronique de GVH ne repose sur aucun critère microscopique spécifique. Ici, nous avons pris le parti de ne pas faire la distinction entre ces deux diagnostics. Chaque prélèvement était donc classé en 4 scores selon les recommandations du consensus NIH de 2005 (52), avec une correspondance chiffrée que nous avons établie et que l'on utilisera dans toute la suite du manuscrit (cf correspondances dans le tableau 5 ci-après).

Au terme de la triple relecture, les cas discordants entre les pathologistes (0 *versus* 1 à 3 et 1 *versus* 2 ou 3) ont été revus de manière collégiale afin de conclure à un score histologique définitif. Les trois interprétations ont été comparées entre elles, et au diagnostic clinique définitif (GVH retenue ou non). Nous avons ainsi pu évaluer la concordance inter-observateurs et la puissance diagnostique de l'analyse anatomopathologique.

De plus, pour chaque prélèvement, les paramètres suivants ont été évalués :

- le nombre de biopsies totales et lésionnelles,
- le nombre de corps apoptotiques (par échantillon et par biopsie),
- le nombre de polynucléaires éosinophiles : évaluation pour 10 champs au fort grossissement (surface d'un grand champ représentant 0,24 mm<sup>2</sup>),
- et la sévérité de la maladie.

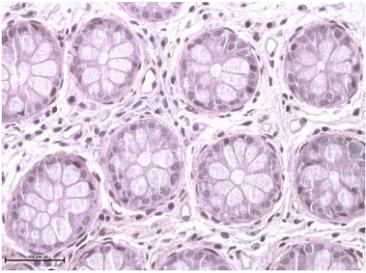
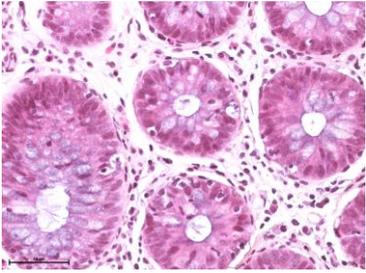
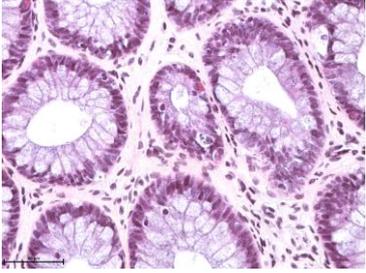
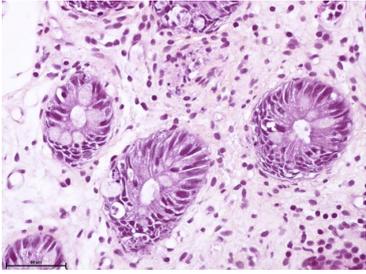
Catégories de GVH (Correspondance chiffrée)	Définition	Exemples	Illustrations (Coloration HES, x400)
0 : Absence de GVH	Pas de signe de GVH		
1 : GVH possible	Signes de GVH (corps apoptotiques rares), mais d'autres explications possibles à ces lésions	Infection à CMV Contexte iatrogène	
2 : GVH probable / En faveur d'une GVH	Signes évidents de GVH (corps apoptotiques modérés), mais circonstances atténuantes	Chimiothérapie Radiothérapie récente Rares corps apoptotiques sans autre explication Echantillonnage limité	
3 : GVH certaine	Signes évidents de GVH, sans équivoque		

Tableau 5 : Description et exemples des 4 scores de GVH utilisés dans ce travail, à partir des recommandations NIH.

Les corps apoptotiques ont bien été différenciés des lésions de cryptite inflammatoire. De plus, lorsqu'une glande complète était apoptotique, elle était comptabilisée comme un corps apoptotique.

Concernant le compte des polynucléaires éosinophiles, seuls les éléments au sein de la lamina propria ont été comptabilisés, et non les polynucléaires éosinophiles glandulaires ou intravasculaires.

Lorsque le diagnostic anatomopathologique de GVH était posé, la sévérité a été évaluée en 2 scores : 0/absence de sévérité ou 1/présence de lésions sévères. Ces lésions sévères étaient définies par une désorganisation architecturale avec perte glandulaire marquée au sein d'un chorion fibreux, visible dès le faible grossissement (Figure 6).

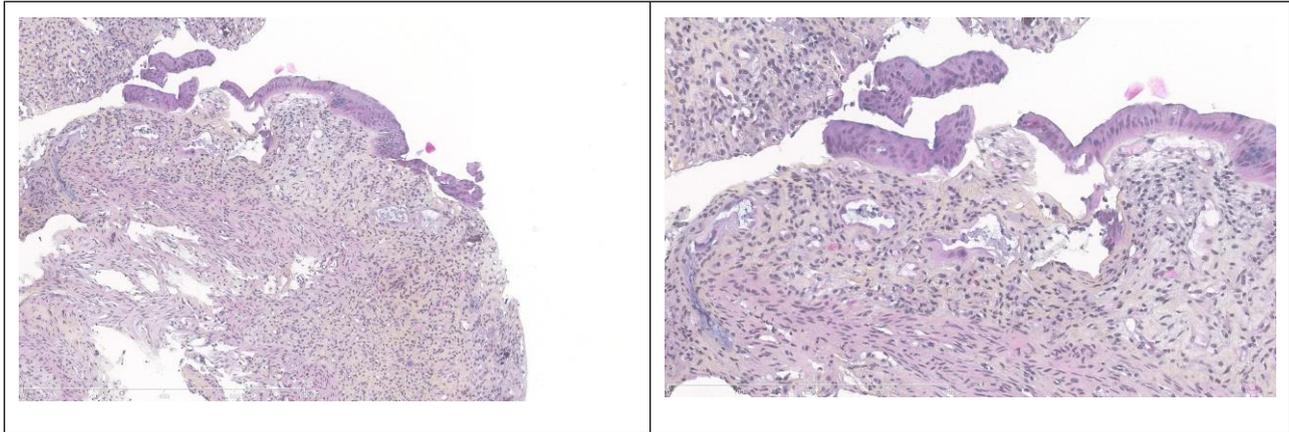


Figure 6 : Illustration de lésions sévères : perte glandulaire massive avec présence de quelques glandes fantomatiques au sein d'un chorion fibreux (HES, grossissement X100 et x200).

## 6. Etude immunohistochimique

Une étude immunohistochimique anti-CMV a été réalisée de manière plus ou moins systématique en fonction du lecteur initial ou, bien sûr, dans les cas présentant des signes évocateurs de l'infection, à type d'inclusions virales, afin d'éliminer, ou non, ce diagnostic différentiel. L'anticorps utilisé était **CMV** AbCys®, clone E13-2, utilisé à une dilution au 1/300. Le diagnostic d'infection par le CMV était retenu lorsque des cellules glandulaires dystrophiques étaient positives.

De plus, tous les prélèvements de cette étude ont rétrospectivement fait l'objet d'une étude immunohistochimique par les anticorps **chromogranine** (Novacastra®, clone 5H7, dilution au 1/200) et **CD123** (eBioscience®, clone 6H6, dilution au 1/300). L'étude par chromogranine a permis de réaliser le compte des amas de cellules endocrines, souvent difficilement visualisables à l'HES, pour 10 champs au fort grossissement. Par ailleurs, toute cellule mononucléée dans la lamina propria positive pour l'anticorps anti-CD123 était comptabilisée ; le compte a également été réalisé pour 10 champs au fort grossissement. Ces deux derniers comptes ont été réalisés par deux pathologistes, en aveugle.

Afin de comparer les données issues de notre cohorte à des biopsies digestives hors contexte d'allogreffe (normales ou inflammatoires), nous avons réalisé une étude immunohistochimique par anti-chromogranine et anti-CD123 sur 20 biopsies digestives normales et 20 biopsies digestives présentant des lésions de maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) en poussée.

## 7. Analyse statistique

L'analyse descriptive de notre population a été décrite par la moyenne et la médiane, les variables qualitatives par des pourcentages. L'analyse comparative des données qualitatives a été réalisée par des tableaux de contingence et le test du Chi<sup>2</sup>. Pour les données quantitatives, le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney a été utilisé. Dans l'analyse de la survie globale, la date d'origine correspondait à la date de la greffe. Les courbes ont été réalisées selon la méthode de Kaplan-Meier. Enfin, la concordance inter-observateurs a été calculée par le coefficient kappa de Fleiss (89). Pour l'ensemble des analyses, le risque alpha a été établi à 5 %. Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel GraphPad Prism 6.

# Résultats

## 1. Description de notre population

Selon les critères de sélection définis, 112 patients (37 femmes et 75 hommes) ont été inclus dans cette étude sur les 441 ayant été allogreffés. Les caractéristiques des patients et des conditions de transplantation sont résumées dans le tableau 6 ci-dessous.

Le diagnostic définitif de GVH a été porté chez 70 patients (groupe « GVH »), soit 62,5 % de notre population. Les groupes « GVH » et « Non-GVH » ne présentaient pas de différence significative pour les caractères cliniques étudiés. L'âge moyen et médian des patients au moment de l'allogreffe étaient respectivement de 46,8 et 49 ans (18-67 ans). Les pathologies initiales pour lesquelles a été réalisée la transplantation de CSH incluait des leucémies myéloïdes aiguës (n=47), des leucémies lymphoïdes aiguës (n=16), des lymphomes non Hodgkiniens (n=12), des myélomes multiples (n=9), des lymphomes de Hodgkin (n=8), des syndromes myélodysplasiques (n=8), des leucémies chroniques lymphocytaires (n=6), des leucémies myéloïdes chroniques (n=4) et des aplasies médullaires idiopathiques (n=2). La majorité des patients (63 %) a reçu des cellules souches issues de sang périphérique, environ un quart (24 %) a reçu une greffe de type sang de cordon ombilical, et enfin, 13 % des dons étaient issus de moelle osseuse. Dans notre série, aucune colite au sang de cordon n'a été diagnostiquée.

		Population totale n=112 (%)	Patients « GVH » n=70 (%)	Patients « Non-GVH » n=42 (%)	Significativité
<b>Age</b>	Moyen	46,8	46,6	47,2	NS (p=0,91)
	Médian	49	48	52	
	Fourchette	18-67	19-67	18-64	
<b>Sexe</b>	Femme (F)	37 (33)	22 (20)	15 (13)	NS (p=0,64)
	Homme (H)	75 (67)	48 (43)	27 (24)	
<b>Hémopathie initiale</b>	Leucémie myéloïde aiguë	47 (42)	30 (27)	17 (15)	NS (p=0,82)
	Leucémie lymphoïde aiguë	16 (14)	11 (10)	5 (4)	
	Lymphome non Hodgkinien	12 (11)	7 (6)	5 (4)	
	Myélome multiple	9 (8)	7 (6)	2 (2)	
	Lymphome de Hodgkin	8 (7)	3 (3)	5 (4)	
	Syndrome myélodysplasique	8 (7)	4 (3,5)	4 (3,5)	
	Leucémie lymphoïde chronique	6 (5)	4 (3)	2 (2)	

	Leucémie myéloïde chronique	4 (4)	3 (3)	1 (1)	
	Aplasia médullaire idiopathique	2 (2)	1 (1)	1 (1)	
<b>Appariement Sexe Donneur : Receveur</b>	Absence de mésappariement	56 (50)	32 (29)	23 (21)	NS (p=0,39)
	Donneur F : receveur H	30 (27)	22 (20)	8 (7)	
	Donneur H : receveur F	25 (22)	14 (12)	11 (10)	
	Non connu	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
<b>Type de donneur</b>	Apparenté	23 (27)	13 (15)	10 (12)	NS (p=0,45)
	Non apparenté	62 (73)	41 (48)	21 (25)	
<b>HLA</b>	Appariement	72	44	28	NS (p=0,84)
	Mésappariement	40	26	14	
<b>Origine des cellules souches</b>	Sang périphérique	70 (63)	46 (41)	24 (22)	NS (p=0,42)
	Moelle osseuse	15 (13)	10 (9)	5 (4)	
	Sang de cordon	27 (24)	14 (12)	13 (12)	
<b>Conditionnement</b>	Non-myéloablastif	11 (10)	8 (7)	3 (3)	NS (p=0,28)
	D'intensité réduite	48 (43)	26 (23)	22 (20)	
	Myéloablastif	53 (47)	36 (32)	17 (15)	
<b>Prophylaxie anti-GVH</b>	Cyclosporine - MMF	49 (44)	31 (28)	18 (16)	NS (p=0,73)
	Cyclosporine - MTX	41 (37)	25 (22)	16 (14)	
	Cyclosporine – MTX – MMF	5 (4,5)	4 (3,5)	1 (1)	
	Cyclosporine – Rapamycine - MMF	5 (4,5)	2 (2)	3 (2,5)	
	Cyclosporine	4 (4)	2 (2)	2 (2)	
	Cyclosporine - Rapamycine - MTX	3 (3)	2 (2)	1 (1)	
	Cyclosporine – Rapamycine - MMF - MTX	2 (2)	2 (2)	0 (0)	
	Cyclosporine – Rapamycine – Tacrolimus - MTX	1 (1)	0 (0)	1(1)	
	Rapamycine - MTX	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
	MTX - Tacrolimus	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
<b>Délai moyen de l'endoscopie après transplantation de CSH</b>		44	42,5	45	NS (p=0,88)

Tableau 6 : Caractéristiques des patients de notre cohorte. *F* : femme, *H* : homme, *MMF* : mycophenolate mofetil, *MTX* : methotrexate, *NS* : non significatif.

## 2. Corrélation microscopie - diagnostic clinique définitif

Les délais moyen et médian du diagnostic de GVH post-greffe étaient respectivement de 62 et 40,5 jours, avec une fourchette s'étendant de 9 à 322 jours. Au final, 251 prélèvements anatomopathologiques ont été analysés, certains patients ayant bénéficié de biopsies successives,

soit un total de 643 biopsies. Sur les 112 patients inclus, seul un, appartenant au groupe GVH, disposait d'un matériel d'interprétation difficile en raison d'artéfacts de fixation.

Les scores anatomopathologiques 0, 1, 2 et 3 ont été attribués respectivement dans 33 (29 %), 20 (19 %), 18 (16 %) et 40 cas (36 %). Le diagnostic définitif de GVH, porté par l'équipe hématologique, présentait une bonne corrélation avec les scores histologiques, comme on peut le voir dans le tableau 7 et la figure 7 ci-dessous ( $p < 0,0001$ ).

	Groupe GVH		Groupe Non-GVH	Total
<b>Scores histologiques</b>	0	7	<b>26</b>	<b>33</b>
	1	11	9	<b>20</b>
	2	12	6	<b>18</b>
	3	<b>39</b>	1	<b>40</b>
	NC	1	0	<b>1</b>
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>42</b>	<b>112</b>	

Tableau 7 : Corrélation entre le diagnostic définitif et les scores anatomopathologiques. *NC* : non contributif.

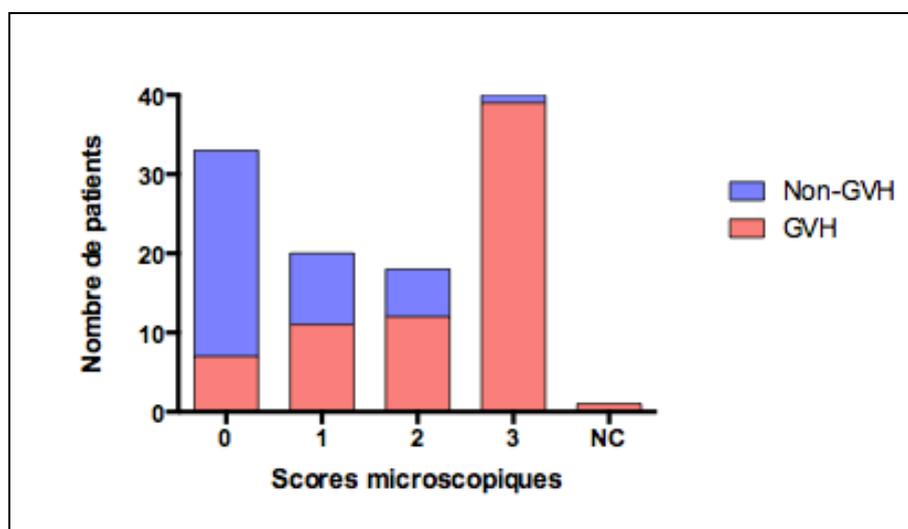


Figure 7 : Répartition des patients « GVH » et « Non-GVH » en fonction du score microscopique. *NC* : non contributif.

Les patients avec un score histologique 0 ou 1 présentaient un score clinique intestinal de Glucksberg de I/II dans 57.5 % des cas ( $n=31$ ) et un score de III/IV dans 42.5 % ( $n=23$ ). Les patients avec un score histologique 2 ou 3 présentaient un score clinique intestinal de I/II dans 34.5 % des cas ( $n=20$ ) et un score de III/IV dans 65.5 % ( $n=38$ ) ( $p=0.015$ ).

Le suivi moyen de notre cohorte (n=112) était de 49 mois (20 à 77 mois). La survie globale à 3 ans (et 5 ans) pour le groupe « GVH » *versus* « Non-GVH » était respectivement de 41 % (35 %) et 62 % (55 %) (p=0,03) (Figure 8).

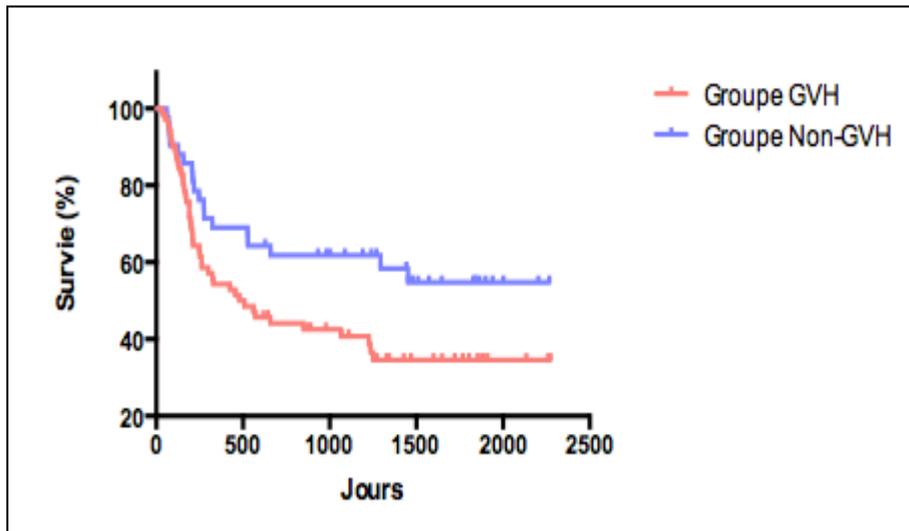


Figure 8 : Courbes de survie en fonction du diagnostic définitif clinique (« GVH » *versus* « Non-GVH »).

Les courbes de survie étant sensiblement superposables pour les patients (n=111) présentant des scores histologiques 0-1, et 2-3, nous les avons donc regroupées. Au terme du suivi, 24 patients ayant un score anatomopathologique de 0 ou 1 étaient décédés (44 %), contre 38 patients avec un score 2 ou 3 (66 %). La survie globale à 3 ans (et 5 ans) pour les scores anatomopathologiques 0-1 *versus* 2-3 était respectivement de 59 % (51 %) et 38 % (33 %) (p=0,03) (Figure 9).

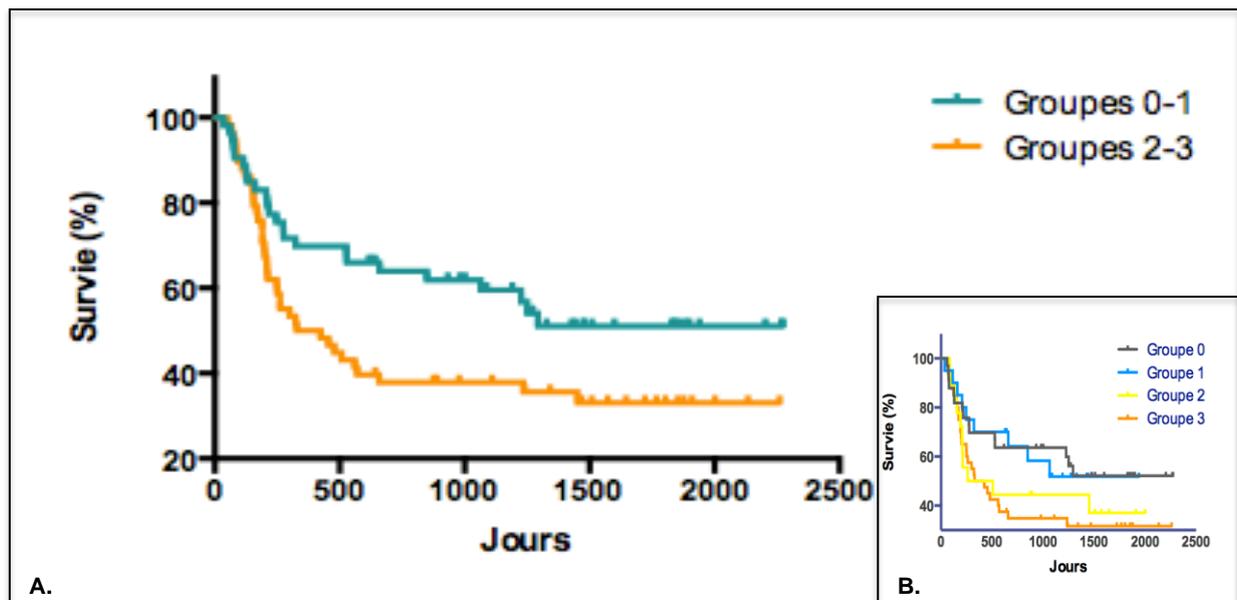


Figure 9 : Courbes de survie en fonction des scores anatomopathologiques. A. Groupes 0-1 *versus* 2-3 ; B. Groupes 0, 1, 2 et 3.

Dans le sous-groupe des patients « GVH » (n=69), diagnostic définitif porté par l'équipe hématologique, la survie globale à 3 ans (et 5 ans) pour les scores anatomopathologiques 0-1 *versus* 2-3 était respectivement de 64 % (48 %) et 31 % (28 %) (p=0,04).

Nous avons ensuite comparé les courbes de survie en fonction des 3 différents conditionnements reçus. Elles étaient globalement superposables. La survie globale à 3 ans (et 5 ans) pour les conditionnements non myéloablatif, d'intensité réduite et myéloablatif était respectivement de 36 % (36 %), 48 % (40 %) et 51 % (46 %) (p=0,78).

Lorsque le diagnostic de GVH était posé par les pathologistes (scores 1 à 3), la sévérité des lésions était évaluée comme indiquée plus haut. Seulement 11 cas, soit 16 %, ont été classés comme sévères ; tous appartenant au groupe clinique « GVH ». La survie globale à 1 an pour les patients présentant une « GVH avec lésions sévères » *versus* « GVH sans lésion sévère » était respectivement de 9 % et 64 %, avec une médiane de survie de 200 jours, *versus* 657 jours (p=0,005) (Figure 10).

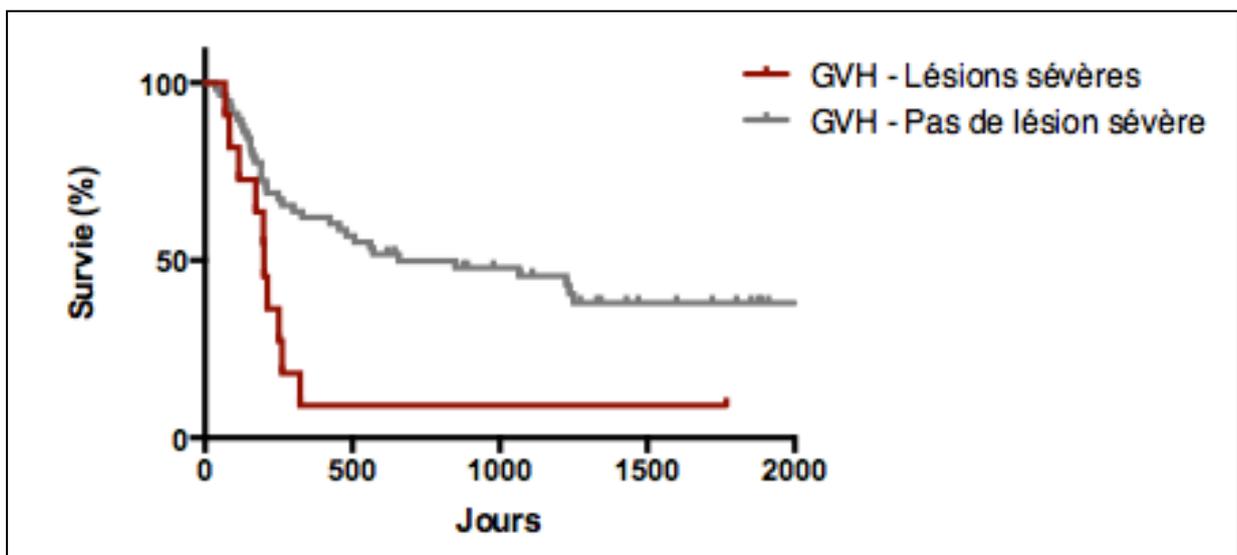


Figure 10 : Courbes de survie des patients diagnostiqués GVH par l'examen anatomopathologique en fonction de la sévérité des lésions.

### 3. Performance du score anatomopathologique

La sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positive (VPP) et négative (VPN) du score histologique établi par les pathologistes ont été ensuite étudiées selon deux axes :

- association entre un score histologique de 1 à 3 et présence de GVH (au diagnostic définitif),
- et association entre un score histologique de 2 ou 3 et présence de GVH.

Voici les 2 tableaux de contingence obtenus avec les variables calculées en suivant :

		Diagnostic définitif (gold-standard)		Total
		Non-GVH	GVH	
Score histologique	0	26	7	33
	1 à 3	16	62	78
Total		42	69	111

		Diagnostic définitif (gold-standard)		Total
		Non-GVH	GVH	
Score histologique	0-1	35	18	53
	2-3	7	51	58
Total		42	69	111

	Score histologique 1 à 3	Score histologique 2-3
Sensibilité	0,90	0,74
Spécificité	0,62	0,83
VPP	0,79	0,88
VPN	0,79	0,66

Tableaux 8 : Répartition des patients GVH ou non en fonction des scores histologiques, et récapitulatif des sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative selon les scores histologiques.

En regroupant les scores histologiques 2 et 3, la spécificité et la valeur prédictive positive pour le diagnostic de GVH augmentent, tandis que la sensibilité et la valeur prédictive négative diminuent. Toutefois, si l'on compare les fréquences des scores 0 et 1 attribués dans les groupes « GVH » et « Non-GVH », la différence de pourcentage de ces scores attribués dans chaque groupe est significative ( $p < 0,05$ ) (Figure 11).

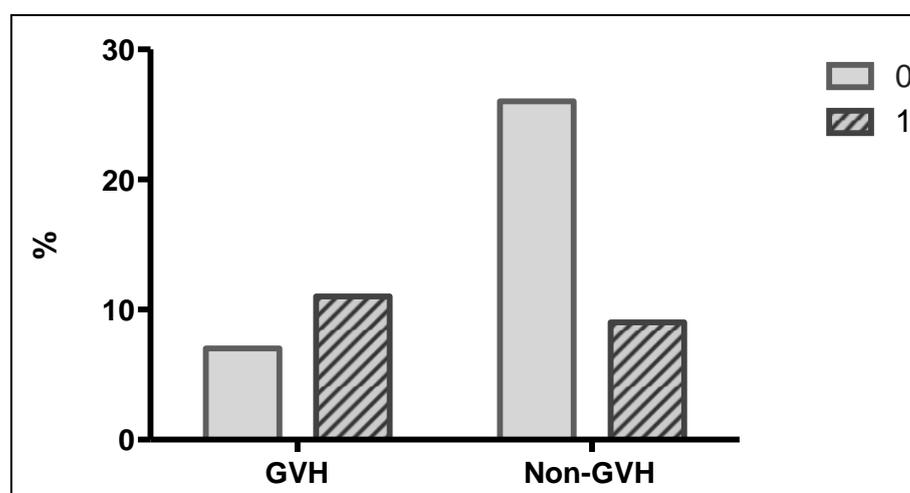


Figure 11 : Graphique représentant la fréquence des scores histologiques 0 et 1 chez les patients « GVH » et « Non-GVH ».

#### 4. Corrélation endoscopie, scores histologiques et diagnostic définitif

Nous avons vu dans la première partie que la corrélation entre les scores de gravité endoscopique et la présence d'une GVH ou les scores histologiques prête à débat selon les auteurs. Dans notre série, voici nos résultats obtenus en fonction des scores histologiques :

		Histologie	Histologie	Total
		0-1	2-3	
Scores endoscopiques	0	30	27	57
	1	21	28	49
	2	2	2	4
	NC	0	1	1
Total		53	58	111

Tableau 9 : Répartition des patients selon leurs scores histologique et endoscopique.

La comparaison de la répartition des différents scores endoscopiques en fonction des scores histologiques 0-1 *versus* 2-3 ne montrait pas de différence significative ( $p=0,59$ ).

Nous avons ensuite étudié la répartition des scores endoscopiques en fonction du diagnostic clinique définitif « GVH » / « Non-GVH ». Trente-deux, 35 et 2 patients diagnostiqués GVH avaient un score endoscopique respectivement de 0, 1 et 2 ; et 26, 14 et 2 patients du groupe « Non-GVH » un score endoscopique respectivement de 0, 1 et 2. Un patient du groupe « GVH » avait un score endoscopique non contributif. Là encore, l'examen endoscopique n'était pas corrélé au diagnostic définitif de GVH ( $p=0,28$ ). Ces résultats sont résumés dans le tableau 10.

		Non-GVH	GVH	Total
Scores endoscopiques	0	32	26	58
	1	35	14	49
	2	2	2	4
	NC	1	0	1
Total		70	42	112

Tableau 10 : Répartition des patients selon le diagnostic de GVH et le score endoscopique.

De plus, parmi les 4 endoscopies présentant des lésions sévères avec ulcères et/ou hémorragies, aucune n'avait été gradée comme sévère sur le plan histologique. A l'inverse, parmi les 11 biopsies présentant des lésions sévères microscopiquement, 9 avaient un score endoscopique =1, et les 2 autres un score =0, c'est-à-dire une endoscopie normale ( $p=0,07$ ).

## 5. Etude comparative de notre cohorte

### A. ANALYSE MORPHOLOGIQUE

L'ensemble des paramètres recueillis lors de la relecture des prélèvements a été réparti selon les groupes « GHV » et « Non-GVH », et selon le tableau récapitulatif ci-dessous (Tableau 11).

Le *nombre de biopsies* par échantillon n'était pas significativement différent entre les groupes « GHV » et « Non-GVH » : respectivement 2,3 biopsies par échantillon en moyenne, *versus* 2,5.

	GVH	Non-GVH	Significativité
Nombre médian de biopsies (moyen)	2 (2,3)	2 (2,5)	NS (p=0,79)
Nombre médian de CA par échantillon (moyen) (minimum-maximum)	8 (24,3) (0-138)	0 (1,3) (0-12)	<b>p &lt;0,0001</b>
Nombre médian de CA par biopsie (moyen) (minimum-maximum)	4,75 (10,7) (0-69)	0 (0,6) (0-5)	<b>p &lt;0,0001</b>
Ratio médian des biopsies lésionnelles / totales (moyen)	1 (0,7)	0 (0,2)	<b>p &lt;0,0001</b>
Nombre médian de PNE pour 10 HPF (moyen)	11 (40,9)	9 (36,9)	NS (p=0,73)

Tableau 11 : Comparaison des critères histologiques entre les groupes « GVH » et « Non-GVH ». CA : corps apoptotiques, HPF: champ au fort grossissement, NS: non significatif, PNE: polynucléaires éosinophiles.

Le groupe « GVH » montrait la présence d'une apoptose épithéliale dans 82,9 % des cas, contre seulement un tiers des cas du groupe « Non-GVH » (p<0,0001) (Figure 12).

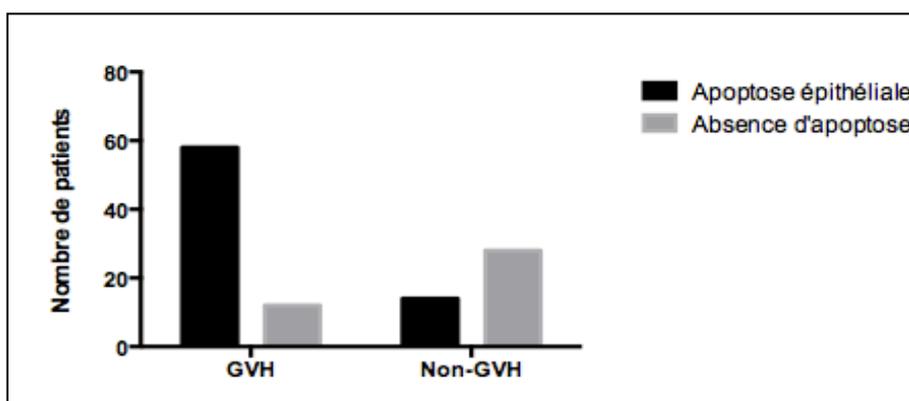


Figure 12 : Répartition des cas selon la présence ou non d'apoptose épithéliale, dans les groupes « GVH » et « Non-GVH ».

L'ensemble de ces paramètres est schématisé dans la figure 13 ci-après.

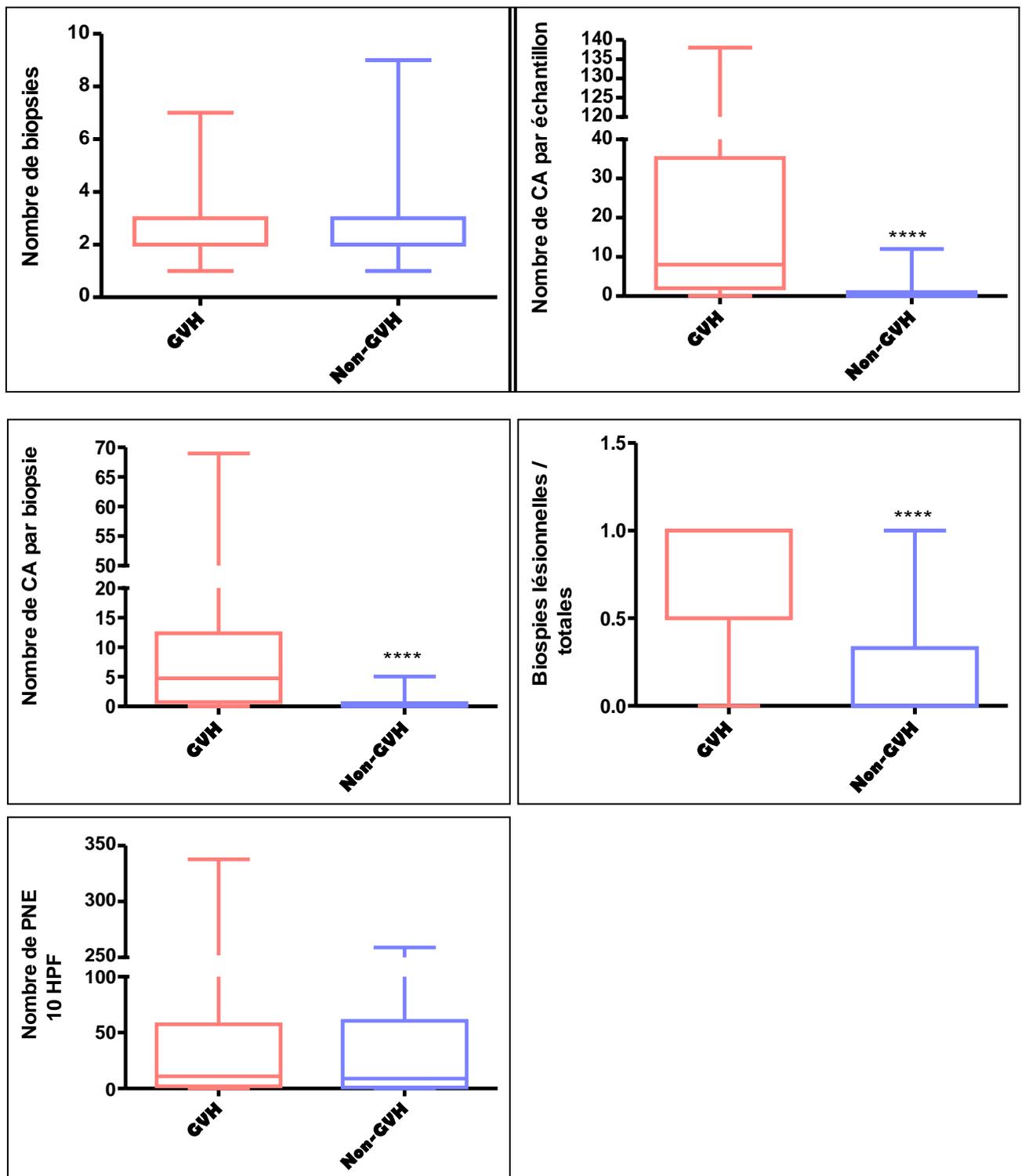


Figure 13 : Représentation de la répartition des différents paramètres morphologiques étudiés dans les groupes « GVH » et « Non-GVH ». \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ .

Le nombre moyen de corps apoptotiques (et la distribution minimum-maximum) par échantillon par patient était respectivement de 24,3 (0-138) et 1,3 (0-12) dans les groupes « GVH » et « Non-GVH » ( $p < 0,0001$ ) ; et le nombre moyen de corps apoptotiques (et la distribution minimum-

maximum) par *biopsie* était de 10,7 (0-69) *versus* 0,6 (0-5) ( $p < 0,0001$ ), c'est-à-dire environ 20 fois plus. Soixante-douze pour cent des biopsies du groupe « GVH » étaient lésionnelles ; au contraire, seulement moins de une biopsie sur 5 (19 %) du groupe « Non-GVH » était pathologique, avec un nombre maximal de CA de 12 par échantillon, et de 5 par biopsie. Concernant le nombre moyen de *polynucléaires éosinophiles* pour 10 champs au fort grossissement, on ne retrouvait pas de différence significative entre les deux groupes.

## B. ANALYSE IMMUNOHISTOCHIMIQUE

### 1. Anticorps anti-CMV

Quatre-vingt deux prélèvements (73 %) ont bénéficié d'une étude immunohistochimique. Seuls 3 de ces 82 cas (4 %) étaient positifs et ont permis le diagnostic histologique d'infection par CMV. Parmi ces 3 cas, 2 appartenaient au groupe « GVH ».

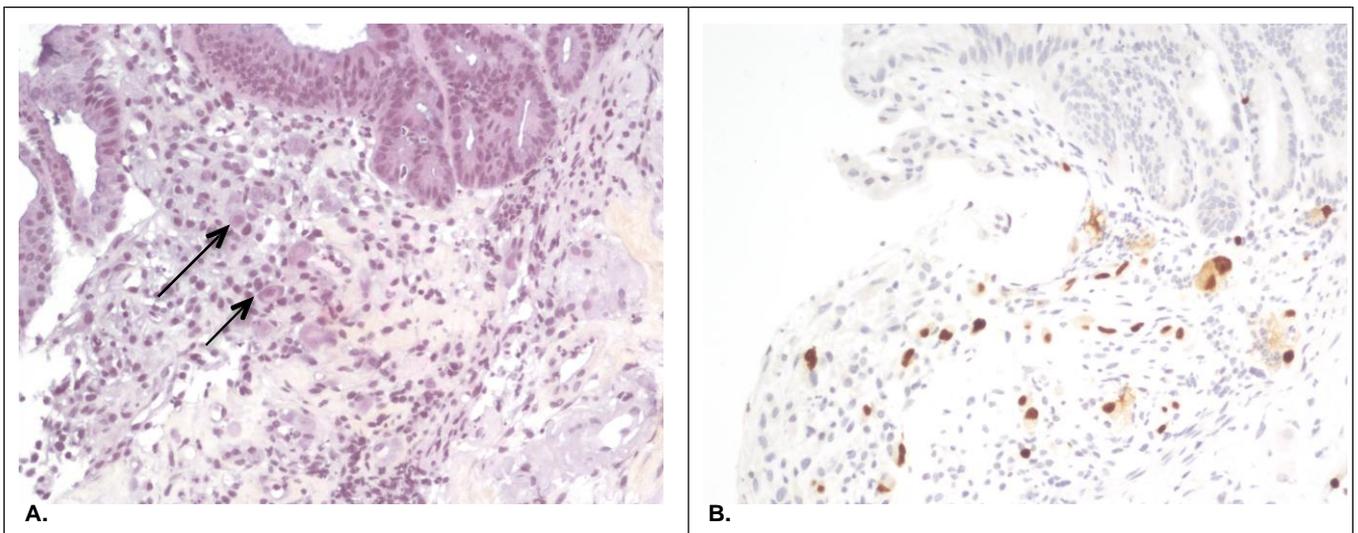


Figure 14: Illustration d'inclusions virales (flèches) de type CMV (**A.** HES, x400), soulignées par l'immunohistochimie anti-CMV (**B.** x400).

Nous avons voulu savoir comment ce résultat immunohistochimique était corrélé à la recherche de CMV sur biopsie digestive par PCR, analyse réalisée au laboratoire de virologie. Nous avons obtenu les données virologiques pour 75 des 82 patients.

Les résultats sont résumés sous forme de tableau de contingence ci-après.

		Diagnostic virologique (PCR sur biopsie)		Total
		CMV +	CMV -	
<b>Immunohistochimie anti-CMV</b>	<b>+</b>	<b>3</b>	0	3
	<b>-</b>	6	<b>66</b>	72
<b>Total</b>		9	66	75

Tableau 12 : Répartition des analyses immunohistochimiques en fonction du diagnostic virologique d'infection par le CMV sur biopsie.

L'analyse immunohistochimique par anticorps anti-CMV a donc une spécificité maximale (100 %), mais elle est associée à une sensibilité assez faible (33 %). Les valeurs prédictives positives et négatives sont respectivement de 100 % et 92 %.

De la même façon, nous avons calculé la sensibilité / spécificité de l'analyse immunohistochimique par rapport à la recherche de CMV sur sang circulant (analyse par PCR). Cette dernière était considérée positive si la recherche était positive dans les 7 jours avant ou après réalisation de la biopsie digestive. Les 82 patients avaient tous bénéficié de cette recherche :

		Diagnostic virologique (PCR sur sang)		Total
		CMV +	CMV -	
<b>Immunohistochimie anti-CMV</b>	<b>+</b>	<b>2</b>	1	3
	<b>-</b>	13	<b>66</b>	79
<b>Total</b>		14	68	82

Tableau 13 : Répartition des analyses immunohistochimiques en fonction du diagnostic virologique d'infection par le CMV à partir d'un échantillon sanguin.

Cette fois-ci, l'analyse immunohistochimique par anticorps anti-CMV a une spécificité discrètement moindre (98,5 %), mais elle est associée à une sensibilité encore plus faible (13 %). Les valeurs prédictives positives et négatives sont respectivement de 67 % et 83,5 %.

## 2. Anticorps anti-chromogranine

Il a été décrit que l'étude immunohistochimique par chromogranine pourrait être une aide au diagnostic de GVH digestive. Les cellules neuroendocrines étant décrites comme plus résistantes à l'apoptose dans les cas de GVH, l'anticorps anti-chromogranine permet de décompter facilement les amas de cellules neuroendocrines persistants, difficilement visibles sur l'HES (Figure 15). Cette immunohistochimie a été réalisée pour les blocs dont il restait du matériel, c'est-à-dire 108 prélèvements (4 blocs épuisés).

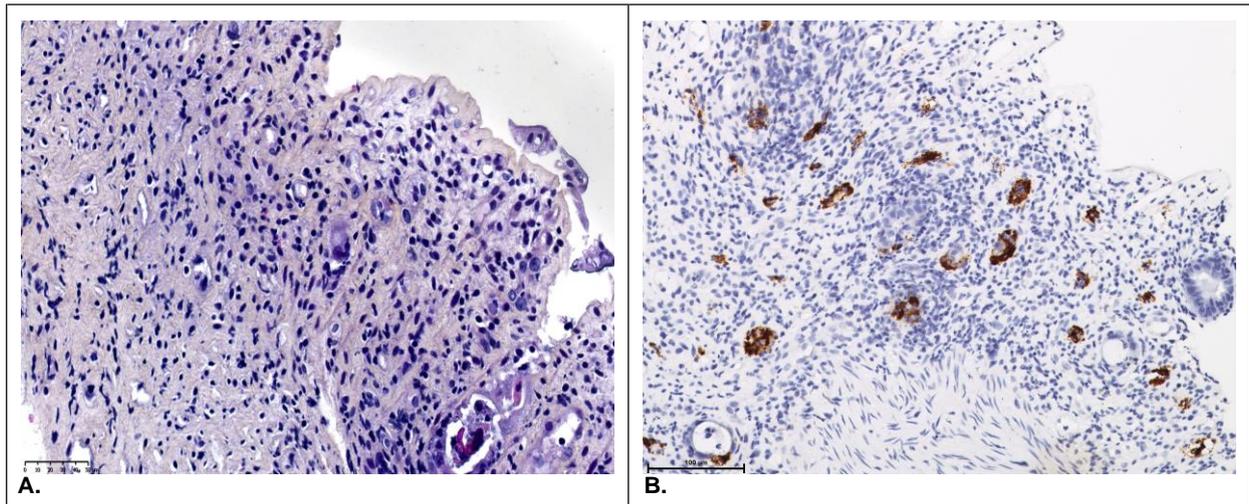


Figure 15 : Exemple d'un cas de GVH présentant de nombreux amas de cellules neuroendocrines au sein du chorion, difficilement visibles sur l'HES (A. x200), et soulignés par l'anti-chromogranine (B. x200).

Nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les patients « GVH » et « Non-GVH » ( $p=0,77$ ), comme le montre le graphique suivant (Figure 16). Le nombre d'amas de cellules neuroendocrines était significativement plus important dans le groupe « GVH » (incluant les patients sous MMF ou non) par rapport aux groupes témoins « biopsies normales » ( $p<0,01$ ) et « biopsies de MICI en poussée » ( $p<0,05$ ).

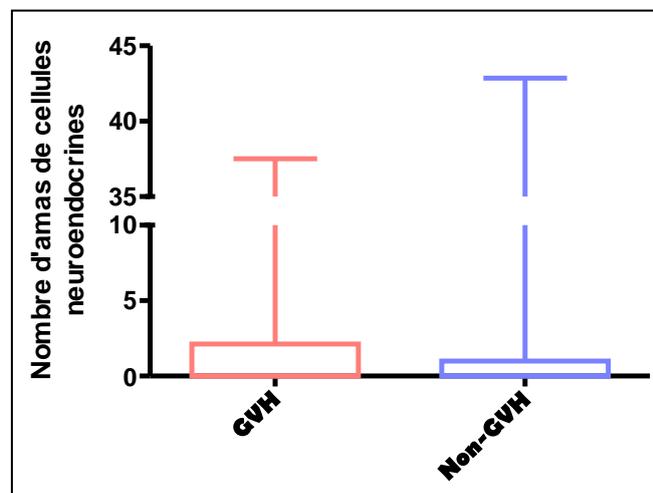


Figure 16 : Distribution du nombre d'amas de cellules neuroendocrines chez les patients GVH ou non.

### 3. Anticorps anti-CD123

Nous avons également réalisé une analyse immunohistochimique avec l'anticorps anti-CD123 sur les 108 prélèvements. Il n'y avait pas de différence significative ( $p=0,50$ ) dans le compte des cellules dendritiques plasmocytoïdes positives pour l'anti-CD123 entre les groupes « GVH » et « Non-GVH », comme l'illustre le graphique ci-dessous (Figure 17). Par contre, on retrouvait un

nombre de cellules positives pour l'anticorps anti-CD123 significativement plus important dans les groupes témoins « biopsies normales » ( $p < 0,05$ ) et « biopsies de MICI en poussée » ( $p < 0,0001$ ) par rapport au groupe « GVH » (incluant les patients sous MMF ou non).

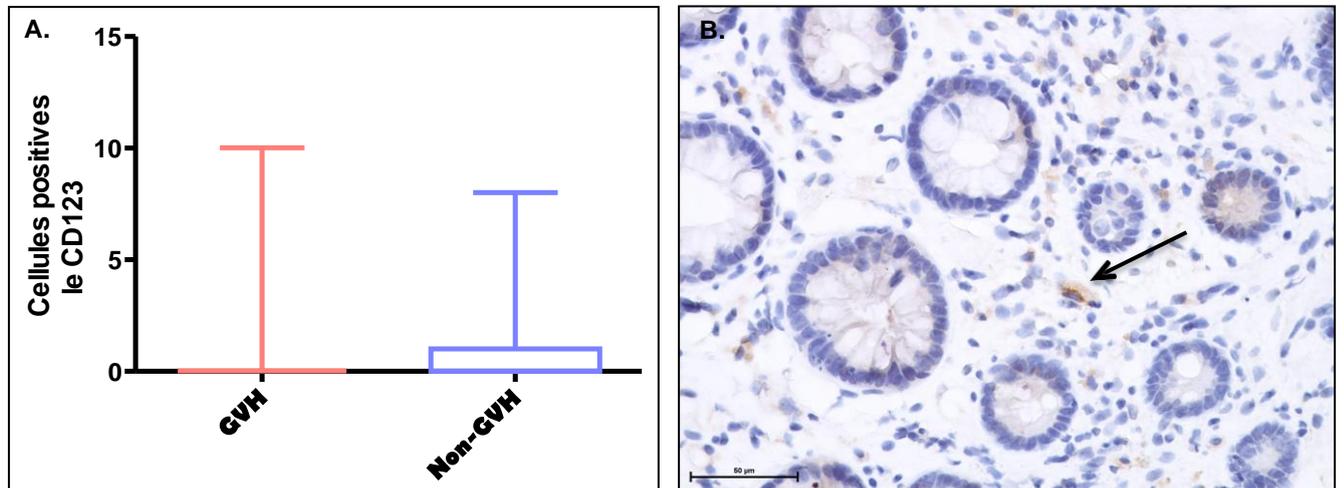


Figure 17 : A. Distribution du nombre d'amas de cellules dendritiques positives pour l'anti-CD123 chez les patients GVH ou non. B. Illustration d'une cellule mononucléée (flèche) positive pour l'anti-CD123 (x400).

## 6. Etude du sous-groupe traité par MMF

Nous avons vu que les tableaux cliniques induits par les lésions de MMF ou de GVH sont globalement similaires et que les critères microscopiques permettant de faire la différence entre les 2 diagnostics sont controversés suivant les études. Les implications thérapeutiques étant différentes pour ces 2 diagnostics, il convient de bien les distinguer. Un moindre nombre de **corps apoptotiques**, l'absence d'**amas de cellules neuroendocrines**, associés à une augmentation du nombre de **polynucléaires éosinophiles**, seraient en faveur d'une colite induite par le MMF plutôt qu'une GVH (27, 68, 69, 74).

### A. DESCRIPTION GENERALE DU SOUS-GROUPE MMF

Plus de la moitié de notre cohorte (54 %), c'est-à-dire 61 patients (40 hommes, 21 femmes) avec un âge médian de 53 ans (19-64 ans) avait reçu un traitement par MMF en prévention du rejet de greffe. Dans ce sous-groupe, le diagnostic définitif clinique de GVH a été retenu chez 39 patients, soit 64 % des patients sous MMF. Le délai médian de l'endoscopie digestive était de 47 jours post-transplantation.

	Patients MMF		Patients sans MMF		Significativité NS (p=0,84)
	GVH	Non-GVH	GVH	Non-GVH	
<b>Nombre de patients (F/M)</b>	39 (11/28)	22 (10/12)	31 (11/20)	20 (5/15)	

Tableau 14 : Distribution du nombre de patients en fonction du traitement par MMF et de la présence ou non d'une GVH. F: femme, H: homme, NS: non significatif.

#### B. DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE DU SOUS-GROUPE

Les résultats des paramètres microscopiques recueillis sont récapitulés dans le tableau 15 ci-dessous, montrant des différences significatives pour les mêmes critères que sur la cohorte générale. Le *nombre de biopsies* par échantillon n'était pas significativement différent. Quarante-vingt pour cent des biopsies du groupe « MMF-GVH » étaient lésionnelles ; au contraire, une biopsie sur 5 du groupe « MMF-Non-GVH » était pathologique (p<0,0001). Le *nombre moyen de corps apoptotiques par échantillon* était respectivement de 20,4 et 1,4 dans les groupes « MMF- GVH » et « MMF-Non-GVH » (p<0,0001) ; et le nombre moyen de corps apoptotiques par *biopsie* était de 10,1 *versus* 0,5 (p<0,0001), c'est-à-dire environ 20 fois plus. Concernant le *nombre moyen de polynucléaires éosinophiles* pour 10 champs au fort grossissement, on ne retrouvait pas de différence significative entre les deux groupes.

	Patients MMF			Patients sans MMF		
	GVH n=39	Non-GVH n=22	p	GVH n=31	Non-GVH n=20	p
<b>Nombre médian de biopsies (moyen)</b>	2 (2,1)	2 (2,6)	NS (p=0,20)	2 (2,6)	2 (2,4)	NS (p=0,33)
<b>Nombre médian de CA/prélèvement (moyen)</b>	6 (20,4)	0 (1,4)	<b>p&lt;0,0001</b>	15 (29,0)	0 (1,3)	<b>p&lt;0,0001</b>
<b>Nombre médian de CA par biopsie (moyen)</b>	4 (10,1)	0 (0,5)	<b>p&lt;0,0001</b>	5 (11,6)	0 (0,6)	<b>p&lt;0,0001</b>
<b>Biopsies lésionnelles / totales (moyen)</b>	1 (0,8)	0 (0,2)	<b>p&lt;0,0001</b>	1 (0,7)	0 (0,2)	<b>p&lt;0,001</b>
<b>Nombre médian de PNE pour 10 HPF (moyen)</b>	10,5 (33,8)	16 (29,5)	NS (p=0,95)	17 (49,6)	7 (44,8)	NS (p=0,70)

Tableau 15 : Comparaison des critères microscopiques en fonction du traitement par MMF et de la présence ou non d'une GVH. CA : corps apoptotiques, HPF : champ au fort grossissement, NS : non significatif, PNE : polynucléaires éosinophiles.

Comme Star (69), nous avons comparé le nombre de corps apoptotiques par *prélèvement* et par *biopsie* et le nombre de polynucléaires éosinophiles dans le groupe « MMF-Non-GVH » *versus* le groupe « GVH-Sans MMF ». Les résultats sont résumés ci-dessous (Tableau 16). Seul le nombre de polynucléaires éosinophiles pour 10 champs dans le groupe « MMF-Non-GVH » *versus* le groupe « GVH-Sans MMF » n'était pas significativement différent.

	Patients MMF–Non-GVH n=22	Patients GVH-sans MMF n=31	p
<b>Nombre médian de CA/prélèvement (moyen)</b>	0 (1,4)	15 (29,0)	<b>p&lt;0,0001</b>
<b>Nombre médian de CA par biopsie (moyen)</b>	0 (0,5)	5 (11,6)	<b>p&lt;0,0001</b>
<b>Biopsies lésionnelles / totales (moyen)</b>	0 (0,2)	1 (0,7)	<b>p&lt;0,001</b>
<b>Nombre médian de PNE pour 10 HPF (moyen)</b>	16 (29,5)	17 (49,7)	NS (p=0,38)

Tableau 16 : Comparaison des critères microscopiques entre les patients « MMF-Non-GVH » et « GVH-Sans MMF ». CA : corps apoptotiques, HPF : champ au fort grossissement, NS : non significatif, PNE : polynucléaires éosinophiles.

### C. ANALYSE IMMUNOHISTOCHIMIQUE

#### 1. Anticorps anti-chromogranine

Plusieurs articles ont montré qu'une étude immunohistochimique par l'anticorps anti-chromogranine pour décompter les amas de cellules neuroendocrines était une aide au diagnostic différentiel entre une GVH et une colite induite par le MMF. Dans l'optique de faire le différentiel entre ces deux diagnostics, nous avons réalisé cette immunohistochimie pour les blocs dont il nous restait du matériel, soit pour 108 patients (4 blocs épuisés). Aucune différence significative dans le compte des amas de cellules neuroendocrines n'a été mise en évidence :

	Patients MMF – Non-GVH n=22	Patients GVH-sans MMF n=30	p
<b>Nombre médian d'amas de cellules endocrines pour 10 HPF (moyen)</b>	0 (1,0)	0 (1,1)	NS (p=0,55)

Tableau 17 : Comparaison du nombre d'amas de cellules endocrines entre les patients « MMF-Non-GVH » et « GVH-Sans MMF ». HPF : champ au fort grossissement, NS : non significatif.

#### 2. Anticorps anti-CD123

Selon Lin, la présence dans la *lamina propria* de cellules dendritiques plasmocytoïdes (mises en évidence par l'anticorps anti-CD123) serait très spécifique de la GVH. Dans le but de différencier les patients traités par MMF et présentant une GVH ou non, nous avons comparé ces 2 groupes. Là encore, aucune différence significative dans le compte des cellules dendritiques positives pour le CD123 n'a été retrouvée (p=0,64).

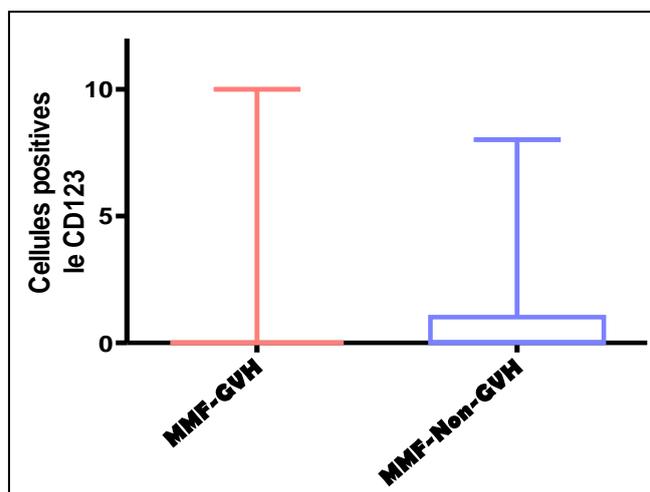


Figure 18 : Distribution du nombre de cellules dendritiques positives pour l'anti-CD123 chez les patients traités par MMF, présentant une GVH ou non.

## 7. Concordance inter-observateurs

Chacun des trois pathologistes a attribué un score histologique (0-3) pour les 111 prélèvements, ce qui nous a permis de calculer la concordance inter-observateurs. A l'issue de la triple lecture, les différences de scores 0 *versus* 1-3 ou 1 *versus* 2-3 ont été revus de manière collégiale. Au total, 29 cas, dont 16 cas « GVH » et 13 cas « Non-GVH », ont été relus avec les 3 pathologistes au microscope multi-têtes, toujours en aveugle par rapport au diagnostic définitif clinique.

Si l'on analyse les discordances basées sur les scores histologiques pronostiques 0-1 *versus* 2-3, on retrouve 19 cas discordants (11 cas « GVH » et 8 cas « Non-GVH »).

Concernant les taux de concordance inter-observateurs, en analysant les 4 scores histologiques (0, 1, 2 et 3), le score Kappa de Fleiss, reflétant le taux d'accord global entre les pathologistes, équivalait à 0,52, correspondant à une concordance moyenne. Lorsque l'on regroupait les scores histologiques 0 et 1, n'influençant pas la survie globale, le score de Kappa était égal à 0,61, correspondant à une concordance importante.

Si l'on analyse enfin le score définitif histologique de la relecture et le score initialement rendu lors du prélèvement initial, le score Kappa de Cohen équivaut à 0,42, correspondant à une concordance moyenne. Cette diminution de concordance est liée au nombre limité « d'évaluateurs » (diagnostics définitif *versus* initial), entraînant pour chaque patient, soit une concordance complète (=1), soit nulle (=0). Le fait de regrouper les scores histologiques 0 et 1 n'entraîne pas d'amélioration du score de concordance (Kappa=0,42).

# Discussion

---

- ***Rappel du contexte de notre étude***

La transplantation de cellules souches hématopoïétiques est considérée comme le seul traitement curateur des hémopathies, mais elle se complique parfois d'une maladie du greffon contre l'hôte. Malgré la compatibilité HLA et le traitement préventif, la GVH reste fréquente et grave, associée à une mortalité élevée. Ce travail visait à évaluer la valeur de l'analyse anatomopathologique pour le diagnostic de GVH, afin de permettre une meilleure appréhension de ces prélèvements par les pathologistes pour aider au mieux les cliniciens dans la prise en charge des patients.

- ***Points forts et limites de notre étude***

Le spectre de la maladie du greffon contre l'hôte est étendu, peu d'articles se sont intéressés à la GVH digestive d'un strict point de vue anatomopathologique. Cette étude a porté sur une importante série de 112 patients et son caractère rétrospectif nous a permis d'établir une corrélation clinico-pathologique afin d'évaluer notre diagnostic de GVH, au regard de l'évolution. En effet, de nombreux articles basent le diagnostic de GVH sur l'examen anatomopathologique seul. Cette étude a permis la relecture de toutes les biopsies par 3 pathologistes, en aveugle par rapport au diagnostic clinique définitif. Notre population est superposable aux études antérieures pour ce qui est des caractéristiques cliniques (2, 21, 24, 60), le délai d'apparition de la GVH est sensiblement similaire à la littérature (23), ainsi que la mortalité (84). Concernant la répartition de l'origine des cellules souches par rapport aux données de l'agence de Biomédecine, nos patients ont reçu moins de cellules souches d'origine médullaire, mais plus d'origine périphérique (2).

Il faut toutefois souligner que ce travail est monocentrique, limité au seul CHU de Bordeaux, et qu'il présente les limites d'une étude rétrospective. Nous n'avons donc pas pu récupérer toutes les données cliniques. Ainsi nous n'avons pas pu faire la distinction entre les prélèvements issus des différents segments coliques -les lésions de GVH seraient plus sévères dans le colon droit (82)- et nous n'avons pas connaissance des préparations endoscopiques utilisées, certaines connues pour être inductrices de véritables corps apoptotiques et mimant microscopiquement des lésions de GVH (77, 78).

En revanche, le caractère rétrospectif de l'étude a mis en évidence la valeur pronostique du système de scores anatomopathologiques.

○ **Place de l'analyse anatomopathologique dans le diagnostic de GVH**

**L'examen anatomopathologique** est l'une des clés diagnostiques de la GVH digestive, mais il ne peut seul en affirmer le diagnostic, et doit pour cela être associé aux données biologiques et cliniques. Dans notre cohorte, nous retrouvons rétrospectivement une importante corrélation entre les scores microscopiques de GVH et l'évolution clinique des patients, et l'examen anatomopathologique offre une bonne spécificité (83 %) et sensibilité (74 %). Washington retrouvait une sensibilité de 82 % et une spécificité de 76 % dans sa cohorte de 47 patients (67). Au contraire, Ponec ne mettait pas en évidence de corrélation histologie / évolution clinique, mais l'article ne portait que sur 10 patients (49), tout comme Kreisel qui aboutissait à la même conclusion (sur une série de 175 patients) (48).

Par contre, nous n'avons pas mis en évidence de corrélation entre les scores microscopiques et l'examen endoscopique ; ce point restant controversé selon les études (42, 46, 48, 49, 51).

**Le corps apoptotique** (CA) épithélial est la lésion élémentaire de la GVH digestive et il est requis pour le diagnostic microscopique (57, 65, 67), bien que n'étant pas pathognomonique (27). Le nombre minimum de CA par prélèvement ou biopsie n'est pas clairement défini, mais nous confirmons dans ce travail une différence nettement significative entre les groupes cliniques « GVH » et « Non-GVH » (20 fois plus de CA dans le groupe « GVH »). Pour les échantillons présentant d'importantes altérations glandulaires sans réel corps apoptotiques du fait d'une absence de glande, nous avons décidé de comptabiliser les glandes fantomatiques comme image de corps apoptotiques. Ainsi dans le groupe « GVH », environ 72 % des biopsies étaient pathologiques et 84 % des patients présentaient des lésions apoptotiques, ce qui est superposable à la littérature (59). Selon Lin, la présence de 6 CA ou moins pour 10 cryptes contiguës n'est pas suffisant pour porter le diagnostic de GVH sur biopsie colique (60). Dans notre travail, nous n'avons pas comptabilisé de manière similaire les CA afin de ne pas être limité par les conditions techniques (inclusion non tangentielle des biopsies digestives ne permettant pas le compte des CA dans le fond des cryptes). Nous montrons que les prélèvements présentant 6 CA ou plus par biopsie (n=29) appartiennent *tous* au groupe « GVH ». Mais environ 25 % des patients du groupe clinique « GVH » avaient des biopsies gradées 0 ou 1 : une conclusion anatomopathologique de biopsie normale ou de « GVH possible » ne doit donc pas éliminer le diagnostic ; c'est ici que les

données cliniques, notamment l'expérience médicale et l'épreuve thérapeutique, ont toute leur place. Ces cas « discordants » sont discutés ci-après.

Même si l'analyse microscopique n'est pas parfaitement corrélée au diagnostic clinique final, cette étude révèle néanmoins la forte valeur pronostique du score attribué aux biopsies ; les patients pouvant ainsi être répartis selon 2 groupes : groupe de « bon pronostic » pour les scores 0-1, et groupe de « mauvais pronostic » pour les scores 2-3.

Enfin, la présence de **lésions sévères** lorsqu'une GVH est diagnostiquée devrait toujours être mentionnée devant le pronostic défavorable associé.

**Au total, l'analyse anatomopathologique est bien corrélée au diagnostic clinique de GVH ; elle est nécessaire mais elle n'est pas suffisante ni irréprochable, et doit absolument être intégrée à la clinique et aux données biologiques. Enfin, le système de scores doit être maintenu car il représente un critère pronostique majeur et il pourrait être simplifié en 2 ou 3 échelons plutôt que 4 ; enfin, il est indispensable de souligner la présence de lésions sévères en cas de diagnostic positif.**

- ***L'étude immunohistochimique a-t-elle une place dans le diagnostic de GVH ?***

Le diagnostic microscopique de GVH pourrait être renforcé par la présence de cellules dendritiques plasmocytoïdes, soulignées par l'anticorps **anti-CD123** selon Lin. Dans cette série, tous les cas de colite infectieuse ou non-GVH présentaient un marquage négatif pour le CD123, et les cas de GVH étaient positifs dans environ 66 % des cas, tous grades confondus (70). Dans notre travail, nous ne rapportons pas de différence entre les groupes « GVH » et « Non-GVH », d'autant plus que nous trouvons un nombre significativement plus important de cellules positives dans nos groupes contrôles (biopsies normales et issues de MICI) par rapport à notre groupe « GVH ». De plus, cette immunohistochimie est particulièrement difficile à interpréter et ne semble pas être appropriée pour une utilisation de routine (Figure 19).

Concernant la mise en évidence d'amas de cellules neuroendocrines par l'**anti-chromogranine**, nous confirmons les résultats de la littérature, avec un nombre significativement plus important de cellules endocrines dans le groupe « GVH » par rapport aux témoins de biopsies normales ou présentant des lésions de MICI en poussée (27). En revanche, cette analyse complémentaire avait été proposée pour différencier les lésions de GVH des lésions induites par le MMF, ce que nous n'avons pas confirmé dans notre étude (*se reporter infra*).

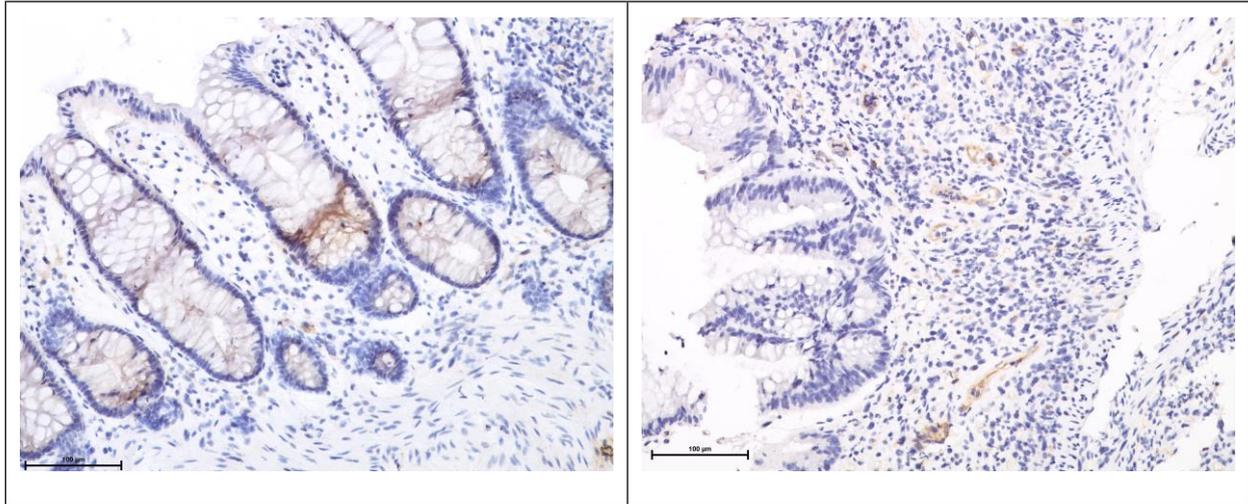


Figure 19 : Illustration des difficultés de lecture de l'immunohistochimie anti-CD123 : accrochage glandulaire et positivité des cellules endothéliales (x200).

Le CA est un critère essentiel au diagnostic de GVH, mais il est aussi observé dans les colites infectieuses dont les colites à CMV (56, 57, 59, 65). Concernant l'immunohistochimie **anti-CMV**, seuls 3,7 % des cas testés de notre cohorte étaient positifs, et tous ces cas étaient retrouvés positifs sur les explorations virologiques (analyse virologiques des biopsies par PCR). Après une greffe de cellules souches hématopoïétiques, les patients sont suivis de près et subissent des explorations bactériologiques, virologiques et mycologiques régulières. Devant la faible sensibilité de l'étude immunohistochimique anti-CMV (33 % dans notre étude), on peut se poser la question de son utilité, face aux résultats virologiques tout aussi rapides.

**A la vue de ces résultats, on peut conclure que l'apport de l'immunohistochimie dans la prise en charge des biopsies digestives suspectes de GVH est faible, voire nul, en soulignant la faible sensibilité de l'anticorps anti-CMV, néanmoins souvent réalisé à titre systématique.**

○ ***A-t-on des arguments microscopiques ou immunohistochimiques pour distinguer une GVH d'une colite induite par le MMF ?***

Les lésions microscopiques induites par le MMF ont été initialement décrites sur une série de 7 patients (81), puis sur une série de 43 patients greffés rénaux (82). Le mycophenolate mofetil peut mimer microscopiquement une GVH (69, 74, 75), une maladie inflammatoire chronique intestinale ou une colite ischémique (79), mais il n'y a pas de corrélation significative entre les lésions observées sous MMF et la dose administrée (corrigée sur le poids et la fonction rénale) (74). Concernant les paramètres pouvant aider à différencier une GVH d'une colite à MMF, le **nombre absolu de CA** ne semble pas être un paramètre fiable, variant considérablement en fonction de la

littérature : il est retrouvé plus élevé dans le groupe GVH dans l'étude de Papadimitriou (74), tandis qu'il ne diffère pas dans l'article de Star (69). Ici, nous avons trouvé une différence significative entre les 2 groupes, avec un nombre de CA 20 fois plus élevé dans notre groupe « GVH » (11,6 CA par biopsie en moyenne pour le groupe « GVH-Sans MMF » *versus* 0,5 pour le groupe « MMF-Non GVH »), le groupe « MMF-Non GVH » montrant au maximum 3 CA par biopsie.

Concernant la mise en évidence d'amas de **cellules neuroendocrines**, dans le résumé de Leino et l'étude de Star, la présence de ces cellules au sein de la lamina propria était significativement plus importante dans le groupe GVH *versus* MMF, et leur nombre était corrélé à la sévérité de la GVH (68, 69). Afin de mettre en évidence ces amas de cellules endocrines, nous avons réalisé une étude immunohistochimique anti-chromogranine, mais nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les 2 groupes.

Le nombre de **polynucléaires éosinophiles** (PNE) est débattu selon les études et il est considéré pour certains comme un argument supplémentaire en faveur du diagnostic de colite induite par le MMF (10, 61, 69). Star reportait la présence de PNE chez tous les patients présentant une colite au MMF, tandis que seulement 30 % des patients GVH sans MMF présentaient des PNE. Il a pu déterminer qu'un nombre supérieur à 15 PNE pour 10 champs au fort grossissement, associé à l'absence d'amas de cellules neuroendocrines orientait vers le diagnostic de colite à MMF (69). Dans notre étude, la distribution du nombre de PNE était extrêmement étendue et nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre les patients « GVH » et « MMF ». Ce résultat concorde avec ceux de Shidam et Washington (27, 59).

**Au total, parmi les outils précédemment proposés pour différencier des lésions de GVH d'une colite induite par le MMF, nous retenons qu'un nombre élevé de CA est un bon argument en faveur de la GVH, avec un seuil critique de plus de 3 CA par biopsie ; en revanche, l'utilité de la quantification des PNE et de l'étude immunohistochimique par anti-chromogranine n'est pas démontrée.**

- **Analyse des cas discordants**

Le diagnostic de GVH reste un diagnostic difficile, même pour des pathologistes expérimentés. La confrontation inter-pathologistes a mis en évidence quelques cas discordants, et la relecture des cas lors de l'étude n'a pas toujours amené aux mêmes conclusions que le diagnostic anatomopathologique initial.

De même il existait des discordances entre les diagnostics microscopique et clinique ; si l'on retrouve 20 fois plus de CA dans le groupe « GVH », il est intéressant de noter que, malgré tout dans notre série, 19 % des biopsies « Non-GVH » sont lésionnelles.

Nous avons tenté d'expliquer ces discordances, que l'on peut classer en 3 catégories :

1/ discordance entre les conclusions microscopiques de l'étude et le diagnostic clinique définitif :

Près de 17 % des patients « Non-GVH » ont été microscopiquement classés dans le groupe GVH microscopique (scores 2 ou 3). Pour 6 de ces 7 cas (86 %), la présence de corps apoptotiques peut être expliquée par une infection confirmée pour 6 patients (CMV, EBV, adénovirus et/ou HHV6), et/ou la prise de MMF (pour 4 patients). Un cas n'est pas expliqué par ces facteurs ; le délai d'endoscopie de 26 jours post-greffe pourrait être en cause, bien que l'on ait dépassé le seuil critique de 20 jours en dessous duquel il est possible d'observer des corps apoptotiques en rapport avec le conditionnement.

A l'inverse, pour 25 % des patients « GVH » (19 cas), un score microscopique de 0 ou 1 a été attribué (dans 7 et 12 cas respectivement). Quinze patients ne présentaient pas, ou peu, de CA, conduisant à ce classement. Pour 8 cas, les prélèvements étaient de quantité médiocre (présence d'une seule biopsie) et/ou il avait été instauré une corticothérapie précoce, antérieure à la réalisation des biopsies digestives. La corticothérapie est connue pour atténuer les lésions microscopiques de GVH et décapiter la réaction inflammatoire d'accompagnement, ce qui conforte l'absence d'intérêt de réaliser des biopsies itératives en cas de GVH diagnostiquée et traitée (52).

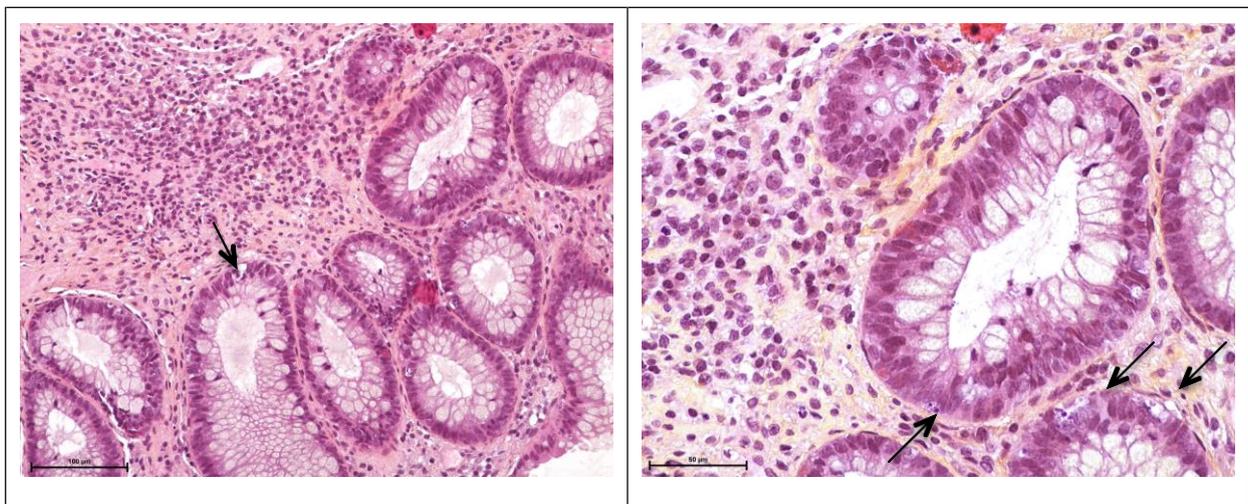


Figure 20 : Illustration d'un cas présentant d'assez nombreux corps apoptotiques (flèches), classé GVH probable selon les pathologistes, mais ne présentant pas de GVH au diagnostic clinique définitif (HES, x200 et x400). Les corps apoptotiques peuvent s'expliquer par des infections surajoutées pour ce cas (EBV et HHV6).

Pour 2 patients, aucune explication à l'absence de CA n'a été retrouvée ; néanmoins ces patients étaient toujours vivants 35 et 43 mois après la transplantation.

## 2/ discordance des résultats microscopiques entre les 3 pathologistes :

Bien que les pathologistes soient capables de reconnaître les lésions élémentaires de GVH, Washington a montré qu'ils différaient entre eux dans leur interprétation (67). Dans notre série, 11 % des cas (n=12) présentent une discordance inter-pathologistes (définie par des scores 0-1 *versus* 2-3). Ces cas discordants sont expliqués par des lésions infectieuses surajoutées dans un tiers des cas (Figure 21) et/ou l'absence ou la paucité de glandes, ne permettant pas de porter un diagnostic de GVH (pour 2 cas). Comme soulevé par Shidam, les lésions de cryptite avec infiltration de polynucléaires neutrophiles et abcès cryptiques ne sont pas des lésions de type GVH, mais elles gênent à l'interprétation des biopsies (59).

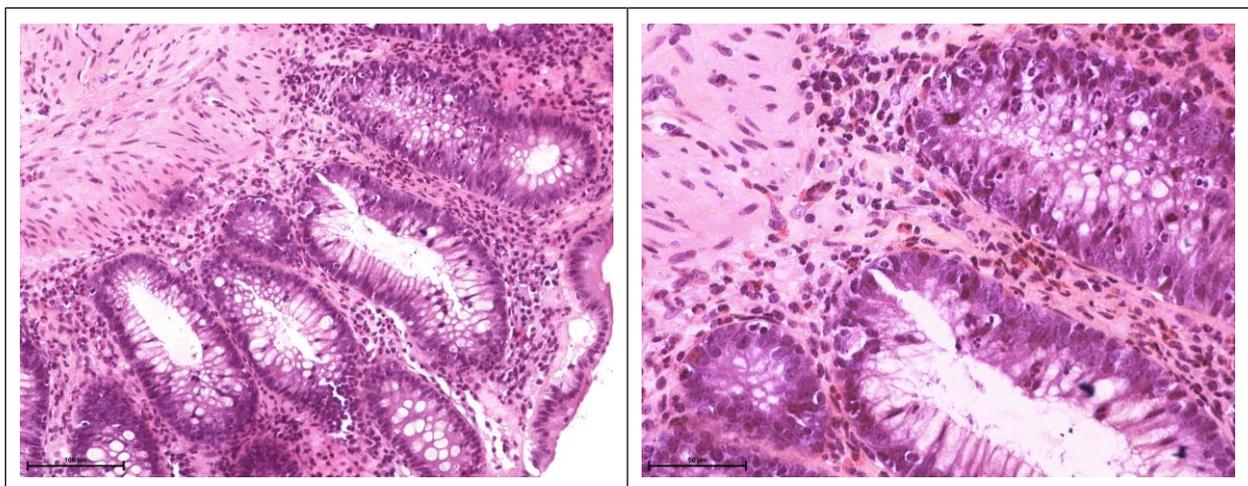


Figure 21 : Illustration de lésions infectieuses surajoutées, posant le problème d'une véritable colite infectieuse ou de lésions surajoutées à une GVH (HES, x200 et x400).

De plus, certains cas associent une muqueuse régénérative, des lésions de colite à polynucléaires neutrophiles et de rares CA, ce qui soulève le problème du diagnostic entre une GVH ou une maladie inflammatoire chronique intestinale. Aussi, la présence d'un stroma « évocateur de GVH » avec destruction des structures glandulaires associé à une importante fibrose pose la question entre des lésions cicatricielles de GVH (en voie de résolution), et des lésions nouvellement actives de GVH (52). Malheureusement, du fait de la disparition des glandes dans ces cas, le compte des CA n'est d'aucune aide (Figure 22).

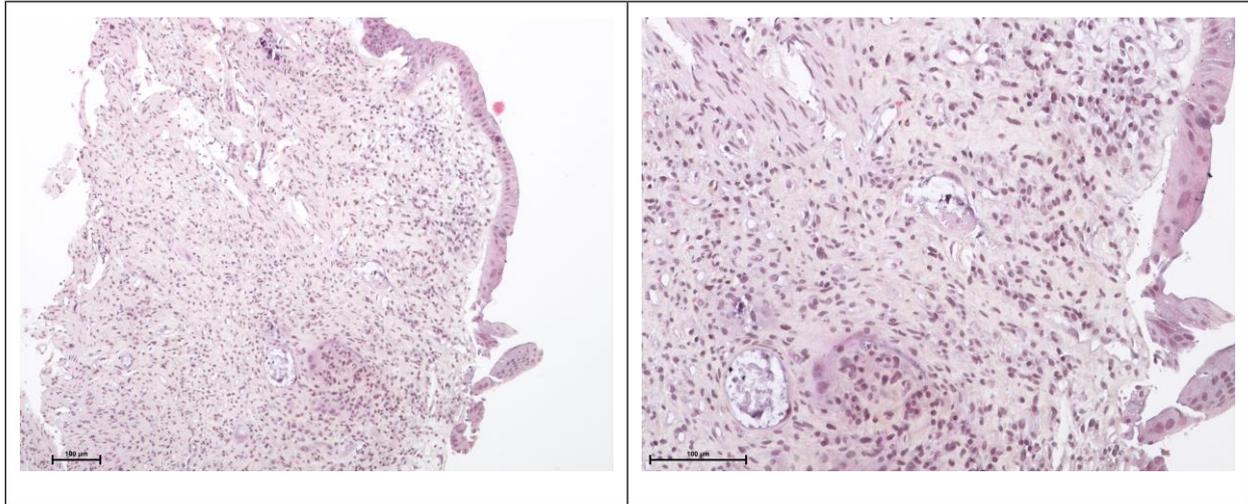


Figure 22 : Illustration d'un cas discordant inter-pathologistes : l'absence de glande et donc de corps apoptotique pose la question de « GVH certaine avec lésions sévères » versus « GVH possible, en voie de résolution » (HES x100 et x200).

A partir des scores attribués par les pathologistes pour chaque prélèvement et après comparaison au score microscopique retenu au terme de l'étude, nous avons pu calculer la spécificité et la sensibilité de chaque pathologiste pour le diagnostic de GVH (représentées sur la figure 23) :

- *GVH clinique définie par un score microscopique de 0 à 3* : toutes les sensibilités sont alors égales à 1, tous les cas de GVH sont diagnostiqués, mais les spécificités sont alors nulles ;
- *GVH clinique définie par un score microscopique de 1 à 3* : les sensibilités varient entre 0,83 et 0,90, et les spécificités entre 0,60 et 0,71 (représentées par des losanges sur le graphique) ;
- *GVH clinique définie par un score microscopique de 2-3* : les sensibilités varient alors entre 0,71 et 0,75, et les spécificités entre 0,83 et 0,95 (représentées par des cercles sur le graphique) ;
- *GVH clinique définie par un score microscopique de 3* : on observe une chute nette de la sensibilité pour chaque pathologiste (variant entre 0,52 et 0,57) avec une spécificité quasi-maximale, de 0,95 à 1 (représentées par des triangles sur le graphique).

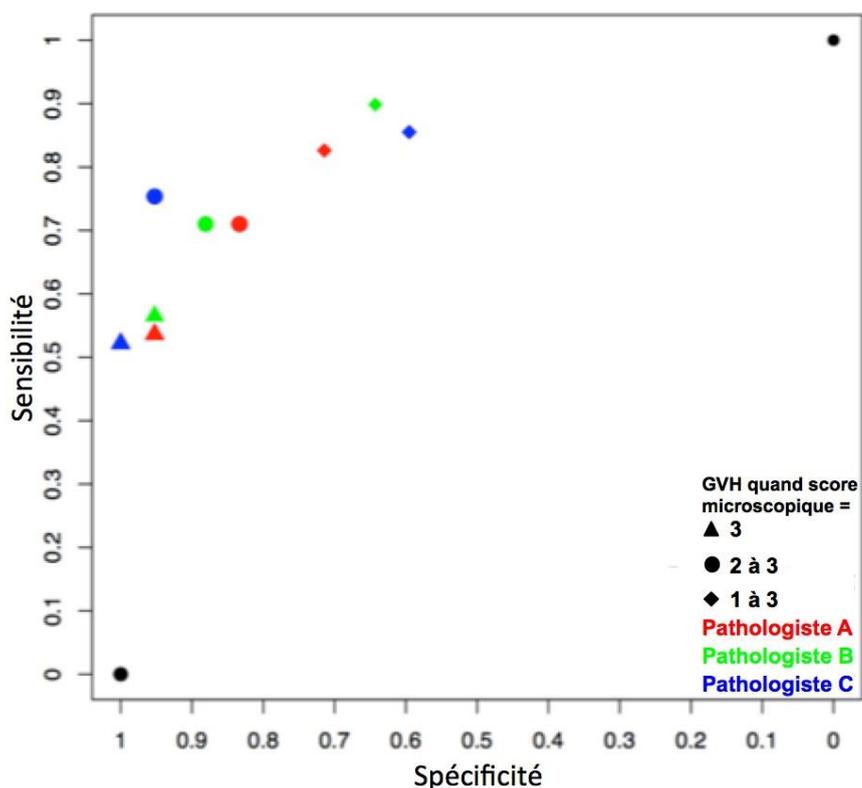


Figure 23 : Représentation des scores de sensibilité et spécificité pour chaque pathologiste selon le diagnostic microscopique.

3/ discordance des résultats microscopiques entre le diagnostic initial et celui retenu au terme de la relecture :

Vingt-sept cas (24 %) étaient discordants entre le diagnostic initial (réalisé au moment de la biopsie) et le diagnostic final issu de la relecture des 3 pathologistes. Ces cas discordants sont un reflet de la concordance intra-observateur. Ils peuvent s'expliquer par les mêmes facteurs de discordance inter-observateurs : matériel limité, peu de corps apoptotiques par absence de glandes épithéliales, infection surajoutée, problème des lésions chroniques *versus* résolutive... De plus, lors du diagnostic initial, les lésions n'ont pas été répondues selon les 4 catégories NIH. Nous les avons donc classées *a posteriori* à partir de notre interprétation du texte des comptes rendus afin de pouvoir juger de la concordance entre le diagnostic initial et celui retenu après relecture.

**L'analyse de ces discordances « microscopie-clinique » et inter-pathologistes met en exergue quatre réflexions :**

- **le problème diagnostique microscopique principal de la GVH est représenté par les causes infectieuses** : d'une part, parce qu'elles peuvent être à l'origine de la lésion élémentaire qu'est le CA, et d'autre part parce que les lésions de cryptite peuvent gêner l'interprétation et/ou mimer des CA ;
- l'interprétation microscopique est moins reproductible quand les biopsies montrent une **muqueuse cicatricielle** avec peu de glandes analysables ;
- **une biopsie colique (sub)normale n'élimine pas le diagnostic de GVH** ; c'est ici que l'expérience clinique est primordiale ;
- **il est essentiel d'analyser du matériel convenable** avec un minimum de 2 biopsies satisfaisantes, examinées sur plusieurs niveaux de coupe.

De ces réflexions découlent des recommandations de prise en charge de ces prélèvements difficiles (détaillées ci-après) : données cliniques et biologiques indispensables à l'interprétation des images, recommandations (pré-)analytiques, et éventuellement double lecture en cas de lésions non caractéristiques/complexes.

○ ***Proposition d'un arbre décisionnel***

Devant les travaux antérieurs et l'absence de consensus concernant le nombre de CA nécessaires pour porter le diagnostic de GVH (51, 52), nous souhaitons construire un outil pratique pouvant servir aux pathologistes amenés à prendre en charge ces biopsies digestives pour suspicion de GVH. Voici l'arbre décisionnel que nous proposons, tendant à simplifier l'interprétation des biopsies digestives, en fonction du nombre de corps apoptotiques par biopsie, après s'être assuré que la biopsie est interprétable (Figure 24).

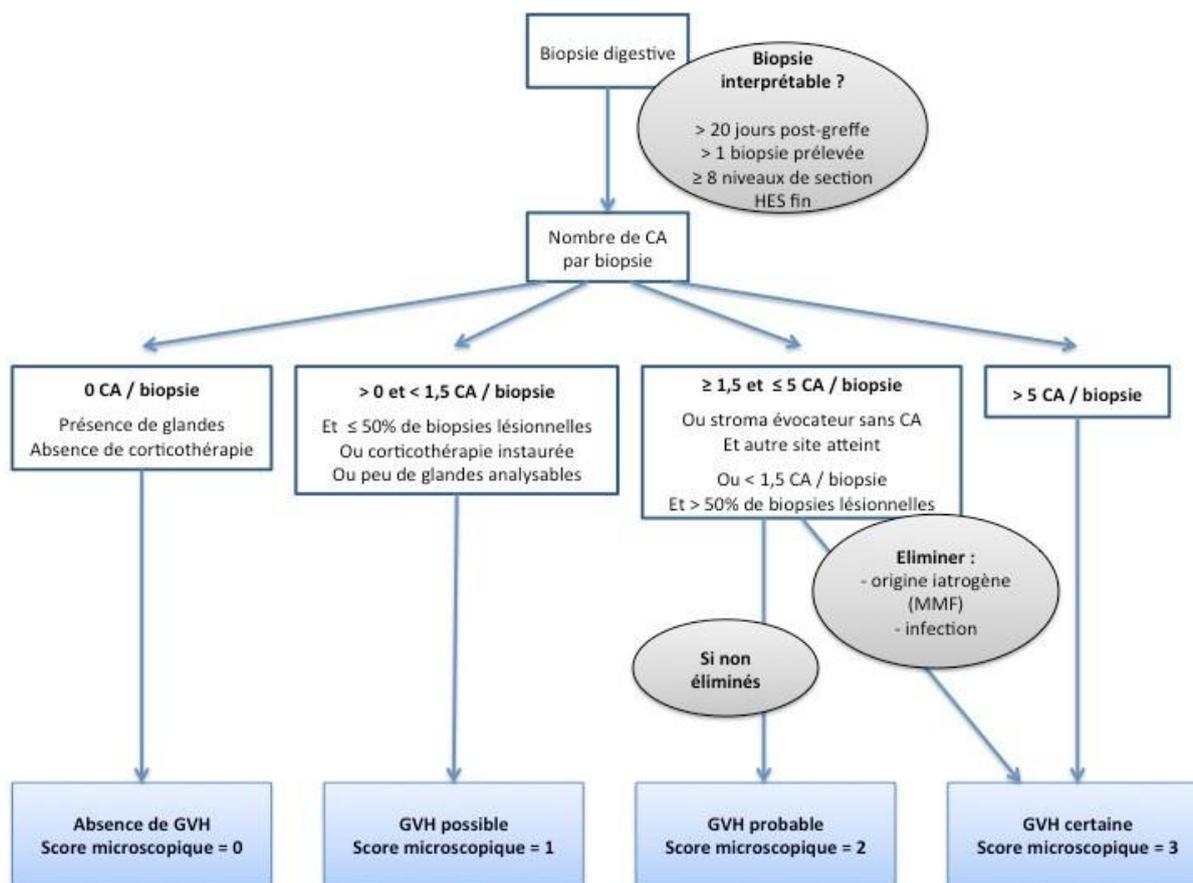


Figure 24 : Arbre décisionnel proposé pour l'interprétation d'une biopsie digestive pour suspicion de GVH.  
CA : corps apoptotique.

○ **Recommandations pour formuler la réponse anatomopathologique**

! Préanalytique

L'étape préanalytique tient une place importante dans tout processus anatomopathologique. Si elle n'est pas bien conduite, elle peut mener à de mauvaises interprétations médicales ou à une impossibilité de réponse. Concernant les biopsies adressées pour suspicion de GVH digestive, un nombre minimal de deux biopsies nous semble nécessaire pour porter le diagnostic. Ces biopsies doivent être, si possible, incluses de façon à obtenir des sections perpendiculaires à la surface, afin de pouvoir analyser les altérations induites par les lésions de GVH au niveau de la profondeur des cryptes (49). Les lésions étant hétérogènes (Figure 25), segmentaires et focales, il convient de réaliser un minimum de 8 niveaux de coupe à partir de chaque bloc (52).

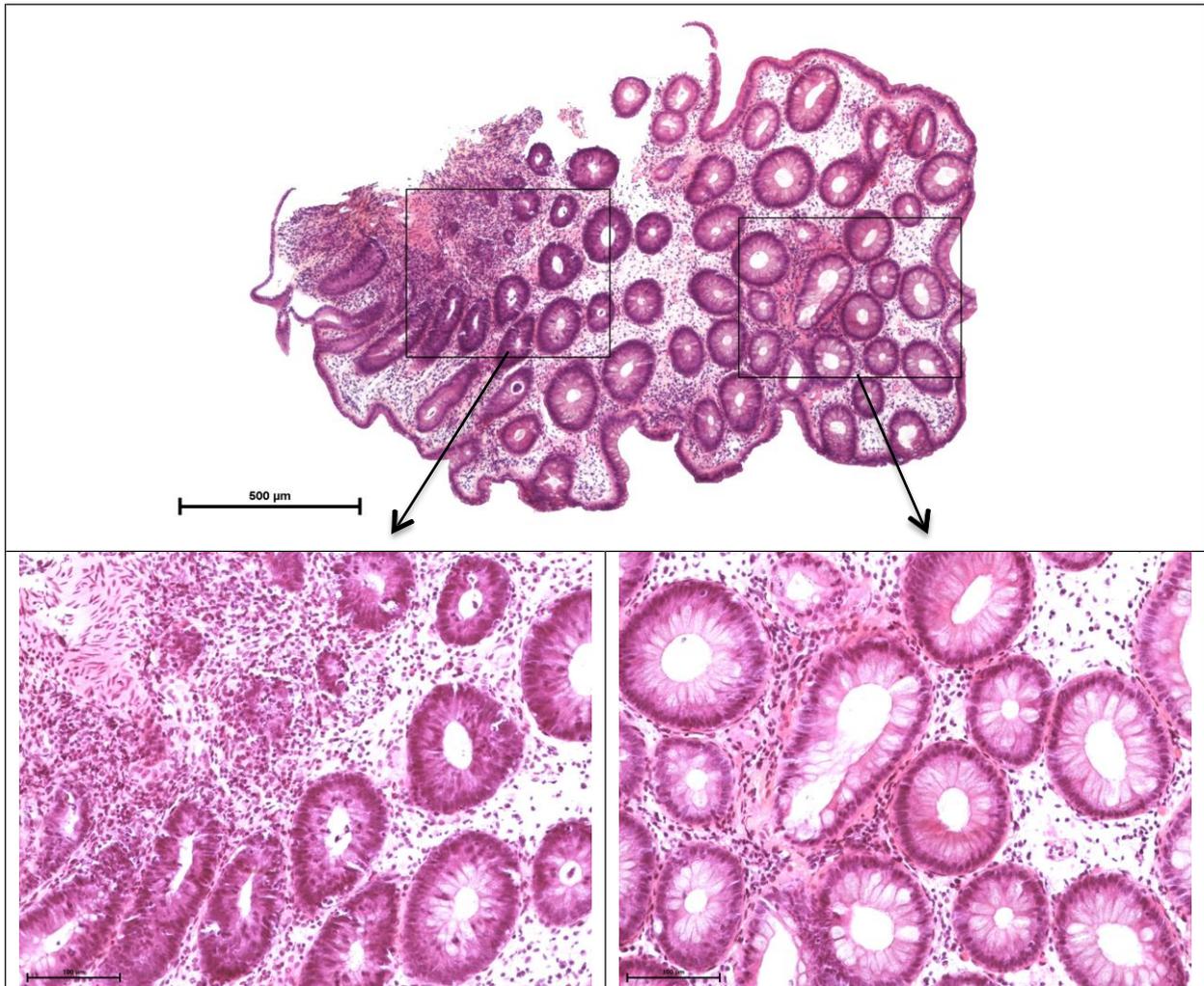


Figure 25 : Distribution hétérogène des lésions de GVH : sur la biopsie, la moitié de la biopsie est normale (à droite), l'autre est pathologique (à gauche), avec plusieurs corps apoptotiques épithéliaux, associés à un chorion d'aspect inflammatoire.

### ! Analytique

Plusieurs points nous ont semblé importants lors de la relecture de toutes les biopsies pour porter le diagnostic de GVH et déterminer le score histologique :

- lorsqu'une biopsie présente un aspect microscopique normal à faible grossissement, il est nécessaire de **l'examiner à plus fort grossissement** (x200 ou mieux, x400) pour ne pas méconnaître des corps apoptotiques, parfois nombreux (Figure 26) ;
- les CA épithéliaux sont à rechercher dans la **profondeur des cryptes**, au niveau des zones régénératives et peuvent être retrouvés de manière focale ;
- les poussières apoptotiques, retrouvées au niveau de l'épithélium de surface ou dans la lamina propria, peuvent être un signe d'alerte de présence de CA, mais **il ne faut pas les prendre en compte** dans le nombre de CA (20) ;

- l'infiltrat inflammatoire mononucléé du chorion peut aider à repérer les lésions de GVH ;
- enfin **aucune étude immunohistochimique** ne semble être utile au diagnostic, et elle ne peut remplacer des lames colorées par l'HES de bonne qualité (27).

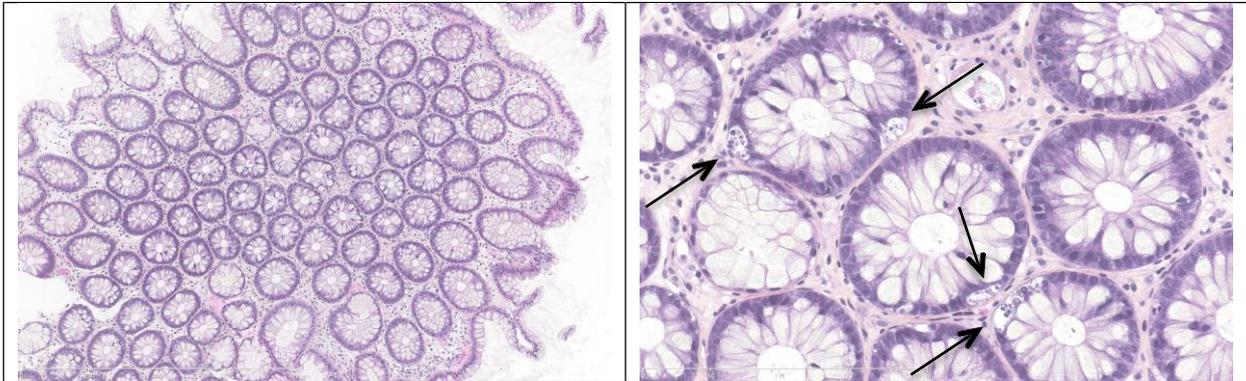


Figure 26 : Illustration d'un cas présentant un aspect microscopique normal à faible grossissement, sans désorganisation architecturale (HES, x100). A plus fort grossissement (HES, x400), présence de nombreux corps apoptotiques (flèches) (GVH certaine, de score 3).

Nous avons vu l'intérêt du système de scores microscopiques et sa corrélation avec la survie. Cependant, bien que l'on ait classé les biopsies en 4 scores microscopiques (selon les recommandations NIH), les courbes de survie pour les scores 0 et 1 sont globalement superposables ; c'est-à-dire qu'un score « possible de GVH » ne grève pas la survie du patient et est assimilable à une « absence de GVH » du point de vue pronostic. De la même manière, les survies globales des patients avec un score 2 ou 3 sont sensiblement superposables. Ceci nous amène donc à réfléchir à dichotomiser la réponse anatomopathologique : groupe de meilleur pronostic (0/absence de GVH et 1/GVH possible) *versus* groupe de mauvais pronostic (2/GVH probable et 3/GVH possible). Ces résultats sont en accord avec les dernières recommandations NIH 2015 qui préconise désormais de répondre selon 3 scores microscopiques : absence de GVH / GVH possible / en faveur d'une GVH (20). Ce dernier score regroupe les scores antérieurs « GVH probable » et « GVH certaine », correspondant à nos scores 2 et 3.

Enfin, un point essentiel devant figurer dans la conclusion est la présence de **lésions sévères** en cas de diagnostic de GVH. En effet, ce critère est associé à un mauvais pronostic, réduisant de manière significative l'espérance de vie.

#### ○ **Proposition d'un formulaire de renseignements cliniques**

Enfin, le diagnostic de GVH ne peut se résumer à l'analyse anatomopathologique seule, et les renseignements clinico-biologiques sont d'une importance majeure. Dans cette dernière partie,

nous proposons un formulaire de renseignements cliniques qui serait nécessaire à adresser avec les biopsies digestives réalisées pour suspicion de GVH.

1. Renseignements habituels d'ordre général :

- identité du patient
- âge
- date de la réalisation de la biopsie

2. Renseignements sur la greffe :

- délai par rapport à la fin du conditionnement
- date de la greffe
- origine des cellules souches (périphériques, moelle osseuse, sang de cordon)

3. Prise médicamenteuse à signaler (MMF +++, AINS, chimiothérapie, ...)

4. Présence d'une GVH sur un site autre que digestif

5. Infection virale ou bactérienne documentée (CMV, adénovirus, HHV6, EBV, *Clostridium difficile*, ...)

# Conclusion

---

La maladie du greffon contre l'hôte reste une complication fréquente et grave d'allogreffe. Microscopiquement, la lésion élémentaire nécessaire au diagnostic est le corps apoptotique épithélial, mais qui peut également être observé dans les 2 principaux diagnostics différentiels : colite infectieuse ou colite iatrogène. Les colites *infectieuses*, englobant les lésions induites par le CMV, l'adénovirus, l'EBV et l'HHV6, peuvent s'ajouter aux lésions de GVH, le meilleur indice pour en confirmer le diagnostic restant la mise en évidence de l'agent viral sur les biopsies, par PCR et non par immunomarquage. Les colites *iatrogènes* sont essentiellement induites par le mycophenolate mofetil. Nous avons montré que le meilleur argument pour retenir une GVH plutôt qu'une colite induite par le MMF est un nombre élevé de corps apoptotiques (avec un seuil critique de 3 corps apoptotiques par biopsie), les arguments proposés antérieurement n'ayant pas prouvé leur intérêt (quantification des polynucléaires éosinophiles ou mise en évidence d'amas de cellules neuroendocrines).

Ce travail souligne l'intérêt de l'analyse anatomopathologique dans ce contexte ; cette analyse peut être réalisée par une technique de coloration standard seule, sans recourir à l'immunohistochimie, en respectant des consignes (pré-)analytiques simples. Nous avons montré que l'interprétation des lésions microscopiques est reproductible de manière satisfaisante entre les observateurs et bien corrélée au diagnostic clinique ; elle doit néanmoins être associée aux renseignements cliniques les plus complets. Seule cette confrontation anatomo-clinique permet un diagnostic au plus juste, afin d'offrir la prise en charge optimale aux patients. Enfin cette étude rétrospective a révélé la valeur pronostique puissante du score microscopique, qui doit donc être précisé, en 3 niveaux plutôt que 4, en accord avec les recommandations 2015 NIH, en signalant la présence d'éventuelles lésions sévères.

# Références bibliographiques

---

1. <http://www.orpha.net/>
2. [www.agence-biomedecine.fr](http://www.agence-biomedecine.fr)
3. Gyurkocza B, Deeg HJ. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for MDS: for whom, when and how? *Blood reviews*. 2012;26(6):247-54.
4. Oran B. Which Patients Should Undergo Allogeneic Stem Cell Transplantation for Myelodysplastic Syndromes, and When Should We Do It? *Clinical lymphoma, myeloma & leukemia*. 2015;15 Suppl:S43-9.
5. Konya V, Mjosberg J. Innate Lymphoid Cells in Graft-Versus-Host Disease. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2015;15(11):2795-801.
6. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2009;15(12):1628-33.
7. Falkenburg JH, Warren EH. Graft versus leukemia reactivity after allogeneic stem cell transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2011;17(1 Suppl):S33-8.
8. Sloane JP, Norton J. The pathology of bone marrow transplantation. *Histopathology*. 1993;22(3):201-9.
9. Zhang Y, Ruiz P. Solid organ transplant-associated acute graft-versus-host disease. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2010;134(8):1220-4.
10. Wong NA. Gastrointestinal pathology in transplant patients. *Histopathology*. 2015;66(4):467-79.
11. Desperbasques M, Dhillon A, Hamid Q. Epithelial changes following bone marrow transplantation: cytological atypia and epithelial endocrine cells. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 1991;99(6):557-66.
12. Tichelli A, Rovo A, Gratwohl A. Late pulmonary, cardiovascular, and renal complications after hematopoietic stem cell transplantation and recommended screening practices. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2008:125-33.
13. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, Hingorani S, Sorrow ML, Boeckh M, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *The New England journal of medicine*. 2010;363(22):2091-101.
14. de Berranger E, Jubert C, Michel G. [Post-hematopoietic stem cell transplant complications]. *Bulletin du cancer*. 2015;102(7-8):648-55.
15. Urbano-Ispizua A, Pavletic SZ, Flowers ME, Klein JP, Zhang MJ, Carreras J, et al. The Impact of Graft-versus-Host Disease on the Relapse Rate in Patients with Lymphoma Depends on the Histological Subtype and the Intensity of the Conditioning Regimen. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2015;21(10):1746-53.

16. Xiong Y, Bensoussan D, Decot V. Adoptive Immunotherapies After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients With Hematologic Malignancies. *Transfusion medicine reviews*. 2015;29(4):259-67.
17. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*. 1974;18(4):295-304.
18. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2005;11(12):945-56.
19. Vogelsang GB, Lee L, Bensen-Kennedy DM. Pathogenesis and treatment of graft-versus-host disease after bone marrow transplant. *Annual review of medicine*. 2003;54:29-52.
20. Shulman HM, Cardona DM, Greenson JK, Hingorani S, Horn T, Huber E, et al. NIH Consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: II. The 2014 Pathology Working Group Report. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2015;21(4):589-603.
21. Arora M, Cutler CS, Jagasia MH, Pidala J, Chai X, Martin PJ, et al. Late Acute and Chronic Graft-Versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2015.
22. Remberger M, Ackefors M, Berglund S, Blennow O, Dahllof G, Dlugosz A, et al. Improved survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in recent years. A single-center study. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2011;17(11):1688-97.
23. MacMillan ML, DeFor TE, Weisdorf DJ. What predicts high risk acute graft-versus-host disease (GVHD) at onset?: identification of those at highest risk by a novel acute GVHD risk score. *British journal of haematology*. 2012;157(6):732-41.
24. Castilla-Llorente C, Martin PJ, McDonald GB, Storer BE, Appelbaum FR, Deeg HJ, et al. Prognostic factors and outcomes of severe gastrointestinal GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone marrow transplantation*. 2014;49(7):966-71.
25. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2015;21(3):389-401 e1.
26. Paczesny S, Hakim FT, Pidala J, Cooke KR, Lathrop J, Griffith LM, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: III. The 2014 Biomarker Working Group Report. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2015;21(5):780-92.
27. Washington K, Jagasia M. Pathology of graft-versus-host disease in the gastrointestinal tract. *Human pathology*. 2009;40(7):909-17.

28. Socie G, Mary JY, Lemann M, Daneshpouy M, Guardiola P, Meignin V, et al. Prognostic value of apoptotic cells and infiltrating neutrophils in graft-versus-host disease of the gastrointestinal tract in humans: TNF and Fas expression. *Blood*. 2004;103(1):50-7.
29. Ferrara JL, Deeg HJ. Graft-versus-host disease. *The New England journal of medicine*. 1991;324(10):667-74.
30. Couriel D, Caldera H, Champlin R, Komanduri K. Acute graft-versus-host disease: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Cancer*. 2004;101(9):1936-46.
31. Weisdorf D, Hakke R, Blazar B, Miller W, McGlave P, Ramsay N, et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor bone marrow transplantation. *Transplantation*. 1991;51(6):1197-203.
32. Lazaryan A, Weisdorf DJ, DeFor T, Brunstein CG, MacMillan ML, Bejanyan N, et al. Risk Factors for Acute and Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation with Umbilical Cord Blood and Matched Sibling Donors. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2015.
33. Kollman C, Howe CW, Anasetti C, Antin JH, Davies SM, Filipovich AH, et al. Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood*. 2001;98(7):2043-51.
34. Ayuk F, Veit R, Zabelina T, Bussmann L, Christopheit M, Alchalby H, et al. Prognostic factors for survival of patients with newly diagnosed chronic GVHD according to NIH criteria. *Annals of hematology*. 2015;94(10):1727-32.
35. Herrera AF, Soriano G, Bellizzi AM, Hornick JL, Ho VT, Ballen KK, et al. Cord colitis syndrome in cord-blood stem-cell transplantation. *The New England journal of medicine*. 2011;365(9):815-24.
36. Przepiorka D, Smith TL, Folloder J, Khouri I, Ueno NT, Mehra R, et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation. *Blood*. 1999;94(4):1465-70.
37. Couriel DR, Saliba RM, Giralt S, Khouri I, Andersson B, de Lima M, et al. Acute and chronic graft-versus-host disease after ablative and nonmyeloablative conditioning for allogeneic hematopoietic transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2004;10(3):178-85.
38. Calmet FH, Yarur AJ, Pukazhendhi G, Ahmad J, Bhamidimarri KR. Endoscopic and histological features of mycophenolate mofetil colitis in patients after solid organ transplantation. *Annals of gastroenterology : quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*. 2015;28(3):366-73.
39. Johansson JE, Nilsson O, Stotzer PO. Colonoscopy and Sigmoidoscopy are Equally Effective for the Diagnosis of Colonic Acute Graft-versus-Host Disease in Patients with Diarrhea after Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Prospective Controlled Trial. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2015;21(12):2086-90.
40. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *The American journal of medicine*. 1980;69(2):204-17.

41. Wu D, Hockenberry DM, Brentnall TA, Baehr PH, Ponec RJ, Kuver R, et al. Persistent nausea and anorexia after marrow transplantation: a prospective study of 78 patients. *Transplantation*. 1998;66(10):1319-24.
42. Liu A, Meyer E, Johnston L, Brown J, Gerson LB. Prevalence of graft versus host disease and cytomegalovirus infection in patients post-haematopoietic cell transplantation presenting with gastrointestinal symptoms. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2013;38(8):955-66.
43. Thompson B, Salzman D, Steinhauer J, Lazenby AJ, Wilcox CM. Prospective endoscopic evaluation for gastrointestinal graft-versus-host disease: determination of the best diagnostic approach. *Bone marrow transplantation*. 2006;38(5):371-6.
44. Nydegger A, Catto-Smith AG, Tiedemann K, Hardikar W. Diagnosis of gastrointestinal graft-versus-host disease--is rectal biopsy enough? *Pediatric blood & cancer*. 2007;48(5):561-6.
45. Roy J, Snover D, Weisdorf S, Mulvahill A, Filipovich A, Weisdorf D. Simultaneous upper and lower endoscopic biopsy in the diagnosis of intestinal graft-versus-host disease. *Transplantation*. 1991;51(3):642-6.
46. Cruz-Correa M, Poonawala A, Abraham SC, Wu TT, Zahurak M, Vogelsang G, et al. Endoscopic findings predict the histologic diagnosis in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Endoscopy*. 2002;34(10):808-13.
47. Melson J, Jakate S, Fung H, Arai S, Keshavarzian A. Crypt loss is a marker of clinical severity of acute gastrointestinal graft-versus-host disease. *American journal of hematology*. 2007;82(10):881-6.
48. Kreisel W, Dahlberg M, Bertz H, Harder J, Potthoff K, Deibert P, et al. Endoscopic diagnosis of acute intestinal GVHD following allogeneic hematopoietic SCT: a retrospective analysis in 175 patients. *Bone marrow transplantation*. 2012;47(3):430-8.
49. Ponec RJ, Hackman RC, McDonald GB. Endoscopic and histologic diagnosis of intestinal graft-versus-host disease after marrow transplantation. *Gastrointestinal Endoscopy*. 1999;49(5):612-21.
50. Akpek G, Chinratanalab W, Lee LA, Torbenson M, Hallick JP, Anders V, et al. Gastrointestinal involvement in chronic graft-versus-host disease: a clinicopathologic study. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2003;9(1):46-51.
51. Nguyen CV, Kastenberg DM, Choudhary C, Katz LC, DiMarino A, Palazzo JP. Is single-cell apoptosis sufficient for the diagnosis of graft-versus-host disease in the colon? *Digestive diseases and sciences*. 2008;53(3):747-56.
52. Shulman HM, Kleiner D, Lee SJ, Morton T, Pavletic SZ, Farmer E, et al. Histopathologic diagnosis of chronic graft-versus-host disease: National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: II. Pathology Working Group Report. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2006;12(1):31-47.
53. Iqbal N, Salzman D, Lazenby AJ, Wilcox CM. Diagnosis of gastrointestinal graft-versus-host disease. *The American journal of gastroenterology*. 2000;95(11):3034-8.
54. Teshima T, Reddy P, Zeiser R. Acute Graft-versus-Host Disease: Novel Biological Insights. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2015.

55. Biedermann BC, Sahner S, Gregor M, Tsakiris DA, Jeanneret C, Pober JS, et al. Endothelial injury mediated by cytotoxic T lymphocytes and loss of microvessels in chronic graft versus host disease. *Lancet*. 2002;359(9323):2078-83.
56. Sviland L, Pearson AD, Eastham EJ, Hamilton PJ, Proctor SJ, Malcolm AJ. Histological features of skin and rectal biopsy specimens after autologous and allogeneic bone marrow transplantation. *Journal of clinical pathology*. 1988;41(2):148-54.
57. Snover DC, Weisdorf SA, Vercellotti GM, Rank B, Hutton S, McGlave P. A histopathologic study of gastric and small intestinal graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Human pathology*. 1985;16(4):387-92.
58. Lee FD. Importance of apoptosis in the histopathology of drug related lesions in the large intestine. *Journal of clinical pathology*. 1993;46(2):118-22.
59. Shidham VB, Chang CC, Shidham G, Ghazala F, Lindholm PF, Kampalath B, et al. Colon biopsies for evaluation of acute graft-versus-host disease (A-GVHD) in allogeneic bone marrow transplant patients. *BMC gastroenterology*. 2003;3:5.
60. Lin J, Fan R, Zhao Z, Cummings OW, Chen S. Is the presence of 6 or fewer crypt apoptotic bodies sufficient for diagnosis of graft versus host disease? A decade of experience at a single institution. *The American journal of surgical pathology*. 2013;37(4):539-47.
61. Daneshpouy M, Socie G, Lemann M, Rivet J, Gluckman E, Janin A. Activated eosinophils in upper gastrointestinal tract of patients with graft-versus-host disease. *Blood*. 2002;99(8):3033-40.
62. Forbes GM, Erber WN, Herrmann RP, Davies JM, Collins BJ. Immunohistochemical changes in sigmoid colon after allogeneic and autologous bone marrow transplantation. *Journal of clinical pathology*. 1995;48(4):308-13.
63. Lampert IA, Thorpe P, van Noorden S, Marsh J, Goldman JM, Gordon-Smith EC, et al. Selective sparing of enterochromaffin cells in graft versus host disease affecting the colonic mucosa. *Histopathology*. 1985;9(8):875-86.
64. Ertault-Daneshpouy M, Leboeuf C, Lemann M, Bouhidel F, Ades L, Gluckman E, et al. Pericapillary hemorrhage as criterion of severe human digestive graft-versus-host disease. *Blood*. 2004;103(12):4681-4.
65. Epstein RJ, McDonald GB, Sale GE, Shulman HM, Thomas ED. The diagnostic accuracy of the rectal biopsy in acute graft-versus-host disease: a prospective study of thirteen patients. *Gastroenterology*. 1980;78(4):764-71.
66. Lerner KG, Kao GF, Storb R, Buckner CD, Clift RA, Thomas ED. Histopathology of graft-vs.-host reaction (GvHR) in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation proceedings*. 1974;6(4):367-71.
67. Washington K, Bentley RC, Green A, Olson J, Treem WR, Krigman HR. Gastric graft-versus-host disease: a blinded histologic study. *The American journal of surgical pathology*. 1997;21(9):1037-46.
68. Leino DJ GJ. Can we distinguish mycophenolate-induced colitis from colonic graft-versus-host disease? *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2012(25(S2)):167A.
69. Star KV, Ho VT, Wang HH, Odze RD. Histologic features in colon biopsies can discriminate mycophenolate from GVHD-induced colitis. *The American journal of surgical pathology*. 2013;37(9):1319-28.

70. Lin J, Chen S, Zhao Z, Cummings OW, Fan R. CD123 is a useful immunohistochemical marker to facilitate diagnosis of acute graft-versus-host disease in colon. *Human pathology*. 2013;44(10):2075-80.
71. Tzankov A, Stifter G, Tschorner I, Gastl G, Mikuz G. Detection of apoptoses in gastrointestinal graft-versus-host disease and cytomegalovirus colitis by a commercially available antibody against caspase-3. *Pathology, research and practice*. 2003;199(5):337-40.
72. Carpenter PA, Kitko CL, Elad S, Flowers ME, Gea-Banacloche JC, Halter JP, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: V. The 2014 Ancillary Therapy and Supportive Care Working Group Report. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2015;21(7):1167-87.
73. Gupta NK, Masia R. Cord colitis syndrome: a cause of granulomatous inflammation in the upper and lower gastrointestinal tract. *The American journal of surgical pathology*. 2013;37(7):1109-13.
74. Papadimitriou JC, Cangro CB, Lustberg A, Khaled A, Nogueira J, Wiland A, et al. Histologic features of mycophenolate mofetil-related colitis: a graft-versus-host disease-like pattern. *International journal of surgical pathology*. 2003;11(4):295-302.
75. Parfitt JR, Jayakumar S, Driman DK. Mycophenolate mofetil-related gastrointestinal mucosal injury: variable injury patterns, including graft-versus-host disease-like changes. *The American journal of surgical pathology*. 2008;32(9):1367-72.
76. Ross WA, Couriel D. Colonic graft-versus-host disease. *Current opinion in gastroenterology*. 2005;21(1):64-9.
77. Zwas FR, Cirillo NW, el-Serag HB, Eisen RN. Colonic mucosal abnormalities associated with oral sodium phosphate solution. *Gastrointest Endosc*. 1996;43(5):463-6.
78. Watts DA, Lessells AM, Penman ID, Ghosh S. Endoscopic and histologic features of sodium phosphate bowel preparation-induced colonic ulceration: Case report and review. *Gastrointestinal Endoscopy*. 2002;55(4):584-7.
79. Selbst MK, Ahrens WA, Robert ME, Friedman A, Proctor DD, Jain D. Spectrum of histologic changes in colonic biopsies in patients treated with mycophenolate mofetil. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2009;22(6):737-43.
80. Al-Absi AI, Cooke CR, Wall BM, Sylvestre P, Ismail MK, Mya M. Patterns of injury in mycophenolate mofetil-related colitis. *Transplantation proceedings*. 2010;42(9):3591-3.
81. Lee S, de Boer WB, Subramaniam K, Kumarasinghe MP. Pointers and pitfalls of mycophenolate-associated colitis. *Journal of clinical pathology*. 2013;66(1):8-11.
82. Liapis G, Boletis J, Skalioti C, Bamias G, Tsimaratou K, Patsouris E, et al. Histological spectrum of mycophenolate mofetil-related colitis: association with apoptosis. *Histopathology*. 2013;63(5):649-58.
83. Shimoji S, Kato K, Eriguchi Y, Takenaka K, Iwasaki H, Miyamoto T, et al. Evaluating the association between histological manifestations of cord colitis syndrome with GVHD. *Bone marrow transplantation*. 2013;48(9):1249-52.
84. Schulenburg A, Turetschek K, Wrba F, Vogelsang H, Greinix HT, Keil F, et al. Early and late gastrointestinal complications after myeloablative and nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Annals of hematology*. 2004;83(2):101-6.

85. Dignan FL, Clark A, Amrolia P, Cornish J, Jackson G, Mahendra P, et al. Diagnosis and management of acute graft-versus-host disease. *British journal of haematology*. 2012;158(1):30-45.
86. Mielcarek M, Furlong T, Storer BE, Green ML, McDonald GB, Carpenter PA, et al. Effectiveness and safety of lower dose prednisone for initial treatment of acute graft-versus-host disease: a randomized controlled trial. *Haematologica*. 2015;100(6):842-8.
87. Martin PJ, Schoch G, Fisher L, Byers V, Anasetti C, Appelbaum FR, et al. A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment. *Blood*. 1990;76(8):1464-72.
88. Hartman KG, Bortner JD, Falk GW, Yu J, Martin MG, Rustgi AK, et al. Modeling inflammation and oxidative stress in gastrointestinal disease development using novel organotypic culture systems. *Stem cell research & therapy*. 2013;4 Suppl 1:S5.
89. Fleiss JL, Cohen J. The equivalence of weighted Kappa and the intraclass correlation coefficient as measures of reliability. *Educational and psychological measurement*. 1973(33):613-9.

# Annexes

Annexe 1 : Liste des biomarqueurs diagnostiques, pronostiques et prédictifs candidats. Paczesny, 2015 (26).

Candidate chronic GVHD biomarkers

Category	Diagnostic			Prognostic/risk stratification			Predictive		
	Cellular	Mediator	Antibodies	Cellular	Mediator	Gene polymorphism	Cellular	Mediator	Antibodies
<b>Evidence-based Category 1</b>	B cells[39-44] Treg[45-47]	BAFF[17] CXCL9[17] elafin[17] Aminopeptidase N (sCD13)[17] sIL-2Rα[17] IL-4[48, 49] IL-6[50, 51] TNFα[50, 51]		Treg[45-47, 52, 53]	TNFα [52-54]	IL-10[55-59] IL-6[60-62] TNFα[56, 63, 64]	Treg[65-68] <sup>b</sup>	sIL-2Rα[69, 70]	
<b>Evidence-based Category 2</b>	BAFF/B cell[43] CD3+ T cells[39] Effector memory (CD4+ and CD8+)[71, 72] Monocytes[73] Naïve CD8+ T cells[71] NK cells[39] Th17 cells[50] TLR-9 responsive B cells[44]	ADAMTS2[74] ADAMTS3[74] AREG[74] BCAT1[74] CPM1[74] CXCL10[75] CXCR3[75] CXCR7[74] DAP2IP[74] haptoglobin[76] IFN-γ [48] IL-1β[51] IL-1Ra[77] IL-1R2[74] IL-2[48] IL-8[50] IL-10[77] IL-12[49] IRS2[74] SRGAP1[74] lactotransferin/lactoperoxidase (salivary)[78] IL-1Ra + CTSSB (salivary)[79]	ANA[80] Anti-dsDNA[69] Anti-PDGFR[81] H-Y antibodies[82]	B cells[43] DC2[83] NK[84, 85]	BAFF[86] BAFF/B-cell ratio[86] b-FGF[87] IFN-γ[53] IL-10[53] IL-15[88] TGFB[52] VEGF[87]	BAFF[89] CCR6[90] CCR9[91] FAS[56] FCRL3[92] Haptoglobin[76] Heparanase[93] HMGB1[94] IFN-γ[95] IL-1[61] IL-1Ra[57] MadCAM-1[96] MICA[97] PARP1[98]	Immature/memory B cell ratio[41] Th17 cells[50] TLR-9 responsive B cells[44]	BAFF[69]	Anti-PDGFR[99]

Biol Blood Marrow Transplant. Author manuscript available in PMC 2015 May 01.

The table presents a synthesis of published candidates chronic GVHD biomarkers organized according to application. Importantly, these are candidates based on current knowledge. Additional replication of these findings is needed, and none of the summarized candidates meet criteria for qualification. The table presents general biomarker candidates, and does not specifically present data on association between biomarker candidates and chronic GVHD organ involvement or severity.

Annexe 2 : Tableau des données issues de la lecture en aveugle des biopsies pour chaque patient suspect cliniquement de GVH. AP : médecin pathologiste, CA : corps apoptotique, HPF : champ au fort grossissement, NC : non contributif, PNE : polynucléaire éosinophile

N° patient	AP 1	AP 2	AP 3	Diagnostic pathologique définitif	Échantillon	Biopsies lésionnelles/ totales	PNE pour 10 HPF	Lésions (non), 1 (oui)
62	1	0	1	1	2	1/2	0	0
63	1	1	0	0	2	2/3	58	0
64	2	3	3	3	8	1/3	5	0
65	0	0	0	0	0	0/2	54	0
66	3	3	3	3	72	2/2	26	0
67	3	3	3	3	70	2/2	86	0
68	0	0	0	0	0	0/4	13	0
69	3	2	3	3	9	2/2	10	0
70	2	1	2	2	4	1/3	119	0
71	3	3	3	3	78	3/3	81	0
72	1	1	1	1	1	1/2	0	0
73	3	2	1	2	10	3/4	22	0
74	0	0	0	0	0	0/2	71	0
75	0	0	0	0	0	0/2	1	0
76	3	3	3	3	58	1/1	0	0
77	0	0	0	0	0	0/4	7	0
78	0	1	0	0	0	0/1	57	0
79	3	3	3	3	9	1/1	27	1
80	1	3	3	2	5	1/1	15	0
81	0	0	0	0	0	0/1	NC (12 pour 3)	0
82	0	2	1	1	0	0/4	16	0
83	2	3	2	2	4	1/1	82	0
84	0	0	0	0	0	0/2	1	0
85	3	2	3	3	10	1/1	0	0
86	0	0	0	0	0	0/1	4	0
87	0	0	0	0	0	0/1	28	0
88	2	3	3	3	3	1/2	25	0
89	3	3	3	3	49	3/3	0	0
90	2	0	1	2	3	1/3	151	0
91	3	3	3	3	52	4/4	2	0
92	0	0	0	0	0	0/2	2	0
93	3	1	2	1	0	1/1	1	1
94	2	2	1	2	8	2/2	9	0
95	3	2	3	3	6	1/1	56	0
96	3	3	3	3	30	2/2	40	0
98	0	0	0	0	0	0/1	0	0
99	0	0	0	0	0	0/2	5	0
100	3	3	3	3	51	2/2	269	0
101	3	3	3	3	92	2/2	98	1
102	3	3	3	3	130	2/2	23	1

103	NC	NC	NC	NC	NC	X/2	NC	NC
104	0	0	0	0	0	0/2	94	0
105	2	3	3	3	12	1/1	35	0
107	0	2	3	2	2	1/4	98	0
108	1	1	1	1	1	1/2	3	0
109	2	2	2	2	NC	1/1	336	1
110	3	3	3	3	36	3/3	1	1
111	3	3	3	3	46	4/7	31	0
112	0	0	0	0	0	0/1	0	0
113	2	3	2	2	4	2/2	1	0
114	0	0	0	0	0	0/3	0	0
115	0	0	0	0	0	0/2	4	0
116	2	3	1	2	5	1/1	0	0
117	0	0	0	0	0	0/3	4	0
118	0	1	1	1	1	1/4	2	0
119	0	0	0	0	0	0/3	1	0
120	3	3	3	3	120	3/3	11	1
121	3	3	3	3	19	2/3	76	0
122	3	3	3	3	138	2/2	213	0
124	3	3	2	3	6	2/2	6	0
125	0	0	0	0	0	0/2	44	0
126	0	0	0	0	1	1/2	96	0
127	1	2	2	2	2	1/3	69	0
128	1	1	1	1	2	1/1	17,5	0
129	1	0	1	1	1	1/2	46	0
130	1	1	0	1	2	1/3	2	0
131	0	0	0	0	0	0/2	1	0
132	3	3	3	3	30	2/2	10	1
133	3	3	3	3	15	3/3	50	0
134	3	3	2	3	11	1/1	2,5	0
135	1	1	2	1	2	1/2	11	0
136	0	0	0	0	0	0/2	67	0
137	0	1	0	1	0	0/2	0	0
138	2	1	1	1	8	2/4	19	0
139	3	3	3	3	64	2/2	233	1
140	3	1	1	3	12	4/4	72	0
141	0	1	1	0	0	0/3	2	0
142	1	1	1	1	1	1/3	0	0
143	2	3	1	2	1	1/9	52	0
144	3	3	3	3	36	4/4	195	0
145	0	1	2	3	0	0/2	4	0
146	0	1	1	1	0	0/2	1	0
147	2	0	0	1	4	2/2	104	0
148	3	1	3	3	25	2/2	1	0
149	1	1	0	1	5	1/4	108	0
150	2	3	3	3	5	1/1	1	0

151	0	0	0	0	0	0/2	31	0
152	0	1	1	1	0	0/2	3	0
153	0	0	0	0	0	0/2	259	0
154	0	1	2	0	0	0/1	0	0
155	0	0	1	0	0	0/5	1	0
156	0	0	1	1	0	0/2	11	0
157	2	3	2	2	4	1/2	4	0
158	3	3	3	3	79	4/4	1	0
159	0	0	0	0	0	0/3	5	0
160	0	2	2	2	0	0/4	80	0
161	2	3	2	2	2	1/2	1	0
162	3	2	2	2	6	2/2	15	0
163	3	2	1	2	4	1/1	8	1
164	0	0	0	0	0	0/1	1	0
165	2	2	2	2	14	2/4	2	0
166	3	3	3	3	20	4/4	2	0
167	1	0	0	1	2	1/1	69	0
168	3	3	2	3	10	2/2	82	0
169	0	1	0	0	0	0/2	4	0
170	0	1	1	1	0	0/6	107	0
171	3	3	3	3	24	2/2	4	0
172	3	3	3	3	12	2/2	15	0
173	0	0	0	0	0	0/1	1	0
174	3	3	3	3	33	3/3	2	0
175	3	3	2	3	2	2/2	17	1
176	3	3	3	3	112	3/4	22	0

# Serment d'Hippocrate

---

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

## APPORT DE L'ETUDE ANATOMOPATHOLOGIQUE AU DIAGNOSTIC DE MALADIE DU GREFFON CONTRE L'HOTE DIGESTIVE : RESULTATS D'UNE SERIE UNICENTRIQUE RETROSPECTIVE DE 112 PATIENTS ALLOGREFFES

### RESUME

Objectifs : La maladie du greffon contre l'hôte (GVH) digestive après transplantation de cellules souches hématopoïétiques est un diagnostic difficile, pour le clinicien et le pathologiste, des manifestations cliniques et microscopiques similaires pouvant être induites par une infection ou une cause iatrogène, coexistant parfois.

Matériel et méthodes : Les biopsies digestives de 112 patients allogreffés, chez qui une GVH digestive était suspectée, ont été relues rétrospectivement par 3 pathologistes, et ont été reclassées selon les 4 scores recommandés par le NIH : pas de GVH, GVH possible, probable, et certaine. Ces résultats ont ensuite été confrontés au diagnostic clinique. L'objectif de ce travail était d'évaluer la valeur de l'examen anatomopathologique dans le diagnostic positif et différentiel de la GVH digestive.

Résultats : Une GVH digestive a été cliniquement retenue chez 70 patients (62,5%). Les scores microscopiques étaient corrélés au diagnostic clinique ( $p < 0.001$ ) et à la survie, avec distinction de groupes de bon et mauvais pronostic ( $p < 0,05$ ), la présence de lésions sévères grevant le pronostic. Les corps apoptotiques par biopsie étaient 20 fois plus nombreux dans le groupe GVH ( $p < 0,0001$ ). Aucun des autres outils microscopiques ou immunohistochimiques proposés antérieurement n'était convaincant pour aider au diagnostic positif ou différentiel. Douze cas étaient discordants entre les pathologistes, la moitié pouvant être expliquée par une infection associée ou des biopsies de qualité médiocre.

Conclusion : Une analyse anatomopathologique rigoureuse, reposant sur une lame HES de bonne qualité seule, reste un outil fiable pour le diagnostic de GVH digestive, en association avec les données cliniques et microbiologiques. Le système de scores s'est révélé un facteur pronostique majeur ; il doit être maintenu et pourrait être simplifié en 2 ou 3 catégories. Enfin, nous proposons un outil simple (arbre décisionnel) pour aider à l'interprétation de ces biopsies.

---

### CONTRIBUTION OF PATHOLOGICAL ASSESSMENT FOR DIGESTIVE GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE: RESULTS OF A RETROSPECTIVE SINGLE-CENTRE STUDY OF 112 STEM CELL TRANSPLANT PATIENTS

#### SUMMARY

Background: Gastrointestinal (GI) graft versus host disease (GVHD) is a common and severe complication of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Its symptoms and histological features are not specific; therefore the diagnosis may be difficult for pathologists and clinicians.

Material and methods: In a retrospective study of 112 transplanted patients with clinically suspected GI GVHD, colonic biopsies were independently reviewed by three pathologists and classified in 4 grades according to the NIH Consensus Project recommendations: no GVHD, possible GVHD, probable GVHD and unequivocal evidence of GVHD. Results have then been compared with definitive clinical diagnosis. The goal of this study was to evaluate the contribution of pathological assessment for positive and differential diagnosis of GVHD. Results: Clinical diagnosis of GI GVHD was established for 70 patients (62.5%). The histological grades correlated well with the clinical diagnosis ( $p < 0.001$ ) and particularly with the prognosis, differentiating good and poor prognosis ( $p < 0.05$ ). Overall survival dropped sharply when severe lesions were observed. Apoptotic bodies were 20 times more numerous in GVHD group ( $p < 0,0001$ ). None of the suggested features to support GVHD diagnosis, such as eosinophils count, endocrine cells aggregates and immunohistochemical analysis (Cytomegalovirus, CD123, Chromogranin), was confirmed. Interobserver disagreement was observed only for 12 cases (4 of them had concurrent infection, and 2 were poor quality samples).

Conclusion: Rigorous pathologic analysis of H&E slides without immunohistochemistry remains a strong and reproducible tool to diagnose GI GVHD, always in consideration of clinical and biological information. Histological grading proved to be a powerful prognostic factor, and could be divided in 2 or 3 groups instead of 4. Finally, we suggest a simple tool (decision tree) to support the interpretation of these biopsies.

---

**MOTS-CLES** : maladie du greffon contre l'hôte, corps apoptotiques épithéliaux, biopsies digestives coliques, transplantation de cellules souches, mycophenolate mofetil.

**DISCIPLINE** : Médecine, Anatomie et Cytologie Pathologiques

Université de BORDEAUX - U.F.R des Sciences Médicales  
146, rue Léo Saignat, 33076 BORDEAUX Cedex