



Rejet infraclinique en transplantation rénale : impact sur la survie à long terme des greffons

Benjamin Laffy

► To cite this version:

Benjamin Laffy. Rejet infraclinique en transplantation rénale : impact sur la survie à long terme des greffons. Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01647655

HAL Id: dumas-01647655

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01647655>

Submitted on 24 Nov 2017

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.

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2016

N° 216

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE
DOCTEUR EN MÉDECINE

Rejet infraclinique en transplantation rénale : impact sur
la survie à long terme des greffons

Présentée et soutenue publiquement
le 27 juin 2016

Par

Benjamin LAFFY

Né le 10 novembre 1986 à Paris (75)

Dirigée par Mme Le Professeur Carmen Lefaucheur, PU-PH

Jury :

M. Le Professeur Denis Glotz, PU-PH Président

M. Le Docteur Alexandre Loupy, MCU-PH

Mme Le Docteur Évangéline Pillebout, PH



Except where otherwise noted, this work is licensed under
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

REMERCIEMENTS

Je remercie sincèrement chacun des membres du jury d'avoir accepté de juger cette thèse.

A Monsieur le Professeur Denis Glotz, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury. J'ai découvert les aspects passionnants de la transplantation rénale dans votre service. Votre exigence et votre souci du détail m'ont incité à approfondir ma réflexion.

A Madame le Professeur Carmen Lefaucheur, pour avoir accepté de diriger ce travail. Merci pour ton dynamisme et tes conseils qui m'ont permis d'avancer dans la bonne direction.

A Monsieur le Docteur Alexandre Loupy, pour avoir accepté de juger ce travail et m'avoir accueilli au sein de l'unité INSERM-U970.

A Madame le Docteur Evangéline Pillebout, pour l'intérêt que tu as porté à ce travail, et pour avoir si spontanément accepté de juger ce travail.

A Monsieur le Docteur Denis Viglietti, pour son aide précieuse dans la rédaction de cette thèse.

A Monsieur le Professeur Denis Glotz, Madame le Professeur Carmen Lefaucheur, Madame le Professeur Marie-Noëlle Péraldi, Madame le Docteur Corinne Antoine, Madame le Docteur Evangéline Pillebout, Monsieur le Docteur Denis Viglietti, Monsieur le Docteur Imad Abboud, Monsieur le Docteur Thomas Serrato, Monsieur le Docteur Fabien Métivier, Monsieur le Docteur Clément Gosset, pour vos conseils et enseignements, votre patience et votre bonne humeur. Cela est un plaisir de travailler avec vous.

A mes parents, pour votre soutien inconditionnel.

A mon frère, pour ton ouverture d'esprit et ta conduite sportive.

A toute ma famille : Pitou pour toutes tes blagues, Mamou pour tes conseils nutritionnels, Coco, Bruno et Clemtchouk pour vos spectacles, Elyo et Gaspard pour avoir repris le flambeau de la Scred Connexion et des Doors, Cathycat pour le partage de tes expériences, Grand-Mère Rolande. Merci pour vos encouragements sans faille.

Une pensée pour Henri, j'aurai voulu que tu sois présent aujourd'hui.

A Margaux, tu es toujours présente pour m'encourager, me soutenir dans les moments de doutes et donner le coup de pouce nécessaire. Merci.

A mes amis, qui n'entendent rien à la médecine et me rappellent qu'un monde extérieur existe.

A tous les médecins qui m'ont tant appris, merci.

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	2
Table des matières.....	3
Liste des abréviations.....	5
I) Introduction.....	6
I.1) Epidémiologie de la transplantation rénale.....	6
I.2) Les rejets en transplantation rénale.....	9
I.2.1) Historique.....	9
I.2.2) Définitions et classification de Banff.....	9
I.2.2.1) Lésions élémentaires.....	10
I.2.2.2) Catégories diagnostiques.....	18
I.3) Mécanismes du rejet médié par anticorps.....	23
I.3.1) Le complexe majeur d'histocompatibilité.....	23
I.3.2) Les molécules HLA.....	24
I.3.3) Fonction des molécules HLA.....	25
I.3.4) Allo-immunisation anti-HLA.....	26
I.3.4.1) Origine des alloimmunisations.....	26
I.3.4.2) De l'antigène HLA du donneur au DSA.....	27
I.4) Rôle des anticorps anti-HLA en transplantation.....	30
I.4.1) Méthodes de détection des anticorps anti HLA.....	30
I.4.1.1) Technique cellulaire : microlymphocytotoxicité.....	30
I.4.1.2) Technique enzymatique (ELISA).....	30
I.4.1.3) Technique en cytométrie de flux : technologie Luminex®.....	30
I.4.1.4) Le crossmatch.....	31
I.4.2) Ampleur du phénomène d'immunisation.....	32
I.4.3) Impact des anticorps anti-HLA en transplantation.....	32
I.4.3.1) DSA préformés.....	32

I.4.3.2) DSA <i>de novo</i>	34
I.5) Traitement du rejet aigu/actif médié par anticorps.....	35
I.6) Objectifs de l'étude.....	37
II) Patients et méthodes.....	38
II.1) Population de l'étude.....	38
II.2) Données cliniques.....	38
II.3) Biopsies du greffon rénal.....	39
II.4) Détection des DSA.....	39
II.5) Définitions des phénotypes histo-cliniques.....	40
II.6) Traitements immunosuppresseurs.....	40
II.7) Analyses statistiques.....	41
III) Résultats.....	43
III.1) Caractéristiques de la population.....	43
III.2) Phénotypes cliniques, histologiques et immunologiques à 1 an de la greffe.....	46
III.3) Survie du greffon selon le phénotype à un an de la greffe.....	49
III.4) Déterminants de la survie des greffons rénaux.....	50
IV) Discussion.....	54
V) Conclusion.....	59
Références.....	61
Serment d'Hippocrate.....	66

LISTE DES ABREVIATIONS

ABMR : Rejet Médié par Anticorps

sABMR : Rejet Infraclinique Médié par Anticorps

Ac : Anticorps

CM : CrossMatch

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

pCMH : complexe peptide – molécule du CMH (= molécule HLA)

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

DFGe : Débit de Filtration Glomérulaire estimé

DSA (*Donnor Specific Antibody*) : Anticorps Spécifiques du Donneur

HLA : Human Leucocyte Antigen

LB : Lymphocyte B

LCT : Lymphocytotoxicité

LTCD4+ : Lymphocyte T CD4+

MFI (*Mean Fluorescence Intensity*) : Intensité Fluorescente Moyenne

NK (*Natural Killer cells*) : cellules tueuses naturelles

PRA : Panel Reactive Antibodies

TCMR : Rejet à Médiation Cellulaire T

sTCMR : Rejet Infraclinique à Médiation Cellulaire T

TCR (*T Cell Receptor*) : Récepteur des lymphocytes T

BCR (*B Cell Receptor*) : Récepteur des lymphocytes B

TNF (*Tumor necrosis factor*)

IgG, M : Immunoglobuline G, M

FI/AT : Fibrose Interstitielle et Atrophie Tubulaire

I) INTRODUCTION

I.1) EPIDEMIOLOGIE DE LA TRANSPLANTATION RENALE

L'insuffisance rénale chronique est un problème majeur de santé publique qui concerne 600 millions de personnes dans le monde dont plus de 3 millions en France.¹ Sa progression vers le stade terminal nécessite un traitement de suppléance, par dialyse ou par transplantation rénale. Chaque année en France, plus de 10 000 patients débutent un traitement par dialyse.¹ Actuellement, 40 000 patients sont dialysés régulièrement et 38 000 vivent avec une greffe rénale.¹ La prise en charge de l'insuffisance rénale chronique terminale est un enjeu qui ne cesse de s'amplifier du fait de l'allongement de la durée de vie et de l'augmentation constante de l'incidence de l'hypertension artérielle, des maladies cardiovasculaires et du diabète qui favorisent la progression des maladies rénales chroniques. Le coût du traitement des maladies rénales représente actuellement 2% des dépenses totales de l'Assurance Maladie en France, soit 4 milliards d'euros par an.¹

La transplantation rénale est le traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique terminale puisqu'elle augmente la durée de vie des patients, diminue leur morbidité, améliore leur qualité de vie et en diminue le coût de leur prise en charge comparativement à la dialyse.²⁻

⁴ Ce traitement de référence de l'insuffisance rénale chronique terminale reste cependant insuffisamment accessible aux patients du fait de la pénurie de greffon dans un contexte d'augmentation continue de la prévalence des maladies rénales chroniques. Le nombre de patients inscrits sur la liste d'attente en France a doublé en 10 ans (11 711 en 2015 contre 5 675 en 2005).⁵ En France, 5 746 greffes d'organe ont été réalisées en 2015 (+8% par rapport à l'année 2014) dont 3 486 transplantations rénales (61%).⁵

En dépit des avancées médicales considérables réalisées au cours de ces dernières décennies dans le domaine de la transplantation, **la survie à long terme des greffons rénaux ne s'est pas améliorée.**^{6,7} En France, la survie des greffons rénaux est de 90% à 1 an de la

greffe, 79% à 5 ans de la greffe et 63% à 10 ans de la greffe chez les 24 147 patients transplantés entre 1993 et 2005.⁵ La première cause de perte de greffon, constituant **l'obstacle principal à l'amélioration de la survie à long terme des greffons, est le rejet médié par anticorps (ABMR).**⁸ Dans une étude prospective⁹ incluant une population non sélectionnée de 315 receveurs de greffon rénal, Sellares et al. ont analysé les causes de perte du greffon à partir des biopsies du greffon réalisées entre 6 mois et 32 ans après la transplantation, avec un suivi moyen de 31 mois après la biopsie. Dans la population d'étude, 74 (24%) greffons furent perdus durant le suivi dont 14 en raison du décès du receveur. La cause de la perte du greffon a pu être établie chez 56 des 60 receveurs restant ayant perdu leur greffon : 36 (64%) pertes de greffon étaient dues à un rejet, 10 (18%) à une glomérulopathie (récidive de la maladie initiale ou maladie *de novo*), 4 (7%) à une néphropathie secondaire au polyomavirus et 6 (11%) à un évènement intercurrent médical ou chirurgical. Les 36 pertes de greffon dues à un rejet impliquaient toutes un rejet médié par anticorps : 28 ABMR, 5 ABMR probables, 3 rejets mixtes. L'impact majeur de l'ABMR a également été démontré par une étude réalisée par les centres de transplantation des hôpitaux Saint-Louis et Necker à Paris. Les patients transplantés rénaux présentant un ABMR avaient une survie du greffon de 54% à 5 ans de la greffe contre 89% chez les patients sans ABMR ($P<0,0001$)¹⁰ (**Figure 1**).

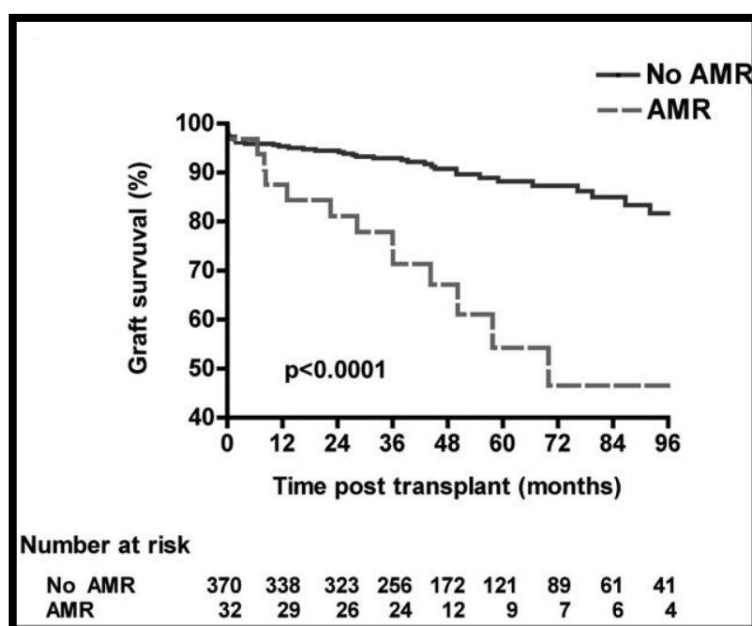


Figure 1. Courbes de survie des greffons rénaux en fonction de la présence ou non d'un rejet médié par anticorps (N=402).¹⁰

Bien que l'ABMR ait été identifié comme l'obstacle majeur à la réussite à long terme des transplantations rénales, **l'estimation de son incidence est difficile du fait de nombreux biais**. La notion d'ABMR est relativement récente. Depuis la première classification de Banff datant de 1993, qui intègre alors pour la première fois ce diagnostic, sa définition n'a de cesse d'évoluer, rendant caduque un certain nombre d'études antérieures. L'incidence de l'ABMR est également variable en fonction de la population étudiée et dépend notamment du risque immunologique des populations. En effet, il est difficile de comparer l'incidence de l'ABMR d'un centre à l'autre du fait de la variabilité des politiques locales et nationales de greffe et des outils diagnostiques disponibles (notamment pour la détection des anticorps anti-HLA). La prévalence de l'ABMR a pu être estimée entre 3 et 10% selon les séries.¹¹⁻¹³ Cependant, deux études ont mis en évidence une composante humorale dans plus de la moitié des rejets aigus.^{14,15} En combinant les résultats publiés chez plus de 1000 patients, on peut estimer que l'ABMR représente environ 30 % des rejets aigus documentés histologiquement, une prévalence élevée, très probablement liée à l'augmentation de la prévalence des patients immunisés et à l'amélioration des techniques diagnostiques.¹⁶

I.2) LE REJET D'ALLOGREFFE RENALE MEDIÉ PAR ANTICORPS

I.2.1) Historique

Le rejet médié par anticorps a été initialement évoqué comme mécanisme du rejet hyper-aigu survenant dans les heures qui suivent la transplantation. C'est grâce aux recherches de P. Terasaki et R. Patel dans les années 1960 que le lien entre allo-immunisation et rejet médié par anticorps a été fait : ils ont montré qu'un test du crossmatch (CM), dépendant du complément, positif en lymphocytotoxicité, était fortement prédictif de la survenue d'un rejet hyper-aigu.¹⁷ Par la suite, la réalisation systématique du CM avant la transplantation a permis une disparition du rejet hyper-aigu du paysage de la transplantation. Dès les années 1970, Jeannet et al. ont mis en évidence la présence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur (DSA) après la transplantation et ont souligné leur rôle délétère sur la survie du greffon.¹⁸

Il faudra attendre le début des années 1990 pour qu'Halloran et al. décrivent cette entité (le rejet médié par anticorps) et son association au développement de DSA *de novo*.¹⁹ Au milieu des années 1990, les premières observations d'association entre dysfonction rénale aiguë chez des patients à haut risque immunologique, présence de DSA circulants et dépôts diffus de C4d dans les capillaires péri-tubulaires (produit lors de l'activation de la voie classique du système du complément) ont permis d'affiner le concept d'ABMR en transplantation rénale. Secondairement, il a été montré que les dépôts de la fraction C4d du complément sur les capillaires péri-tubulaires étaient associés à un moins bon pronostic des épisodes d'insuffisance rénale aiguë précoces après la transplantation,¹⁴ avec une survie des greffons à un an de 57% chez les patients avec dépôts diffus de C4d, 63% en cas de dépôts segmentaires et de 90% en l'absence de dépôt.

I.2.2) Définitions et classification de Banff

La définition internationale du rejet médié par anticorps (ABMR) a beaucoup évolué au cours de ces 20 dernières années, comme en attestent les révisions itératives des classifications de Banff. Depuis la première classification de Banff dont le rapport est paru en

1993²⁰ qui ne reconnaissait comme rejet médié par anticorps que le rejet hyper-aigu, les révisions de cette classification en 1997,^{21,22} 2005,²³ 2007,²⁴ 2009,²⁵ 2011,²⁶ puis 2013²⁷ ont permis son introduction en pratique clinique courante en tant qu'entité clinique bien définie.

La classification de Banff repose sur l'analyse systématique des lésions histologiques au niveau de l'interstitium, des tubes, des glomérules et des structures vasculaires permettant d'établir des scores semi-quantitatifs allant de 0 à 3 et d'harmoniser les données histologiques. La reproductibilité inter-observateurs est bonne pour le diagnostic de rejet aigu, mais moindre pour celui des lésions « borderline » et de glomérulopathie d'allogreffe. Un minimum de structures tissulaires est requis pour permettre un diagnostic fiable : la biopsie est considérée comme « insuffisante » si elle comporte moins de sept glomérules et aucune artère de moyen calibre ; elle est « adéquate » avec plus de dix glomérules et deux artères de moyen calibre ; elle est considérée comme « limite » dans les cas ne répondant à aucune des deux autres définitions.

I.2.2.1) Lésions élémentaires

Les lésions élémentaires peuvent être regroupées en lésions aiguës et chroniques. Leur association permet de définir des catégories diagnostiques.

Les **lésions aiguës** sont les suivantes :

- Les lésions glomérulaires appelées **glomérulite** (score « g ») (**Figure 2**) : elle est définie par la présence d'éléments mononuclés comblant les lumières des capillaires glomérulaires plus ou moins associée à une turgescence des cellules endothéliales. Le score « g » est établi en fonction du pourcentage de glomérules atteints et selon le fait que l'atteinte soit segmentaire ou globale (g0 : absence, g1 : ≤ 25%, g2 : 26 à 75%, g3 : > 75%). La nouvelle classification de Banff²⁷ restreint cette définition à une « occlusion » partielle ou complète d'au moins un capillaire glomérulaire par un amas de cellules inflammatoires. Le score de glomérulite reste inchangé, défini par le pourcentage de glomérules atteints.

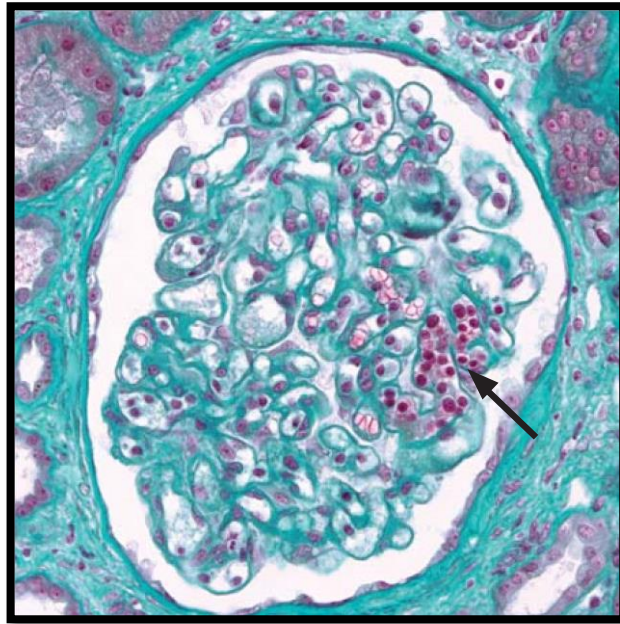


Figure 2 : Glomérulite : occlusion des capillaires glomérulaires par des éléments mononucléés (flèche) (x400, trichrome de Masson)

- La **capillarite** (score « cpt ») (**Figure 3**) : elle est définie par la présence de cellules dans les capillaires péri-tubulaires ectasiques. Le score est établi en fonction du nombre maximum de cellules inflammatoires présentes dans une lumière capillaire, sans tenir compte des capillaires coupés longitudinalement, et en faisant abstraction des zones péri-nécrotiques et des foyers de pyélonéphrite (cpt0 : < 3 éléments par capillaires ou < 10% de capillaires comportant plus de 3 éléments, cpt1 : de 3 à 4 éléments/capillaires, cpt2 : de 5 à 10 éléments/capillaires, cpt3 : > 10 éléments/capillaires).

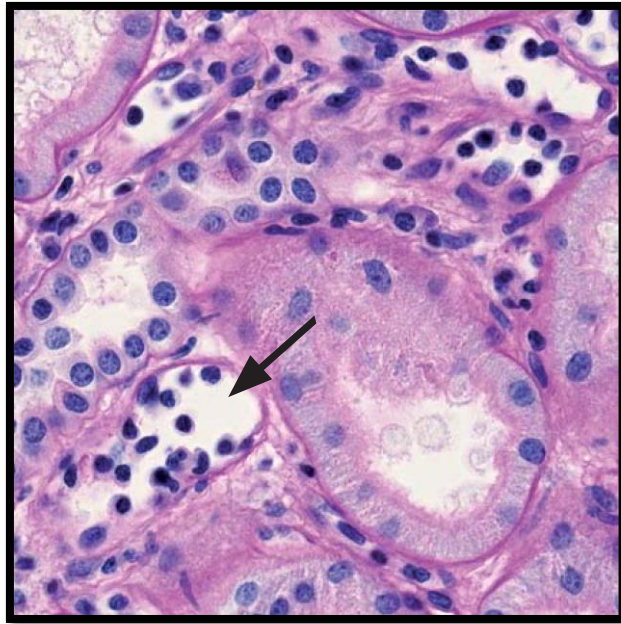


Figure 3. Capillarite péritubulaire : présence d'éléments mononucléés dans la lumière d'un capillaire péritubulaire (flèche) (x400, PAS).

- L'**endothélite** et l'**artérite intinale** (score « v ») (**Figure 4**) : elle est définie par le degré d'obstruction vasculaire, le degré d'extension de l'inflammation aux différentes tuniques et par l'existence ou non de nécrose pariétale (v0 : absence, v1 : obstruction $\leq$ 25%, v2 : obstruction $>$ 25%, v3 : inflammation transmurale de la paroi vasculaire et/ou nécrose fibrinoïde de la média). Jusqu'à présent, les lésions d'artérite ont été attribuées aux lymphocytes T CD4+ et CD8+ et étaient considérées par la classification de Banff quasi exclusivement comme des formes de rejet à médiation cellulaire. La classification de Banff 2013 reconnaît ces lésions d'artérite intinale comme une possible expression histologique des rejets médiés par anticorps.

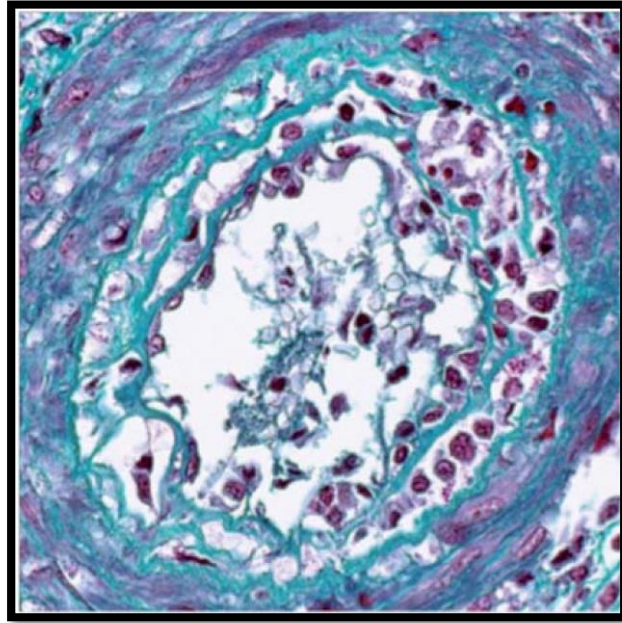


Figure 4. Artérite intinale v2 : infiltration de la média par des éléments mononucléés et obstruction vasculaire d'environ 30% (x360, trichrome de Masson).

- La **tubulite** (score « t ») (**Figure 5**) : elle est définie par la présence de lymphocytes en exocytose au sein de l'épithélium tubulaire de tubes peu ou pas atrophiques. Son score est établi sur le nombre maximal de cellules inflammatoires par section tubulaire (t0 : absence, t1 : plusieurs foyers de tube présentant de 1 à 4 lymphocytes par section tubulaire ou pour 10 cellules épithéliales tubulaires, t2 : 5 à 10, t3 : > 10 ou > 2 foyers de destruction de la membrane basale tubulaire).

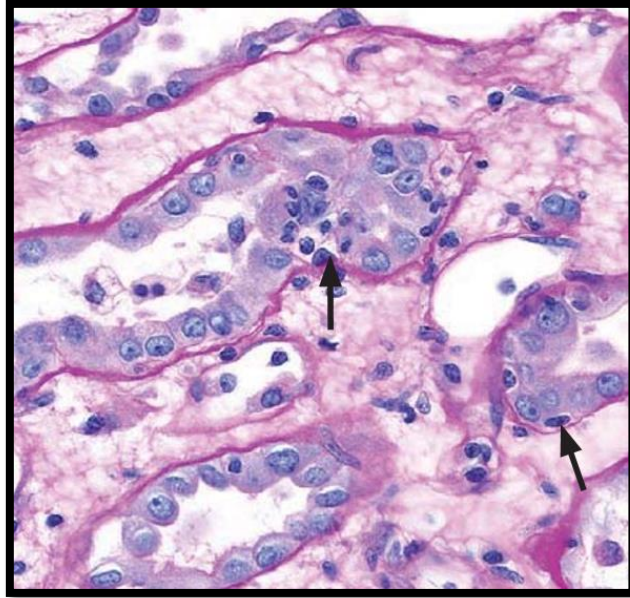


Figure 5. Infiltration de l'épithélium tubulaire par des lymphocytes (t2) (x400, PAS).

- **L'inflammation interstitielle** (score « i ») (**Figure 6**) : elle est définie par la présence d'un infiltrat inflammatoire, principalement lymphocytaire, au niveau du cortex rénal. Le score est estimé en fonction du pourcentage de surface corticale occupée par l'infiltrat, en dehors des zones non spécifiques (fibrose, cortex sous-capsulaire, adventice des gros vaisseaux) (i0 : <10%, i1 : de 10 à 25%, i2 : de 26 à 50%, i3 : > 50%. Une étoile (*) indique la présence de plus de 5% de polynucléaires neutrophiles, éosinophiles ou de plasmocytes.

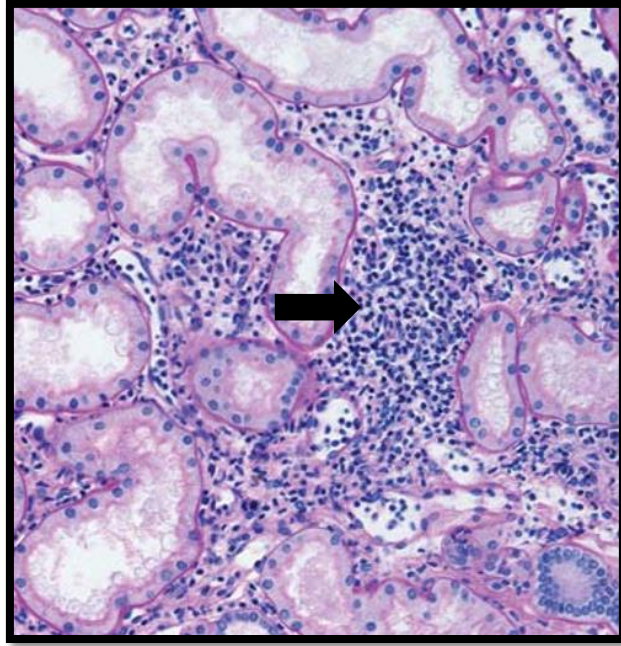


Figure 6. Présence d'un infiltrat inflammatoire interstitiel (flèche) (x150, PAS).

Les **lésions chroniques** principales sont :

- La **glomérulopathie d'allogreffe** (score « cg ») (**Figure 7**) : elle est caractérisée par un aspect en double contour de la membrane basale des capillaires glomérulaires, associé à une hyperplasie mésangiale. Le score évaluant la sévérité de la glomérulopathie d'allogreffe est établi en fonction du pourcentage d'anses capillaires présentant des doubles contours dans le glomérule le plus atteint (cg0 : absence, cg1a : absence de double contour en microscopie optique, mais présence de doubles contours en microscopie électronique sur au moins 3 capillaires glomérulaires associée à une turgescence des cellules endothéliales et/ou un espace clair sous endothélial (**Figure 8**), cg1b : doubles contours sur au moins une anse capillaire du glomérule non scléreux le plus atteint, cg2 : 26 à 50%, cg3 : > 50%). Son incidence varie de 2 à 6% des greffons biopsiés pour dysfonction chronique.²⁸ Classiquement décrite comme une lésion tardive après la transplantation, elle peut être observée plus précocement et est assortie d'un pronostic péjoratif. Elle est actuellement considérée comme une lésion d'ABMR chronique de par sa forte association aux DSA circulants (plus de 70% des cas, principalement des DSA de classe II).²⁹

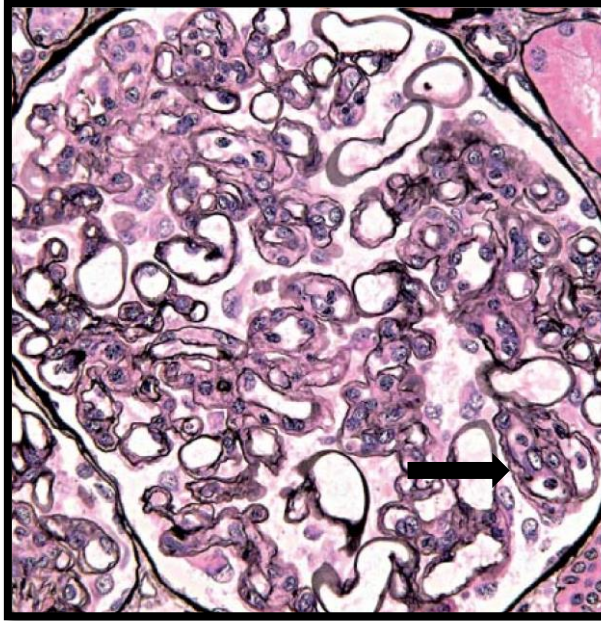


Figure 7. Glomérulopathie d'allogreffe : doubles contours (flèche) et hyperplasie mésangiale visibles en coloration argentique (x250).



Figure 8. Double contours (cg1a) vus en microscopie électronique.

- L'**hyperplasie mésangiale** (score « mm ») (**Figure 9**) : elle est définie par un épaississement des tiges mésangiales. Le score dépend du nombre de glomérules atteints (mm0 : absence, mm1 : < 25% des glomérules, mm2 : de 26 à 50%, mm3 : > 50%).

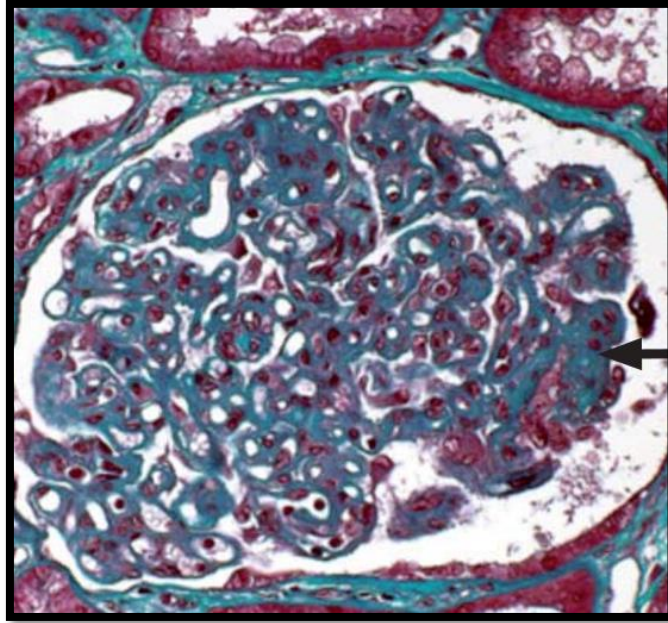


Figure 7. Epaissement des tiges mésangiales (flèche) (x400, trichrome de Masson).

Le **C4d** est un produit inactif issu de la catalyse de la fraction C4 du complément lorsque la voie classique du complément est activée par des anticorps. Il se dépose sur la face profonde des cellules endothéliales. Il est un marqueur dynamique qui peut s'accumuler ou être dégradé par les enzymes tissulaires. C'est un marqueur tissulaire spécifique du rejet médié par anticorps, corrélé dans 78 à 90% des cas à la présence de DSA circulants. C'est un facteur pronostique indépendant de survie du greffon.²¹ Les dépôts de C4d observés en l'absence de DSA anti-HLA pourraient être dus à la présence d'autres anticorps dirigés contre des antigènes des cellules endothéliales du donneur (anticorps anti-MICA par exemple). La sensibilité du C4d pour le diagnostic d'ABMR varie selon les études de 31 à 95%³⁰ et semble particulièrement faible pour le diagnostic d'ABMR chronique, de l'ordre de 40%.³¹ Les dépôts de C4d tissulaires peuvent être mis en évidence soit par la technique de l'immunoperoxydase (immunohistochimie, **Figure 10**) sur coupe incluse en paraffine soit par immunofluorescence (**Figure 11**) sur fragment congelé. Le score C4d est semi-quantitatif et exprimé en pourcentage de surface tissulaire marquée (négatif : 0%, minime : 1 à 10%, focal : 10 à 50%, diffus $\geq$ 50%).

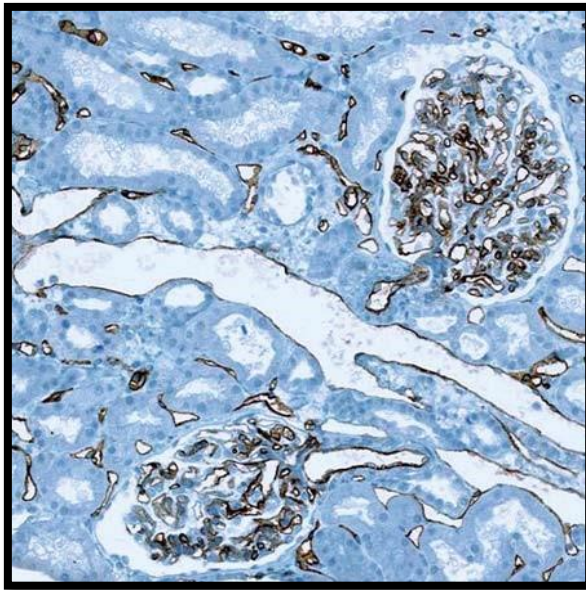


Figure 10. Dépôts de C4d en immunoperoxydase (x200).

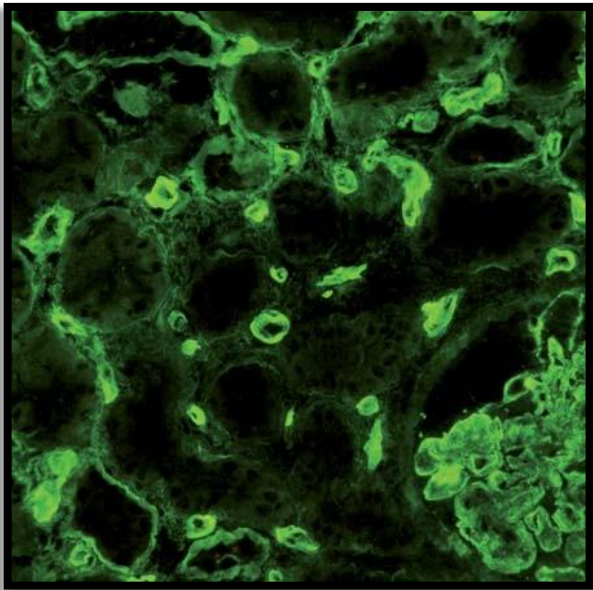


Figure 11. Dépôts de C4d en immunofluorescence (x400).

Les autres lésions élémentaires de la classification de Banff permettent de quantifier l'infiltration inflammatoire interstitielle corticale totale (score ti), la fibrose interstitielle (score ci), l'atrophie tubulaire (score ct), la vasculopathie chronique du transplant (score cv) et la hyalinose artériolaire (score ah), et appartiennent au registre des lésions chroniques.

I.2.2.2) Catégories diagnostiques

Etait considérée comme **anomalie à médiation humorale** :

- L'association de dépôts de C4d à la présence de DSA circulants, en l'absence de signe de rejet aigu ou chronique à médiation humorale ou cellulaire.
- L'association d'une insuffisance rénale aiguë, de DSA anti-HLA, de dépôts de C4d à la présence d'une nécrose épithéliale tubulaire et/ou d'une atteinte de la microcirculation (glomérulite et/ou capillarite et/ou lésion de micro-angiopathie thrombotique) et/ou d'une atteinte vasculaire sévère (artérite transmurale ou nécrose fibrinoïde v3).
- En **2005** a été introduit une nouvelle entité de rejet : le **rejet chronique médié par anticorps**. Il a en effet été constaté que les anticorps anti-HLA étaient associés au

développement des lésions chroniques. Il est défini par la présence d'une glomérulopathie d'allogreffe (cg) et/ou un aspect feuilleté des membranes basales des capillaires péri-tubulaires, une fibrose interstitielle avec atrophie tubulaire (FI/AT) et/ou des lésions vasculaires chroniques (cv), associés à la positivité du C4d et à la présence de DSA.

La classification de Banff a été modifiée en **2013** pour répondre à plusieurs problèmes rencontrés de plus en plus fréquemment en pratique clinique :

- La positivité du C4d n'est pas constante malgré un phénotype évocateur.
- La présence d'anomalies histologiques compatible avec le diagnostic d'ABMR, mais sans retentissement sur la fonction rénale
- L'endothélite et l'artérite intinale n'étaient pas intégrées dans cette définition.
- Par ailleurs, l'étude des transcrits endothéliaux à partir de biopsie de rejet (signature moléculaire du rejet) ont été intégrés dans la nouvelle classification.

Les anomalies histologiques restent l'élément central du diagnostic d'ABMR, notamment les lésions d'inflammation de la microcirculation, et plus récemment les modifications de l'ultrastructure des cellules endothéliales (en microscopie électronique).

Un nouveau phénotype d'ABMR a été incorporé à la classification : le **rejet vasculaire médié par anticorps**. Il est caractérisé par la présence d'une artérite intinale et est associé au pronostic rénal le plus péjoratif. Lefaucheur et al. ont rapporté un risque de perte de greffon 10 fois plus important chez les patients ayant un rejet vasculaire médié par anticorps comparativement aux patients ayant un rejet à médiation cellulaire T (TCMR) sans atteinte vasculaire ($P < 0,0001$) et 3 fois plus important comparativement aux patients avec un ABMR sans lésion vasculaire.³² Dans cette étude, le TCMR avec atteinte vasculaire n'était pas significativement associé à l'augmentation du risque de perte du greffon.

Un autre phénotype d'ABMR a été reconnu : l'**ABMR C4d négatif**. En effet, le marquage C4d présente de nombreuses limites pour le diagnostic d'ABMR. Ce marquage a une faible sensibilité pour le diagnostic d'ABMR, variant de 31 à 95% selon les études.³⁰ Loupy et al. ont trouvé une sensibilité de 69%, une valeur prédictive négative de 44%, une spécificité de 83%

et une valeur prédictive positive de 90% du C4d pour le diagnostic d'ABMR.³³ Cette étude, réalisée dans une cohorte de patients transplantés en présence de DSA, a également montré que les lésions aiguës d'inflammation de la microcirculation (g + cpt) observées dans la première année de greffe et la persistance de DSA circulants après transplantation étaient des facteurs significativement associés à l'évolution vers l'ABMR chronique, indépendamment du statut du C4d. Ces résultats ont été confirmés par d'autres équipes utilisant une approche moléculaire. En particulier, les travaux de l'équipe d'Edmonton ont montré que la survie du greffon est significativement altérée chez les patients présentant une augmentation de l'expression de transcrits endothéliaux (ENDAT) dans le greffon.³¹ Quant au marquage C4d, il était négatif chez plus de 60% des patients. De plus, la reproductibilité inter-observateur du score C4d est faible (coefficient kappa à 0,17).³⁴

Enfin, le dernier phénotype de rejet médié par anticorps a avoir été incorporé à la classification 2013 est l'**ABMR infraclinique (sABMR)**. Cette entité a pu être mise en évidence dans 2 à 30% des biopsies protocolaires durant la première année chez des patients transplantés avec des DSA préformés. Les lésions histologiques contrastaient avec une fonction rénale stable ou très modérément altérée. Loupy et al. ont ainsi démontré, en comparant les biopsies protocolaires à 3 et 12 mois après la transplantation, la relevance clinique de cette entité chez des patients transplantés avec des DSA préformés.³⁵ Dans cette étude, à 3 mois de la transplantation, 31% des patients présentaient tous les critères d'ABMR (g+, cpt+, C4d+, DSA+) ; 49% des patients avaient une forme incomplète d'ABMR (g+, cpt+, C4d-, DSA+) et 20% ne présentaient pas de lésions (g-, cpt-, C4d-). A 12 mois de la transplantation, les patients ayant présenté un sABMR à 3 mois de la greffe montrait une progression plus importante des lésions chroniques avec une incidence supérieure de glomérulopathie d'allogreffe (43% contre 0%, P=0,02) et une fonction rénale plus altérée par rapport aux patients n'ayant pas eu d'ABMR infraclinique à 3 mois (débit de filtration glomérulaire [DFG] à 39,2±13,9 contre 61,9±19,2 mL/min/1,73m² respectivement, P<0,01). Cette étude illustre le continuum entre rejet infraclinique et rejet chronique médiés par anticorps ; et son retentissement sur la survie du greffon, attestée par la détérioration de la fonction rénale et la

progression plus rapide des lésions histologiques chroniques dans la population atteinte de sABMR.

La classification de Banff révisée a défini comme suit les critères diagnostiques de l'ABMR (**Table 1**).

Table 1 : Critères diagnostiques du rejet médié par anticorps actualisés d'après la conférence de Banff 2013.²⁷

Forme aiguë/active (les trois critères sont nécessaires au diagnostic) ^{a,b}	Signes histologiques de lésions tissulaires aiguës	- $g > 0^c$ ou $cpt > 0$ - $v > 0^d$ - Microangiopathie thrombotique aiguë en l'absence d'autre cause - Nécrose épithéliale tubulaire en l'absence d'autre cause
	Signes d'interaction entre anticorps et endothélium	- Marquage linéaire de C4d ≥ 2 en IF ou > 0 en IHC - Inflammation de la microcirculation ($g + cpt \geq 2$)^e - Marqueurs moléculaires tels que l'augmentation des transcrits endothéliaux
	Présence de DSA (anti-HLA ou autre)	
Forme chronique/active (les trois critères sont nécessaires au diagnostic) ^{a,f}	Signes histologiques de lésions tissulaires chroniques	- $cg > 0^g$ en l'absence de signe de microangiopathie thrombotique chronique - multilamellation sévère de la membrane des capillaires péritubulaires (en microscopie électronique)^h - Hyperplasie intimale fibreuse (score cv, après exclusion des autres causes)ⁱ
	Signes d'interaction entre anticorps et endothélium	- Marquage linéaire de C4d ≥ 2 en IF ou > 0 en IHC - Inflammation microvasculaire ($g + cpt \geq 2$)^e - Marqueurs moléculaires tels que l'augmentation des transcrits endothéliaux
	Présence de DSA (anti-HLA ou autre)	
Dépôts de C4d sans signe de rejet (les trois critères sont nécessaires au diagnostic) ^j	Dépôts linéaires de C4d ≥ 2 en IF ou > 0 en IHC	
	Absence d'inflammation microvasculaire ou de lésion tissulaire chronique ($g = 0$, $cpt = 0$, $cg = 0$, absence de MAT, absence de multilamellation de la membrane des capillaires péritubulaires, absence de NTA	
	Absence de lésion borderline ou de rejet à médiation cellulaire	

^a Pour tout diagnostic de rejet médié par anticorps, il convient de préciser si la lésion est C4d positive ou négative.

^b Dans le cadre des lésions tissulaires, ces dernières peuvent être cliniquement aiguës, latentes ou infracliniques. Les biopsies ne montrant que deux des trois critères diagnostiques peuvent être désignées comme suspectes pour le diagnostic de rejet aigu/actif humoral, en dehors des biopsies avec DSA et C4d+ sans inflammation de la microcirculation.

^c Les glomérulonéphrites récurrentes/*de novo* doivent être exclues du diagnostic de glomérulite.

^d Notons que les lésions d'artérite peuvent s'intégrer dans le cadre d'un rejet à médiation humorale, cellulaire ou les deux.

^e En présence d'un rejet aigu à médiation cellulaire, d'un infiltrat borderline ou de signe d'infection, $cpt \geq 2$ seul n'est pas suffisant pour définir une inflammation microvasculaire modérée, il doit s'y associer une glomérulite $g \geq 1$.

^f Les lésions du rejet humoral chronique actif peuvent aller de lésions actives avec glomérulopathie du transplant précoce mise en évidence par microscopie électronique ($cg1a$) à des lésions avancées ($cg \geq 2$) et autres changements chroniques associés à une inflammation active de la microcirculation. En l'absence de signes actuels ou récents d'interaction entre anticorps et endothélium, le terme « actif » ne doit pas être mentionné.

^g La glomérulopathie d'allogreffe inclut les dédoublements de la membrane basale glomérulaire, soit en microscopie électronique ($cg1a$), soit visible en optique.

^h La multilamellation de la membrane des capillaires péritubulaires se définit par la présence d'au moins sept couches dans au moins un capillaire et d'au moins cinq couches dans deux autres capillaires, en évitant les sections coupées tangentiellement.

ⁱ La présence de leucocyte au sein de l'intima fibreuse peut se voir aussi bien dans le rejet cellulaire chronique qu'humoral et aide au diagnostic de rejet humoral chronique seulement en l'absence d'antécédent de rejet cellulaire. Un marquage des fibres élastiques peut être utile car il semble que l'absence de multiplication des fibres élastiques se voit plutôt dans l'artériosclérose, bien que ces résultats ne soient pas définitifs.

^j La signification clinique des dépôts isolés de C4d peut être assez différente dans un greffon exposé aux anticorps anti-groupes sanguins où elles n'apparaissent pas être pathogènes et peuvent être un signe d'accommodation, et dans les greffons exposés aux anticorps anti-HLA où d'avantage de données cliniques évolutives sont nécessaires.

I.3) MECANISMES DU REJET MEDIE PAR ANTICORPS

Les progrès réalisés ces trente dernières années ont permis de mieux comprendre les mécanismes immunologiques conduisant aux phénomènes de rejet et de mieux appréhender le risque immunologique des patients inhérent à la transplantation allogénique.

I.3.1) Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)

Le CMH est un ensemble complexe de gènes intervenant dans la reconnaissance du soi chez la plupart des vertébrés. Il est localisé sur le bras court du chromosome 6 et représente environ 1:1000 du génome humain. Il est séparé en trois classes de gènes : les molécules de classe II, III et I (ordre de découverte). La région de classe I abrite les gènes codant pour les molécules HLA dites classiques : HLA-A, -B, -Cw et non classiques : HLA-E, -F, -G, MIC et HFE. La région de classe II abrite les gènes codant pour les molécules HLA de classe II : HLA-DR, -DQ, -DP. La région de classe III abrite des gènes codant pour des molécules plus ou moins apparentées aux molécules HLA « classiques », tels que des gènes codant pour des protéines du complément ou encore certaines cytokines. Ces gènes codent pour des protéines (molécules HLA) qui se situent à la surface des cellules présentatrices d'antigène pour les molécules HLA de classe I et II et à la surface de toutes les cellules de l'organisme pour les molécules HLA de classe I.

La nomenclature du système HLA permet de référencer clairement les régions géniques (loci), les allèles et les antigènes HLA.

Le CMH est un système remarquable pour plusieurs raisons :

- Le **polymorphisme** qui porte sur le nombre de séries (ou locus) et pour chaque locus sur le nombre de marqueurs spécifiques. Ainsi au minimum six séries alléliques HLA (HLA-A, B, C, DP, DQ, DR) et 800 marqueurs sont individualisés. On évalue à environ une chance sur 800 milliards la probabilité que deux personnes caucasiennes non apparentées présentent la même carte HLA.

- La **codominance** est le fait que chaque individu reçoit un chromosome 6 de chacun de ses parents, chaque chromosome menant à l'expression de 9 molécules HLA. Chaque individu se caractérise par deux haplotypes HLA, menant ainsi à une véritable carte d'identité du soi.

I.3.2) Les molécules HLA

Les **molécules HLA de classe I** sont exprimées sur la quasi-totalité des cellules de l'organisme. Les gènes HLA-A, -B et -Cw codent pour une chaîne lourde α qui s'associe de manière non covalente à la β 2-microglobuline. On distingue schématiquement trois segments principaux au sein de la chaîne α : une portion intracytoplasmique, une portion transmembranaire et une portion extracellulaire elle-même composée de trois domaines (α 1, α 2, α 3) (**Figure 12**). Le site de liaison peptidique est constitué par les domaines α 1 et α 2. La séquence des acides aminés de ces domaines va déterminer une spécificité de liaison peptidique. Il existe d'importantes variations de leur expression selon les tissus (forte expression à la surface des lymphocytes T et B, les cellules endothéliales, les épithéliums ; faible expression sur les cellules pancréatiques et myocytes cardiaques).

Les **molécules HLA de classe II** sont également des hétérodimères constitués de de chaînes protéiques (α et β). Ces deux chaînes sont codées par des gènes HLA différents (A et B) situés dans la région de classe II (gène DRA et DRB, DQA et DQB, DPA et DPB). Les chaînes α et β ont une structure similaire : une portion intracytoplasmique, une portion transmembranaire et une portion extracellulaire composée de deux domaines : α 1 et α 2 pour la chaîne α ; β 1 et β 2 pour la chaîne β . Le site de liaison peptidique des molécules HLA de classe II est constitué par les segments α 1 et β 1 (**Figure 12**). Les molécules HLA de classe II sont exprimées de manière plus restreinte : elles sont détectables à la surface des lymphocytes B, des cellules monocytaires, macrophagiques et dendritiques (cellules présentatrices d'antigène), sur les lymphocytes T après leur activation, sur les endothéliums vasculaires et les cellules glomérulaires.

L'expression des molécules HLA de classe I et II peut être modulée de manière importante par les cytokines pro-inflammatoires telle que les interférons et le TNF (Tumor Necrosis Factor).

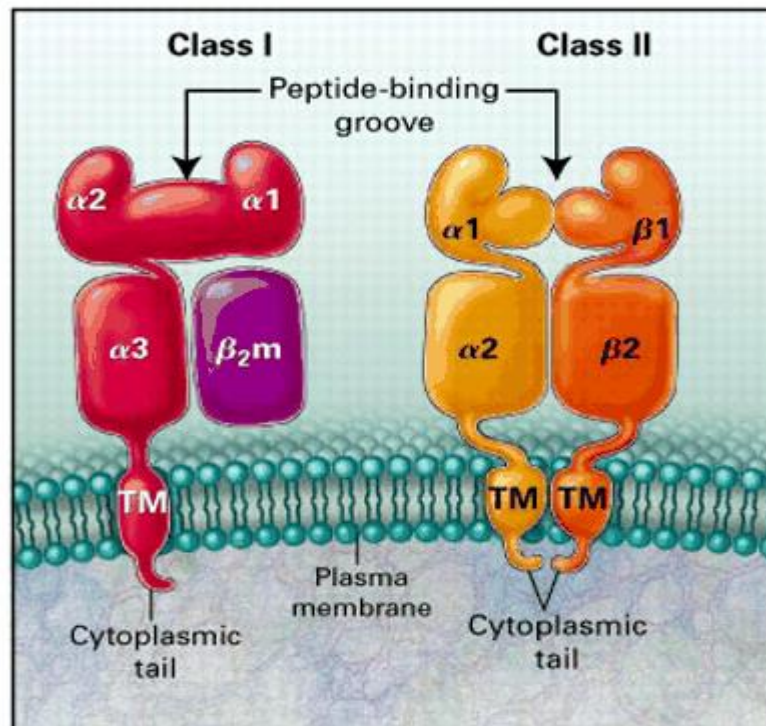


Figure 12 : Structure schématique des molécules HLA de classe I et II (<http://labmed.hallym.ac.kr/immunogenetics/NEJM-HLA/06f2.gif>)

I.3.3) Fonction des molécules HLA

Le rôle des molécules HLA est de **présenter l'antigène aux cellules immunocompétentes**. Elles sont la clef de voute de l'immunité adaptative. Les molécules HLA de classe I présentent des peptides d'origine endogène (c'est à dire synthétisées par les cellules de l'organisme, que ces peptides soient d'origine virale ou tumorale par exemple) aux lymphocytes T cytotoxiques (CD8+).³⁶ Les différences d'intensité de la réponse immunitaire pourraient être le fait de différences d'affinité et de sélectivité de présentation dépendant des séquences des peptides et du polymorphisme des molécules HLA présentatrice.³⁷ Les molécules HLA de classe II présentent des peptides d'origine exogène (par exemple des antigènes bactériens) aux lymphocytes T helper (CD4+).³⁶

I.3.4) Allo-immunisation anti-HLA

I.3.4.1) Origine des allo-immunisations

Trois situations peuvent mener à la formation d'allo-anticorps anti-HLA :

- Les **transfusions sanguines** : conséquence de la présence de leucocytes résiduels dans les concentrés globulaires ou plaquettaires. Les techniques de déleucocytation systématique ont permis de réduire considérablement les incidences des allo-immunisations anti-HLA post transfusionnelles sans pour autant rendre nul ce risque. Il est ainsi recommandé de réaliser une recherche d'anticorps anti-HLA après chaque transfusion chez les patients inscrits sur liste d'attente de transplantation. Par ailleurs, les traitements par agent stimulant l'érythropoïèse dans le cadre de la prise en charge de l'anémie secondaire à l'insuffisance rénale réduisent ce risque d'allo-immunisation anti-HLA en limitant la nécessité de recourir aux transfusions.
- Les **grossesses** : ces anticorps apparaissent dès la première grossesse et 30% des femmes possèdent de tels anticorps après la deuxième grossesse.
- Les **transplantations d'organe** : elles induisent très souvent des réponses humorales intenses et l'apparition d'anticorps à de fort taux. Les transplantations antérieures sont, à l'heure actuelle, un des principaux handicaps pour la sélection des donneurs et deviennent la cause principale d'allo-immunisation anti-HLA. Ces immunisations sont très larges et non limitées aux spécificités incompatibles de classe I et II.

Dans ces trois situations, il s'agit d'**anticorps anti-HLA préformés**. L'amélioration des techniques de détection et de caractérisation a fait apparaître la présence d'anticorps anti-HLA dans le sérum de patient n'ayant jamais eu d'évènement immunisant antérieur.³⁸ On définit ces anticorps comme « naturels » en opposition aux anticorps « immuns » apparaissant après un évènement immunisant. Ce sont souvent des IgM. Ces anticorps proviendraient d'un phénomène de réaction croisée due à un mimétisme antigénique avec la forme soluble de la molécule HLA-E. La signification pathologique de ces anticorps anti-HLA reste à définir.

I.3.4.2) De l'antigène HLA du donneur au DSA

Cette allo-immunisation anti-HLA est un phénomène complexe faisant intervenir la quasi-totalité des acteurs de l'immunité adaptative (cellules présentatrices d'antigène, lymphocytes T, lymphocytes B, plasmocytes). Nous allons détailler chacune de ses étapes en soulignant les étapes clefs qui permettent d'enrayer le processus.

Les cellules dendritiques sont des **cellules présentatrices d'antigène** (CPA) spécialisées qui ont la capacité de migrer du lieu de rencontre avec l'antigène jusqu'aux organes lymphoïdes secondaires (ganglion et rate). Leur rôle est de présenter l'antigène aux lymphocytes T CD4+ (LTCD4+) qui vont à leur tour s'activer. Ces cellules vont présenter l'antigène *via* une molécule du CMH. C'est donc le complexe CMH-peptide (pCMH) qui va être ensuite reconnu par le lymphocyte T CD4+. Les lymphocytes B, *via* leur BCR (B Cell Receptor) et les molécules du CMH de classe II, peuvent également présenter l'antigène aux LTCD4+ et les activer. Les cellules tubulaires épithéliales et les cellules endothéliales du greffon peuvent aussi participer à la présentation des antigènes.^{39,40}

On distingue deux voies en ce qui concerne la stimulation des lymphocytes T :

- La **voie directe** : il s'agit des cellules dendritiques du donneur présent dans l'organe greffé qui vont migrer jusqu'aux organes lymphoïdes secondaires pour présenter le complexe pCMH.
- La **voie indirecte** : ce sont les cellules dendritiques du receveur qui présentent le complexe pCMH aux lymphocytes T. Cette voie indirecte fournit un stimulus antigénique continu impliqué entre autres dans le rejet chronique d'allogreffe.

L'**activation des lymphocytes T CD4+** passe par l'interaction du complexe pCMH avec le TCR (T Cell Receptor) des lymphocytes T CD4. Le TCR appartient à la superfamille des immunoglobulines. Un seul type de TCR est exprimé par un lymphocyte T. Il est constitué d'une partie variable et d'une partie constante, la partie variable étant responsable de la reconnaissance de l'antigène présenté par les molécules du CMH. Elle résulte d'un réarrangement de gènes complexe, menant à la possibilité de reconnaissance de nombreux antigènes. Après synthèse du TCR, les lymphocytes subissent une sélection négative

(tolérance du soi) et une sélection positive (mort par apoptose des thymocytes ne reconnaissant pas les molécules du CMH).

Cependant elle n'est pas suffisante pour déclencher la réponse immunitaire adaptative. Il y a nécessité de **signaux de costimulation**, sans quoi une cellule T n'ayant reçu que le premier signal (déclenché par l'interaction TCR-pCMH) devient anergique. Ces signaux de costimulation permettent de stimuler la prolifération et la différenciation cellulaire. Ils résultent de l'interaction entre les molécules B7 (à la surface de la CPA, molécules B7.1 et B7.2 respectivement CD80 et CD86) et le CD28 (à la surface du lymphocyte T). L'interaction B7-CD28 mène à l'expression par le lymphocyte T du CD40 ligand (CD40L : CD154) qui contribue au maintien du signal de costimulation : stimulation de l'expression de B7 par la CPA et activation lymphocytaire. *In vivo*, le blocage de CD28 augmente la survie des greffons. Les cellules T activées vont à leur tour, par l'intermédiaire de cytokines, activer de nombreuses cellules impliquées dans la réponse immunitaire tel que les lymphocytes T CD8+, les cellules NK, les macrophages, les lymphocytes B, les cellules endothéliales. Parmi ces cytokines, l'interleukine 2 (IL-2) va être sécrétée par les LTCD4+ activés et agir de manière autocrine en se liant à son récepteur (CD25) qui n'est exprimé par les LTCD4+ qu'une fois ces derniers activés. Cette cytokine promeut la prolifération cellulaire. Les inhibiteurs de la calcineurine bloquent les facteurs de transcription nécessaire à la synthèse de l'IL-2. D'autres cytokines, telles l'IL-4 et l'IL-5, vont stimuler l'activation des lymphocytes B. La différenciation des LTCD4+ peut se faire dans deux voies différentes exclusives l'une de l'autre : la voie Th1 qui mène à l'immunité cellulaire et la voie Th2 qui stimule l'immunité humorale (synthèse d'IL-4, IL-5 et IL-6). La **Figure 13** illustre ces mécanismes, de l'activation des CPA à la différenciation lymphocytaire T.⁴¹

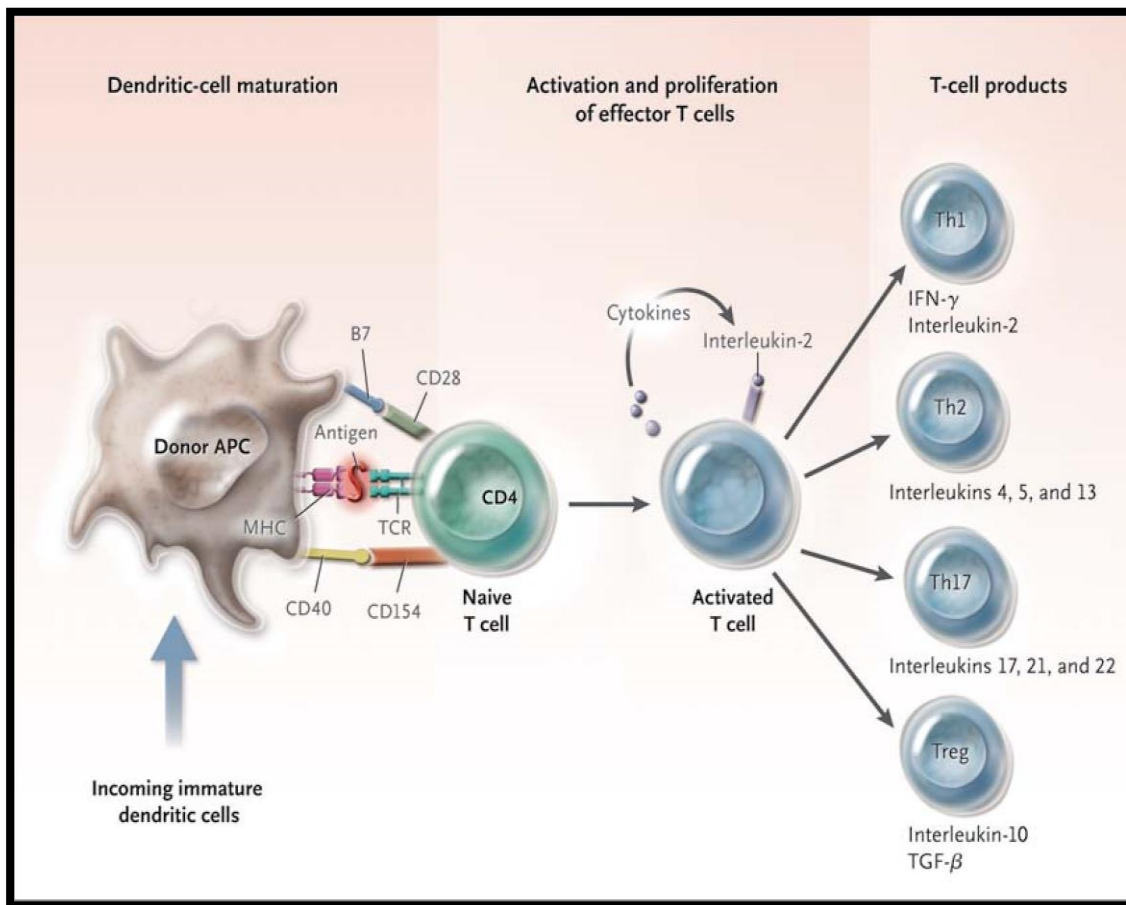


Figure 13. Activation des lymphocytes T.

Après présentation de l'antigène par la cellule présentatrice d'antigène (APC), les lymphocytes T naïfs s'activent, prolifèrent et se différencient en sous-types, et expriment des cytokines caractéristiques. Les LTCD4⁺ helper Th1 déclenchent la réponse immunitaire cellulaire, les Th2 la réponse humorale. Les Treg ont une fonction immunomodulatrice et peuvent limiter la réaction de rejet ; quant au Th17, ils peuvent donner lieu à des rejets résistants aux glucocorticoïdes.

APC : cellule présentatrice d'antigène, MHC : complexe majeur d'histocompatibilité, TCR : récepteur du lymphocyte T, TGFβ : Transforming growth factor β, IFNγ : interféron γ.

Les **lymphocytes B** (LB) vont être activés après contact avec l'antigène via le BCR. Le complexe antigène-BCR va être internalisé, puis l'antigène sera présenté par les CMH de classe II à leur surface. Les LTCD4⁺ activés spécifiques vont reconnaître l'antigène présenté, recevoir les signaux de costimulation *via* les molécules CD40-CD154, puis vont synthétiser les IL-4 et IL-5 nécessaires à l'activation complète des LB. Ces derniers vont se différencier en **plasmocytes**, cellules capables de sécréter des IgG de haute affinité, ou en **LB mémoires**. Ces deux voies expliquent, qu'en cas d'exposition permanente avec un antigène, la synthèse d'anticorps soit elle aussi continue. Lorsque l'antigène est une molécule du CMH du donneur,

les plasmocytes vont synthétiser des allo-anticorps anti-HLA spécifiques du donneur (DSA). D'autres antigènes ont été identifiés, tel que le récepteur à l'angiotensine I, qui provoque un rejet vasculaire médié par anticorps avec HTA maligne.⁴²

I.4) ROLE DES ANTICORPS ANTI-HLA EN TRANSPLANTATION

I.4.1) Méthodes de détection des anticorps anti-HLA circulants

I.4.1.1) Technique cellulaire : microlymphocytotoxicité (LCT)

Le principe est de mettre en évidence les anticorps anti-HLA par une réaction cytotoxique dépendante du complément. On identifie les anticorps anti-HLA de classe I sur les lymphocytes totaux (T et B) et les anticorps anti-HLA de classe II sur les lymphocytes B, le phénotype HLA des lymphocytes étant connu. Les lymphocytes sont mis en contact avec le sérum du receveur. Cela permet d'identifier les molécules HLA reconnues par les anticorps sériques en fonction de la richesse du panel utilisé, de caractériser les anticorps cytotoxiques anti-HLA, mais également lymphocytotoxiques non anti-HLA, d'identifier l'isotype IgM ou IgG des anticorps détectés et également de quantifier le niveau d'immunisation en l'exprimant par un pourcentage (PRA, panel reactive antibody) correspondant au pourcentage de cellules du panel reconnues par les anticorps. C'était la technique de référence jusqu'aux années 2000. Cette technique a été supplantée par des méthodes plus sensibles et plus spécifiques.

I.4.1.2) Technique enzymatique ELISA

Les antigènes HLA purifiés de classes I et II sont fixés au fond des puits de microplaques et la révélation de la réaction antigène-anticorps est effectuée au moyen d'une anti-globuline anti-IgG humaine marquée par une enzyme. Cette technique est aujourd'hui abandonnée.

I.4.1.3) Technique en cytométrie de flux : technologie Luminex®

Cette méthode permet l'analyse de nombreuses réactions dans un seul puit. Il s'agit d'incuber le sérum avec des microbilles recouvertes d'antigène HLA (un ou plusieurs antigènes à la

surface de chaque microbille selon qu'il s'agisse d'un test de dépistage ou d'identification de la spécificité des anticorps anti-HLA), un anticorps fluorescent anti-IgG humaine, puis les microbilles sont analysées par le cytomètre (Luminex®) après lavage. Cette technique ne met en évidence que les anticorps anti-HLA d'isotype IgG.

Les **recommandations 2010 de l'Agence de la Biomédecine** du suivi des patients inscrits sur liste d'attente sont les suivantes : dépistage d'anticorps anti-HLA de classe I et de classe II sur au moins deux sérums à trois mois d'intervalle, par une technique sensible (cytométrie en flux, ELISA, Luminex, micropuces) et une fois par lymphocytotoxicité (LCT) sur lymphocytes T ou totaux, avec et sans DTT, sur un panel représentatif. La recherche par LCT permet de détecter d'éventuelles IgM. En cas de positivité du dépistage, l'identification des spécificités anticorps devra être réalisée par une technique sensible (Luminex® « single antigen »). Tout événement immunisant impose de prélever du sérum deux fois après l'évènement (entre J15 et J21, et à J30).

I.4.1.4) Le crossmatch

C'est l'étape finale de la sélection du receveur. Il s'agit d'une épreuve de compatibilité entre les cellules lymphocytaires du donneur et les sérums (historiques et du jour de la greffe) du receveur. Il peut être réalisé en lymphocytotoxicité ou en cytométrie de flux. La technique en lymphocytotoxicité est la méthode de référence et permet de mettre en évidence la présence d'alloanticorps anti-HLA spécifiques du donneur (DSA). Une réaction positive sur le sérum du jour détectée contre les lymphocytes T contre-indique la greffe. Le choix, en cas de réaction contre les lymphocytes B est laissé à l'appréciation de l'équipe en charge de la transplantation. La négativation du crossmatch après action de DTT signe la présence d'une IgM et n'est pas une contre-indication à la greffe, excepté si cette IgM n'est détectée que sur le sérum du jour, cette dernière pouvant être le reflet d'une allo-immunisation en cours.

I.4.2) Ampleur du phénomène d'immunisation

Du fait de l'amélioration des techniques de détection des anticorps anti-HLA, la liste des patients détectés « positifs » (en dépistage ou en identification) est en constante augmentation. La caractérisation de ce taux d'immunisation est importante puisqu'elle est prise en compte dans l'ordre de répartition des greffons, dans un souci d'équité. Sans considérer le groupe sanguin, la médiane de séjour sur liste d'attente en 2010 était de 15,7 mois pour les patients non immunisés contre 32,2 mois pour les patients immunisés.

Les patients « naïfs » sont les patients n'ayant jamais eu d'évènement immunisant. Les patients non immunisés sont ceux chez qui il n'a jamais été mis en évidence d'Ac anti-HLA. Les patients sont considérés immunisés dès lors qu'un anticorps anti-HLA à seuil significatif est détecté, qu'il soit cytotoxique ou non. Un patient hyperimmunisé est défini par un taux de greffon incompatible $\geq 85\%$. On assiste ces dernières années à l'augmentation de la prévalence des patients immunisés et hyperimmunisés. Pour exemple, en France, 20,4% des patients (N=1916) inscrits sur liste étaient immunisés entre 1999 et 2002. Entre 2007 et 2010, ce taux est passé à 33,5% (N=4810). La même tendance s'observe concernant les patients hyperimmunisés : ils étaient environ 500 jusqu'en 2009, on en recensait près de 1600 en 2011.⁵

I.4.3) Impact des anticorps anti HLA en transplantation

Les patients peuvent développer des anticorps anti HLA avant et après la transplantation. Ces anticorps ne sont pas tous cytotoxiques et ne sont pas tous dirigés contre les molécules HLA du donneur.

I.4.3.1) DSA préformés

La probabilité de survenue d'ABMR augmente chez les patients ayant des DSA préformés comparativement aux patients non immunisés.⁴³ En transplantation rénale, la prévalence du rejet aigu médié par anticorps chez des patients transplantés avec des DSA préformés est supérieure ou égale à 35% alors qu'elle est inférieure à 5% chez les patients sans DSA.⁴⁴ La

présence de DSA préformés est associée à une survie moindre des greffons rénaux (**Figure 14**).¹⁰

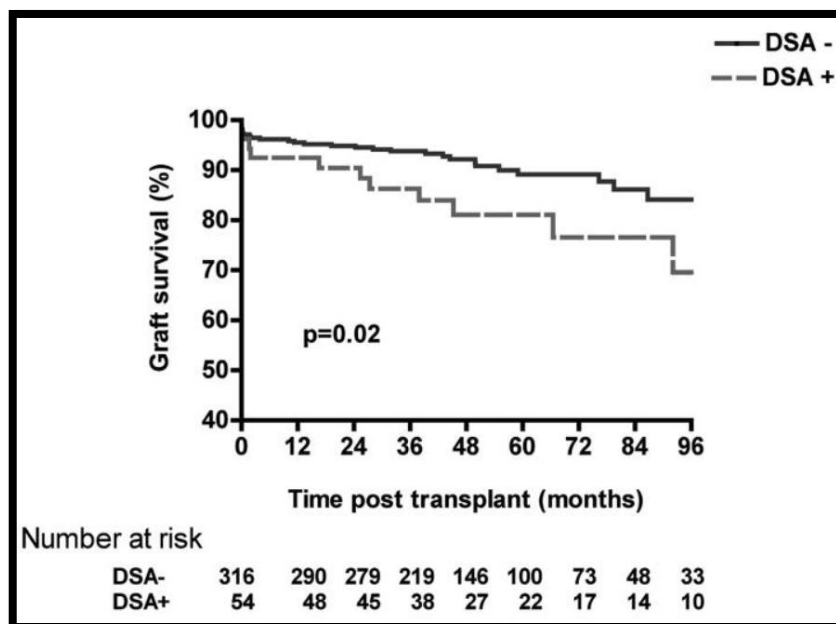


Figure 14. Courbes de survie des greffons rénaux en fonction de la présence ou non de DSA préformés (N=370).¹⁰

Le risque de rejet augmente également avec le taux des DSA détectés par Luminex®. Plus le taux des DSA avant la transplantation est important, plus le risque de perte du greffon est élevé. En transplantation rénale, chez les patients ayant des DSA d'intensité de fluorescence (MFI) supérieure à 3000, le risque de perte du greffon est multiplié par 4 par rapport aux patients dont les MFI sont inférieure à 3000 (**Figure 15**).¹⁰

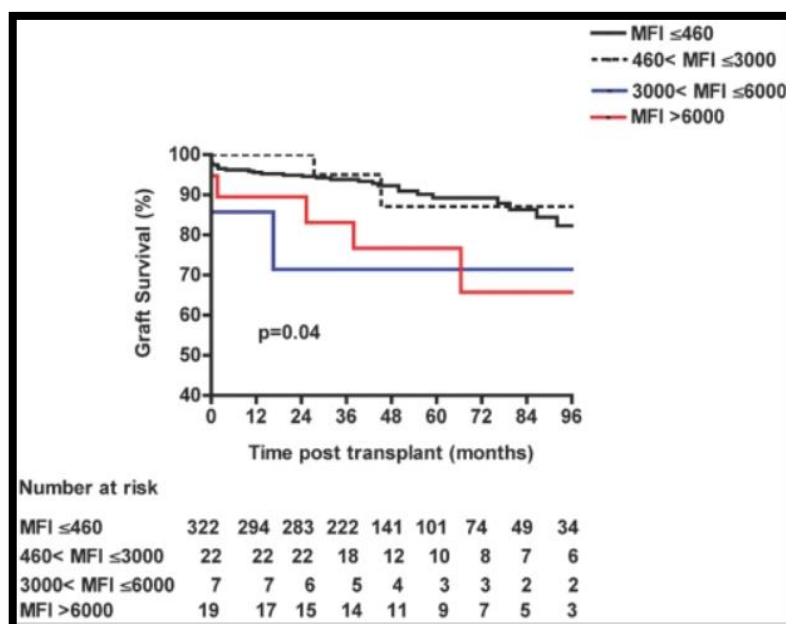


Figure 15. Courbes de survie des greffons rénaux en fonction du taux des DSA exprimé par la MFI (N=370).¹⁰

I.4.3.2) DSA *de novo*

Ces anticorps sont produits après la transplantation en réponse au stimulus antigénique continu lié au greffon. Ces anticorps sont responsables des formes tardives de rejet médié par anticorps qui présentent les mêmes caractéristiques histologiques que les rejets induits par les DSA préformés. Ces DSA sont associés à un risque augmenté de perte du greffon. Dans l'étude prospective de P. Terasaki incluant 2 278 patients transplantés rénaux, le taux de perte du greffon à un an était de 8,6% chez les patients présentant au moins un DSA *de novo* contre 3,0% chez les patients n'en ayant pas développé ($P < 0,001$).⁴⁵

Cet impact sur la survie des greffons justifie un dépistage régulier de ces anticorps, entre autres pour guider le traitement immunosuppresseur et identifier les patients à risque d'évolution péjorative.

I.5) TRAITEMENT DU REJET AIGU/ACTIF MEDIE PAR ANTICORPS

Grâce aux progrès réalisés dans la compréhension de la physiopathologie du rejet médié par anticorps, le traitement est devenu de plus en plus spécifique, ayant pour objectif d'éliminer ou d'inactiver les anticorps spécifiques du donneur présents chez le receveur et/ou d'inhiber ou diminuer leur synthèse.

Ce traitement s'appuie sur différentes associations : corticostéroïdes, échanges plasmatiques (ou immunoadsorption), immunoglobulines intraveineuses, anticorps monoclonaux anti-CD20, antithymoglobulines, inhibiteurs du protéasome, inhibiteurs du complément (Eculizumab et Berinert), splénectomie dans des cas de rejet réfractaire au traitement médical.

Les protocoles actuels montrent de bons résultats à court terme avec des taux de récupération de fonction rénale corrects, mais l'efficacité à long terme reste médiocre, la survie des greffons à long terme en attestant. Les résultats des principales études thérapeutiques dans l'ABMR sont récapitulés dans la **Table 2**.

Table 2 : Littérature publiée sur les différentes modalités de traitement du rejet aigu à médiation humorale en transplantation rénale et résultats⁴⁶

Publications	N	Traitement	Suivi	Résultats
Jordan et al.	7	IVIG 2 g/kg (jusqu'à 3 cures, 2 patients recevant en plus du cyclophosphamide)	5 ans	Réversibilité : 100% Survie du greffon : 100%
Pascual et al.	5	EP quotidiens (4 à 7 jours), puis 5 EP supplémentaires et IVIG à 0,4 g/kg en alternance	20 mois	Réversibilité : 100% Survie du greffon : 100%
Crespo et al.	19	EP quotidiens (4 à 7 jours) et IVIG 0,4 g/kg	29 mois	Réversibilité : 90% Survie du greffon : 80%
Montgomery et al.	3	EP de 2 à 31 jours et IVIG ou CMV IVIG 100 mg/kg en alternance	30 mois	Réversibilité : 100% Survie du greffon : 90%
Rocha et al.	16	EP quotidiens (3 à 6 jours) et 3 cures IVIG 2 g/kg ^a	569 jours	Réversibilité : 94% Survie du greffon : 81%
Shah et al.	5	5 EP sur 7 jours (± 6 jours) et 6 doses de rATG 0,75-1 mg/kg/jour en alternance	12 mois	Réversibilité : 85% Survie du greffon : 85%
Becker et al.	27 ^b	1 cure Rituximab 375 mg/m ² , methylprednisolone 500 mg par jour (durée indéterminée), rATG 1,5 mg/kg/jour (durée indéterminée), avec et sans EP	605 jours	Survie du greffon : 85%
Faguer et al.	8	EP quotidiens pendant 9 jours (2 à 17), Rituximab 375 mg/m ² hebdomadaire pendant 4 semaines ^c , et 3 doses methylprednisolone 10 mg/kg/jour ^d	10 mois	Réversibilité : 75% Survie du greffon : 75%
Böhmig et al.	10 (5+5)	Groupe A : tacrolimus + ATG + immunoadsorption (de 9 à 14 séances) ^e Groupe B: tacrolimus + ATG ^f	24 mois	Réversibilité : groupe A=100%, groupe B=20% Survie du greffon : groupe A=80%, groupe B=20%
Everly et al.	6	EP (modalités non précisées), 1 cure de Rituximab de 200 à 500 mg/m ² et 4 cures de bortezomib 1,3 à 1,5 mg/m ²	-	Réversibilité : 67%
Walsh et al.	2	EP à J1, 4, 8, 11, 14, 16 et 18, Rituximab 375 mg/m ² à J1, bortezomib 1,3 mg/m ² à J1, 4, 8 et 11, methylprednisolone 100 mg à J1 et 4 et 50 mg à J8 et 11	-	Réversibilité : 100%
Lefaucœur et al.	24 (12+12)	Groupe A : 4 cures IVIG 2 g/kg Groupe B : EP quotidiens pendant 4 jours avec IVIG 100 mg/kg/jour pendant 4 jours ; 4 cures d'IVIG 2 g/kg et 2 doses de Rituximab 375 mg/m ² hebdomadaire	3 ans	Survie du greffon : groupe A=50%, groupe B=91%
Brown et al.	18	8 EP (1 à 3 jours d'intervalle)	5 ans	Survie du greffon : 78%

EP= échanges plasmatiques ; IVIG= immunoglobulines intraveineuses ; rATG= antithymoglobuline de lapin (Thymoglobulin®) ; ATG= antithymoglobuline ; OKT3 = Muromonab ; DFG = débit de filtration glomérulaire.

^a Un patient traité par PP seuls et un patient traité par IVIG seules.

^b Patients n'ayant pas répondu au traitement initial avec corticoïdes haute dose ou ATG ou PP.

^c Un patient a reçu 5 doses de Rituximab® et un autre 3 doses.

^d En plus de ce régime, 4 patients furent traités avec de l'ATG et un autre patient reçut des IVIG.

^e Initialement, les receveurs eurent des immunoadsorptions 3 jours de suite suivies par un traitement séquentiel (tous les 3 jours durant 6 semaines). Tous les patients reçurent soit des corticoïdes intraveineux, soit de l'ATG selon le score de Banff.

^f Possibilité de rattrapage par immunoadsorption après 3 semaines. Initialement, les receveurs reçurent un traitement quotidien (3 jours) suivi par un traitement à intervalles réguliers (tous les 3 jours durant 6 semaines). Tous les patients sous cyclosporine A furent mis au Tacrolimus. Les patients avec des lésions borderline ou avec un rejet cellulaire de type I reçurent de fortes doses de corticoïdes, patients avec un type II reçurent des ATG.

^g Un patient avec un rejet aigu à médiation humorale sévère réfractaire malgré un traitement associant PP/IVIG/anti-CD20 subit une splénectomie.

Le traitement de référence actuel associe des échanges plasmatiques (ou immunoadsorption) avec ou sans faibles doses d'IVIG, de fortes doses d'immunoglobulines polyvalentes intraveineuses réalisées sous forme de cure, de fortes doses de corticoïdes, associées ou non au Rituximab®. Cependant, ce traitement n'est pas standardisé en l'absence d'essai contrôlé randomisé.

I.6) OBJECTIF DE L'ETUDE

Les phénotypes de rejet médié par anticorps observés aujourd'hui sont plus complexes et variés qu'ils n'étaient antérieurement, le rejet aigu classique avec dysfonction immédiate du greffon étant remplacé actuellement par des formes indolentes, non identifiables par les stratégies diagnostiques conventionnelles utilisées pour la surveillance des greffons.

Dans cette étude, nous avons émis l'hypothèse que le rejet infraclinique médié par anticorps pouvait être identifié précocement (durant la première année après la transplantation) chez des patients transplantés rénaux qui n'avaient pas de dysfonction aiguë du greffon.

L'objectif de cette étude est de préciser les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, immunologiques et histologiques des rejets infracliniques en transplantation rénale et d'évaluer leur retentissement à long terme sur la survie des greffons.

II) PATIENTS ET METHODES

II.1) POPULATION DE L'ETUDE

Cette étude prospective a inclus tous les patients consécutifs transplantés rénaux de l'hôpital Saint-Louis entre le 1^{er} janvier 2005 et le 1^{er} janvier 2010 (N=1307). Les patients n'ayant pas une fonction rénale stable ou n'ayant pas eu de biopsie protocolaire adéquate (selon la classification de Banff) à un an de la greffe ont été exclus de l'analyse (N=306) : 109 patients n'ont pas atteint un an de suivi après la greffe (44 pertes de greffon, 27 décès et 38 perdus de vue), 98 patients présentaient une contre-indication à la biopsie ou un refus, 16 patients avaient présenté un rejet dans les 21 jours précédant la biopsie à un an et 83 patients furent exclus de l'analyse pour biopsie à un an inadéquate selon la classification de Banff. Les 1001 patients restant ont constitué la population d'étude.

Pour les deux centres, toutes les transplantations étaient compatibles dans le système ABO et réalisées avec des crossmatches cytotoxiques du jour, négatifs, selon les techniques NIH et AHG.

II.2) DONNEES CLINIQUES

Les données cliniques des donneurs et des receveurs ont été extraites de la base de données prospective du réseau national multicentrique DIVAT (Données Informatiques VALidées en Transplantation). La base de données DIVAT est approuvée par la Commission Nationale Informatique et Libertés (avis favorable du 17/09/2004 n° 891735, Réseau DIVAT : 10.16.618, site internet officiel : www.divat.fr). Les patients ont tous donné leur consentement écrit préalable pour l'accès à leur dossier médical, pour le recueil et le traitement des données les concernant. Les informations concernant les patients sont entrées dans la base de façon prospective par les assistants de recherche clinique de chaque centre. Un système de codage

assurant l'anonymat des donneurs et des receveurs a été utilisé. Un audit annuel de la qualité de saisie des données donneur/receveur et des données saisies/données sources de la base, par un ARC indépendant, valide la base. Les données sont collectées prospectivement au moment de la greffe, à 3 mois, à 6 mois, à 1 an de la greffe puis annuellement et en cas de biopsie pour cause.

II.3) BIOPSIES DU GREFFON RENAL

Le tissu rénal a été fixé dans du formol acétique et coloré par le trichrome de Masson et l'acide periodique de Schiff. Toutes les biopsies ont été cotées de 0 à 3 selon les critères de Banff les plus récents^{21,22,24,27} pour les items suivants : glomérulite (g), capillarite péritubulaire (cpt), tubulite (t), inflammation interstitielle cellulaire mononuclée (i), endothélite et artérite intinale (v), glomérulopathie d'allogreffe (cg), fibrose interstitielle et atrophie tubulaire (FI/AT), hyalinose artériolaire (ah) et artériosclérose (cv). Le score d'inflammation microvasculaire a été défini comme la somme des scores g et cpt. Le score d'inflammation tubulo-interstitielle correspond à la somme des scores i et t.

Le marquage C4d a été effectué en immunohistochimie sur section en paraffine en utilisant des anticorps polyclonaux humains anti-C4d (Biomedica Gruppe, Vienna, Austria). Toutes les biopsies ont été analysées et cotées par des anatomopathologistes entraînés. Les rejets d'allogreffes ont été diagnostiqués selon les critères de la dernière classification de Banff.²⁷

II.4) DETECTION DES DSA

La recherche de DSA circulants anti-HLA-A, -B, -Cw, -DR, -DQ, -DP a été réalisée chez 806 (80,5%) patients (142/142 patients avec un rejet médié par anticorps infra-clinique, 132/132 patients un rejet cellulaire infra-clinique et 532/737 patients sans rejet) sur les sérums prélevés le jour de la greffe et à 1 an de la greffe. La technologie du Luminex® « single antigen » (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, USA) sur microbille en cytométrie de flux a été utilisée. Toutes

les billes montrant une intensité moyenne de fluorescence normalisée (MFI) ≥ 500 ont été considérées positives. Pour les patients présentant plusieurs DSA, le DSA immunodominant a été défini comme celui ayant la bille de plus haute MFI.

Le typage HLA des receveurs et des donneurs a été réalisé par biologie moléculaire (Innolipa HLA typing kit, Innogenetics, Gent, Belgium).

II.5) DEFINITION DES PHENOTYPES HISTO-CLINIQUES

Le rejet médié par anticorps a été défini selon les critères actuels de la classification de Banff²⁷ (les 3 critères sont nécessaires au diagnostic) :

- présence de lésions tissulaires aiguës : $g > 0$ ou $cpt > 0$, $v > 0$, micro-angiopathie thrombotique aiguë en l'absence d'autre cause, nécrose épithéliale tubulaire aiguë en l'absence d'autre cause,
- démonstration d'une interaction entre anticorps et endothélium : marquage linéaire > 0 (en immunohistochimie) et/ou inflammation de la microcirculation ($g + cpt \geq 2$),
- présence de DSA.

Le rejet cellulaire a été défini selon les critères actuels de la classification de Banff :

- présence d'une inflammation interstitielle ($i2$ ou $i3$),
- présence d'une tubulite ($t2$ ou $t3$).

Le caractère infraclinique des rejets était documenté par la stabilité de la fonction rénale, définie par une créatininémie n'excédant pas 15% des valeurs de base sur une période de 21 jours précédant la biopsie réalisée à 1 an de la greffe.

II.6) TRAITEMENTS IMMUNOSUPPRESSEURS

Tous les patients ont reçu un traitement d'induction par sérum anti-lymphocytaire de lapin à la dose de 1,5 mg/kg/jour pendant 7 jours ou par basiliximab à la dose de 20 mg le jour de la

greffe et à 4 jours de la greffe. L'immunosuppression de maintenance consistait en une association de corticoïdes (10 mg/jour), mycophénolate mofétil (2000 mg/jour) et tacrolimus (résiduel de tacrolémie cible entre 8 et 10 ng/mL les trois premiers mois, puis entre 6 et 8 ng/mL) ou cyclosporine (cyclosporinémie à deux heures de la prise entre 800 et 1200 ng/mL les trois premiers mois, puis entre 600 et 800 ng/mL).

Les patients avec des DSA détectables le jour de la greffe ont reçu une prophylaxie du rejet médié par anticorps par des immunoglobulines intraveineuses (trois cures de 2 g/kg espacées de trois semaines et débutées le jour de la greffe), avec ou sans rituximab (375 mg/m² le jour de la greffe et une semaine après), avec ou sans échanges plasmatiques.

II.7) ANALYSES STATISTIQUES

Les variables continues sont exprimées en moyenne±écart-type, à l'exception de la MFI exprimée par la moyenne±erreur standard de la moyenne. Les variables catégorielles sont exprimées en proportions. Les moyennes ont été comparées par le test t de Student ou le test de Mann-Whitney en fonction de la normalité des distributions. Les proportions ont été comparées par le test du χ^2 ou le test de Fisher exact en fonction de la taille des effectifs théoriques. Les comparaisons de moyennes multiples ont été réalisées par analyse de la variance (ANOVA).

L'analyse de survie a été réalisée pour un suivi maximum de 8 ans à partir du jour de transplantation. L'événement d'intérêt était la perte du greffon définie par le retour en dialyse. Les patients décédant avec un greffon fonctionnel (N=73 ; 7%) ont été censurés. La distribution du temps jusqu'à la perte du greffon a été décrite par l'estimateur de Kaplan-Meier et les comparaisons de courbes de Kaplan-Meier ont été réalisées par le test du log-rank. Les déterminants cliniques, histologiques et immunologiques du temps jusqu'à la perte du greffon ont été étudiés par analyse univariée en utilisant des modèles à risque proportionnel de Cox. Les variables associées au temps jusqu'à la perte du greffon en analyse univariée avec un

degré de significativité $P \leq 0,10$ ont été incluses dans un modèle multivarié pour identifier les déterminants indépendants de perte du greffon.

Les analyses ont été réalisées sous SAS (Statistical Analysis System, Cary, NC, USA) version 9.2 et R version 2.10.1. Tous les tests étaient bilatéraux. Les valeurs de $P < 0,05$ étaient considérées comme statistiquement significatives.

III) RESULTATS

III.1) Caractéristiques de la population d'étude

Au total, 1001 patients ont été inclus dans l'analyse principale. Les caractéristiques démographiques des patients au moment de la greffe sont résumées dans la **Table 3A**.

Table 3A : Caractéristiques démographiques des patients au moment de la greffe.

Caractéristiques des patients	Population globale (N = 1001)	
	N	Valeurs
Age du receveur (années)	1001	47,9±13,0
Sexe du receveur (homme)	994	582 (59%)
Retransplantation	1001	190 (19%)
Délai d'attente (années)	866	5,0±4,4
Reprise retardée de fonction	995	219 (22%)
Age du donneur (années)	991	50±16
Sexe du donneur (homme)	979	553 (56%)
Donneur décédé	1001	819 (82%)
Cause cardiovasculaire de la mort du donneur	1001	446 (45%)
Temps d'ischémie froide (heures)	970	19±10
Néphropathie initiale	1001	
Diabète		85 (8,5%)
Vasculaire		68 (6,8%)
Glomérulopathie		316 (31,6%)
Congénitale		205 (20,4%)
Autre		7 (0,7%)
Néphropathie interstitielle		123 (12,3%)
Indéterminée		197 (19,7%)
Mismatch HLA A+B	986	2±1,1
Mismatch HLA DR	987	0,8±0,7
PRA en lymphocytotoxicité (%)	986	3,1±3,3
DSA le jour de la greffe	1001	229 (22,9%)
Groupe sanguin du receveur A/B/O/AB	968	438/75/425/30

Nous avons identifié trois populations distinctes en fonction des phénotypes histologiques reconnus sur les biopsies protocolaires réalisées à 1 an après la transplantation : 1) les patients sans rejet ($n=727$; 72,6%), 2) les patients avec un rejet infraclinique à médiation cellulaire T ($n=132$; 13,2%) (sTCMR), et 3) les patients avec un rejet infraclinique médié par anticorps ($n=142$; 14,2%) (sABMR).

Parmi les patients sans rejet, 80 (11%) patients présentaient une nécrose épithéliale tubulaire aiguë, 35 (4,8%) des lésions borderline, 55 (7,5%) des lésions de toxicité des anti-calcineurines, 39 (5,4%) des récives de la néphropathie initiale, 26 (3,6%) patients avaient une néphropathie associée au virus BK, 160 (22%) patients avaient de la fibrose interstitielle avec atrophie tubulaire, 61 (8,4%) patients présentaient un autre diagnostic, et les 246 (33,8%) patients restants étaient considérés comme n'ayant pas d'anomalie histologique significative.

La **Table 3B** montre les caractéristiques des donneurs et des receveurs au moment de la transplantation selon le phénotype histologique observé sur les biopsies de greffon réalisées à 1 an de la greffe. Au moment de la greffe, les patients avec un sABMR avaient une fréquence significativement plus élevée de re-transplantation (40%) que les patients avec un sTCMR (12%) et les patients sans rejet (16%) ($P<0,001$) et étaient majoritairement des femmes (87%) (contre 33% et 42% respectivement, $P=0,044$). Les patients avec un sABMR avaient également un PRA cytotoxique plus élevé ($25,9\pm 20,7\%$), un délai d'attente plus long ($6,1\pm 5,2$ années), une ischémie froide plus longue (21 ± 10 heures) que les patients avec un sTCMR ($5,1\pm 4,8\%$, $4,6\pm 0,3$ années, et 19 ± 9 heures respectivement) et les patients sans rejet ($0,9\pm 1\%$, $4,9\pm 4,3$ années, et 18 ± 10 heures respectivement) ($P<0,001$, $P=0,009$ et $P=0,004$ respectivement). Enfin, les patients avec un sABMR (78%) avaient une proportion significativement plus importante de DSA le jour de la greffe que les patients avec un sTCMR (9%) et que les patients sans rejet (14%) ($P<0,001$).

Table 3B : Caractéristiques des patients au moment de la greffe selon le phénotype histologique de la biopsie à 1 an de la greffe.

Caractéristiques des patients	Pas de rejet (N=727)		sTCMR (N=132)		sABMR (N=142)		P
	N	Valeurs	N	Valeurs	N	Valeurs	
Age du receveur (années)	727	47,5±13,4	132	47,7±13,4	142	49,8±12,4	0,1547
Sexe du receveur (homme)	721	421 (58%)	132	88 (67%)	141	73 (13%)	0,0437
Retransplantation	727	117 (16%)	132	16 (12%)	142	57 (40%)	0,0001
Délai d'attente (années)	623	4,9±4,3	114	4,6±0,3	129	6,1±5,2	0,0094
Reprise retardée de fonction	722	149 (21%)	132	36 (27%)	141	34 (24%)	0,1934
Age du donneur (années)	718	50±16	131	51±17	141	51±16	0,7368
Sexe du donneur (homme)	710	402 (57%)	131	72 (55%)	138	79 (57%)	0,9225
Donneur décédé	727	519 (80%)	132	116 (88%)	142	124 (87%)	0,0145
Cause cardiovasculaire de la mort du donneur	727	311 (43%)	132	68 (52%)	142	67 (47%)	0,1413
Temps d'ischémie froide (heures)	701	18±10	130	19±9	139	21±10	0,0039
Néphropathie initiale	727		132		142		0,7796
Diabète		64 (9%)		13 (10%)		8 (6%)	
Vasculaire		46 (6%)		11 (8%)		11 (8%)	
Glomérulopathie		226 (31%)		47 (36%)		43 (30%)	
Congénitale		156 (21%)		24 (18%)		25 (17%)	
Autre		5 (1%)		1 (1%)		1 (1%)	
Néphropathie interstitielle		85 (12%)		15 (11%)		23 (16%)	
Indéterminée		145 (20%)		21 (16%)		31 (22%)	
Mismatch HLA A+B	715	2,0±1,1	131	2,1±1,0	140	2,0±1,1	0,6235
Mismatch HLA DR	715	0,8±0,7	132	0,8±0,6	140	0,8±0,6	0,6574
PRA en lymphocytotoxicité	715	0,9±1,0	132	5,1±4,8	140	25,9±20,7	<0,001
DSA le jour de la greffe	727	106 (14%)	132	12 (9%)	142	111 (78%)	0,0001
Groupe sanguin du receveur A/B/O/AB	703	306/54/327/16	128	62/12/9/45	137	70/9/5/53	0,0001

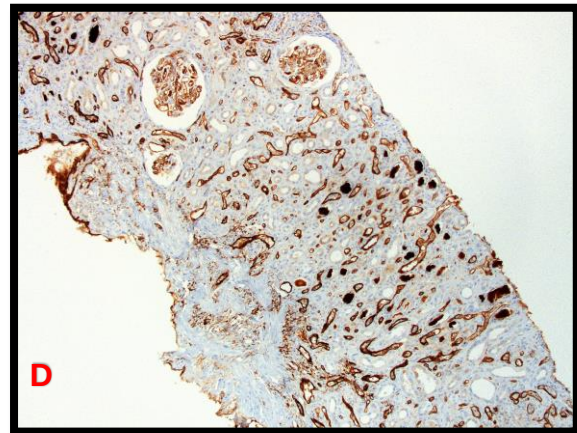
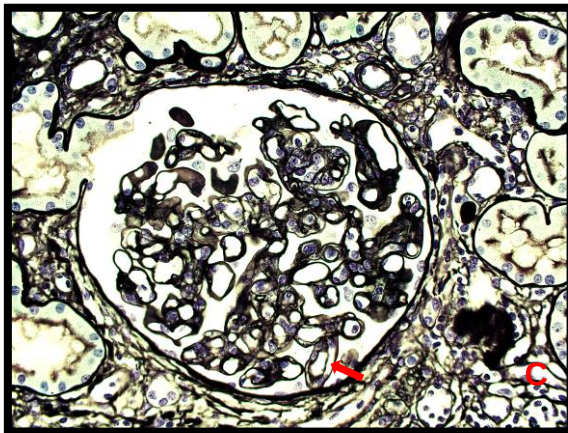
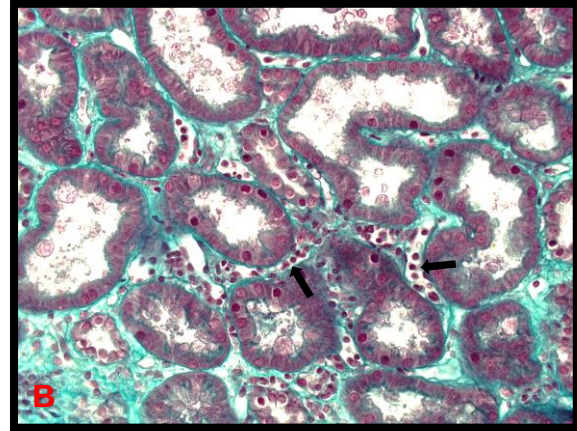
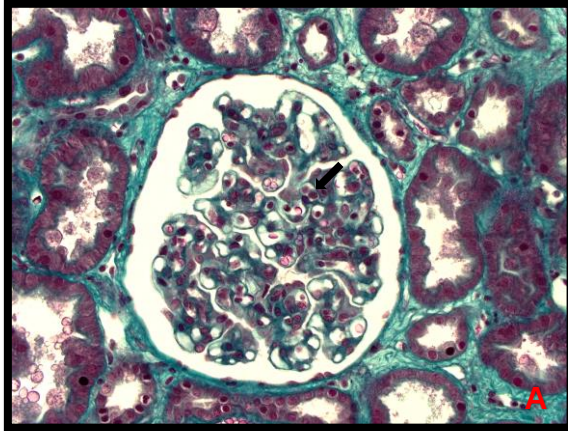
III.2) PHENOTYPES CLINIQUES, HISTOLOGIQUES ET IMMUNOLOGIQUES A 1 AN DE LA GREFFE

Les DFG moyens au moment de la biopsie protocolaire étaient de 47 mL/min/1,73m² chez les patients avec un sABMR, 51 mL/min/1,73m² chez les patients avec un sTCMR et 55 mL/min/1,73m² chez les patients sans rejet.

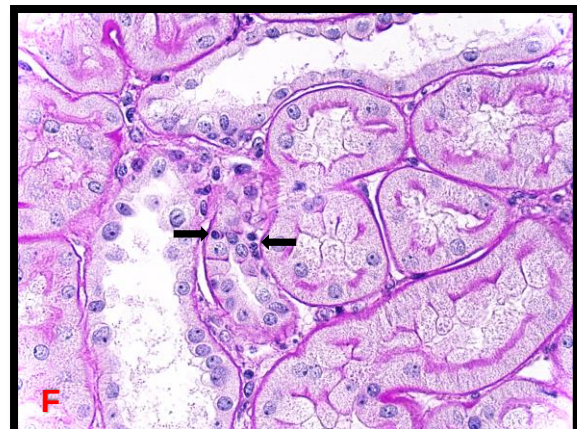
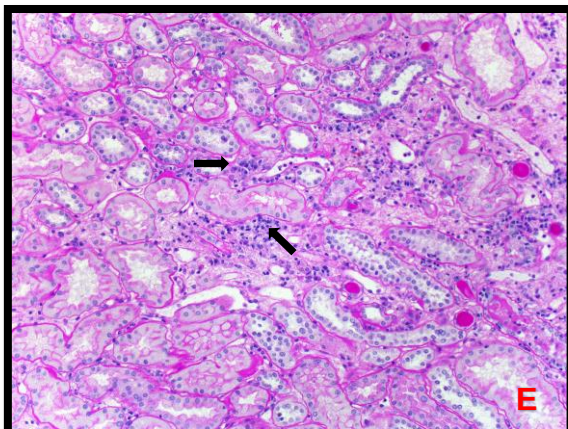
Tous les patients atteints de sABMR (n=142) présentaient une inflammation de la microcirculation (glomérulite et capillarite péri tubulaire), 52 (38%) montraient une inflammation interstitielle et tubulaire minime, 6 (4%) patients avaient des lésions d'endartérite, 72 (54%) présentaient une artériosclérose modérée à sévère, 29 (21%) présentaient des lésions de fibrose interstitielle avec atrophie tubulaire, et 45 (37%) présentaient des dépôts de C4d sur les capillaires péri tubulaires. Des exemples des phénotypes histologiques de rejets observés sont présentés dans la **Figure 16**.

Figure 16. Phénotypes des rejets infracliniques.

Panel A : rejet infraclinique médié par anticorps : (A) obstruction des capillaires glomérulaires par des cellules mononucléées (g) (flèche) (x400, trichrome de Masson) ; (B) présence de 3 à 4 cellules inflammatoires par section capillaire (cpt 1) (flèches) (x400, trichrome de Masson) ; (C) présence de doubles contours (flèche) sur 26 à 50% des anses capillaires (cg 2) (x400, coloration argentique) ; (D) dépôts diffus de la fraction C4d du complément sur les capillaires péri-tubulaires en immunohistochimie (C4d 3) (x100) ;



Panel B : rejet infraclinique à médiation cellulaire T : (E) infiltrats inflammatoires interstitiels (flèches) représentant environ 10 à 25% de la surface (i 2) (x200, PAS) ; (F) présence de lymphocytes (flèches) au sein de l'épithélium tubulaire (t 2) (x630, PAS).



Les caractéristiques histologiques en fonction des trois phénotypes à 1 an de la greffe sont présentées dans la **Table 4**. Les scores d'inflammation de la microcirculation (g+cpt), de glomérulopathie d'allogreffe (cg), de dépôts de C4d et d'artériosclérose (cv) étaient plus élevés dans le groupe des patients avec un sABMR, comparativement aux patients avec un sTCMR ($p<0,001$ pour toutes les comparaisons) et aux patients sans rejet ($p<0,001$ pour toutes les comparaisons).

Les patients avec un sABMR présentaient des scores plus élevés de FI/AT comparativement aux patients avec un sTCMR ($p<0,001$) et aux patients sans rejet ($p<0,001$) alors que les patients avec un sTCMR présentaient des scores plus élevés d'inflammation interstitielle comparativement aux patients avec un sABMR ($p<0,001$) et aux patients sans rejet ($p<0,001$).

Table 4. Caractéristiques histologiques en fonction des 3 phénotypes identifiés à 1 an de la transplantation.

	Pas de rejet (N=727)		sTCMR (N=132)		sABMR (N=142)		P
	N	Banff score	N	Banff score	N	Banff score	
Glomérulite (g)	726	0,09±0,3	132	0,08±0,3	142	1,3±1,1	<0,001
Capillarite péritubulaire (cpt)	703	0,05±0,2	124	0,06±0,2	141	1,8±1,0	<0,001
Inflammation interstitielle (i)	721	0,2±0,5	132	1,7±0,9	142	0,9±0,7	<0,001
Tubulite (t)	725	0,2±0,6	132	1,6±0,9	142	0,4±0,2	<0,001
Artérite intimale (v)	715	0	131	0,09±0,4	141	0,08±0,4	<0,001
Glomérulopathie d'allogreffe (cg)	714	0	132	0	137	0,5±0,9	<0,001
Fibrose interstitielle (ci)	719	0,9±1,0	131	1,2±1,0	139	1,4±1,1	<0,001
Atrophie tubulaire (ct)	721	0,9±1,0	130	1,1±1,0	139	1,4±1,1	<0,001
Artériosclérose (cv)	694	1,0±1,0	126	0,9±0,9	140	1,4±1,0	<0,001
Hyalinose artériolaire (ah)	721	0,8±0,8	132	0,8±0,8	138	1,0±0,9	0,105
Dépôt péritubulaire de C4d - N (%)	695	52 (7,5%)	130	3 (2,3%)	141	52 (36,9%)	<0,001

Tous les patients atteints de sABMR avaient des DSA détectables au moment de la biopsie protocolaire à un an de la greffe. La MFI moyenne du DSA immunodominant était de

2550±580. Le DSA immunodominant était de classe II chez 103/142 patients (72,5%) et de classe I chez 39/142 (27,5%). Parmi les patients avec un sABMR, 111/142 patients (78%) avaient un DSA immunodominant préexistant avant la greffe et 31/142 patients (22%) avaient un DSA immunodominant *de novo*.

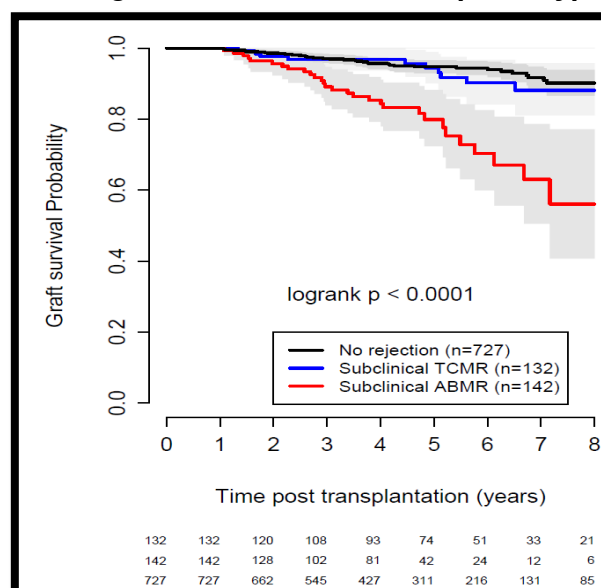
Parmi les patients avec un sTCMR, 17/132 (12,9%) avaient des DSA détectables (MFI moyenne de 980±492) et parmi les patients sans rejet, 97 (18,2%) avaient des DSA détectables (MFI moyenne de 1041±970) au moment de la biopsie à un an de la greffe.

III.3) SURVIE DU GREFFON SELON LE PHENOTYPE A UN AN DE GREFFE

La durée médiane de suivi était de 4,6 ans (IQ : 0,24-8,0 ans) pour l'ensemble de la population d'étude. Le suivi médian était de 4,2 ans (IQ : 2,9-5,2 ans) chez les patients avec un sABMR, 5,2 ans (IQ : 3,7-6,9) chez les patients avec un sTCMR et 4,6 ans (IQ : 3,0-6,4 ans) chez les patients sans rejet (P=NS).

Les patients avec un sABMR présentaient la plus mauvaise survie du greffon rénal : la survie à 8 ans était de 56% contre 88% chez les patients avec un sTCMR et 90% chez les patients sans rejet (P<0,001). Il n'y avait pas de différence significative de survie des greffons des patients avec un sTCMR comparativement aux patients sans rejet (**Figure 18**).

Figure 18 : Survie des greffons rénaux selon le phénotype à 1 an de greffe.



III.4) DETERMINANTS DE LA SURVIE DES GREFFONS RENAUX

Les **associations univariées** entre les données cliniques, immunologiques et histologiques et la perte du greffon sont présentées dans les **Tables 4A.1 et 4A.2**. Les facteurs significativement associés à la perte du greffon rénal étaient : l'âge du donneur (HR=1,02 par année ; 95%IC=[1,004-1,035] ; P=0,01), la durée de l'ischémie froide (HR=1,00 par minute; 95%IC=[1,000-1,001] ; P=0,01), la retransplantation (HR=1,65 ; 95%IC=[1,0-2,7] ; P=0,05), la reprise retardée de fonction (HR=1,9 ; 95%IC=[1,2-3,0] ; P=0,008), le DFG à 1 an entre 30 et 60 mL/min (HR=3,4 ; 95%IC=[1,5-8,2] ; P<0,001) et inférieur à 30 mL/min (HR=22,9 ; 95%IC=[9,5-55,1] ; P<0,001) par rapport à un DFG supérieur à 60 mL/min, le score de Banff de fibrose interstitielle et atrophie tubulaire (≤ 1 ou >1) (HR=2,2 ; 95%IC=[1,4-3,5] ; P<0,001), la présence de dépôts de C4d sur les capillaires péri-tubulaires (HR=3,2 ; 95%IC=[1,7-6,1] ; P<0,001), le rejet infraclinique médié par anticorps (HR=4,4 ; 95%IC=[2,8-7,0] ; P<0,001), la survenue d'un rejet (cellulaire et/ou médié par anticorps) antérieur (HR=1,9 ; 95%IC=[1,2-3,2] ; P=0,005), la positivité des DSA à 1 an (HR=3,25 ; 95%IC=[2,1-5,1] ; P<0,001) et la protéinurie à 1 an (log10 HR=1,92 ; 95%IC=[1,64-2,25] ; P<0,001).

Table 4A.1 : Associations univariées des paramètres cliniques des donneurs et receveurs avec la perte de greffon au moment de la transplantation.

			Nombre de patients	Nombre d'évènements	HR	95% IC	p
Paramètres des donneurs et receveurs	Age du receveur (année)		1001	77	1,01	(0,99-1,03)	0,2095
	Sexe du receveur	Masculin	582	49	1	-	-
		Féminin	412	28	0,81	(0,51-1,28)	0,3652
	Age du donneur (année)		990	75	1,02	(1,004-1,035)	0,0114
	Sexe du donneur	Masculin	553	40	1	-	-
		Féminin	426	34	1,11	(0,70-1,75)	0,6535
	Type de donneur	Vivant	182	8	1	-	-
		Décédé	819	69	1,87	(0,9-3,9)	0,0930
Caractéristiques de la greffe	Ischémie froide (min)		970	76	1,000	(1,000-1,001)	0,0121
	Rang de greffe	1 ^{ère} greffe	811	55	1	-	-
		Re-transplantation	190	22	1,65	(1,0-2,7)	0,0472
	Mismatch HLA A/B/DR		988	76	1.1	(0,9-1,3)	0,3126
	Reprise retardée de fonction	Non	776	48	1	-	-
		Oui	219	27	1,9	(1,2-3,0)	0,0076

*Rejet aigu clinique prouvé histologiquement survenant avant la biopsie protocolaire à 1 an (N=205, 82 TCM, et 123 ABMR).

HR : hazard ratio ; IC : intervalle de confiance ; DFG_e : débit de filtration glomérulaire estimé par la formule MDRD

Table 4A.2 : Associations univariées des paramètres cliniques, histologiques et immunologiques avec la perte de greffon à 1 an de la transplantation.

			Nombre de patients	Nombre d'événements	HR	95% IC	p
Paramètres cliniques	DFGe à 1 an	DFGe ≥ 60	307	6	1	-	-
		$30 \leq \text{DFGe} < 60$	581	38	3,4	(1,5-8,2)	<0,0001
		DFGe < 30	81	29	22,9	(9,5-55,1)	<0,0001
	Rejet durant la 1 ^{ère} année*	Non	796	53	1		
		Oui	205	24	1,9	(1,2-3,2)	0,0051
	Protéinurie à 1 an ($\log_{10}$ value)		984	75	1,92	(1,64-2,25)	<0,0001
Paramètres histologiques	FI/AT	Faible (≤ 1)	862	59	1	-	-
		Elevé (>1)	117	16	2,2	(1,4-3,5)	0,0005
	Artériosclérose	Faible (≤ 1)	606	45	1	-	-
		Elevé (>1)	307	27	1,5	(0,9-2,4)	0,1017
	sABMR	Non	869	67	1	-	-
		Oui	132	10	0,8	(0,4-1,6)	0,6182
	sTCMR	Non	859	48	1	-	-
		Oui	142	29	4,4	(2,8-7,0)	<0,0001
	Dépôts de C4d	Non	656	41	1	-	-
		Oui	81	12	3,2	(1,7-6,1)	0,0004
Paramètres immunologiques	DSA à 1 an	Non	745	41	1	-	-
		Oui	256	36	3,25	(2,1-5,1)	<0,0004

*Rejet aigu clinique prouvé histologiquement survenant avant la biopsie protocolaire à 1 an (N=205, 82 TCM, et 123 ABMR).

HR : hazard ratio ; IC : intervalle de confiance ; DFGe : débit de filtration glomérulaire estimé par la formule MDRD

En **analyse multivariée (Table 5B)**, les déterminants indépendants de la perte du greffon suivants ont été identifiés : un DFG à 1 an < 30 mL/min (HR=11,4 ; 95%IC=[4,5-28,6] ; $p<0,001$) et une fonction rénale intermédiaire compris entre 30 et 60 mL/min (HR=2,9 ; 95%IC=[1,2-6,7] ; $p<0,001$) par rapport à un DFG > 60 mL/min, la protéinurie à 1 an (log10 HR=1,5 ; 95%IC=[1,3-1,8]; $p<0,001$), et le rejet infraclinique médié par anticorps (HR 2,9 ; 95%IC=[1,8-4,9]; $p<0,001$).

Table 5B : Associations multivariées des paramètres cliniques, histologiques et immunologiques avec la perte de greffon.

		Nombre de patients	Nombre d'évènements	HR	95% IC	P
DFGe à 1 an	DFGe ≥ 60	305	6	1	-	-
	30 ≤ DFGe < 60	577	38	2,86	[1,21-6,78]	-
	DFGe < 30	79	28	11,42	[4,55-28,65]	<0,0001
sABMR	Non	825	45	1	-	-
	Oui	136	27	2,99	[1,81-4,96]	<0,0001
Protéinurie à 1 an (log₁₀ value)		961	72	1,50	[1,26-1,79]	<0,0001

HR : hazard ratio ; IC : intervalle de confiance ; DFGe : débit de filtration glomérulaire estimé par la formule MDRD

IV) DISCUSSION

Nous avons montré que deux phénotypes de rejet distincts (le rejet infraclinique médié par anticorps - sABMR - et le rejet infraclinique à médiation cellulaire T - sTCMR -) avaient des conséquences différentes à long terme sur la survie des greffons rénaux, dans une grande cohorte prospective de patients transplantés rénaux, en utilisant les méthodes immunologiques et histologiques contemporaines couplées à une approche épidémiologique intégrant l'ensemble du spectre du rejet d'allogreffe. Le rejet infraclinique médié par anticorps est associé à un risque accru de perte de greffon rénal, alors que le rejet infraclinique à médiation cellulaire T n'a pas de conséquence significative à long terme sur la survie des greffons rénaux. Nous avons montré que la présence d'une inflammation de la microcirculation sur la biopsie de dépistage à 1 an portait un caractère pronostic indépendant du statut immunologique initial, des évènements immunologiques antérieurs et des examens de surveillance conventionnels tel que l'estimation de la fonction rénale et le dosage de la protéinurie.

A un an de la transplantation, nous avons pu identifier un sABMR chez 27% des patients chez qui le diagnostic n'aurait pas pu être porté en l'absence de biopsie de dépistage. Nous avons également trouvé que les patients atteints de sABMR progressaient vers la perte du greffon indépendamment de l'intensité des lésions cicatricielles, du DFG ou de la protéinurie au moment de la biopsie, confirmant le caractère indépendant de l'impact du sABMR par rapport à la fonction rénale et à la protéinurie. Enfin, nous avons montré que le sABMR impacte négativement les résultats de la transplantation indépendamment des épisodes de rejet antérieur. Par conséquent, le sABMR représente soit le début d'une maladie (sABMR *de novo*), soit la continuité d'un processus à médiation humorale survenant chez un patient cliniquement stable ayant eu un évènement immunologique antérieur. L'inclusion de l'ensemble des biopsies pour cause réalisées durant la première année de greffe permet de montrer que la biopsie de dépistage a une valeur pronostique indépendante des histologies antérieures.

Les observations rapportant la coexistence d'une fonction rénale normale et stable en transplantation malgré la présence d'un infiltrat lymphocytaire sur la biopsie ont été relevées depuis les années 1980. Il a été établi par la suite que la créatinine sérique (marqueur biologique considéré comme gold standard pour dépister une atteinte rénale) est très peu sensible, particulièrement lorsque la valeur du DFG varie entre 50 et 90 mL/min/1,73m², ce qui est la situation la plus fréquente en transplantation rénale 1 an après la transplantation. Par conséquent, il semble rationnel de pratiquer des biopsies de dépistage à 1 an de la greffe est de déterminer la présence d'anomalies infracliniques à un stade précoce susceptibles de répondre à une intervention thérapeutique spécifique avec un risque de morbidité minimum. Le risque rapporté de complication majeure après une biopsie protocolaire (incluant saignement abondant, hématurie macroscopique avec caillottage, péritonite et néphrectomie d'hémostase) est d'environ 1%.^{47,48}

L'incidence rapportée des rejets infracliniques varie entre 9% et 49% en fonction du profil immunologique des populations étudiées et du traitement immunosuppresseur utilisé, ainsi que des critères et des techniques utilisées pour le diagnostic. Rush et al. ont rapporté chez des patients à faible risque immunologique (excluant les patients avec PRA>50% et les patients ayant perdu un greffon du fait d'un rejet) une prévalence de rejets infracliniques de 9% à 6 mois après la greffe^{49,50}, tandis que Moreso et al. ont rapporté une prévalence de 14,2% à 34,7% selon le traitement immunosuppresseur administré.⁵¹ Wiebe et al. ont observé une prévalence de 26% chez des patients développant des DSA *de novo*⁵², le diagnostic de rejet infraclinique étant porté après réalisation d'une biopsie protocolaire à 6 mois de la greffe.

Cette étude intègre l'ensemble du spectre du risque immunologique qui peut être rencontré en transplantation rénale, à l'ère de l'allocation des greffons reposant sur un crossmatch dépendant du complément négatif en LCT, qui reste la technique de référence mondiale. Les autres politiques d'attribution des greffons basées sur l'emploi de techniques plus sensibles restent des pratiques locales ou nationales. Par conséquent, il n'y avait pas de biais de sélection concernant le risque immunologique des patients.

Notre étude met également en lumière l'effet délétère des DSA préformés. Les politiques d'allocation des greffons se doivent d'éviter les appariements donneur-receveur en cas de DSA préformés. Néanmoins, il persiste approximativement 15 à 35% de patients hyperimmunisés inscrits sur liste d'attente n'ayant pas assez de donneurs compatibles potentiels. Ces candidats à la transplantation doivent par conséquent recevoir des greffons *via* des programmes alternatifs permettant les transplantations HLA incompatibles (tel que le programme antigène permis en France, par exemple). Cette étude a montré que de tels patients nécessitent une surveillance spécifique, et en particulier une reconnaissance précoce et précise du sABMR. Nous avons également montré que 22% des patients atteints de sABMR avaient développé des DSA *de novo*, attestant que des DSA *de novo* peuvent apparaître chez des patients cliniquement stables et être délétère sur la survie de leur greffon.

Un autre résultat important de cette étude est l'absence d'association entre la survenue d'un sTCMR et la survie des greffons à long terme. Ce résultat confirme les conclusions d'un essai clinique récent montrant que le sTCMR traité de manière adéquate n'est pas associé à la perte de greffon chez les patients compliant.⁴⁹ Cependant, un TCMR tardif peut être un signe révélateur d'une mauvaise compliance au traitement, pouvant conduire à la survenue d'un authentique ABMR avec les effets dévastateurs qui en découlent. Dans notre étude, tous les patients ayant présentés un sTCMR ont été traités par des bolus de corticoïdes, suggérant qu'un dépistage précoce associé à un traitement efficace pouvaient être bénéfique sur la survie à long terme des greffons.

La détection précoce des lésions histologiques infracliniques en rapport avec le rejet médié par anticorps est une situation à laquelle de plus en plus de médecins transplantateurs seront amenés à rencontrer du fait de l'accroissement global du nombre de receveurs immunisés, qui se verront vraisemblablement attribuer un greffon incompatible. Finalement, un dépistage précis, basé sur une stratégie visant à établir précocement le phénotype des lésions infracliniques dans cette population de patient hyperimmunisé, soulève la question d'une prise en charge thérapeutique plus agressive et spécifique, tel que les protocoles utilisant les immunoglobulines polyvalentes, les échanges plasmatiques, le rituximab, les inhibiteurs du

protéasome (bortezomib), et les inhibiteurs du complément. La décision thérapeutique dans notre cohorte a été prise par l'équipe de cliniciens selon les connaissances disponibles sur le sABMR que nous avions au moment du diagnostic. A la lumière de l'expérience que nous avons acquise sur le sABMR et de ses conséquences néfastes, nous avons changé nos pratiques, et nous traitons ces patients avec des thérapeutiques ciblant les anticorps.

La principale limite de notre étude est que nous n'avons pas pu identifier la meilleure approche thérapeutique pour les sABMR. La nature rétrospective de notre étude et la longue période d'inclusion (10 ans) nous ont permis de décrire l'histoire naturelle du sABMR, mais n'a pas permis d'établir l'efficacité du traitement. La conception de notre étude ne permet pas non plus de faire des recommandations quant au traitement à administrer aux patients présentant un sABMR à 1 an de la transplantation. Des essais randomisés sont nécessaires pour répondre à ces questions. Bien que notre étude n'aborde pas cette question importante, elle pose les bases nécessaires aux futurs essais interventionnels concernant la prise en charge thérapeutique du sABMR. En outre, le but de l'étude actuelle n'était pas de définir le moment optimal pour réaliser la biopsie de dépistage. Nous avons conduit cette étude pour tester l'hypothèse qu'un dépistage précoce du sABMR permet d'améliorer l'évaluation du risque de perte des greffons rénaux. Le moment que nous avons choisi pour pratiquer la biopsie dans cette étude (1 an après la transplantation) est le moment où la probabilité d'observer un événement immunologique est maximale et est largement utilisée dans la littérature comme moment pertinent pour modéliser les déterminants de la perte du greffon rénal. Nous avons suivi les critères actualisés de la dernière conférence de Banff pour le diagnostic du sABMR, mais ces critères ne comprenaient pas les cas où il était observé une inflammation de la microcirculation sans dépôts de C4d ni de DSA détectables au moment de la biopsie. Cette entité est rare (N=8), mais requière des études spécifiques.

Enfin, la question importante est de savoir si la communauté de transplantateurs rénaux doit désormais planifier des biopsies protocolaires de routine pour dépister le sABMR. Nos résultats montrent que cela est important pour les patients avec des DSA détectables le jour de la greffe, même si les taux sont faibles, pour les patients avec des DSA de novo malgré

une fonction rénale stable, et pour tous les patients ayant présenté un évènement immunologique antérieur (ABMR et/ou TCMR). Néanmoins, le rapport bénéfice/risque d'une telle procédure chez les patients stables sans DSA détectable et sans antécédent de rejet doit être déterminé.

V) CONCLUSION

La transplantation rénale est actuellement le meilleur traitement de l'insuffisance rénale terminale dans les pays développés et en voie de développement, que ce soit en termes de morbi-mortalité, de qualité de vie et de coût pour la société.

Cependant, l'obstacle majeur à l'amélioration de la survie à long terme des greffons est le rejet médié par anticorps, dans un contexte d'augmentation permanente du nombre de patients hyperimmunisés inscrits sur liste d'attente.

Sa définition n'a cessé d'évoluer depuis sa description initiale, et de nouveaux phénotypes ont été récemment décrits, tels que le rejet vasculaire médié par anticorps ou le rejet infraclinique médié par anticorps.

Toutefois, les conséquences à long terme des rejets infracliniques sont actuellement inconnues.

A partir d'une étude en population utilisant les outils cliniques actuellement disponibles pour déterminer le phénotype histologique des greffons rénaux, nous avons rapporté les conséquences des rejets infracliniques sur la survie des greffons rénaux à long terme. Nous avons montré que le rejet infraclinique médié par anticorps survenant chez des greffés rénaux ayant développé des DSA *de novo* ou ayant des DSA préexistants persistants est un facteur fortement associé à la perte des greffons, et que cette association est indépendante des paramètres biologiques conventionnellement utilisés pour la surveillance de la fonction rénale, tels que le DFG ou la protéinurie. Avec un dépistage précis et un traitement approprié, les résultats à long terme de la transplantation ne sont pas affectés significativement par le rejet infraclinique à médiation cellulaire T. La reconnaissance précoce et précise du rejet infraclinique médié par anticorps pourrait aider les cliniciens à identifier les patients à risque d'évolution péjorative, permettant des interventions thérapeutiques ciblées précoces et adaptées.

Ce travail pose les bases de réflexion pour la conception d'études interventionnelles ultérieures qui auraient pour objectif de définir les meilleures stratégies thérapeutiques pour le traitement du rejet infraclinique médié par anticorps.

REFERENCES

1. Conférence de presse du 02/03/2016 de la fondation du rein, disponible sur <http://www.fondation-du-rein.org/>.
2. Evans RW, Manninen DL, Garrison LP, Jr., et al. The quality of life of patients with end-stage renal disease. *N Engl J Med* 1985;312:553-9.
3. Matas AJ, Smith JM, Skeans MA, et al. OPTN/SRTR 2013 Annual Data Report: kidney. *Am J Transplant* 2015;15 Suppl 2:1-34.
4. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999;341:1725-30.
5. Dossier de presse de l'agence de la biomédecine du 16/02/2016 disponible sur <http://www.agence-biomedecine.fr>.
6. Lodhi SA, Lamb KE, Meier-Kriesche HU. Solid organ allograft survival improvement in the United States: the long-term does not mirror the dramatic short-term success. *Am J Transplant* 2011;11:1226-35.
7. Chapman JR. What are the key challenges we face in kidney transplantation today? *Transplant Res* 2013;2:S1.
8. Einecke G, Sis B, Reeve J, et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant* 2009;9:2520-31.
9. Sellares J, de Freitas DG, Mengel M, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant* 2012;12:388-99.
10. Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, et al. Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1398-406.
11. Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, et al. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation* 2001;71:652-8.

12. Mauiyyedi S, Crespo M, Collins AB, et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:779-87.
13. Watschinger B, Pascual M. Capillary C4d deposition as a marker of humoral immunity in renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2420-3.
14. Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G, et al. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int* 1993;43:1333-8.
15. Lefaucheur C, Nochy D, Hill GS, et al. Determinants of poor graft outcome in patients with antibody-mediated acute rejection. *Am J Transplant* 2007;7:832-41.
16. Lefaucheur C, Nochy D, Glotz D. [Antibody-mediated acute rejection]. *Nephrol Ther* 2008;4 Suppl 3:S188-91.
17. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969;280:735-9.
18. Jeannet M, Pinn VW, Flax MH, Winn HJ, Russell PS. Humoral antibodies in renal allotransplantation in man. *N Engl J Med* 1970;282:111-7.
19. Halloran PF, Wadgymar A, Ritchie S, Falk J, Solez K, Srinivasa NS. The significance of the anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I-mediated rejection. *Transplantation* 1990;49:85-91.
20. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993;44:411-22.
21. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, et al. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003;3:708-14.
22. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999;55:713-23.

23. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007;7:518-26.
24. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008;8:753-60.
25. Sis B, Mengel M, Haas M, et al. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant* 2010;10:464-71.
26. Mengel M, Sis B, Haas M, et al. Banff 2011 Meeting report: new concepts in antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2012;12:563-70.
27. Haas M, Sis B, Racusen LC, et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 2014;14:272-83.
28. Banfi G, Villa M, Cresseri D, Ponticelli C. The clinical impact of chronic transplant glomerulopathy in cyclosporine era. *Transplantation* 2005;80:1392-7.
29. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, et al. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant* 2007;7:2124-32.
30. Racusen LC, Haas M. Antibody-mediated rejection in renal allografts: lessons from pathology. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:415-20.
31. Sis B, Jhangri GS, Bunnag S, Allanach K, Kaplan B, Halloran PF. Endothelial gene expression in kidney transplants with alloantibody indicates antibody-mediated damage despite lack of C4d staining. *Am J Transplant* 2009;9:2312-23.
32. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet* 2013;381:313-9.
33. Loupy A, Hill GS, Suberbielle C, et al. Significance of C4d Banff scores in early protocol biopsies of kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies (DSA). *Am J Transplant* 2011;11:56-65.

34. Mengel M, Chan S, Climenhaga J, et al. Banff initiative for quality assurance in transplantation (BIFQUIT): reproducibility of C4d immunohistochemistry in kidney allografts. *Am J Transplant* 2013;13:1235-45.
35. Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, et al. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *Am J Transplant* 2009;9:2561-70.
36. Hammerling GJ, Vogt AB, Kropshofer H. Antigen processing and presentation--towards the millennium. *Immunol Rev* 1999;172:5-9.
37. Androlewicz MJ, Ortmann B, van Endert PM, Spies T, Cresswell P. Characteristics of peptide and major histocompatibility complex class I/beta 2-microglobulin binding to the transporters associated with antigen processing (TAP1 and TAP2). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:12716-20.
38. Ravindranath MH, Kaneku H, El-Awar N, Morales-Buenrostro LE, Terasaki PI. Antibodies to HLA-E in nonalloimmunized males: pattern of HLA-Ia reactivity of anti-HLA-E-positive sera. *J Immunol* 2010;185:1935-48.
39. Hagerty DT, Allen PM. Processing and presentation of self and foreign antigens by the renal proximal tubule. *J Immunol* 1992;148:2324-30.
40. Kreisel D, Krupnick AS, Balsara KR, et al. Mouse vascular endothelium activates CD8+ T lymphocytes in a B7-dependent fashion. *J Immunol* 2002;169:6154-61.
41. Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med* 2010;363:1451-62.
42. Dragun D, Muller DN, Brasen JH, et al. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005;352:558-69.
43. Amico P, Honger G, Mayr M, Steiger J, Hopfer H, Schaub S. Clinical relevance of pretransplant donor-specific HLA antibodies detected by single-antigen flow-beads. *Transplantation* 2009;87:1681-8.
44. Dunn TB, Noreen H, Gillingham K, et al. Revisiting traditional risk factors for rejection and graft loss after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2011;11:2132-43.

45. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant* 2004;4:438-43.
46. Archdeacon P, Chan M, Neuland C, et al. Summary of FDA antibody-mediated rejection workshop. *Am J Transplant* 2011;11:896-906.
47. Fereira LC, Karras A, Martinez F, Thervet E, Legendre C. Complications of protocol renal biopsy. *Transplantation* 2004;77:1475-6.
48. Furness PN, Philpott CM, Chorbajian MT, et al. Protocol biopsy of the stable renal transplant: a multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation* 2003;76:969-73.
49. Rush D, Nickerson P, Gough J, et al. Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:2129-34.
50. Rush DN, Henry SF, Jeffery JR, Schroeder TJ, Gough J. Histological findings in early routine biopsies of stable renal allograft recipients. *Transplantation* 1994;57:208-11.
51. Moreso F, Ibernón M, Goma M, et al. Subclinical rejection associated with chronic allograft nephropathy in protocol biopsies as a risk factor for late graft loss. *Am J Transplant* 2006;6:747-52.
52. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant* 2012;12:1157-67.

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis 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.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu 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 déshonoré et méprisé si j'y manque.

RESUME

Contexte L'objectif de l'étude est de déterminer l'impact des rejets infracliniques sur la survie à long terme des greffons rénaux.

Méthodes Nous avons réalisé une étude observationnelle prospective incluant 1307 patients consécutifs qui ont bénéficié d'une transplantation rénale à Paris (2005-2010). Les patients ayant une fonction rénale stable ont été évalués à 1 an de la transplantation par biopsie du greffon rénal et recherche d'anticorps anti-HLA.

Résultats L'analyse principale a inclus 1001 patients. Trois groupes distincts ont été identifiés : 727 (73%) patients sans rejet, 132 (13%) patients avec rejet infraclinique à médiation cellulaire T (sTCMR), et 142 (14%) patients avec rejet infraclinique médié par anticorps (sABMR). Les patients avec sABMR avaient la survie du greffon la plus faible à 8 ans après la greffe (56%) comparativement aux patients avec sTCMR (88%) et aux patients sans rejet (90%) ($P < 0,001$). En analyse multivariée, le sABMR à 1 an de la greffe était associé à la perte du greffon rénal avec un risque multiplié par 3,5 fois (95% IC : 2,1-5,7), indépendamment du débit de filtration glomérulaire et de la protéinurie ($p < 0,001$).

Conclusion Nos résultats suggèrent que le rejet infraclinique à médiation cellulaire et le rejet infraclinique médié par anticorps ont des conséquences différentes sur la survie à long terme des greffons rénaux. La détection d'un rejet infraclinique médié par anticorps à 1 an après la transplantation a une valeur pronostique indépendante de la fonction rénale et de la protéinurie.

Mots clés : anticorps anti-HLA, classification de Banff, histologie, rejet infraclinique médié par anticorps, survie des greffons rénaux

ABSTRACT

Background The aim of the study is to assess the consequences of subclinical rejection on long-term kidney allograft survival.

Methods We performed an observational prospective study including 1307 patients who underwent kidney transplantation in Paris (2005-2010). Clinically stable participants underwent prospective screening biopsies at one year post transplant, with concurrent evaluations of circulating anti-HLA antibodies.

Results The main analysis included 1001 patients. Three distinct groups of patients were identified at the 1-year screening: 727 (73%) patients without rejection, 132 (13%) patients with subclinical T cell-mediated rejection (sTCMR), and 142 (14%) patients with subclinical antibody-mediated rejection (sABMR). Patients with sABMR had the poorest graft survival at 8 years post-transplant (56%) compared with subclinical TCMR (88%) and non-rejection (90%) groups ($P < 0.001$). In a multivariate Cox model, subclinical ABMR at 1 year was independently associated with a 3.5-fold increase in allograft loss (95%CI: 2.1-5.7), independent of glomerular filtration rate and proteinuria ($P < 0.001$).

Conclusion Our findings suggest that sTCMR and sABMR have distinct effects on long-term kidney allograft survival. sABMR detected at the 1-year screening biopsy carries a prognostic value independent allograft function and proteinuria.

Key words: anti-HLA antibodies, Banff classification, histology, kidney allograft survival, subclinical antibody-mediated rejection

**Université Paris Descartes
Faculté de Médecine Paris Descartes
15, rue de l'Ecole de Médecine
75270 Paris cedex 06**